



T. C.

ORDU ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**POLİ(3-AMİNOFENİLBORONİK ASİT)/ÇOK DUVARLI
KARBON NANOTÜP KAPLI NANOELEKTROTLARIN
BİYOMEDİKAL UYGULAMALARI**

TANER GÜRSOY

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
KİMYA ANABİLİM DALI**

ORDU 2019

T.C.
ORDU ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
KİMYA ANABİLİM DALI

**POLİ(3-AMİNOFENİLBORONİK ASİT)/ÇOK DUVARLI
KARBON NANOTÜP KAPLI NANOELEKTROTLARIN
BİYOMEDİKAL UYGULAMALARI**

TANER GÜRİSOY

YÜKSEK LİSANS TEZİ

ORDU 2019

TEZ ONAY

Taner GÜRSOY tarafından hazırlanan “**POLİ(3-AMİNOFENİLBORONİK ASİT)/ÇOK DUVARLI KARBON NANOTÜP KAPLI NANOELEKTROTLARIN BİYOMEDİKAL UYGULAMALARI**” adlı tez çalışmasının savunma sınavı 27.08.2019 tarihinde yapılmış ve jüri tarafından oy birliği / ~~oy çokluğu~~ ile Ordu Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü KİMYA ANABİLİM DALI YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Danışman
Doç. Dr. Filiz KURALAY

Jüri Üyeleri

İmza

Danışman
Doç. Dr. Filiz KURALAY
Kimya Bölümü, Hacettepe Üniversitesi

.....

Üye
Dr. Öğr. Üyesi Derya BAL ALTUNTAŞ
Biyomühendislik Bölümü,
Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi

.....

Üye
Dr. Öğr. Üyesi Mutlu SÖNMEZ ÇELEBİ
Kimya Bölümü, Ordu Üniversitesi

.....

... / ... / 20... tarihinde enstitüye teslim edilen bu tezin kabulü, Enstitü Yönetim Kurulu'nun ... / ... / 20... tarih ve / sayılı kararı ile onaylanmıştır.

Enstitü Müdürü
Dr. Öğr. Üyesi Mehmet Sami GÜLER

TEZ BİLDİRİMİ

Tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan ve kullanılan intihal tespit programının sonuçlarına göre; bu tezin yazılmasında bilimsel ahlak kurallarına uyulduğunu, başkalarının 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.

TANER GÜRSOY

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(3-AMİNOFENİLBORONİK ASİT)/ÇOK DUVARLI KARBON NANOTÜP KAPLI NANOELEKTROTLARIN BİYOMEDİKAL UYGULAMALARI

TANER GÜRSOY

ORDU ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

KİMYA ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ, 42 SAYFA

TEZ DANIŞMANI: Doç. Dr. Filiz KURALAY

Bu tez çalışmasında, poli(3-aminofenilboronik asit) (PAPBA) monomeri olan 3-aminofenilboronik asit (APBA), karbon nanotüp gibi elverişli ve iyi özelliklere sahip bir nanomalzeme ile katkılanarak tek basamakta elektropolimerizasyon ile ekonomik bir elektrot materyali olan kalem grafit elektrot (PGE) yüzeyine kaplanmıştır. Elektropolimerizasyon yöntemi olarak dönüşümlü voltametri (CV) yöntemi kullanılmıştır. Optimum polimerizasyon koşulları belirlendikten sonra, oluşturulan kaplı elektrotlar elektrokimyasal empedans spektroskopisi (EIS) ve taramalı elektron mikroskopu (SEM) ile karakterize edilmiştir. EIS yöntemi ile polimerik ağa giren karbon nanotüpün iletkenliğe katkısı hakkında bilgi edinilmiştir. SEM ile de yapıya giren karbon nanotüpün morfolojik yapıyı nasıl değiştirdiği ve nanotüplere ait tübüler yapıların dağılımı hakkında bilgiye ulaşılmıştır. Ek olarak, enerji yayımlı X-ışını analizi (EDX) sonuçlarından yararlanılmıştır. Sonrasında elde edilen nanoelektrotların, Guanozin çözeltilerinde dönüşümlü voltametri yöntemi ile elektrokimyasal davranışı incelenmiş ve Guanozinin elektrokimyasal tayini çalışmaları diferansiyel puls yöntemi (DPV) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Ayrıca, Guanozin sinyalleri ile çakışabilecek ve bu nedenle tayini güçleştirebilecek Guanin için de girişim çalışması yapılmıştır. Girişim çalışması için kullanılan yöntem de diferansiyel puls voltametrisidir. İdrar örneğinde ise geri kazanım çalışması yine aynı yöntemle gerçekleştirilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Çok Duvarlı Karbon Nanotüp, Elektropolimerizasyon, Guanozin, Poli (3-aminofenilboronik asit).

ABSTRACT

BIOMEDICAL APPLICATIONS OF POLY (3-AMINOPHENYLBORONIC ACID)/MULTIWALLED CARBON NANOTUBES COATED NANO-ELECTRODES

TANER GÜRSOY

ORDU UNIVERSITY INSTITUTE OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES

CHEMISTRY

MASTER THESIS, 42 PAGES

SUPERVISOR: Assoc. Prof. Dr. Filiz KURALAY

In this thesis, poly(3-aminophenylboronic acid) was incorporated with carbon nanotubes which have had convenient and good properties from its monomer, 3-aminophenylboronic acid (APBA) on a low-cost electrode material, pencil graphite electrode (PGE) using one-step electropolymerization. Cyclic voltammetry (CV) was used as electropolymerization method. After determining the optimum polymerization conditions, the coated electrodes were characterized using electrochemical impedance spectroscopy (EIS) and scanning electron microscopy (SEM). With the findings of EIS, a knowledge about the conductivity enhancement due to the carbon nanotubes addition into the polymeric network was gained. Also, information about the morphological change and distribution of tubular forms of carbon nanotubes in the polymeric structure was obtained by SEM. In addition, it was benefited from energy dispersive X-ray analysis (EDX). Afterwards, electrochemical behaviors of the so-formed electrodes were investigated in Guanosine solutions by using cyclic voltammetry and electrochemical Guanosine determination was performed by using differential pulse voltammetry (DPV). Furthermore, experiments related to interferences such as Guanin that can interfere with Guanosine signals were carried out. The technique used for this study was also differential pulse voltammetry. Recovery studies were carried out in urine sample with the same method.

Keywords: Electropolymerization, Guanosine, Multi-Walled Carbon Nanotubes, Poly (3-aminophenylboronic acid).

TEŞEKKÜR

Tez alıŐmalarım sűresince deęerli bilgi, birikim ve tecrűbeleriyle bana yol gűsteren, vazgemeden műcadele etmeyi ilke edinmemi saęlayan ve birlikte alıŐmaktan gurur duyduęum deęerli hocam Sayın Doç. Dr. Filiz KURALAY'a teŐekkűr ederim.

Kaderlerimizin keŐiŐtięi ilk gűnden itibaren hayatıma deęer katan ve her anlamda yanımda olup desteęini hiçbir zaman esirgemeyen, sevgili eŐim Sultan GŪRSOY'a ve annesi kadar sevgi dolu bir kalbi olacaęına inandıęım, bize Őans ve bereketle gelen, gűzlerini dűnyaya amaya hazırlanan oęlumuz Kerem GŪRSOY'a teŐekkűrlerimi bir borç bilirim.

Lise hayatımdan bugűnűme kadar űnce Kimya Őęretmenim, Őimdi laboratuvar çalıŐmalarımda gűler yűzűyle her zaman bana destek olan hem űęretmenim hem abim Dursun YaŐar BAYRAMLI'ya en içten duygularımla teŐekkűr ederim.

Akademik çalıŐmalarımın devamı için her zaman yanımda olan, maddi ve manevi desteklerini benden esirgemeyen kıymetli annem Melahat GŪRSOY'a ve babam Erol GŪRSOY'a teŐekkűr ederim.

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
TEZ BİLDİRİMİ	I
ÖZET	II
ABSTRACT	III
TEŞEKKÜR	IV
İÇİNDEKİLER	V
ŞEKİL LİSTESİ	VI
ÇİZELGE LİSTESİ	VIII
SİMGELER ve KISALTMALAR LİSTESİ	IX
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	4
2.1 Elektrokimya.....	4
2.1.1 Dönüşümlü Voltametri (CV).....	4
2.1.2 Diferansiyel Puls Voltametri (DPV).....	6
2.1.3 Elektrokimyasal Empedans Spektroskopisi (EIS).....	6
2.2 Taramalı Elektron Mikroskopisi.....	7
2.3 İletken Polimerler.....	8
2.3.1 Poli(3-aminofenilboronik asit).....	8
2.4 Nanoteknoloji ve Nanomalzemeler.....	9
2.4.1 Karbon Nanotüpler.....	9
2.5 Deoksiribonükleik Asit (DNA) ve Yapısı.....	10
2.5.1 Guanozin.....	11
2.6 Önceki Çalışmalar.....	11
3. MATERYAL ve YÖNTEM	13
3.1 Kullanılan Aletler ve Elektrotlar.....	13
3.2 Kullanılan Reaktifler.....	13
3.3 Kullanılan Çözeltilerin Hazırlanması.....	14
3.4 Deneysel koşullar.....	15
4. BULGULAR ve TARTIŞMA	16
4.1 3-Aminofenilboronik Asitin Çok Duvarlı Karbon Nanotüp Varlığında Sulu Çözelti Ortamında Kalem Grafit Elektrot Üzerinde Elektropolimerizasyonunun Gerçekleştirilmesi.....	17
4.1.1 Poli (3-aminofenilboronik asit) (PAPBA) İçin Uygun Elektropolimerizasyon Koşulunun Seçilmesi.....	17
4.1.2 Poli (3-aminofenilboronik asit) (PAPBA)/Karbon Nanotüp Modifiye Elektrotların Optimizasyonu.....	20
4.2 Poli (3-aminofenilboronik asit) (PAPBA)/Çok Duvarlı Karbon Nanotüp (MWCNTs) Modifiye Elektrotların Karakterizasyonu.....	26
4.3 Poli(3-aminofenilboronik asit)/Çok Duvarlı Karbon Nanotüp Kaplı Kalem Grafit Elektrotlar ile Biyomedikal Uygulamalar.....	30
5. SONUÇLAR	36
6. KAYNAKLAR	38

ŞEKİL LİSTESİ

	<u>Sayfa</u>
Şekil 1.1 Guanozinin yapısı	2
Şekil 2.1 Dönüşümlü voltametri uyarma sinyali	5
Şekil 2.2 Dönüşümlü voltametri tekniği kullanılarak elde edilen voltamogram.....	5
Şekil 2.3 Örnek bir diferansiyel puls voltamogramı	6
Şekil 2.4 Tipik bir Nyquist eğrisi.....	7
Şekil 2.5 a) Tek duvarlı karbon nanotüp çeşitleri b) Üç tek duvarlı karbon nanotüpten oluşan bir çok duvarlı karbon nanotüp.....	10
Şekil 3.1 Kullanılan referans, karşıt ve çalışma elektrotları	13
Şekil 4.1 80 mM APBA çözeltisi ile PGE kullanılarak dönüşümlü voltametri ile elde edilen polimerizasyon eğrileri, 5 çevrim ve 20 çevrim sayısında elektropolimerizasyon eğrilerinin kıyaslanması.	18
Şekil 4.2 80 mM APBA çözeltisi kullanılarak farklı çevrim sayıları ile modifiye edilmiş elektrotların 5 mM Fe ^{+2/+3} içeren 0.1 M KCl içerisindeki elektrokimyasal davranışları	19
Şekil 4.3 80 mM APBA çözeltisi içerisinde farklı miktarlarda MWCNTs ilavesiyle dönüşümlü voltametri yöntemi ile elde edilen elektropolimerizasyon eğrileri	21
Şekil 4.4 A) 80 mM APBA çözeltisi içerisinde MWCNTs ilave edilmemiş (a), 0.5 mg mL ⁻¹ MWCNTs ilavesiyle (b), B) farklı miktarlarda MWCNTs ilavesiyle dönüşümlü voltametri yöntemi ile elde edilen elektropolimerizasyon eğrilerinin kıyaslanması	22
Şekil 4.5 A) 80 mM APBA ve farklı derişimlerde karbon nanotüp çözeltisi kullanılarak modifiye edilmiş PGE'un 5 mM Fe ^{+2/+3} içeren 0.1 M KCl içerisindeki elektrokimyasal davranışlarının kıyaslanması B) 80 mM APBA çözeltisi kullanılarak modifiye edilmiş PGE'ların 5 mM Fe ^{+2/+3} içeren 0.1 M KCl içerisindeki elektrokimyasal davranışlarının kıyaslanması.....	22
Şekil 4.6 80 mM APBA çözeltisi ile 0.5 mg mL ⁻¹ karbon nanotüp çözeltisi kullanılarak modifiye edilmiş PGE'un farklı çevrimlerde dönüşümlü voltametri yöntemi ile elde edilen elektropolimerizasyon eğrileri	24
Şekil 4.7 80 mM APBA çözeltisi ile 0.5 mg mL ⁻¹ karbon nanotüp çözeltisi kullanılarak modifiye edilmiş PGE'un dönüşümlü voltametri yöntemi ile elde edilen elektropolimerizasyon eğrilerinin kıyaslanması.....	24
Şekil 4.8 80 mM APBA ve 0.5 mg mL ⁻¹ karbon nanotüp içeren çözelti kullanılarak farklı çevrim sayıları ile modifiye edilmiş elektrotların 5 mM Fe ^{+2/+3} içeren 0.1 M KCl içerisindeki elektrokimyasal davranışları	25
Şekil 4.9 Elektrokimyasal empedans spektrumları ve polimerizasyon koşulları	26
Şekil 4.10 Taramalı elektron mikroskobu görüntüleri, düşük çözünürlükte (50 µm) ve yüksek çözünürlükte (10 µm).....	27
Şekil 4.11 EDX analiz sonuçları	29
Şekil 4.12 80 mM APBA+0.5 mg mL ⁻¹ MWCNTs çözeltisiyle modifiye edilmiş PGE'un ve modifiye edilmemiş PGE'un fosfat tamponu ile hazırlanan 0.01 mM Guanozin içerisindeki dönüşümlü voltametri davranışları.....	31

Şekil 4.13 80 mM APBA+0.5 mg mL ⁻¹ MWCNTs çözeltisiyle modifiye edilmiş PGE'un ve modifiye edilmemiş PGE'un asetat tamponu ile hazırlanan 0.01 mM Guanozin içerisindeki dönüşümlü voltametrik davranışları.....	31
Şekil 4.14 A) Fosfat tampon (pH 7.4) ile hazırlanan farklı derişimdeki guanozin çözeltisi içerisinde modifiye elektrotla alınan diferansiyel puls voltamogramları, B) Kalibrasyon doğrusu	32
Şekil 4.15 A) Asetat tampon (pH 4.8) ile hazırlanan farklı derişimdeki guanozin çözeltisi içerisinde modifiye elektrotla alınan diferansiyel puls voltamogramları, B) Kalibrasyon doğrusu	33
Şekil 4.16 Guanin ve Guanozin içeren ve fosfat tamponunda (pH 7.4) hazırlanan çözeltide girişim çalışmaları	34
Şekil 4.17 Modifiye elektrot ile yapılan gerçek örnek deneylerine ait diferansiyel puls voltamogramları	35

ÇİZELGE LİSTESİ

Sayfa

- Çizelge 4.1** 80 mM APBA çözeltisi kullanılarak farklı çevrim sayıları ile modifiye edilmiş elektrotların elektrokimyasal davranışlarına ait cevaplar. 20
- Çizelge 4.2** 80 mM APBA ve farklı derişimlerde karbon nanotüp çözeltisi kullanılarak modifiye edilmiş elektrotların elektrokimyasal davranışlarına ait cevaplar..... 23
- Çizelge 4.3** 80 mM APBA ve 0.5 mg mL⁻¹ karbon nanotüp çözeltisi kullanılarak modifiye edilmiş elektrotların farklı çevrim sayılarında elektrokimyasal davranışlarına ait cevaplar..... 25
- Çizelge 4.4** İdrar örneğinde gerçekleştirilen geri kazanım (%) sonuçları 34

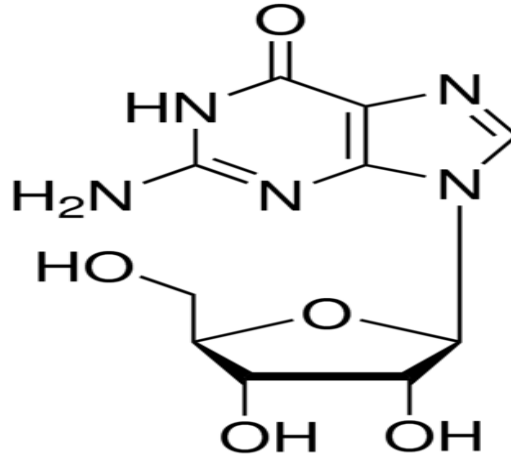
SİMGELER ve KISALTMALAR LİSTESİ

APBA	:	3-aminofenilboronik asit
CV	:	Dönüşümlü Voltametri
DPV	:	Diferansiyel Puls Voltametri
EIS	:	Elektrokimyasal Empedans Spektroskopisi
MWCNTs	:	Çok Duvarlı Karbon Nanotüp
PAPBA	:	Poli(3-aminofenilboronik asit)
PGE	:	Kalem Grafit Elektrot
SEM	:	Taramalı Elektron Mikroskopisi

1. GİRİŞ

Nükleik asitler, 1868 yılında Friedrich Miescher tarafından keşfedilmiştir. Nükleik asitlerden biri olan deoksiribonükleik asit (DNA)'nın düzenli bir yapı içerdiği ile ilgili çalışmalar ise X ışını difraksiyonu ile 1937'de tespit edilmiştir. Bu tespiti yapan William Astbury isimli bir bilim insanıdır. 1940'lı yılların sonlarına doğru Erwin Chargaff ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmalar sonucunda DNA'nın yapısıyla alakalı olarak farklı canlılarda dört nükleotidin aynı oranda bulunmadıkları ve kimi bazların oranlarının birbiriyle alakalı olduğunu ortaya koyan önemli bir bilgiye ulaşılmıştır. Bu çalışmalar DNA'nın üç boyutlu yapısını inceleyip kalıtım materyalinin DNA'da kodlanarak kuşaktan kuşağa nasıl aktarıldığının temelini oluşturmuştur. Günümüzde kullanılan DNA'nın yapısını ise 1953 yılında Francis Crick ile James Watson ileri sürmüşlerdir (David ve Michael, 2013). DNA molekülü monomerik nükleotit birimlerinden oluşan 2 tane antiparalel polinükleotit zincirinden meydana gelmektedir. Her nükleotit 3 çeşit kimyasal bileşenden oluşmuştur: Fosfat grubu, deoksiriboz denilen şeker grubu ve 4 farklı azot bazı. Fosfat-deoksiriboz şekerden oluşan polimerik kısım DNA iskeleti olarak adlandırılmaktadır. Genetik bilgiyi taşıyan bazlar ise Guanin (G), Adenin (A), Sitozin (S) ve Timin (T)'dir. Bunlardan Guanin ve Adenin pürin bazları, Sitozin ve Timin ise pirimidin bazları olarak bilinmektedir. İki nükleotit dizisi çift sarmal olarak kıvrılmıştır ve her dizide bulunan bazlar A•T ve G•C şeklinde hidrojen bağlarıyla bağlıdır (Palecek ve Fojta, 2001; Palecek, 2002; Palecek ve Jelen, 2002). DNA'nın yapısında ayrıca bir pentoz olan 2-deoksiriboz şekeri bulunmaktadır. Yapıda şekerler, iki şekerin (birleşik olan) 5 numaralı ve 3 numaralı karbon atomları arasında bulunan fosfat grubu sayesinde kurulan fosfodiester bağı ile birbirine bağlıdır. DNA ipliği tek yönlüdür. Çünkü kurulan fosfodiester bağı asimetriktir ve iki zincirde nükleotitlerin bağlandığı yönler birbirinin tersidir. Asimetrik olan uçlar, 5' (beş üssü) ve 3' (üç üssü) olarak adlandırılmakta ve bu uçlardan 5' bir fosfat grubu, 3' ise bir hidroksil grubu içerir (David ve Michael, 2013). DNA yapısı aydınlatılmış bilinen en önemli moleküllerden biridir. Bu molekül, genetik bilginin kodlanması ve nesilden nesile aktarılma işleminden sorumludur. Canlı organizmaların ve birçok virüsün genetik bilgisinin replikasyon ve transkripsiyonu süreci boyunca protein ve enzimlerin biyolojik sentezini başlatması açısından DNA yaşam sürecinde büyük rol oynar

(Wang, 2002; Kuralay ve Erdem, 2015). Guanozin, pürin bazı içeren bileşiklerden biridir ve bir riboz (ribofuranoz) halkasına β -N₉-glikosidik bağı ile bağlı Guaninden oluşmaktadır (Şekil 1.1). Pürin bazları gibi bu gibi pürin bazı temelli bileşiklerin tanınması, ayrılması ve tayini çok önemlidir. Bu tip bileşikler, biyokimyasal süreçlerde etkin rol oynarlar (Fojta, 2002; Wang ve ark., 2004; Fojta ve ark., 2016)



Şekil 1.1 Guanozinin yapısı

Nanoteknoloji, bir maddeyi atomik, moleküler ve supramoleküler seviyede kontrol edilebilme becerisine sahip çalışmaların bir arada toplandığı bir disiplindir. Bir maddenin herhangi bir boyutunun büyüklüğünün 1-100 nanometre (nm) arası olması nanoboyutta kontrol edilebilmesine olanak sağlamaktadır. Bu teknoloji, çok farklı disiplinleri içerisine alır (organik kimya, yarı iletken fiziği, moleküler biyoloji ve mikro fabrikasyon, vb). Uygulama alanları ise nanoölçekte yeni malzemelerin geliştirilmesinden atomik boyutta maddenin direkt kontrolüne kadar çeşitlilikler gösterebilir. Nanomalzemelerin (grafen, karbon nanotüp, nanopartiküller gibi) sisteme dahil edilmesiyle özellikle biyomedikal çalışmalarda eser miktarda maddelerin tayini mümkün olmakta ve aynı zamanda çok karmaşık matrikslerde girişim yapan türlerden analit kolaylıkla ayrılabilir (Jianrong ve ark., 2004; Kuralay ve ark., 2008; Alarcon-Angeles ve ark., 2018). Bu gibi çalışmalar nanomalzeme temelli çalışmalara olan ilgiyi artırmıştır. Nanomalzemeler, üstün fiziksel ve kimyasal özelliklere sahip olup oldukça kararlı yapılarda olan malzemelerdir. Özellikle karbon nanotüpler ile yapılan çalışmalar günümüzde dikkat çekmektedir.

Bu tez çalışmasında, nanoteknoloji ve elektrokimyasal yöntemlerin avantajları birleştirilerek elektroaktif polimer/karbon nanotüp kaplı elektrotlarla biyokimyasal süreçlerde önemli bir rol oynayan Guanozin için elektrokimyasal davranış inceleme ve sonrasında tayin çalışmaları gerçekleştirilmektedir. Elektroanalitik yöntemler basit, düşük analiz maliyetleri, yüksek seçicilikleri ve duyarlılıkları ile kromatografik ve spektroskopik tekniklere göre oldukça kullanılan yöntemlerden olmuştur (Kuralay ve ark., 2009; Kuralay ve ark., 2018). Tez çalışması, iki aşamadan oluşmaktadır. 1. kısımda literatürde yer almayan poli(3-aminofenilboronik asit)/çok duvarlı karbon nanotüp kaplı nanoelektrotlar dönüşümlü voltametri (CV) tekniği kullanılarak hazırlanmıştır. Boronik asit temelli yüzeylerin taşıdığı fonksiyonel gruplardan dolayı biyomedikal alanda önemli uygulamalarda kullanıldığı bilinmektedir. Bu amaçla tez çalışmasının 2. aşamasında hazırlanan nanokompozit kaplı nanoelektrotlarda Guanozinin elektrokimyasal davranışı dönüşümlü voltametri ile incelenmiş ve sonrasında Guanozinin elektrokimyasal tayini diferansiyel puls voltametrisi yöntemi (DPV) ile gerçekleştirilmiştir.

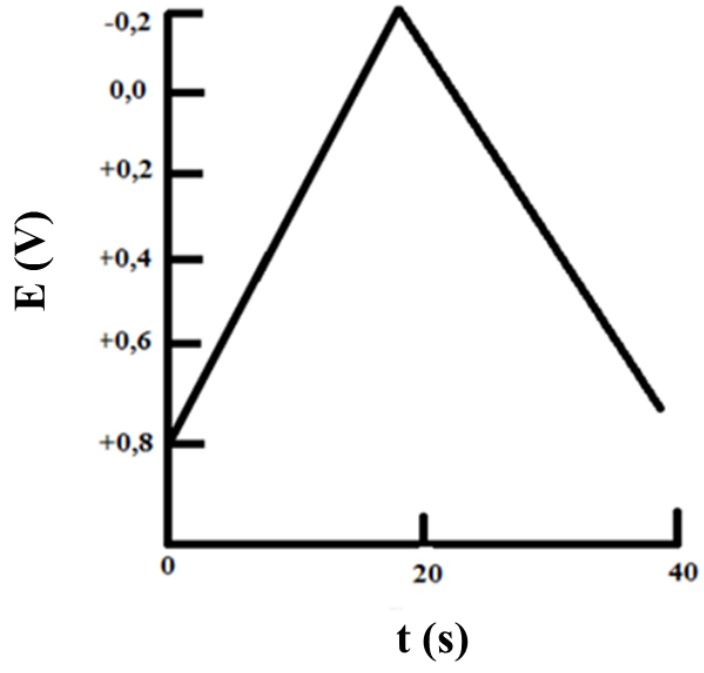
2. GENEL BİLGİLER

2.1 Elektrokimya

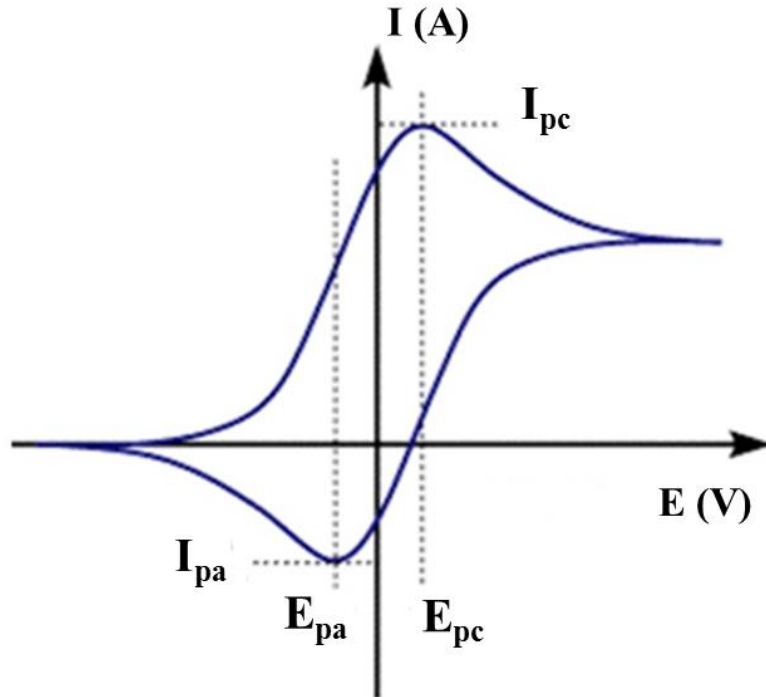
Elektrokimya, bir kimyasal maddenin çözeltisi ile bir metalik iletken ara yüzeyinde meydana gelen kimyasal değişimleri inceler ve yükseltgenme/indirgenme türü tepkimeleri içerir (Chang, 2006). Elektrokimyasal hücre, iyon ya da molekül halindeki maddenin indirgendiği bir katot ve buna ek olarak; iyon, molekül veya elektrot malzemesinin kendisinin elektron açığa çıkardığı ve yükseltgenme tepkimesinin ortaya çıktığı bir anottan oluşmaktadır (Palecek ve ark., 1998). Katot ve anot dışarıdan bir devre ile bağlıdır ve dış devrede elektron iletimi sağlanır. Bu elektron iletimi sonucunda elektrik akımı oluşmaktadır. Elektroanalitik teknikler, farklı parametrelerin ölçümünü incelemektedirler. Bunlar arasında yük, akım ve potansiyel sayılabilir. Bu ölçümler, çok sayıda uygulama örneği sunmakta ve farklı analitik amaçlar için kullanıma cevap vermektedir (biyomedikal, çevre ve enerji uygulamaları, kalite kontrol vb) (Wang, 2006). Elektrokimyasal yöntemler, birçok enstrümantal analiz yöntemine göre bazı üstünlüklere sahiptir. Bu üstünlükler, özellikle; yüksek duyarlık, seçicilik, çoğu kez bir elementin özel bir yükseltgenme basamağına spesifiklik, ekonomiklik ve portatif sistemlerde gerçekleştirilebilmeleri olarak sıralanabilir.

2.1.1 Dönüşümlü Voltametri (CV)

Dönüşümlü voltametri, sıklıkla kullanılan elektrokimyasal yöntemlerdendir. Bu voltametrik yöntemde, durgun bir çözeltide çalışma elektroduna potansiyel uygulanır. Bu potansiyel doğrusaldır ve sonuç olarak potansiyele bağlı olarak oluşan akım ölçülür. İlk taramanın yönü, kullanılan maddenin bileşimine bağlı olarak, negatif yönde veya pozitif yönde olabilir (Şekil 2.1). Tarama süreleri 1 ms veya daha kısa süreler olabilir. Bununla birlikte, 100 s veya daha uzun değerlere de çıkabilir (Skoog ve ark., 2007). Şekil 2.2’de verilen E_{pc} katodik pik potansiyelini, E_{pa} anodik potansiyelini, i_{pa} anodik pik akımını ve i_{pc} ise katodik pik akımını simgelemektedir.



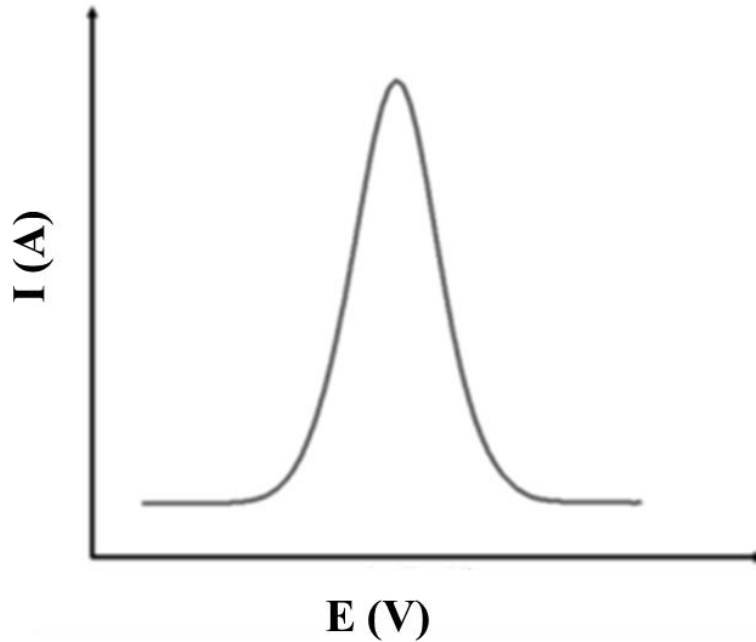
Şekil 2.1 Dönüşümlü voltametik uyarma sinyali (Skoog ve ark., 1998)



Şekil 2.2 Dönüşümlü voltametri tekniği kullanılarak elde edilen voltamogram

2.1.2 Diferansiyel Puls Voltametri (DPV)

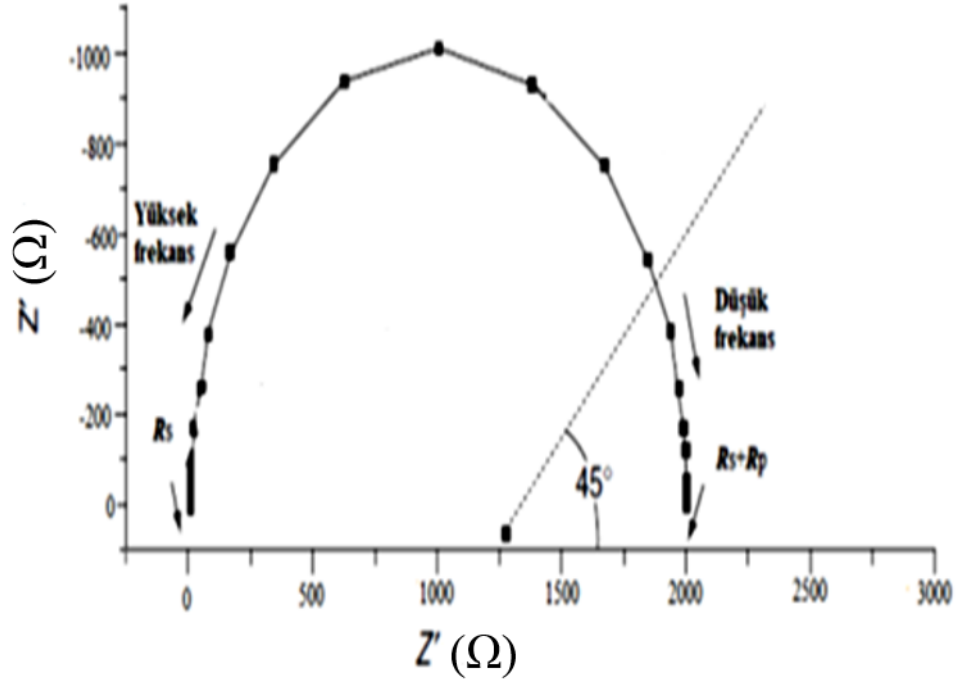
Diferansiyel Puls Voltametri, analiz yapılacak maddenin önce elektrodun yüzeyinde biriktirilmesi sonrasında ise anodik veya katodik olarak sıyırılması ile maddenin miktarının tayin edilmesinde kullanılan elektroanalitik tekniktir. Diferansiyel puls voltametri eser miktarlarda anorganik ve organik maddelerin analizlerinde önemli ölçüde elverişli bir yöntemdir (Wang, 2002). Diferansiyel puls voltametrik yöntemlerin çalışma prensibi akımı, istenen faradayik eğri ile girişim yapan yükleme akımı arasındaki farkın büyük olduğu bir anda yapılan ölçüme dayanmaktadır (Skoog ve ark., 2007).



Şekil 2.3 Örnek bir diferansiyel puls voltamogramı

2.1.3 Elektrokimyasal Empedans Spektroskopisi (EIS)

Bir devrenin elektrik akımının akışına direnme yeteneğinin ölçüsüne empedans denir ve bu yöntem belirli frekans aralıklarında direncin ölçümüne dayanır (Mansfeld, 1995). Elektrokimyasal empedans spektroskopisi (EIS), elektrokimyasal hücrelerin mekanik ve kinetik özellikleri hakkında bilgi verir. Empedans ölçümleri, elektrot yüzeyine zarar vermediği için genellikle karakterizasyon yöntemi olarak kullanılmakla birlikte biyosensör ve korozyon gibi alanlarda da sık bir şekilde kullanılmaktadır.



Şekil 2.4 Tipik bir Nyquist eğrisi (Wang ve ark., 2006)

2.2 Taramalı Elektron Mikroskopisi

Taramalı Elektron Mikroskopu (SEM), düşük enerjili Auger elektronlarının oluşması temeline dayanır. Düşük enerjili bu elektronlar, incelenecek olan örneğin dış yörünge elektronları ile girişimi (elastik olmayan) sonucunda oluşmaktadır ve oluşan bu elektronlar örnek yüzeyi hakkında bilgiler vermektedir. Taramalı elektron mikroskobu sayesinde 1 nanometre (nm)'den daha yüksek çözünürlüğe ulaşılabilir. Bu elektron mikroskopisi tekniğinde, yörüngelerinden atılan veya enerjisi azalan elektronlar numune yüzeyine doğru hareket ederek yüzeyde toplanırlar ve görüntü bu aşamada sinyale çevrilir. Bu türler ikincil elektrotlar olarak adlandırılırlar. Bu elektronlar, numune yüzeyinin 10 nm veya daha düşük derinliğinden geldiği için numunenin yüksek çözünürlüğe sahip topografik görüntüsünün elde edilmesinde fayda sağlamaktadır (Smith, 1955; Mullan, 2006).

2.3 İletken Polimerler

Polimer omurgası boyunca konjuge çift bağlar içeren iyi iletkenliğe sahip olan polimerlere iletken polimerler denir. İletken polimerlerin iletkenliği, metaller ve yarı iletkenler arasındadır. Genel olarak π -elektron iskeletine sahiptirler. π -elektron iskeleti, polimerlerin elektriksel iletkenliği, yüksek elektron afinitesi, düşük enerjili optik geçişleri ve düşük iyonlaşma gerilimi gibi özelliklerinden sorumludur. İletken polimerlerin, π -elektron iskeleti, ardışık olarak polimer zinciri boyunca sürekli bir çift bağ olan konjuge π -elektron sistemi olarak düzenlenmiştir. Hafiflikleri, işlenebilirlikleri, korozyona karşı dirençleri ve iyi redoks özellikleri nedeniyle (biyo)sensör, elektronik devre, iyon seçici membran ve pil teknolojisi gibi alanlarda bu polimerler oldukça ilgi görmektedirler (Gerard ve ark., 2002; Nambiar ve ark., 2011; Kuralay ve ark., 2016). Son yılların önemli araştırma konularından biri de iletken polimerlerin özelliklerini daha da iyileştirmek için nanomalzemelerle birlikte nanokompozitlerinin hazırlanması olmuştur. Bu nanomalzemeler arasında karbon nanotüpler, grafen ve nanopartiküller sayılabilir (Luo ve ark., 2006; Xia ve ark., 2010). Böylelikle daha üstün özelliklere sahip yapılar sentezlenebilir ve farklı uygulamalara yönelik olarak kullanılabilir.

2.3.1 Poli (3-aminofenilboronik asit)

Boronik asitlerin diol bileşiklerine seçici oldukları ve buna ek olarak fenilboronik asitlerin boranat esterleri oluşturabildikleri bilinmektedir (Halo ve ark., 2009; Ayaç ve ark., 2011). Bu asit yapıları, 1,2 ve 1,3 diollerle tersinir bağlar oluşturmaktadırlar. Boronik asit temelli çalışmalar bu nedenden ötürü özellikle biyoygulama çalışmalarında önem kazanmakta ve farklı uygulama üstünlükleri getirmektedirler. Yüzey modifikasyonları kolay olduğu için bu tür asit yapıları özellikle biyomedikal çalışmalarda yaygın bir şekilde kullanılmaktadırlar: Özellikle diol içeren sakkarit, glikoprotein ve nükleotit gibi biyomoleküllerin tayininde duyarlı tanı sistemlerinin oluşturulmasında ön plana çıkmaktadırlar. 3-aminofenilboronik asit kolay bir şekilde elektropolimerizasyona uğraması ve sonucunda oluşan poli (3-aminoboronik asit) polimerinin boronik asitlere ait özelliklerini kaybetmemesi, ayrıca iyi elektriksel özelliklere ve geniş yüzey alanına sahip olması gibi avantajlara sahip olması nedeniyle elektrokimyasal çalışmalarda oldukça kullanılan bir monomer olmuştur

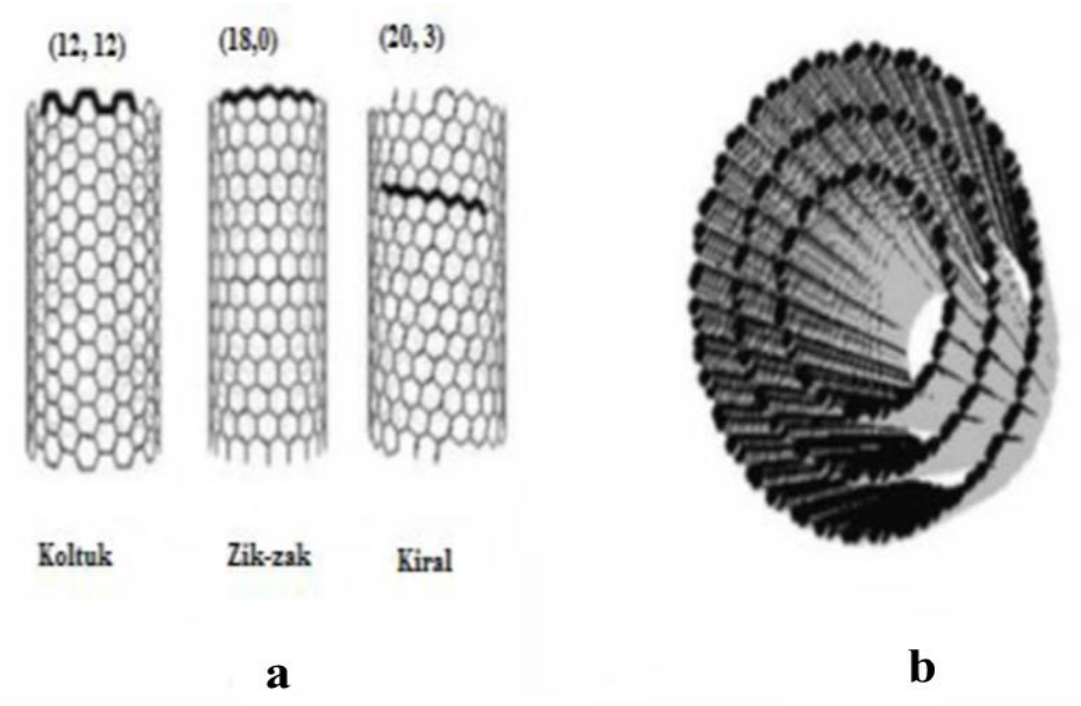
(Yagi ve ark., 2005; Wannapob ve ark., 2010). Benzer şekilde, boronik asit içeren polimerlerin çoğu farklı biyomedikal uygulamalarda yaygın olarak kullanılmaktadır.

2.4 Nanoteknoloji ve Nanomalzemeler

Milyarda bir anlamına gelen nano, metrik sistem içinde bir ölçü birimi olarak kullanılır. Nanoteknoloji, bir maddenin atomik, moleküler ve supramoleküler seviyede kontrol edilebilmesi üzerine ortaya çıkarılmış olan bir çalışma alanı olup, büyüklüğü 1-100 nm arası olan maddelerin anlaşılabilmesi için yapılan araştırmaları kapsar. Büyüklükle tanımlanan bir teknoloji olarak bu alan çok farklı branşları da içerisine alır (sentez kimyası, yarı iletken fiziği, moleküler biyoloji ve mikro fabrikasyon, vb). Uygulama alanları ise nanoölçekte yeni malzemelerin geliştirilmesinden atomik boyutta maddenin direkt kontrolüne kadar çeşitlilikler gösterebilir. Nanomalzemelerin (grafen, karbon nanotüp, nanopartiküller gibi) sisteme dahil edilmesiyle özellikle biyomedikal çalışmalarda eser miktarda maddelerin tayini mümkün olmakta ve aynı zamanda çok karmaşık matrikslerde girişim yapan türlerden analit kolaylıkla ayrılabilir (Kuralay ve ark., 2008). Bu gibi çalışmalar, nanomalzeme temelli çalışmalara olan ilgiyi artırmıştır. Nanomalzemeler, üstün fiziksel ve kimyasal özelliklere sahip olup oldukça kararlı yapılarda olan malzemelerdir. Günümüzde yoğun çalışılan nanomalzemelerden biri olan karbon nanotüp ile yapılan çalışmalar oldukça ilgi çekmektedir.

2.4.1 Karbon Nanotüpler

Yaklaşık 20 yıl önce fullerenlerin keşfiyle karbon nanoyapı ailesinin gelişimi başlamıştır. Bu ailenin bir üyesi de karbon nanotüplerdir. Çapları nanometre mertebesinde olan karbon nanotüpler, adından da anlaşıldığı üzere tübüler yapıdaki malzemelerdir. Bu yapılar; katmanlı, farklı boylarda, farklı kalınlıklarda ve spiral biçimde olabilirler ve isimlendirmeleri buna göre daha spesifik hale getirilebilir. Örneğin, tek bir grafen silindiri içeren nanotüp yapısı tek duvarlı karbon nanotüp (SWCNTs) olarak adlandırılırken, tek bir merkez göbeğin üstünde konveksiyonel olarak düzenlenmiş daha konsantrik levhalar bulunduran nanotüp yapısı çok duvarlı karbon nanotüp (MWCNTs) olarak adlandırılır. 1991 yılında Lijima tarafından keşfedilen karbon nanotüplerin sp^2 hibritleşmesi kuvvetli bir bağlanma şekli oluşturduğu için üstün mekanik özelliklere sahiptir.



Şekil 2.5 a) Tek duvarlı karbon nanotüp çeşitleri, **b)** Üç tek duvarlı karbon nanotüpten oluşan bir çok duvarlı karbon nanotüp (Biró ve Lambin, 2006)

2.5 Deoksiribonükleik Asit (DNA) ve Yapısı

DNA yapısı aydınlatılmış bilinen en önemli biyomoleküllerden biridir. Bu molekül, genetik bilginin kodlanması ve nesilden nesile aktarılma işleminden sorumludur. Canlı organizmaların ve birçok virüsün genetik bilgisinin replikasyon ve transkripsiyonu süreci boyunca protein ve enzimlerin biyolojik sentezini başlatması açısından DNA yaşam sürecinde büyük rol oynar (Kuralay ve Erdem, 2015). Günümüzde kullanılan DNA'nın yapısını 1953 yılında Francis Crick ile James Watson ileri sürmüşlerdir (David ve Michael, 2013). DNA molekülü monomerik nükleotit birimlerinden oluşan 2 tane antiparalel polinükleotit zincirinden meydana gelmektedir. Her nükleotit 3 çeşit kimyasal bileşenden oluşmuştur: Fosfat grubu, deoksiriboz denilen şeker grubu ve 4 farklı azot bazı. Fosfat-deoksiriboz şekerden oluşan polimerik kısım DNA iskeleti olarak adlandırılmaktadır. Hüresel genetik bilgi ise Guanin (G), Adenin (A), Sitozin (C) ve Timin (T) olarak bilinen 4 Adet bazda kodlanmaktadır. Bu bazlardan G ve A pürin bazları, S ve T ise pirimidin bazları olarak bilinir. İki nükleotit dizisi çift sarmal olarak kıvrılmıştır ve her dizide

bulunan bazlar A•T ve G•C şeklinde hidrojen bağlarıyla bağlıdır (Palecek ve Fojta, 2001; Palecek, 2002; Palecek ve Jelen, 2002). DNA'da bulunan şeker ise bir pentoz olan 2-deoksiribozdur (David ve Michael, 2013).

2.5.1 Guanozin

Guanozin, pürin bazı içeren bileşiklerden biridir ve bir riboz (ribofuranoz) halkasına β -N₉-glikosidik bağı ile bağlı bir Guaninden oluşmaktadır. Glikosilamin yapısında olan diğer nükleotitler (adenozin, sitidin, üridin, timidin, inozin) gibi Guanozin de fosfat grubu içermemesi ile bilinir ve genel olarak bu pürin bazı temelli bileşiklerin tanınması, ayrılması ve tayini oldukça önemlidir. Bu tip bileşikler, biyokimyasal süreçlerde etkin rol oynamaktadırlar (Fojta 2002; Wang ve ark. 2004; Fojta ve ark., 2016). Guanozin, beyinde nörokoruma ve nöromodülasyon olaylarında önemli bir görev üstlenir. Omurilik yaralanmalarında, psikolojik rahatsızlıklarda ve nörodejeneratif hastalıklarda iyileştirici, düzenleyici etkisi bulunmaktadır. Ayrıca, glutamat hareketini düzenleyerek Parkinson ve Alzheimer hastalıklarını hafifletici etkisi de bilinmektedir (Cryan ve Ross, 2019a).

2.6 Önceki Çalışmalar

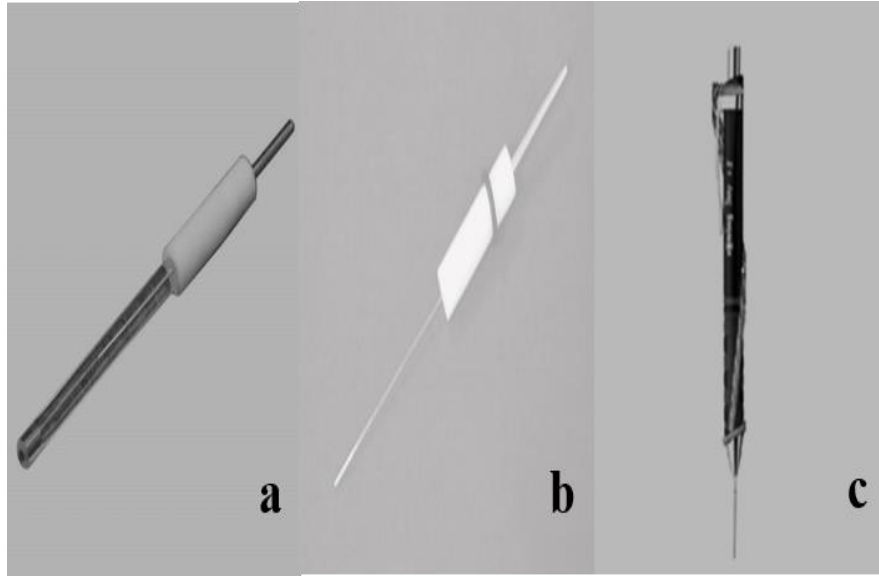
Literatürde, Guanozin ile alakalı elektrokimyasal çalışmalar oldukça azdır. Bu nedenle duyarlı, hızlı, ekonomik ve doğruluğu yüksek tayin sistemlerinin oluşturulması ve tasarlanması büyük önem arz etmektedir. Wang ve arkadaşları yaptıkları çalışmada, bor katkılı elmas elektrot ile birleştirilmiş mikroçip kılcal elektroforezini birkaç pürin ve pürin içeren bileşiklerin ayrılması ve saptanması için kullanmışlardır. Çalışmalarında 5 pürin bazı metabolitini (guanin, hipoksantin, guanozin, ksantin ve ürik asit), borat/fosfat tamponu (pH 8.2) kullanılarak 1000 V'lık bir ayrılma voltajında 6 dakika içinde ayırmışlardır (Wang ve ark., 2004). Sun ve arkadaşları, Guanozinin, bir iyonik sıvı olan N-bütülpiridinyum heksaflorofosfat (BPPF₆) ile modifiye ettikleri karbon pasta elektrodu (CPE) üzerinde Guanozin tayini gerçekleştirmişlerdir. Guanozinin, pH 4.5 Britton-Robinson (B-R) tampon çözeltisi içerisinde 1.12 V'da yükselgenmesi görülmüştür (Sun ve ark., 2009). Cryan ve arkadaşları yaptıkları bir çalışmada, karbon fiber mikroelektrotlarda hızlı tarama döngüsel voltametri (FSCV) kullanarak Guanozin ve Adenozinin birlikte tayinini gerçekleştirmişlerdir (Cryan ve ark., 2019a). Çalışmada kullanılan deneysel koşullar; -0.4 ile +1.45 V arası ileri döngü ve geri döngü tekrar -0.4 V olacak şekilde

verilmiştir. Yavaş hız olarak ileri döngüde 100 V s^{-1} , normal hız olarak ise geri döngüde 400 V s^{-1} kullanılmıştır. Çalışmanın doğrusal aralığı 100 nM ile $10 \text{ } \mu\text{M}$ arasında olup nM mertebesinde tayin gerçekleştirilmiştir. Yine aynı ekip, karbon fiber mikroelevtrotlarda hızlı tarama döngüsel voltametri kullanarak gerçek zamanlı olarak Guanozin derişimindeki hızlı dalgalanmaları tespit edecek bir yöntem geliştirmişlerdir. -0.4 V ile -1.3 V arasında tarama yapmışlardır. Ayrıca, Adenosin ile Guanozinin ayrılması da gerçekleştirilmiştir (Cryan ve ark., 2019b). Shi ve ark.,(2015) yaptıkları çalışmada Guanozin tayini için bir elektrot geliştirmişler ve Guanozinin elektrokimyasal davranışlarının incelenmesi için dönüşümlü voltametri tekniğini kullanmışlardır. Diferansiyel puls voltametrisi kullanarak Guanozin için tayin limiti $1.3 \text{ } \mu\text{M}$ olarak bulunmuştur. Goyal ve ark., (2007) Adenosin ve Guanozin tespiti için fulleren-C60 içeren camsı karbon elektrot hazırlamışlar ve elektrodun hipoksantin, ksantin, ürik asit ve askorbik asit varlığında mükemmel seçicilik sergilediğini tespit etmişlerdir. $\text{pH } 7.2$ 0.1 M fosfat çözeltisinde Guanozin ve Adenosin için tayin limitleri sırasıyla $3.02 \times 10^{-7} \text{ M}$ ve $1.45 \times 10^{-7} \text{ M}$ olarak hesaplanmıştır. Ayrıca, literatürde Guanin, Guanozin ve Guanozin-5' monofosfatın yükseltgenme gerilimlerinin teorik ve deneysel olarak incelendiği çalışmalar da bulunmaktadır (Liska ve ark., 2019). Deneysel olarak fosfat-asetat tamponunda ($\text{pH } 5.0$) Guanozine ait yükseltgenme cevabının $+1.08 \text{ V}$ civarında olduğu tespit edilmiştir. Deneylerde kullanılan elektrot, polimer kalem grafit elektrot olarak geçmektedir. Kullanılan referans elektrot ise Ag/AgCl/3M KCl 'dür.

3. MATERYAL ve YÖNTEM

3.1 Kullanılan Aletler ve Elektrotlar

Bu çalışmada elektrokimyasal deneyler, 3'lü elektrot sistemi ile gerçekleştirilmiştir. Çalışma elektrodu kalem grafit elektrot (PGE), referans elektrot Ag/AgCl referans elektrot (BASi, Lafayette, ABD) ve karşıt elektrot platin (Pt) (BASi, Lafayette, ABD) teldir. Elektrokimyasal yöntem olarak, dönüşümlü voltametri (CV), diferansiyel puls voltametrisi (DPV) ve elektrokimyasal empedans spektroskopisi (EIS) kullanılmıştır. Bu yöntemler, AUTOLAB-PGSTAT 204 (Metrohm, Hollanda) cihazında NOVA 1.11 yazılım sistemi varlığında yapılmıştır. EIS deneyleri, cihaza entegre edilmiş FRA32M (Metrohm, Hollanda) modülünde yürütülmüştür. Taramalı elektron mikroskobu görüntüleri ve enerji yayımlı X-ışını analizi (EDX) Hitachi SU 1510 (Hitachi, Almanya) ile gerçekleştirilmiştir.



Şekil 3.1 Kullanılan referans, karşıt ve çalışma elektrotları (a, b, c).

3.2 Kullanılan Reaktifler

Deneylerde kullanılan 3-aminofenilboronik asit (%98) monomeri, tamponların hazırlanması için kullanılan sodyum hidrojen fosfat ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$), sodyum dihidrojen fosfat ($\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$), sodyum asetat (NaCH_3COO), asetik asit (CH_3COOH), yüzey karakterizasyonu için kullanılan potasyum ferrisiyanür ($\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$), potasyum ferrosiyanür ($\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]$), potasyum klorür (KCl), sodyum klorür (NaCl) ve Guanozin (%98), Sigma-Aldrich'ten alınmıştır. Kullanılan

reaktifler analitik saflıkta olup çalışmalarda herhangi bir ön işlemden geçirilmeden kullanılmıştır.

3.3 Kullanılan Çözeltilerin Hazırlanması

Deneyle oda sıcaklığında ve 5 mL'lik cam beherler içerisinde gerçekleştirilmiştir. Çalışmalarda kullanılacak çözeltiler, saf suda hazırlanmıştır. Deney öncesinde kullanılan çözeltiler oksijen gazının girişim yapmaması için yüksek saflıkta (%99.99) azot gazından (BOS, Türkiye) geçirilmiştir (5-10 dk kadar).

3-aminofenilboronik asit (APBA) monomer çözeltisinin hazırlanması: 3-aminofenilboronik asit monomer çözeltisi; 0.3 M Na₂SO₄ içeren 50 mM pH 7.4 fosfat tamponunda hazırlanmıştır. Monomer derişimi 80 mM'dır.

3-aminofenilboronik asit/çok duvarlı karbon nanotüp çözeltilerinin hazırlanması: Yukarıda hazırlanan monomer çözeltisi içerisine farklı miktarlarda (mg mL⁻¹ şeklinde ifade edilmiştir) çok duvarlı karbon nanotüp eklenmiştir. Çözelti, ilk önce monomer eklemeyen sonikatörde bekletilmiş (1 saat civarı), en son aşamada ise monomer eklenip vortekslenerek deneylere başlanmıştır.

5 mM ferri-ferrosiyandır [Fe(CN)₆^{3-/4-}] içeren 0.1 M KCl çözeltisinin hazırlanması: 5 mM potasyum ferrisiyanür ve potasyum ferrosiyandır içeren 0.1 M KCl çözeltisi kullanılmıştır.

50 mM fosfat tampon çözeltisinin hazırlanması: 50 mM sodyum hidrojenfosfat ve sodyum dihidrojenfosfat içeren çözeltinin pH'ı 7.4 olacak şekilde pH ayarlamaları NaOH ile gerçekleştirilmiştir.

50 mM asetat tampon çözeltisinin hazırlanması: 50 mM olacak şekilde sodyum asetat ve asetik asitten saf su ile hazırlanmıştır. pH'ı 4.8 olacak şekilde pH ayarlamaları NaOH ile gerçekleştirilmiştir.

Guanozin çözeltisinin hazırlanması: 1 mM stok guanozin çözeltisi 50 mM pH 7.4 fosfat tamponunda (0.1 M NaCl içermektedir) ve 50 mM pH 4.8 asetat tamponunda (0.02 M NaCl içermektedir) hazırlanmıştır.

3.4 Deneysel Koşullar

Elektropolimerizasyon, dönüşümlü voltametri tekniği ile +0.0 V ile +1.0 V aralığında farklı çevrim sayılarında (5, 10 ve 20) ve farklı karbon nanotüp derişimlerinde (0.5 mg mL⁻¹, 1.0 mg mL⁻¹, 2.0 mg mL⁻¹, 3.0 mg mL⁻¹) gerçekleştirilmiştir. Kaplı elektrotlar, 5 mM Fe(CN)₆^{3-/4-} redoks probu içeren 0.1 M KCl içerisinde -0.3 V ile +0.6 V arasında dönüşümlü voltametri yöntemi ile karakterize edilmiştir. Guanozin kullanılarak yapılan dönüşümlü voltametri çalışmaları ise +0.4 V ile +1.4 V arasında iki farklı tampon ortamında (fosfat tamponu (pH 7.4) ve asetat tamponu (pH 4.8)) yapılmıştır. Diferansiyel puls voltametrisi çalışmaları, +0.4 V ile +1.4 V aralığında, 50 mV puls genliğinde ve tarama hızı 10 mV s⁻¹ şartlarında gerçekleştirilmiştir. Elektrokimyasal empedans spektroskopisi deneyleri ise +0.4 V'da 10⁻¹ - 10⁴ frekans aralığında yapılmıştır.

4. BULGULAR ve TARTIŞMA

Bu çalışmada amaç; poli(3-aminofenilboronik asit) (PAPBA) polimerini çok duvarlı karbon nanotüp varlığında tek kullanımlık elektrot yüzeylerine modifiye etmek, modifiye elektrotları karakterize etmek ve guanozinin elektrokimyasal tayinini gerçekleştirmek olarak hedeflenmiştir. Tez çalışması, iki aşamadan oluşmaktadır. 1. kısımda, poli(3-aminofenilboronik asit)/çok duvarlı karbon nanotüp kaplı nanoelektrotlar hazırlanmıştır. Boronik asit temelli yüzeylerin taşıdığı fonksiyonel gruplardan dolayı biyomedikal alanda önemli uygulamalarda kullanıldığı bilinmektedir (Aytaç ve ark., 2011, Kuralay ve ark., 2012). Bu amaçla tez çalışmasının 2. aşamasında hazırlanan nanokompozit kaplı nanoelektrotlarda Guanozinin elektrokimyasal davranışı incelenmiş ve sonrasında Guanozinin elektrokimyasal tayini gerçekleştirilmiştir. Deneylede dönüşümlü voltametri tekniği kullanılarak elektropolimerizasyon yapılmıştır. İlk olarak dönüşümlü voltametri yönteminde farklı çevrim sayılarında iletken polimer modifiye yüzeyler hazırlanmıştır. Bu elektrotların elektrokimyasal davranışları redoks probu ($Fe^{2+/3+}$) içeren 0.1 M KCl ortamında incelenmiştir. Daha sonra en iyi elektrokimyasal davranışı gösteren koşul tespit edilerek iletken polimer/karbon nanotüp kompozit yapılar yine dönüşümlü voltametri yöntemi ile elektrokimyasal polimerizasyonla hazırlanmıştır. Bu elektrotların elektrokimyasal cevapları yine redoks probu içeren 0.1 M KCl ortamında dönüşümlü voltametri (CV) ile incelenmiştir. Ayrıca, elektrotlar elektrokimyasal empedans spektroskopisi (EIS) ve taramalı elektron mikroskopu (SEM) ile de karakterize edilmiştir. Ek olarak, enerji yayımlı X-ışını analizi (EDX) sonuçları da alınmıştır. Guanozinin elektrokimyasal davranışı, poli(3-aminofenilboronik asit)/çok duvarlı karbon nanotüp kaplı elektrotta 0.01 mM Guanozin çözeltisi kullanılarak incelenmiştir. Çözeltiler 50 mM (pH 7.4) fosfat tamponu ve 50 mM (pH 4.8) asetat tamponu olmak üzere iki farklı pH ve ortamda hazırlanmıştır. Bu çalışmalarda dönüşümlü voltametri tekniği kullanılmıştır. Guanozin tayini ise yine iki farklı pH ve ortamda fosfat tamponu (50 mM, pH 7.4) ve asetat tamponu (50 mM, pH 4.8)'nda hazırlanan Guanozin çözeltilerinde diferansiyel puls yöntemi (DPV) ile gerçekleştirilmiştir. Ayrıca, Guanozin sinyalleri ile örtüşebilecek ve tayini güçleştirebilecek olan DNA bazı Guanin için de girişim

çalışması yapılmıştır. Ortaya çıkarılan tayin platformunun performansı ise hiçbir ön muameleye uğratılmayan idrarda ortaya konulmuştur.

“Poli(3-aminofenilboronik asit)/Çok Duvarlı Karbon Nanotüp Kaplı Nanoelektrotların Biyomedikal Uygulamaları” başlıklı tez çalışmasının amaçları şu şekilde özetlenebilir:

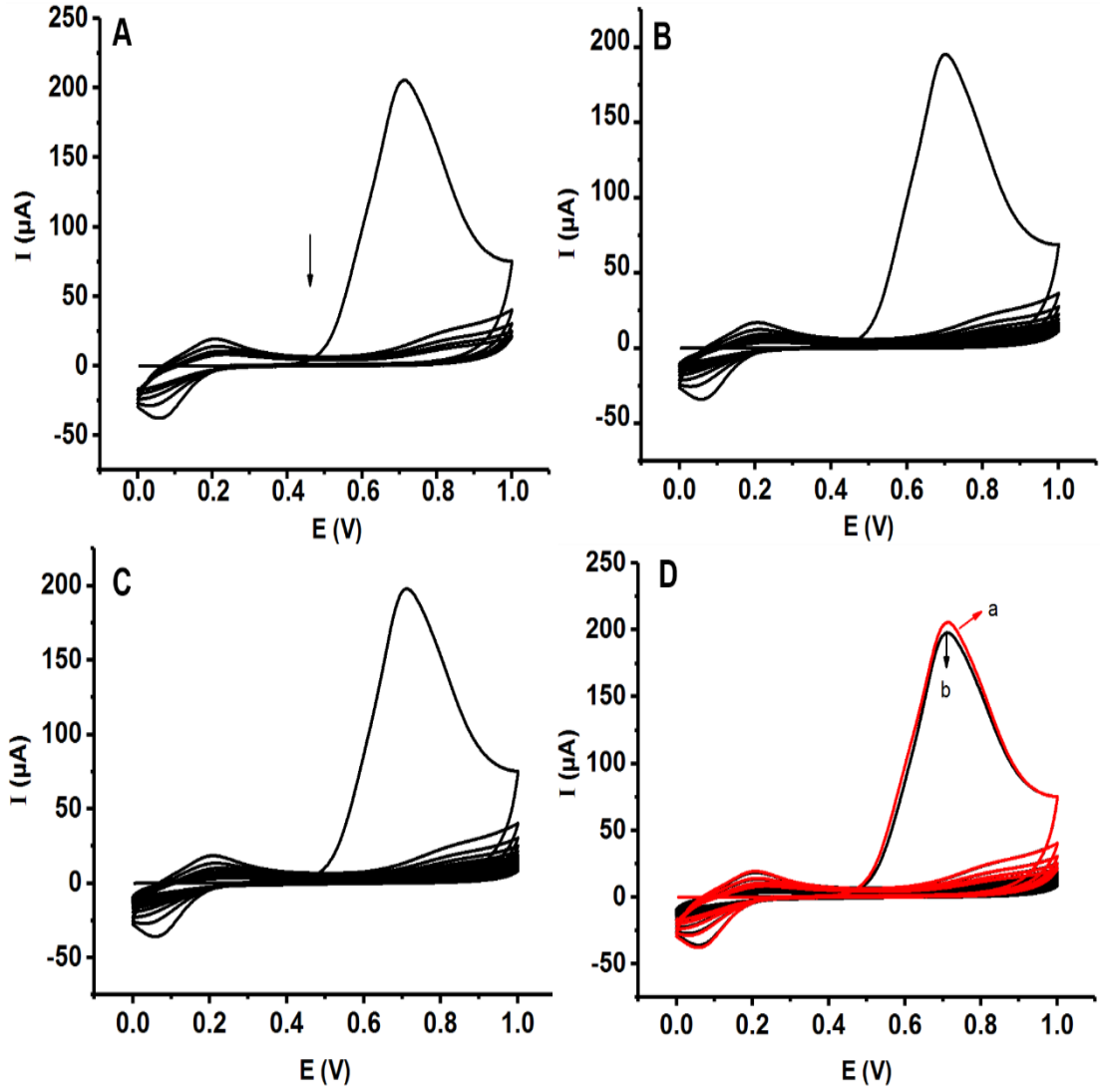
- Poli(3-aminofenilboronik asit)/çok duvarlı karbon nanotüp kaplı kalem grafit elektrotların hazırlanması
- Hazırlanan poli(3-aminofenilboronik asit)/çok duvarlı karbon nanotüp kaplı kalem grafit elektrotlar ile Guanozinin elektrokimyasal davranışının incelenmesi
- Hazırlanan poli(3-aminofenilboronik asit)/çok duvarlı karbon nanotüp kaplı kalem grafit elektrotlar ile Guanozin tayininde kullanılması

Bu amaçlar doğrultusunda aşağıda detaylandırılan tez çalışmaları gerçekleştirilmiştir.

4.1 3-Aminofenilboronik Asitin Çok Duvarlı Karbon Nanotüp Varlığında Sulu Çözelti Ortamında Kalem Grafit Elektrot Üzerinde Elektropolimerizasyonunun Gerçekleştirilmesi

4.1.1 Poli(3-aminofenilboronik asit) (PAPBA) için Uygun Elektropolimerizasyon Koşulunun Seçilmesi

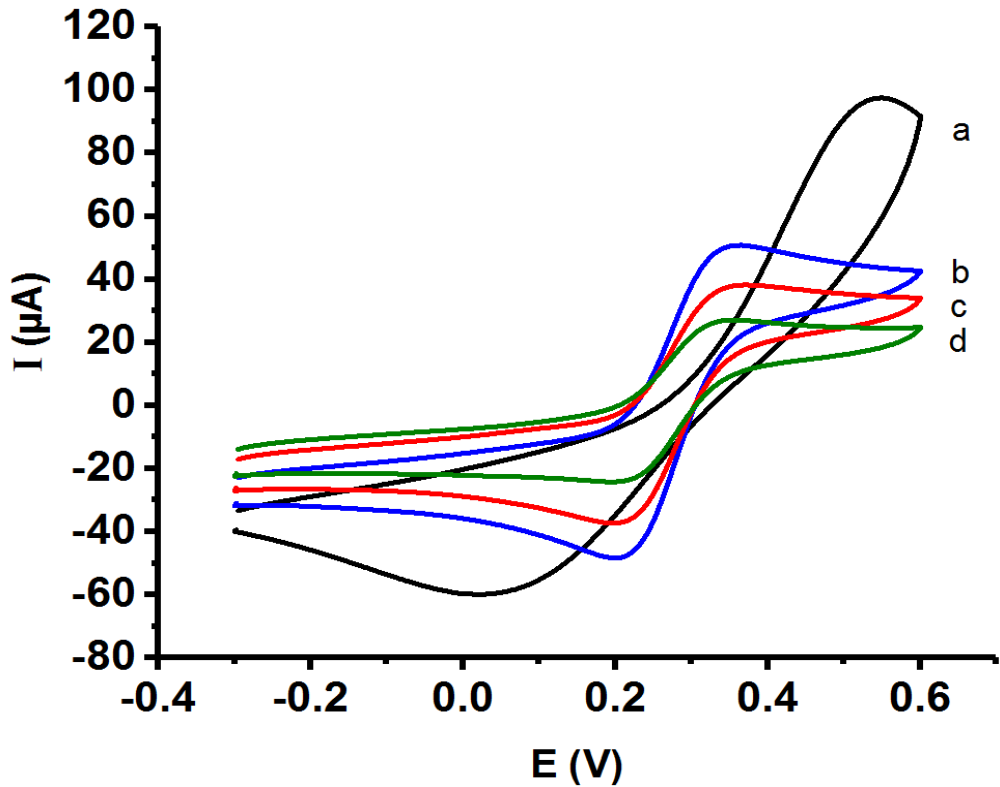
Tez çalışmasının ilk aşamasında optimum çalışma koşullarını belirlemek için kalem grafit elektrot (PGE) yüzeyine 80 mM 3-aminofenilboronik asit monomeri +0.0 V ile +1.0 V aralığında farklı çevrim sayıları (döngü sayıları) (5, 10 ve 20) kullanılarak dönüşümlü voltametri tekniği ile modifiye edilmiştir. Aşağıda bu polimerizasyonlara ait eğriler verilmektedir. Bu polimerizasyon eğrileri incelendiğinde, 3 koşulda da elektrokimyasal polimerizasyonun başarıyla gerçekleştiği görülmektedir. Monomerin elektroyükseltgenmesine ait cevap yaklaşık +0.75 V’da gözlenmekte, sonrasında ise bu pik kaybolmaktadır (Aytaç ve ark., 2011).



Şekil 4.1 80 mM APBA çözeltisi ile PGE kullanılarak dönüşümlü voltametri ile elde edilen polimerizasyon eğrileri A) 5 çevrim, B) 10 çevrim, C) 20 çevrim, D) 5 çevrim ve 20 çevrim sayısında elektropolimerizasyon eğrilerinin kıyaslanması a) 5 çevrim b) 20 çevrim (Gerilim aralığı: +0.0 V - +1.0 V, Tarama hızı: 100 mV s⁻¹).

Şekil 4.1A, B ve C’de sırasıyla 5 çevrim, 10 çevrim ve 20 çevrim için elde edilen eğriler verilmektedir. Şekil 4.1D’de ise 80 mM APBA çözeltisi kullanılarak dönüşümlü voltametri yöntemi ile kalem grafit elektrotta gerçekleştirilen 5 çevrim (ince polimerik yüzey, Şekil 4.1D-a) ve 20 çevrim (kalın polimerik yüzey, Şekil 4.1D-b)’lere ait polimerizasyon eğrileri örtüştürülmüştür. Elektropolimerizasyonların aynı akım skalasında gerçekleştiği ve monomere ait yükseltgenme cevabının ve sonrasında polimere ait davranışların da aynı potansiyellerde gerçekleştiği gözlenmektedir. Polimere ait yükseltgenme ve indirgenme davranışları sırasıyla, +0.2

V ve +0.05 V civarında tespit edilmiştir (Aytaç ve ark., 2011). Bu benzer cevaplar, aynı zamanda elektrot fabrikasyon sürecinde tekrarlanabilirliğin sağlanabilmesi ve kontrol edilebilmesi adına önemlidir. Sonrasında kaplanan polimerik yüzeylerin 0.1 M KCl ortamında (redoks probu varlığında) elektrokimyasal davranışı dönüşümlü voltametri yöntemi ile -0.3 V ile +0.6 V arasında tek döngü ile incelenmiştir. Bu davranışlar, üst üste örtüştürülerek Şekil 4.2’de gösterilmektedir. 5 çevrim ile elde edilen polimerik yüzeye ait cevapların, elde edilen yükseltgenme/indirgenme pik akımları baz alındığında en iyi sonucu verdiği tespit edilmiştir. Tersinirlik anlamında 3 kaplı elektrotta birbirine yakın ve modifiye edilmemiş elektroda göre oldukça iyi cevaplar vermiştir. En iyi tersinirlik 20 çevrimde elde edilen polimerik yüzeye ait olsa da sonuçlar birbirine yakındır ve pik akımlarındaki iyi cevaplar dolayısıyla optimum kaplama koşulu olarak 5 çevrim tercih edilmiştir. Sonuçlar ayrıca Çizelge 4.1’de özetlenmektedir.



Şekil 4.2 80 mM APBA çözeltisi kullanılarak farklı çevrim sayıları ile modifiye edilmiş elektrotların 5 mM Fe^{+2/+3} içeren 0.1 M KCl içerisindeki elektrokimyasal davranışları: modifiye edilmemiş PGE (a), modifiye edilmiş PGE’lar (b) 5 çevrim, (c) 10 çevrim, (d) 20 çevrim (Tarama hızı: 100 mV s⁻¹)

Çizelge 4.1 80 mM APBA çözeltisi kullanılarak farklı çevrim sayıları ile modifiye edilmiş elektrotların elektrokimyasal davranışlarına ait cevaplar.

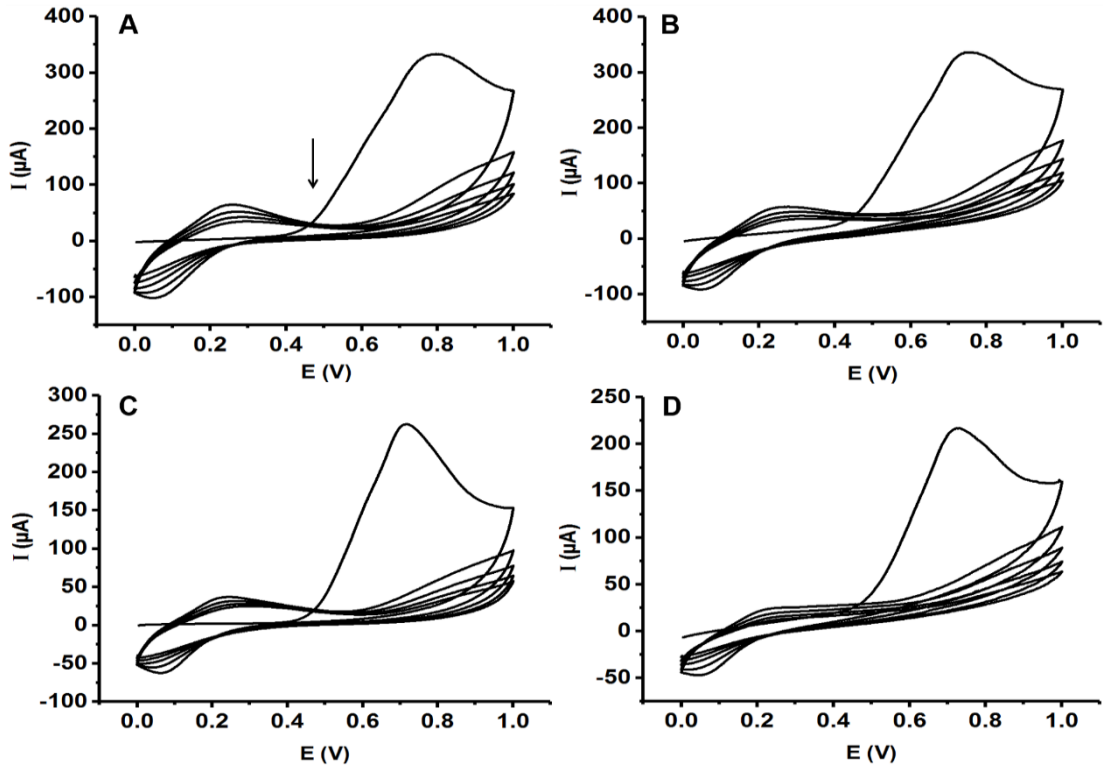
(80 mM APBA)	E_{pa} (V)	I_{pa} (μ A)	E_{pc} (V)	I_{pc} (μ A)	ΔE_p
5 çevrim	0.3372	38.4560	0.2127	55.6580	0.1220
10 çevrim	0.3421	26.4790	0.2127	42.0090	0.1269
20 çevrim	0.3323	18.5200	0.2151	25.7660	0.1147
Modifiye edilmemiş elektrot	0.0711	22.4270	0.5032	26.6470	0.4321

E_{pa} (V): Anodik pik gerilimi, I_{pa} (μ A): Anodik pik akımı, E_{pc} (V): Katodik pik gerilimi, I_{pc} (μ A): Katodik pik akımı, ΔE_p : Pik gerilimi farkı (pik ayrımı)

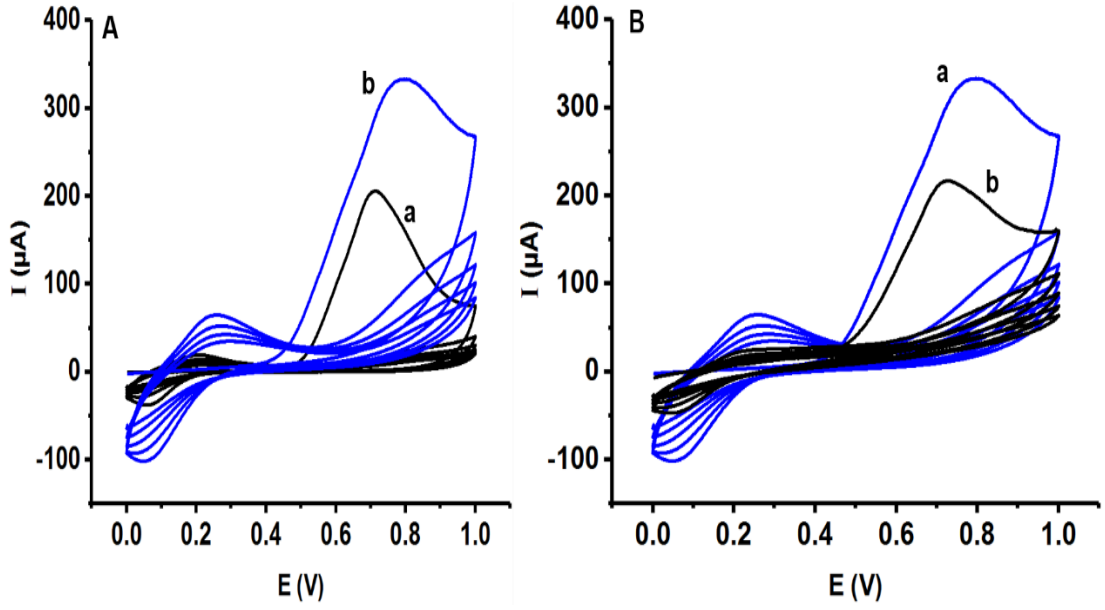
4.1.2 Poli (3-aminofenilboronik asit) (PAPBA)/Karbon Nanotüp Modifiye Elektrotların Optimizasyonu

5 çevrimde hazırlanan polimerik yüzeylere ait çalışma koşulları optimum olarak seçildikten sonra çalışmanın bu aşamasında, oluşturulan bu yüzeylere çok duvarlı karbon nanotüplerin yaptığı iyileştirmeler ve katkılar incelenmiştir. 3-aminofenilboronik asitin çok duvarlı karbon nanotüp varlığında kalem grafit elektrot üzerine tek basamakta hazırlanması gerçekleştirilmiştir. 0.5 mg mL⁻¹, 1.0 mg mL⁻¹, 2.0 mg mL⁻¹ ve 3.0 mg mL⁻¹ çok duvarlı karbon nanotüp katkılarıyla yapılan elektropolimerizasyonlara ait eğriler Şekil 4.3'te sırasıyla Şekil 4.3A, B, C ve D olarak verilmektedir. Şekil 4.4'te ise elektropolimerizasyon eğrileri kıyaslanmaktadır. Şekil 4.4A'da karbon nanotüp eklenmemiş (a) ve 0.5 mg mL⁻¹ eklenmiş olarak gerçekleştirilen polimerizasyon eğrileri örtüştürülmektedir. Bu eğrilerden de net bir şekilde görüldüğü üzere çok duvarlı karbon nanotüp varlığında polimerizasyon daha yüksek akımlarda gerçekleşmekte ve bu da elektriksel özellikleri oldukça iyi olan karbon nanotüpün yapıdaki etkisini işaret etmektedir. Şekil 4.4B'de ise 0.5 mg mL⁻¹ (a) ve 3.0 mg mL⁻¹ (b) karbon nanotüp ekli polimerizasyona ait eğriler bir arada gösterilmektedir. Bu şekil ise düşük derişimde yapıya dopant olarak giren karbon nanotüp katkısının yeterli olduğunu göstermektedir. Şekil 4.5A'da farklı derişimlerde polimerizasyon ortamına dahil edilen çok duvarlı karbon nanotüp varlığında hazırlanarak elde edilen nanokompozit

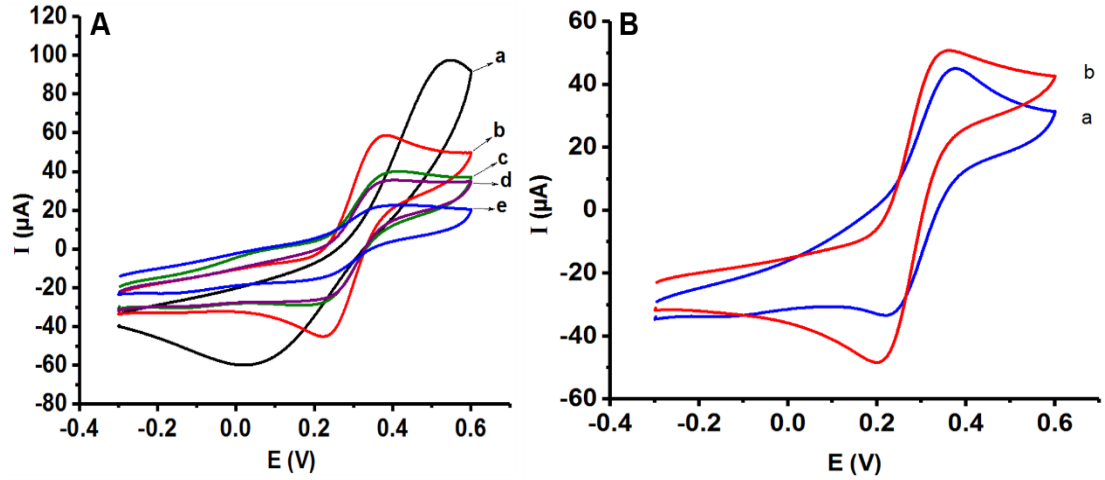
kaplı elektrotlara ait elektrokimyasal cevaplar gösterilmektedir. Kaplanan polimerik yüzeylerin bu davranışları, 0.1 M KCl ortamında (redoks probu varlığında) dönüşümlü voltametri yöntemi ile -0.3 V ile +0.6 V arasında tek döngü ile incelenmiştir. Ayrıca, sonuçlar Çizelge 4.2’de özetlenmiştir. Bu veriler detaylı incelendiğinde polimerizasyon ortamına eklenen 0.5 mg mL^{-1} çok duvarlı karbon nanotüp katkısıyla elde edilen polimer kaplı elektroda ait davranışın en iyi olduğu saptanmıştır. Bu elektrotta redoks probuna ait cevapların yüksek pik akımlarında gözlemlendiği tespit edilmiştir. Tersinirlik de yine bu derişimde en iyidir. Bu nedenle, çalışmalara 0.5 mg mL^{-1} çok duvarlı karbon nanotüp katkısıyla elde edilen poli(3-aminofenilboronik asit) kaplı elektrotlarla devam edilmiştir. Sadece polimer kaplı elektroda kıyasla özellikle elde edilen yükseltgenme/indirgenme pik akımlarında iyileşmeler görülmüştür. Bu sonuçlar da Şekil 4.5B’de özetlenmektedir.



Şekil 4.3 80 mM APBA çözeltisi içerisinde farklı miktarlarda MWCNTs ilavesiyle dönüşümlü voltametri yöntemi ile elde edilen elektropolimerizasyon eğrileri: A) 0.5 mg mL^{-1} , B) 1.0 mg mL^{-1} , C) 2.0 mg mL^{-1} , D) 3.0 mg mL^{-1} (Gerilim aralığı: +0.0 V - +1.0 V, Tarama hızı: 100 mV s^{-1})



Şekil 4.4 A) 80 mM APBA çözeltisi içerisinde MWCNTs ilave edilmemiş (a), 0.5 mg mL⁻¹ MWCNTs ilavesiyle (b), B) farklı miktarlarda MWCNTs ilavesiyle dönüşümlü voltametri yöntemi ile elde edilen elektropolimerizasyon eğrilerinin kıyaslanması: 0.5 mg mL⁻¹ (a), 3.0 mg mL⁻¹ (b) (Tarama hızı: 100 mV s⁻¹)

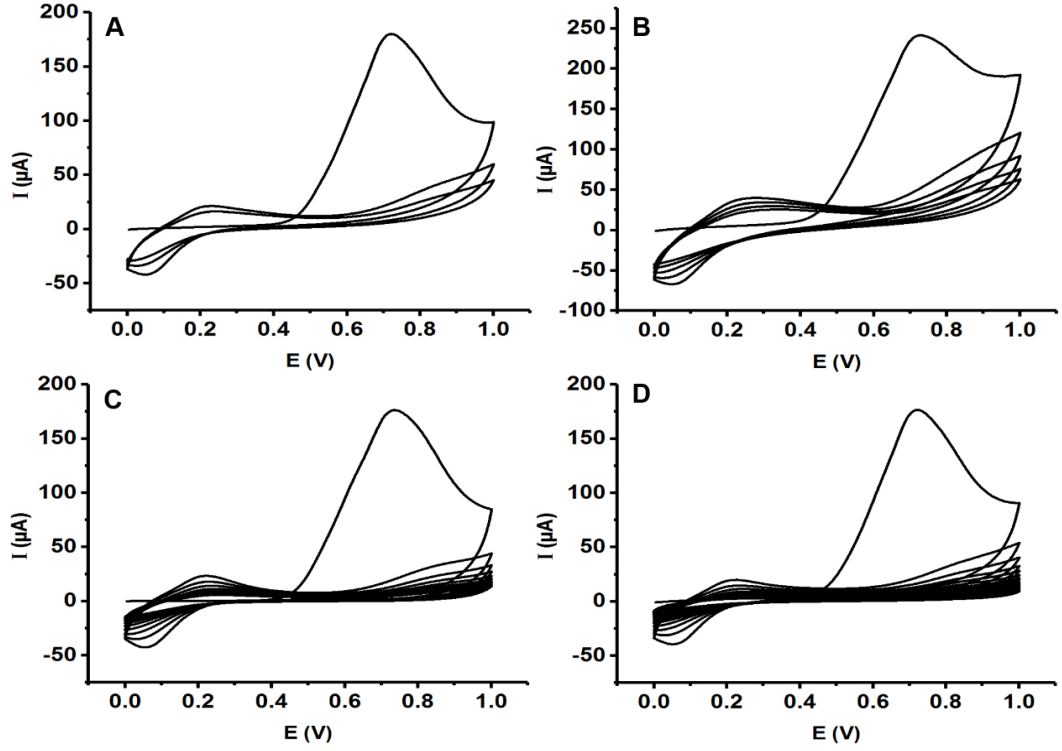


Şekil 4.5 A) 80 mM APBA ve farklı derişimlerde karbon nanotüp çözeltisi kullanılarak modifiye edilmiş PGE'nin 5 mM Fe^{+2/+3} içeren 0.1 M KCl içerisindeki elektrokimyasal davranışlarının kıyaslanması: modifiye edilmemiş PGE (a), 80 mM APBA+0.5 mg mL⁻¹ MWCNTs (b), 80 mM APBA+1.0 mg mL⁻¹ MWCNTs (c), 80 mM APBA+2.0 mg mL⁻¹ MWCNTs (d), 80 mM APBA+3.0 mg mL⁻¹ MWCNTs (e), B) 80 mM APBA çözeltisi kullanılarak modifiye edilmiş (a), 80 mM APBA+0.5 mg mL⁻¹ MWCNTs çözeltisi kullanılarak modifiye edilmiş (b) PGE'lerin 5 mM Fe^{+2/+3} içeren 0.1 M KCl içerisindeki elektrokimyasal davranışlarının kıyaslanması. (Tarama hızı: 100 mV s⁻¹)

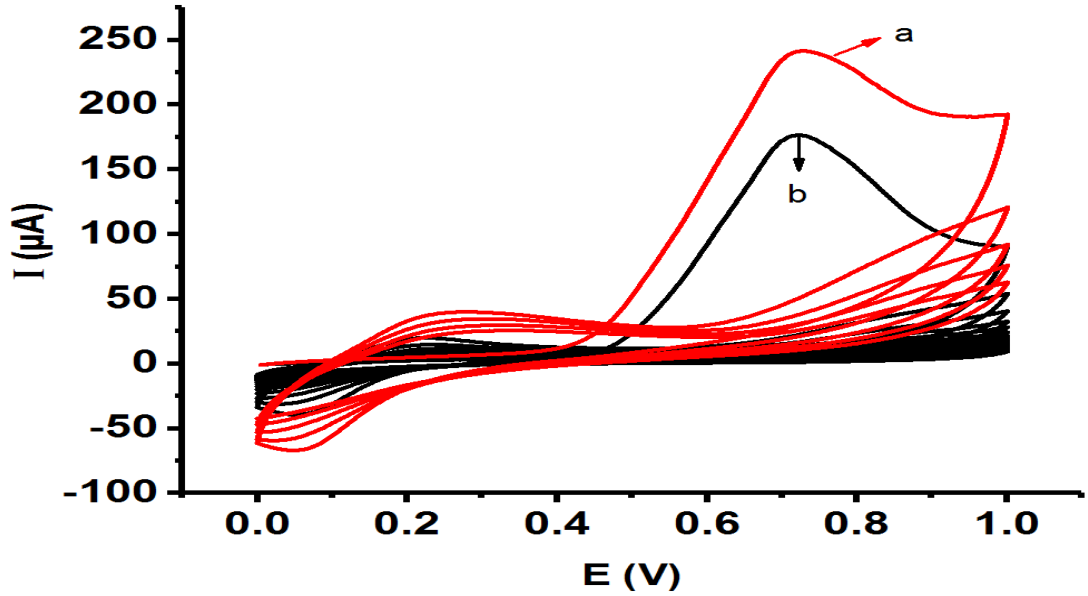
Çizelge 4.2 80 mM APBA ve farklı derişimlerde karbon nanotüp çözeltisi kullanılarak modifiye edilmiş elektrotların elektrokimyasal davranışlarına ait cevaplar

(80 mM APBA+MWCNTs)	E_{pa} (V)	I_{pa} (μ A)	E_{pc} (V)	I_{pc} (μ A)	ΔE_p
Modifiye edilmemiş elektrot	0.0711	22.4270	0.5032	26.6470	0.4321
PAPBA/PGE	0.3372	38.4560	0.2127	55.6580	0.1220
PAPBA/PGE (0.5 mg mL⁻¹ MWCNTs)	0.3610	38.7890	0.2392	45.2000	0.1218
PAPBA/PGE (1.0 mg mL⁻¹ MWCNTs)	0.3663	20.3730	0.2373	23.4290	0.1290
PAPBA/PGE (2.0 mg mL⁻¹ MWCNTs)	0.3641	20.3710	0.2371	25.0970	0.1270
PAPBA/PGE (3.0 mg mL⁻¹ MWCNTs)	0.3651	10.4790	0.2325	8.7630	0.1326

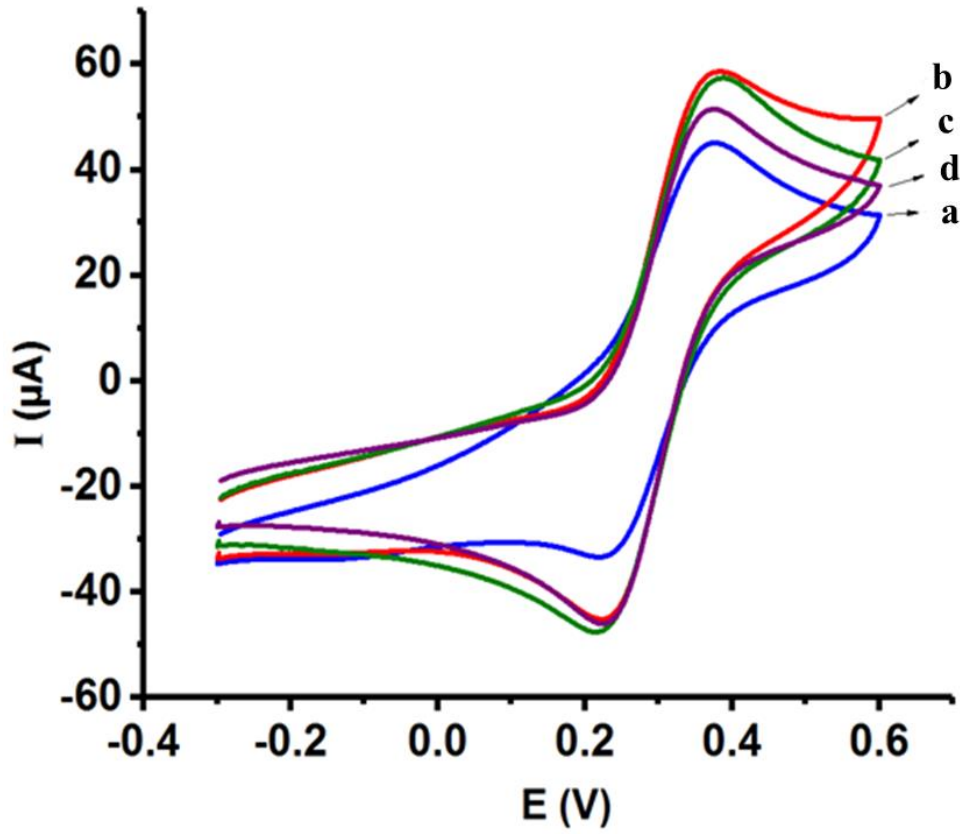
0.5 mg mL⁻¹ çok duvarlı karbon nanotüp katkısıyla elde edilen modifiye elektrotların göstermiş olduğu cevaptaki iyileşmeye, farklı çevrim sayılarında yapılan elektropolimerizasyonun katkısı da tez çalışması kapsamında incelenmiştir. Bu deneylerde 3, 5, 10 ve 20 çevrim sayıları kullanılmıştır. Şekil 4.6'da sırasıyla bu elektropolimerizasyonlara ait dönüşümlü voltametik eğriler gösterilmektedir. Şekil 4.7'de ise 5 çevrim (a) ve 20 çevrim (b)'e ait eğriler örtüştürülmektedir. 5 çevrimde elde edilen polimerizasyonun daha iyi olduğu görülmektedir. Kaplanan polimerik yüzeylerin elektrokimyasal davranışları yine 0.1 M KCl ortamında (redoks probu varlığında) dönüşümlü voltametri yöntemi ile -0.3 V ile +0.6 V arasında incelenmiştir. Sonuçlar ise Çizelge 4.3'te özetlenmektedir. Bu sonuçlar incelendiğinde en iyi elektrokimyasal cevabın 5 ve 10 çevrimde elde edildiği görülmüştür. Cevaplar birbirine çok yakın olduğu için çalışmalara 80 mM APBA çözeltisi içinde 0.5 mg mL⁻¹ çok duvarlı karbon nanotüp katkısıyla 5 çevrim elektropolimerizasyon sonucunda hazırlanarak elde edilen modifiye elektrotlarla devam edilmiştir.



Şekil 4.6 80 mM APBA çözeltisi ile 0.5 mg mL^{-1} karbon nanotüp çözeltisi kullanılarak modifiye edilmiş PGE'un farklı çevrimlerde dönüşümlü voltametri yöntemi ile elde edilen elektropolimerizasyon eğrileri: A) 3 çevrim, B) 5 çevrim, C) 10 çevrim, D) 20 çevrim (Tarama hızı: 100 mV s^{-1})



Şekil 4.7 80 mM APBA çözeltisi ile 0.5 mg mL^{-1} karbon nanotüp çözeltisi kullanılarak modifiye edilmiş PGE'un 5 çevrimde (a) ve 20 çevrimde (b) dönüşümlü voltametri yöntemi ile elde edilen elektropolimerizasyon eğrilerinin kıyaslanması (Tarama hızı: 100 mV s^{-1})



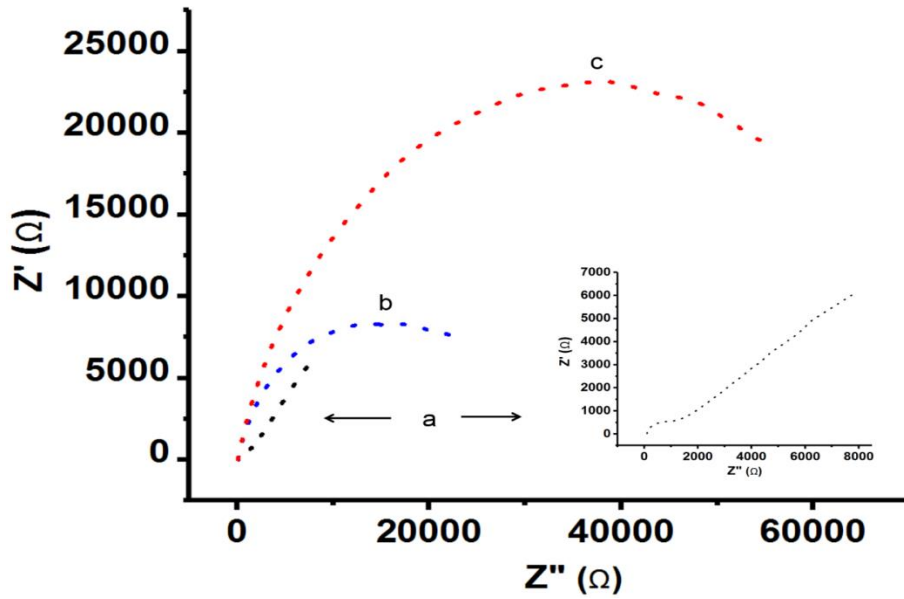
Şekil 4.8 80 mM APBA ve 0.5 mg mL⁻¹ karbon nanotüp içeren çözelti kullanılarak farklı çevrim sayıları ile modifiye edilmiş elektrotların 5 mM Fe^{+2/+3} içeren 0.1 M KCl içerisindeki elektrokimyasal davranışları: 3 çevrim (a), 5 çevrim (b), 10 çevrim (c), 20 çevrim (d) (Tarama hızı: 100 mV s⁻¹)

Çizelge 4.3 80 mM APBA ve 0.5 mg mL⁻¹ karbon nanotüp çözeltisi kullanılarak modifiye edilmiş elektrotların farklı çevrim sayılarında elektrokimyasal davranışlarına ait cevaplar

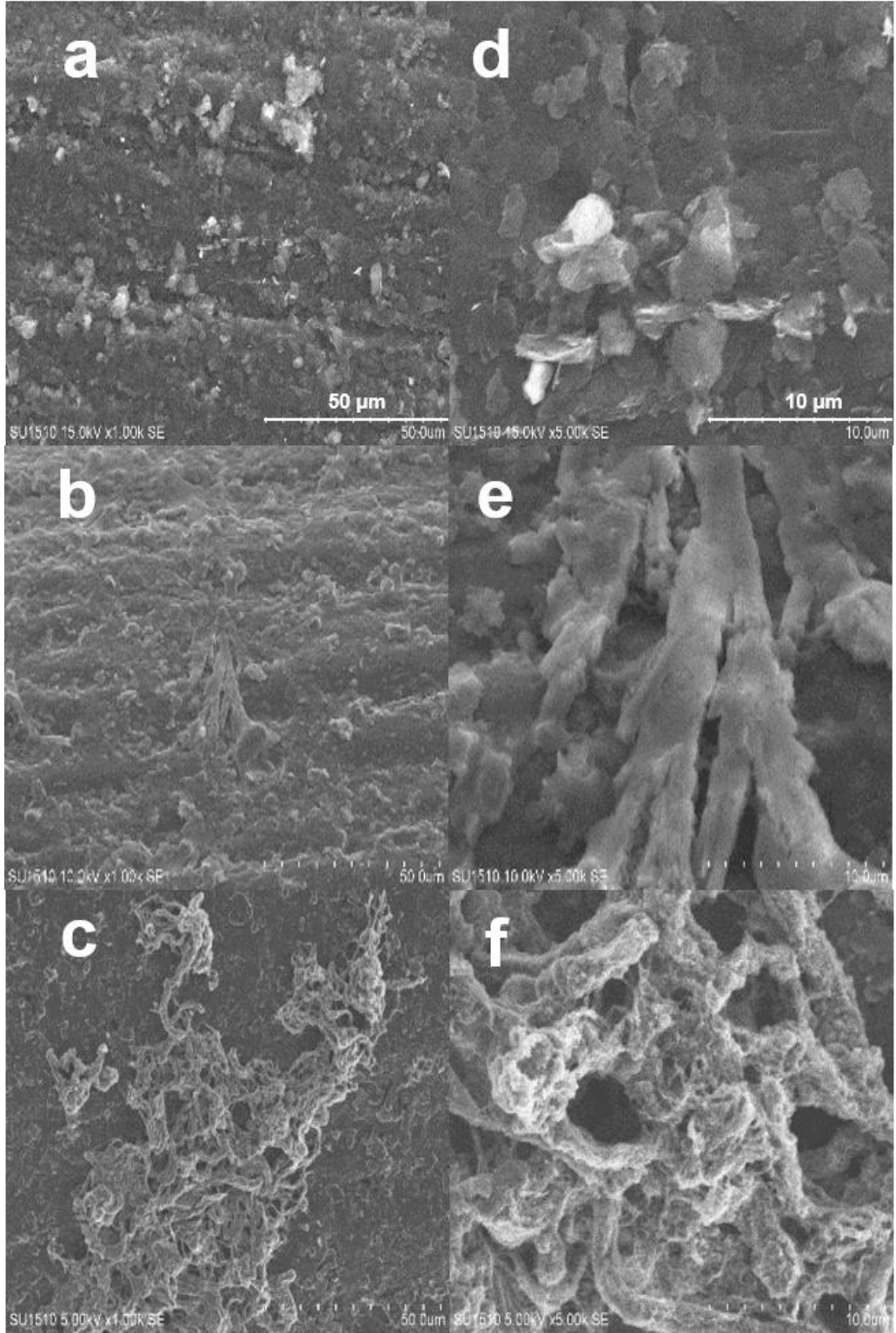
(80 mM APBA +0.5 mg mL ⁻¹ MWCNTs)	E _{pa} (V)	I _{pa} (µA)	E _{pc} (V)	I _{pc} (µA)	ΔE _p
3 çevrim	0.3641	26.3590	0.2330	32.2540	0.1311
5 çevrim	0.3610	38.7890	0.2392	45.2000	0.1218
10 çevrim	0.3640	38.9310	0.2374	51.6630	0.1266
20 çevrim	0.3641	37.7181	0.2362	45.9270	0.1279

4.2 Poli (3-aminofenilboronik asit) (PAPBA)/Çok Duvarlı Karbon Nanotüp (MWCNTs) Modifiye Elektrotların Karakterizasyonu

Optimum karbon nanotüp katkısıyla hazırlanan nanokompozit kaplı elektrotlar yukarıda anlatıldığı şekilde dönüşümlü voltametri ile elektrokimyasal davranışları incelendikten sonra elektrokimyasal empedans spektroskopisi (EIS) yöntemi ve taramalı elektron mikroskobu (SEM) ile karakterize edilmiştir. Ayrıca, modifiye edilmemiş elektrot ve polimer modifiye elektrotlarla da kıyaslamalar yapılmıştır. Şekil 4.9'da bu sonuçlar özetlenmektedir. Polimerin davranışının karbon nanotüp eklemesinden sonra iyileştiği ve elektron transferinin kolaylaştığı anlaşılmaktadır. Şekilde modifiye edilmemiş elektrot davranışı ayrıca iç şekil olarak verilmiştir. Sonrasında ise Şekil 4.9'da özetlenen modifiye edilmemiş elektrot, PAPBA kaplı elektrot ve PAPBA/MWCNTs kaplı elektrot için SEM görüntüleri alınmıştır (Şekil 4.10). Bu yüzeylerdeki morfolojik farklılıkların yanı sıra, karbon nanotüp yapısının polimerik yapı içerisindeki varlığı ve homojen dağılımı SEM görüntülerinde oldukça açık bir şekilde ortaya çıkmaktadır. Bu da tek basamakta yürüyen elektrokimyasal polimerizasyonun başarısını göstermektedir.

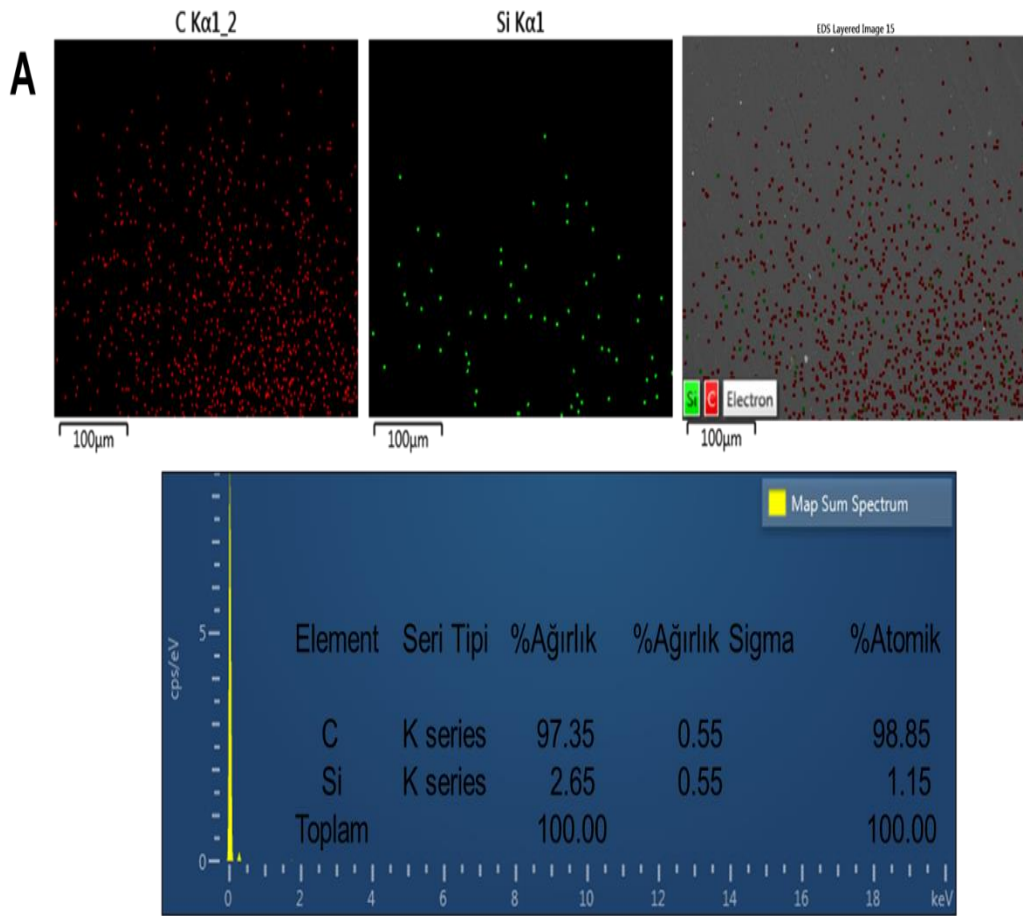


Şekil 4.9 Elektrokimyasal empedans spektrumları a) modifiye edilmemiş elektrot, b) PAPBA modifiye elektrot, c) PAPBA/MWCNTs modifiye elektrot (iç şekil: sadece modifiye edilmemiş elektrot, polimerizasyon koşulları: 80 mM PAPBA+0.5 mg mL⁻¹ MWCNTs, 5 çevrim),(Frekans aralığı: 10⁻¹ – 10⁴ Hz)

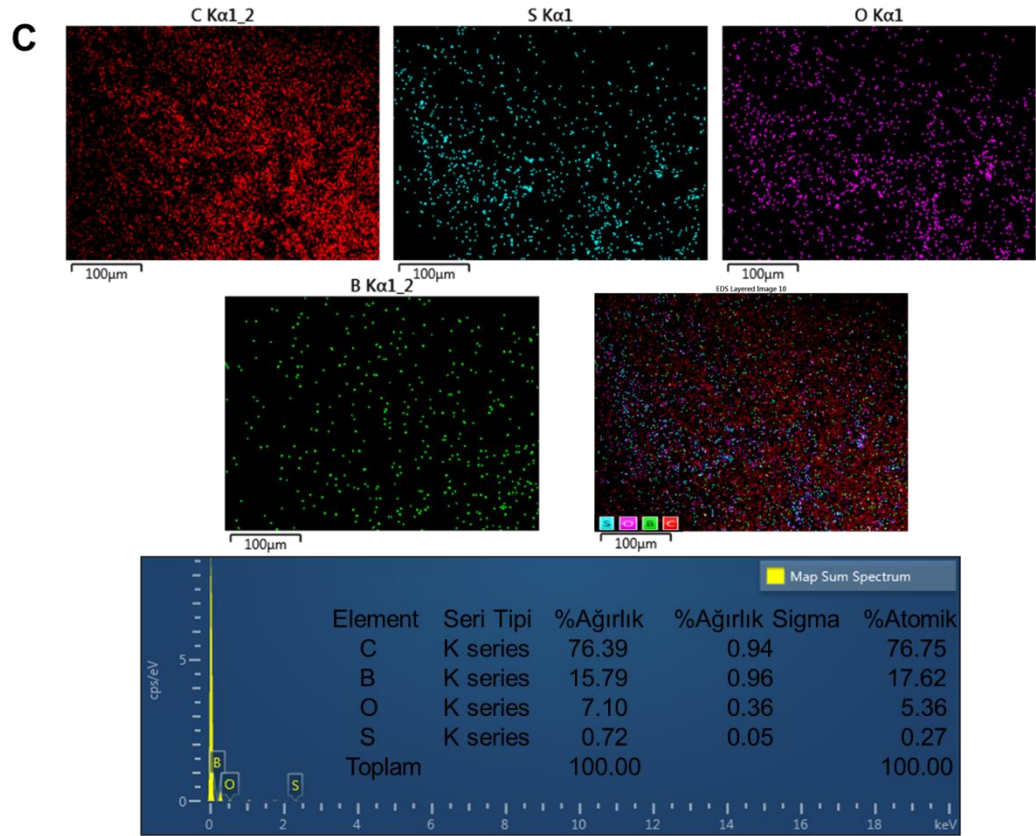
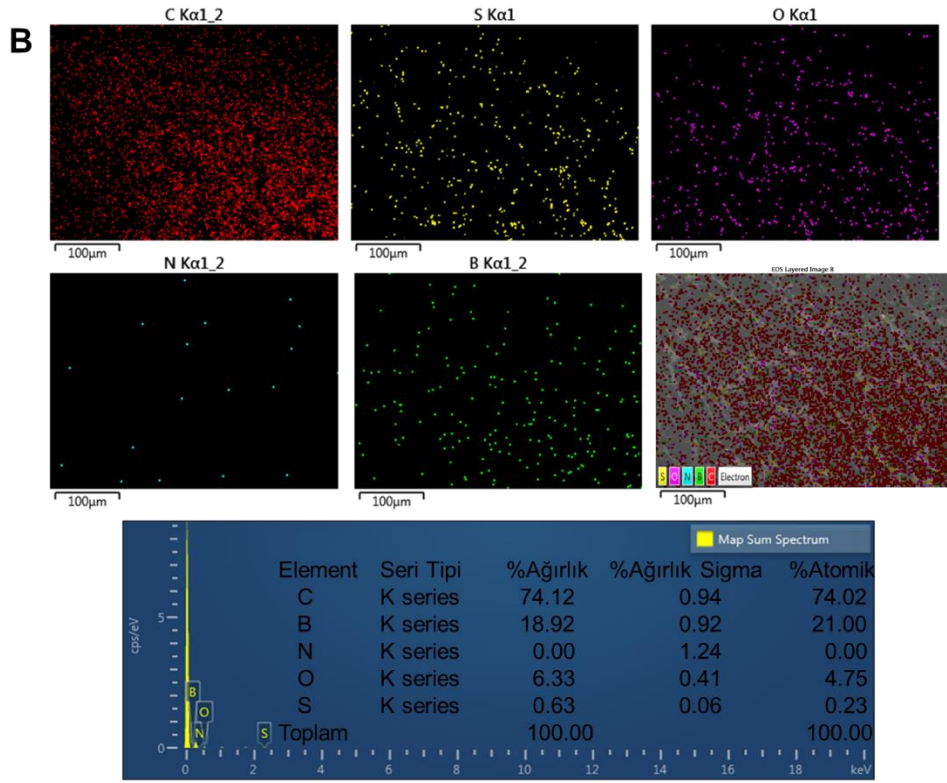


Şekil 4.10 Taramalı elektron mikroskobu görüntüleri, düşük çözünürlükte (50 µm): a) modifiye edilmemiş elektrot, b) PAPBA modifiye elektrot, c) PAPBA/MWCNTs modifiye elektrot, yüksek çözünürlükte (10 µm): d) modifiye edilmemiş elektrot, e) PAPBA modifiye elektrot, f) PAPBA/MWCNTs modifiye elektrot

SEM görüntülerine ek olarak enerji yayımlı X-ışını analizi (EDX) sonuçları da alınmıştır. Şekil 4.11A'da modifiye edilmemiş elektroda ait analiz sonuçları, Şekil 4.11B'de sadece polimer kaplı elektroda ait analiz sonuçları, Şekil 4.11C'de ise karbon nanotüp içeren polimer kaplı elektroda ait analiz sonuçları; elemental dağılımları ve yüzdeleri gösterecek şekilde verilmektedir. Polimerik yapının başarıyla elektrot yüzeyine modifiye edildiği, analiz sonuçlarında elde edilen %B (monomerin yapısında bulunan), %S (polimer çözeltisinde bulunan Na₂SO₄ kaynaklı) ve %O (polimer çözeltisinde bulunan Na₂SO₄ kaynaklı)'den anlaşılabilir. Karbon nanotüp varlığında ise %C'un az da olsa arttığı tespit edilmiştir.



Şekil 4.11 EDX analiz sonuçları: A) modifiye edilmemiş elektrot



Şekil 4.11 EDX analiz sonuçları: B) PAPBA modifiye elektrot, C) PAPBA/MWCNTs modifiye elektrot

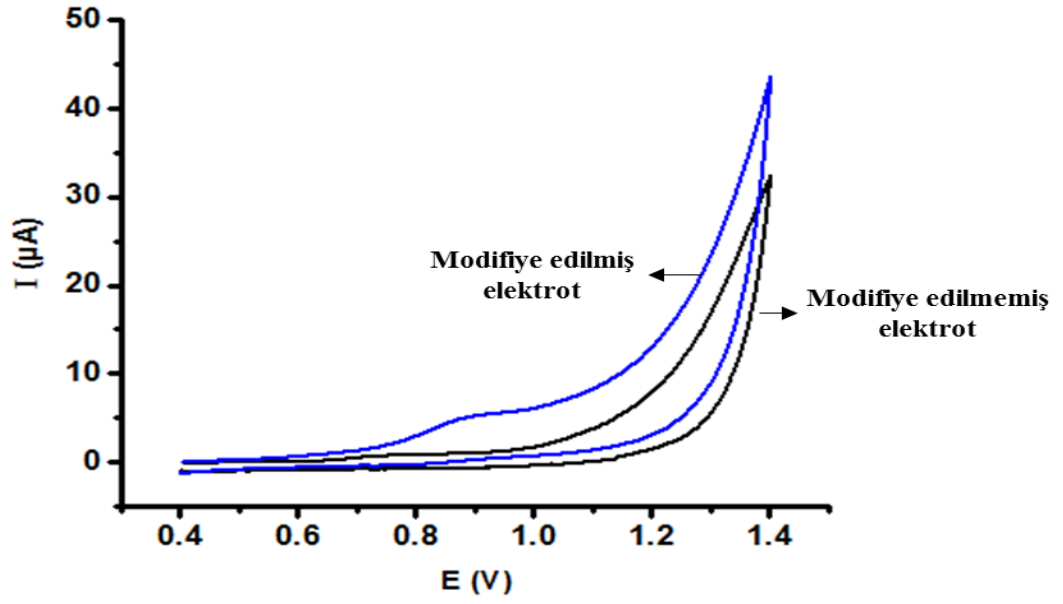
4.3 Poli(3-aminofenilboronik asit)/Çok Duvarlı Karbon Nanotüp Kaplı Kalem Grafit Elektrotlar ile Biyomedikal Uygulamalar

Optimum koşullarda hazırlanan poli(3-aminofenilboronik asit)/çok duvarlı karbon nanotüp kaplı kalem grafit elektrotların biyomedikal uygulamaları Guanozin için iki kısımda yapılmıştır:

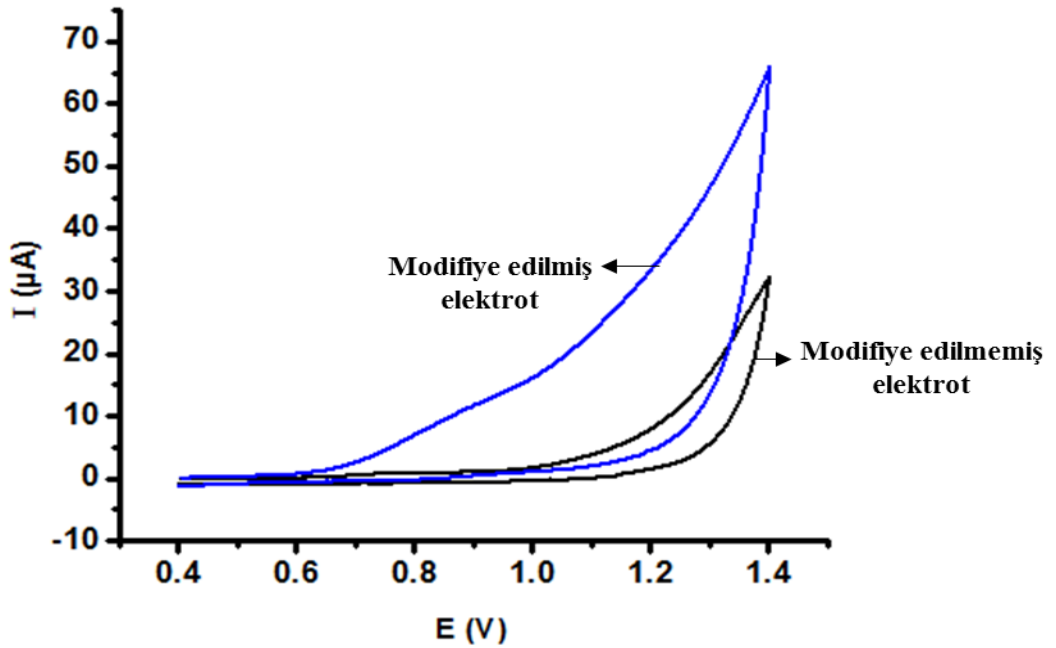
- Guanozinin elektrokimyasal davranışının incelenmesi
- Guanozinin elektrokimyasal tayininin gerçekleştirilmesi

Guanozinin elektrokimyasal davranışı, poli(3-aminofenilboronik asit)/çok duvarlı karbon nanotüp kaplı elektrotta 0.01 mM Guanozin çözeltileri kullanılarak incelenmiştir. Çözeltiler, 50 mM (pH 7.4) fosfat tamponu ve 50 mM (pH 4.8) asetat tamponu olmak üzere iki farklı pH ve ortamda hazırlanmıştır. Çalışma dönüşümlü voltametri tekniği ile +0.4 V ve +1.4 V aralığında gerçekleştirilmiştir. Her aşamada modifiye edilmemiş kalem grafit elektrotla da kıyaslamalar yapılmıştır. Guanozin tayini ise yine iki farklı pH ve ortamda (50 mM (pH 7.4) fosfat tamponu ve 50 mM (pH 4.8) asetat tamponu) hazırlanan Guanozin çözeltilerinde gerçekleştirilmiştir. Kalibrasyon doğruları oluşturulmuş ve tayin limitleri hesaplanmıştır (n=3). Kullanılan yöntem en hassas elektroanalitik yöntemlerden biri olan diferansiyel puls voltametrisidir. Ayrıca, Guanozin sinyalleri ile çakışabilecek ve bu nedenle tayini güçleştirebilecek DNA bazı, Guanin (G) için de girişim çalışması yapılmıştır.

Şekil 4.12’de 0.01 mM fosfat tamponunda hazırlanan Guanozin içerisinde modifiye edilmemiş elektrot ve kaplı elektrotlara ait dönüşümlü voltametrik davranışlar verilmektedir. Kaplı elektrotta Guanozine ait yükseltgenme sinyali (+0.9 V civarı) net bir şekilde görülmektedir. Modifiye edilmemiş elektrotta bu davranış oldukça zayıftır ve net bir şekilde ayırt edilememektedir. 4.13’de 0.01 mM asetat tamponunda hazırlanan Guanozin içerisinde modifiye edilmemiş elektrot ve kaplı elektrotlara ait dönüşümlü voltametrik davranışlar verilmektedir. Kaplı elektrotta Guanozine ait yükseltgenme sinyali (+0.9 V civarı) net bir şekilde görülmektedir. Modifiye edilmemiş elektrotta bu davranış oldukça zayıftır ve net bir şekilde ayırt edilememektedir. Asetat tamponunda Guanozine ait sinyalin daha yaygın bir şekilde elde edildiği tespit edilmiştir.

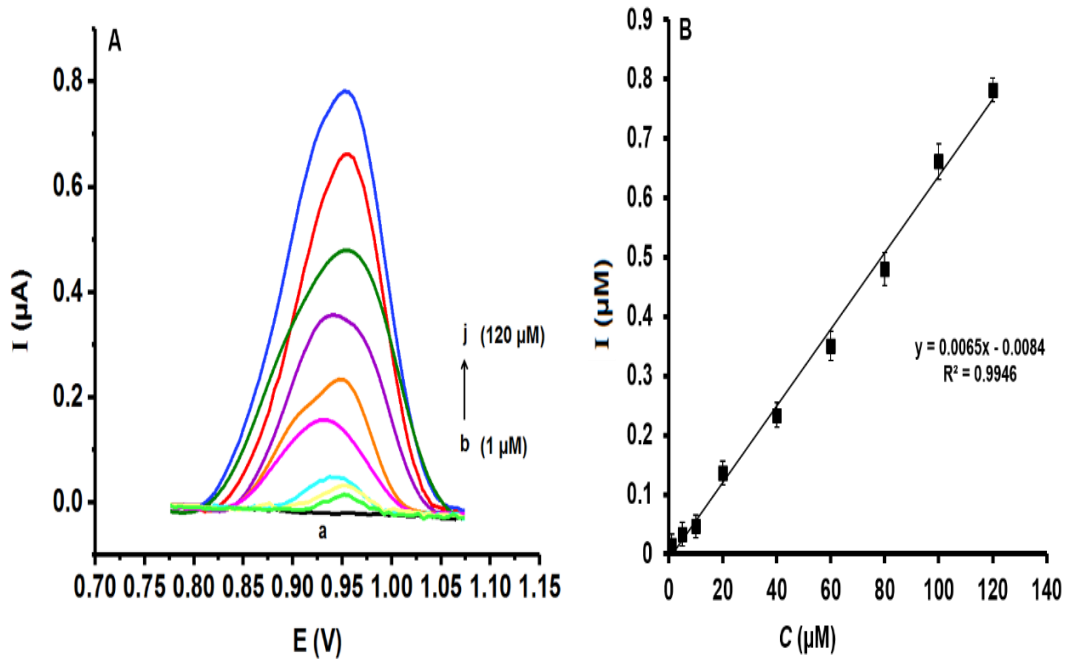


Şekil 4.12 80 mM APBA+0.5 mg mL⁻¹ MWCNTs çözeltisiyle modifiye edilmiş PGE'un ve modifiye edilmemiş PGE'un fosfat tamponu ile hazırlanan 0.01 mM Guanozin içerisindeki dönüşümlü voltametrik davranışları (Tarama hızı: 100 mV s⁻¹)



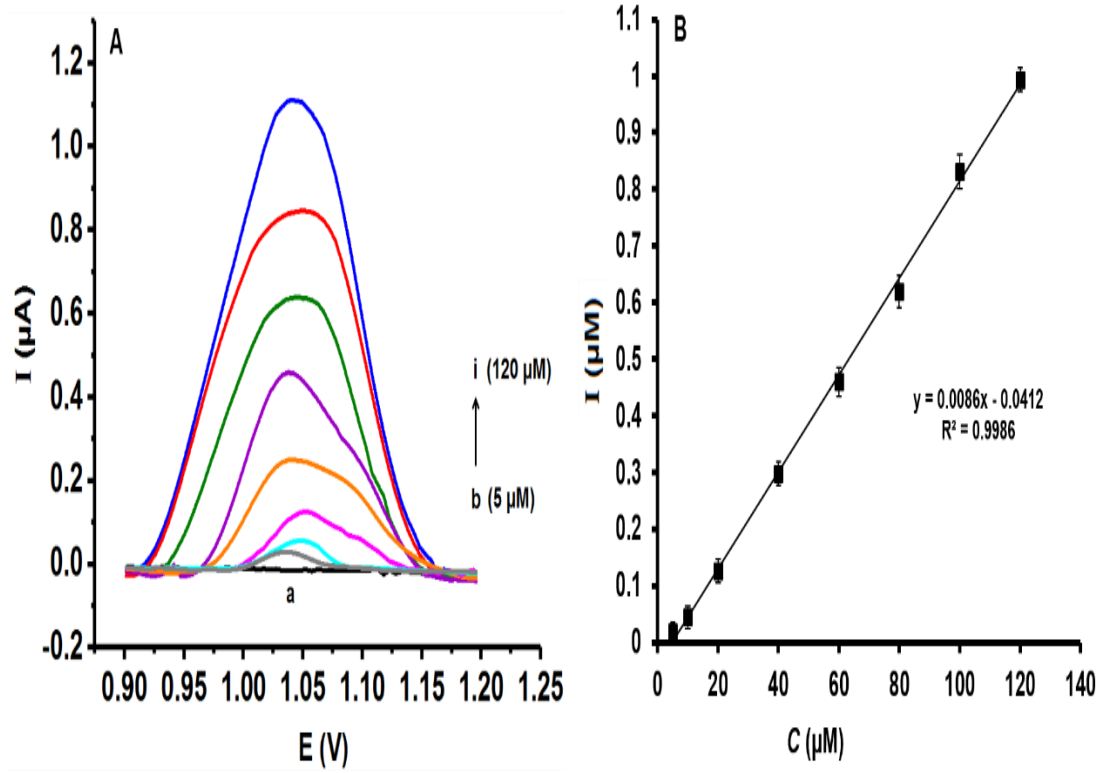
Şekil 4.13 80 mM APBA+0.5 mg mL⁻¹ MWCNTs çözeltisiyle modifiye edilmiş PGE'un ve modifiye edilmemiş PGE'un asetat tamponu ile hazırlanan 0.01 mM Guanozin içerisindeki dönüşümlü voltametrik davranışları (Tarama hızı: 100 mV s⁻¹)

Guanozin içerisindeki dönüşümlü voltametrik davranışlardan sonra farklı derişimlerde hazırlanan Guanozin için tayin çalışmaları yapılmıştır. Şekil 4.14A fosfat tamponunda hazırlanan farklı derişimlerdeki Guanozine ait diferansiyel puls voltamogramlarını içermektedir. Yapılan çalışmalar sonucunda karbon nanotüp katkılı polimer modifiye elektroda ait doğrusal çalışma aralığının (uygulanabilir derişim aralığı) 1 μM ile 120 μM Guanozin arasında olduğu tespit edilmiştir (n=3). Guanozin yükseltgenme pik akımları grafiğe geçirilerek kalibrasyon doğrusu oluşturulmuştur (Şekil 4.14B). Bu doğru kullanılarak hesaplanan tayin limiti (algılama sınırı) 0.14 μM olarak hesaplanmıştır (Miller ve Miller, 2005). Şekil 4.15A asetat tamponunda hazırlanan farklı derişimlerdeki Guanozine ait diferansiyel puls voltamogramlarını içermektedir. Yapılan çalışmalar sonucunda karbon nanotüp katkılı polimer modifiye elektroda ait doğrusal çalışma aralığının (uygulanabilir derişim aralığı) 5 μM ile 120 μM arasında olduğu tespit edilmiştir (n=3). Guanozin yükseltgenme pik akımları grafiğe geçirilerek kalibrasyon doğrusu oluşturulmuştur (Şekil 4.15B).



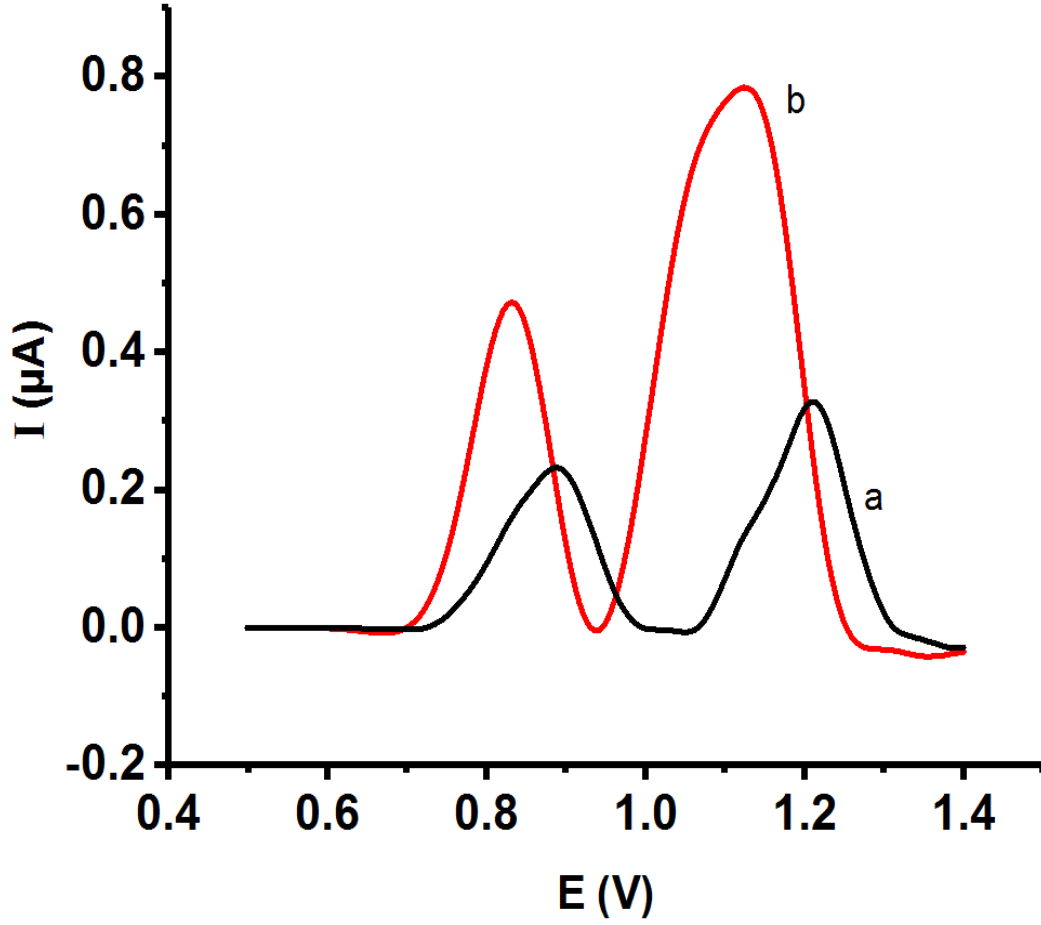
Şekil 4.14 A) Fosfat tampon (pH 7.4) ile hazırlanan farklı derişimdeki guanozin çözeltisi içerisinde modifiye elektrotla alınan diferansiyel puls voltamogramları: b) 1 μM , c) 5 μM , d) 10 μM , e) 20 μM , f) 40 μM , g) 60 μM , h) 80 μM , i) 100 μM , j) 120 μM , B) Kalibrasyon doğrusu (n=3)

Bu doğru kullanılarak hesaplanan tayin limiti (algılama sınırı) $0.97 \mu\text{M}$ olarak hesaplanmıştır (Miller ve Miller, 2005). Çalışmada elde edilen tayin limitlerinin literatür özetinde verilen çalışmalarla kıyaslanabilir düzeyde olduğu görülmüştür. Fosfat tamponu ortamında elde edilen uygulanabilir doğrusal aralığının ve tayin limitinin daha iyi olduğu değerlendirilmiştir.



Şekil 4.15 A) Asetat tampon (pH 4.8) ile hazırlanan farklı derişimdeki guanozin çözeltisi içerisinde modifiye elektrotla alınan diferansiyel puls voltamogramları: b) $5 \mu\text{M}$, c) $10 \mu\text{M}$, d) $20 \mu\text{M}$, e) $40 \mu\text{M}$, f) $60 \mu\text{M}$, g) $80 \mu\text{M}$, h) $100 \mu\text{M}$, i) $120 \mu\text{M}$, B) Kalibrasyon doğrusu (n=3)

Çalışmanın devamında, Guanozin pikleri ile çakışabilecek ve elektrokimyasal sonuçları etkileyebilecek olan DNA bazı, Guanin ile girişim çalışmaları yapılmıştır. Şekil 4.16 bu çalışmaya ait sonuçları göstermektedir. Modifiye elektrodun cevabı (b) aynı zamanda modifiye edilmemiş olan elektrot davranışı (a) ile de karşılaştırılmıştır. Her iki elektrot sisteminde her bir türün $120 \mu\text{M}$ olduğu koşullarda türlerin birbirinden ayrıldığı görülmektedir. Bununla birlikte, modifiye elektrottaki davranışın daha hassas bir şekilde tespit edildiği de görülmektedir. Ayrıca, modifiye elektrot varlığında türlerin yükseltgenmesine yapıdaki karbon nanotüpün de etkisiyle kaplı elektrodun elektrokatalitik etkisi olduğu gözlemlenmiştir.

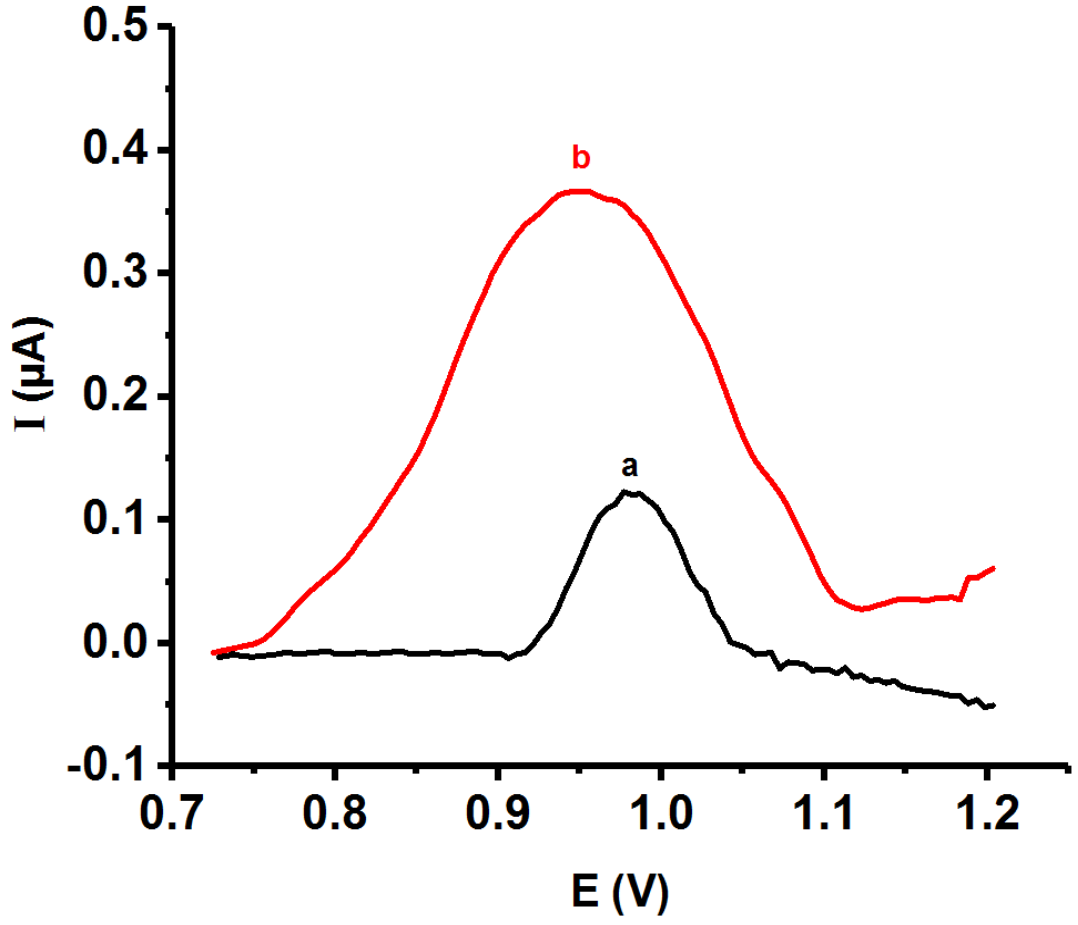


Şekil 4.16 Guanin ve Guanozin içeren ve fosfat tamponunda (pH 7.4) hazırlanan çözeltilerde girişim çalışmaları: a) modifiye edilmemiş elektrot, b) modifiye elektrot (Guanin derişimi: 120 µM, Guanozin derişimi: 120 µM)

Hazırlanan bu yeni elektrodun kullanılabilirliği ise hiçbir ön muamele görmemiş taze idrar örneklerine belirli miktarlarda Guanozin eklenerek gösterilmiştir. Ayrıca Çizelge 4.4'te geri kazanım (%) değerleri ve relatif standart sapma değerleri (RSD, %) hesaplanmıştır. Bu sonuçlara göre tez kapsamında geliştirilen elektrodun yüksek kesinlikte gerçek örneklere uygulanabildiği görülmüştür.

Çizelge 4.4 İdrar örneğinde gerçekleştirilen geri kazanım (%) sonuçları

Örnek No	Eklenen (µM)	Bulunan (µM)	RSD (%)	Geri kazanım (%)
1	60	57.5	3.2	95.8
2	20	19.5	5.2	97.5



Şekil 4.17 Modifiye elektrot ile yapılan gerçek örnek deneylerine ait diferansiyel puls voltamogramları: a) 20 μM Guanozin eklemesi, b) 60 μM Guanozin eklemesi

5. SONUÇLAR

Bu tez kapsamında birbirini takip eden 2 kısım yer almaktadır. Bu kısımlar, genel olarak: “3-aminofenilboronik asitin çok duvarlı karbon nanotüp varlığında sulu çözelti (fizyolojik tampon ortamı) ortamında kalem grafit elektrot üzerinde elektropolimerizasyonunun gerçekleştirilmesi” ve “Optimum koşullarda hazırlanan poli(3-aminofenilboronik asit)/çok duvarlı karbon nanotüp kaplı kalem grafit elektrotlar ile biyomedikal uygulamalar” başlıkları altında incelenmiştir. Elde edilen sonuçlar şu şekilde özetlenebilir:

- Poli(3-aminofenilboronik asit)/çok duvarlı karbon nanotüp kaplı elektrotlar basit ve pratik bir şekilde tek basamakta sulu çözelti (fizyolojik ortam, pH 7.4 fosfat tamponu) ortamında hazırlanabilmektedir. Optimum çalışma koşulu olarak: 0.5 mg mL^{-1} çok duvarlı karbon nanotüp içeren çözelti ortamı ve 5 çevrim sayısı tespit edilmiştir.
- Hazırlanan elektrotlardaki karbon nanotüp katkısı elektrokimyasal cevapları iyileştirmiştir. Modifiye edilmemiş elektroda göre özellikle redoks probunun yükseltgenme/indirgenme pik akımlarında iyileşmeler görülmüştür.
- Optimum koşullarda hazırlanan elektrotlara karbon nanotüp katkısına ve aynı zamanda sadece polimerik yapıya ait karakterizasyonlar (EIS ve SEM) ve ayrıca EDX analizleri kaplamaların başarılı bir şekilde kalem grafit yüzeyinde oluşturulduğunu işaret etmiştir.
- Modifiye elektrotlarda hassas bir şekilde Guanozinin elektrokimyasal davranışı incelenmiştir. Modifiye edilmemiş elektroda göre iyileşme elde edilmiştir. Guanozine ait yükseltgenme sinyali iki farklı ortamda (fosfat ve asetat tampon) hazırlanan çözeltilerde de yaklaşık $+0.9 \text{ V}$ civarında görülmüştür.
- Hazırlanan elektrotlarda duyarlı bir şekilde Guanozinin elektrokimyasal tayini yapılmıştır. Fosfat tamponunda hazırlanan farklı derişimlerdeki Guanozine ait diferansiyel puls voltamogramları incelendiğinde, doğrusal çalışma aralığının $1 \text{ }\mu\text{M}$ ile $120 \text{ }\mu\text{M}$ Guanozin derişimi arasında olduğu tespit edilmiştir. Tayin limiti $0.14 \text{ }\mu\text{M}$ olarak hesaplanmıştır. Asetat tamponunda

hazırlanan farklı derişimlerdeki Guanozine ait diferansiyel puls voltamogramları incelendiğinde, doğrusal çalışma aralığının 5 μM ile 120 μM arasında olduğu tespit edilmiştir. Tayin limiti 0.97 μM olarak hesaplanmıştır (n=3).

- Modifiye elektrotla, birbirinin elektrokimyasal yükseltgenme sinyallerini engelleyebilecek Guanin ve Guanozin kolay ve hassas bir şekilde art arda tayin edilebilmiştir.
- Modifiye elektrot, işlem görmemiş idrar örneklerine yüksek kesinlikte başarı ile uygulanabilmiştir (n=3).

6. KAYNAKLAR

- Alarcon-Angeles, G., Palomar-Pardavé, M., & Merkoçi, A. (2018). 2D Materials-based Platforms for Electroanalysis Applications. *Electroanalysis*, 30(7), 1271-1280.
- Aytaç, S., Kuralay, F., Boyacı, İ. H., & Unaleroglu, C. (2011). A novel polypyrrole-phenylboronic acid based electrochemical saccharide sensor. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 160(1), 405-411.
- Bard, A. J., Faulkner, L. R., Leddy, J., & Zoski, C. G. (1980). *Electrochemical methods: fundamentals and applications* (Vol. 2). New York: wiley.
- Biró, L. P., & Lambin, P. (2006). Scanning Tunneling Microscopy and Spectroscopy of Carbon Nanotubes. In *Carbon Nanotubes* (pp. 19-42). Springer, Dordrecht.
- 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), 1860-1865.
- Cornell, B. A., Braach-Maksvytis, V. L. B., King, L. G., Osman, P. D. J., Raguse, B., Wieczorek, L., & Pace, R. J. (1997). A biosensor that uses ion-channel switches. *Nature*, 387(6633), 580.
- Cryan, M. T., & Ross, A. E. (2019). Scalene Waveform for Codetection of Guanosine and Adenosine Using Fast-Scan Cyclic Voltammetry. *Analytical chemistry*, 91(9), 5987-5993.
- Cryan, M. T., & Ross, A. E. (2019). Subsecond detection of guanosine using fast-scan cyclic voltammetry. *Analyst*, 144(1), 249-257.
- David, L.N., & Michael M.C. (2013). *Biyokimyanın İlkeleri*. Palme Yayıncılık, Ankara, 271-287.
- Fojta, M. (2002). Electrochemical sensors for DNA interactions and damage. *Electroanalysis: An International Journal Devoted to Fundamental and Practical Aspects of Electroanalysis*, 14(21), 1449-1463.
- Fojta, M., Daňhel, A., Havran, L., & Vyskočil, V. (2016). Recent progress in electrochemical sensors and assays for DNA damage and repair. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 79, 160-167.
- Gerard, M., Chaubey, A., & Malhotra, B. D. (2002). Application of conducting polymers to biosensors. *Biosensors and bioelectronics*, 17(5), 345-359.
- Goyal, R. N., Gupta, V. K., Oyama, M., & Bachheti, N. (2007). Voltammetric determination of adenosine and guanosine using fullerene-C60-modified glassy carbon electrode. *Talanta*, 71(3), 1110-1117.
- Halo, T. L., Appelbaum, J., Hobert, E. M., Balkin, D. M., & Schepartz, A. (2008). Selective recognition of protein tetraserine motifs with a cell-permeable, pro-fluorescent bis-boronic acid. *Journal of the American Chemical Society*, 131(2), 438-439.
- Iijima, S. (1991). Helical microtubules of graphitic carbon. *Nature*, 354(6348), 56.

- Jianrong, C., Yuqing, M., Nongyue, H., Xiaohua, W., & Sijiao, L. (2004). Nanotechnology and biosensors. *Biotechnology advances*, 22(7), 505-518.
- Kuralay, F., Campuzano, S., Haake, D. A., & Wang, J. (2011). Highly sensitive disposable nucleic acid biosensors for direct bioelectronic detection in raw biological samples. *Talanta*, 85(3), 1330-1337.
- Kuralay, F., Dükar, N., & Bayramlı, Y. (2018). Poly-L-lysine Coated Surfaces for Ultrasensitive Nucleic Acid Detection. *Electroanalysis*, 30(7), 1556-1565.
- Kuralay, F., & Erdem, A. (2015). Gold nanoparticle/polymer nanocomposite for highly sensitive drug–DNA interaction. *Analyst*, 140(8), 2876-2880.
- Kuralay, F., Erdem, A., Abacı, S., Özyörük, H., & Yıldız, A. (2009). Characterization of redox polymer based electrode and electrochemical behavior for DNA detection. *Analytica chimica acta*, 643(1-2), 83-89.
- Kuralay, F., Erdem, A., Abacı, S., Özyörük, H., & Yıldız, A. (2008). Electrochemical biosensing of DNA immobilized poly (vinylferrocenium) modified electrode. *Electroanalysis: An International Journal Devoted to Fundamental and Practical Aspects of Electroanalysis*, 20(23), 2563-2570.
- Kuralay, F., Özyörük, H., & Yıldız, A. (2005). Potentiometric enzyme electrode for urea determination using immobilized urease in poly (vinylferrocenium) film. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 109(2), 194-199.
- Kuralay, F., Sattayasamitsathit, S., Gao, W., Uygun, A., Katzenberg, A., & Wang, J. (2012). Self-propelled carbohydrate-sensitive microtransporters with built-in boronic acid recognition for isolating sugars and cells. *Journal of the American Chemical Society*, 134(37), 15217-15220.
- Kuralay, F., Tunç, S., Bozduman, F., Oksuz, L., & Oksuz, A. U. (2016). Biosensing applications of titanium dioxide coated graphene modified disposable electrodes. *Talanta*, 160, 325-331.
- Liska, A., Triskova, I., Ludvik, J., & Trnkova, L. (2019). Oxidation potentials of guanine, guanosine and guanosine-5'-monophosphate: Theory and experiment. *Electrochimica Acta*.
- Luo, X., Killard, A. J., Morrin, A., & Smyth, M. R. (2006). Enhancement of a conducting polymer-based biosensor using carbon nanotube-doped polyaniline. *Analytica Chimica Acta*, 575(1), 39-44.
- Mansfeld, F. (1995). Use of electrochemical impedance spectroscopy for the study of corrosion protection by polymer coatings. *Journal of Applied Electrochemistry*, 25(3), 187-202.
- McMullan, D. (1995). Scanning electron microscopy 1928–1965. *Scanning*, 17(3), 175-185.
- Mello, L. D., & Kubota, L. T. (2002). Review of the use of biosensors as analytical tools in the food and drink industries. *Food chemistry*, 77(2), 237-256.
- Miller, J.C., & Miller, J.N. (2005). *Statistics and Chemometrics for Analytical Chemistry* (6th edn.) Pearson Prentice Hall, Edinburgh.

- Nambiar, S., & Yeow, J. T. (2011). Conductive polymer-based sensors for biomedical applications. *Biosensors and Bioelectronics*, 26(5), 1825-1832.
- Paleček, E. (2002). Past, present and future of nucleic acids electrochemistry. *Talanta*, 56(5), 809-819.
- Palek, E., & Fojta, M. (2001). Peer reviewed: detecting DNA hybridization and damage.
- Paleček, E., & Jelen, F. (2002). Electrochemistry of nucleic acids and development of DNA sensors. *Critical Reviews in Analytical Chemistry*, 32(3), 261-270.
- Scheller, F., Schubert, F., Pfeiffer, D., Hintsche, R., Dransfeld, I., Renneberg, R., ... & Müller, H. G. (1989). Research and development of biosensors. A review. *Analyst*, 114(6), 653-662.
- Shi, F., Wang, X., Wang, W., & Sun, W. (2015). Electrochemical behavior and determination of guanosine-5'-monophosphate on a ionic liquid modified carbon electrode. *Journal of analytical chemistry*, 70(2), 186-192.
- Skoog, D. A., West, D. M., Holler, F. J., & Crouch, S. R. (1996). Fundamentals of Analytical chemistry. 8th. *International Student, Ed.*
- Skoog, D. A., Holler, F. J., & Nieman, T. A. (1998). Elektroanalitik kimyaya giriş: Enstrümental analiz. *Editörler: Kılıç, E., Köseoğlu, F., Yılmaz, H., Bilim Kitap Kirtasiye, Ankara*, 639-673.
- Song, Y., Luo, Y., Zhu, C., Li, H., Du, D., & Lin, Y. (2016). Recent advances in electrochemical biosensors based on graphene two-dimensional nanomaterials. *Biosensors and Bioelectronics*, 76, 195-212.
- Sun, W., Duan, Y., Li, Y., Gao, H., & Jiao, K. (2009). Electrochemical behaviors of guanosine on carbon ionic liquid electrode and its determination. *Talanta*, 78(3), 695-699.
- Wang, J. (2002). Electrochemical nucleic acid biosensors. *Analytica chimica acta*, 469(1), 63-71.
- Wang, J. (2005). Nanomaterial-based electrochemical biosensors. *Analyst*, 130(4), 421-426.
- Wang, J. (2006). Analytical Electrochemistry, Wiley-VCH, New Jersey.
- Wang, J., Chen, G., Muck Jr, A., Shin, D., & Fujishima, A. (2004). Microchip capillary electrophoresis with a boron-doped diamond electrode for rapid separation and detection of purines. *Journal of Chromatography A*, 1022(1-2), 207-212.
- Wannapob, R., Kanatharana, P., Limbut, W., Numnuam, A., Asawatreratanakul, P., Thammakhet, C., & Thavarungkul, P. (2010). Affinity sensor using 3-aminophenylboronic acid for bacteria detection. *Biosensors and Bioelectronics*, 26(2), 357-364.
- Xia, L., Wei, Z., & Wan, M. (2010). Conducting polymer nanostructures and their application in biosensors. *Journal of colloid and interface science*, 341(1), 1-11.

- Yagi, T., Wachino, J. I., Kurokawa, H., Suzuki, S., Yamane, K., Doi, Y., ... & Arakawa, Y. (2005). Practical methods using boronic acid compounds for identification of class C β -lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae* and *Escherichia coli*. *Journal of Clinical Microbiology*, *43*(6), 2551-2558.
- Yang, Y., Asiri, A. M., Tang, Z., Du, D., & Lin, Y. (2013). Graphene based materials for biomedical applications. *Materials today*, *16*(10), 365-373.

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler	
Adı Soyadı	TANER GÜRSOY
Doğum Yeri	MUHLACKER, ALMANYA
Doğum Tarihi	17.06.1991
Uyruğu	◆ T.C. □ Diğer:
Telefon	543-206-8206
E-Posta Adresi	tanerrgursoy@gmail.com
Eğitim Bilgileri	
Lisans	
Üniversite	ANKARA ÜNİVERSİTESİ
Fakülte	FEN VE MÜHENDİSLİK FAKÜLTESİ
Bölümü	KİMYA BÖLÜMÜ
Mezuniyet Yılı	03.07.2015
Yüksek Lisans	
Üniversite	Ordu Üniversitesi
Enstitü Adı	Fen Bilimleri Enstitüsü
Anabilim Dalı	Kimya Anabilim Dalı
Programı	Analitik Kimya
Mezuniyet Tarihi	29.08.2019