



ANKARA

HACI BAYRAM VELİ ÜNİVERSİTESİ

LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

**PROPİL GALLAT TAYİNİ İÇİN ELEKTROKİMYASAL
ANALİZ YÖNTEMİ GELİŞTİRİLMESİ**

Barış ŞENCEOL

TEZ DANIŞMANI

Prof. Dr. Pınar Esra ERDEN

YÜKSEK LİSANS TEZİ

KİMYA ANABİLİM DALI

KİMYA BİLİM DALI

TEMMUZ-2024



**PROPİL GALLAT TAYİNİ İÇİN ELEKTROKİMYASAL ANALİZ
YÖNTEMİ GELİŞTİRİLMESİ**

Barış ŞENCEOL

**YÜKSEK LİSANS
KİMYA ANABİLİM DALI
KİMYA BİLİM DALI**

**ANKARA HACI BAYRAM VELİ ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ**

TEMMUZ 2024

ETİK BEYAN

Ankara Hacı Bayram Veli Üniversitesi Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada; tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve dokümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi, tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu, tez çalışmada yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi, kullanılan verilerde herhangi bir değişiklik yapmadığımı, bu tezde sunduğum çalışmanın özgün olduğunu, bildirir, aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi beyan ederim.

Barış ŞENCEOL

11.07.2024

TEZ ONAY SAYFASI

Ankara Hacı Bayram Veli Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı Yüksek Lisans öğrencisi Barış ŞENCEOL tarafından hazırlanan Propil Gallat Tayini İçin Elektrokimyasal Analiz Yöntemi Geliştirilmesi başlıklı tez çalışması 11/07/2024 tarih ve 12:30 saatinde yapılan tez savunma sınavında aşağıdaki jüri tarafından OY BİRLİĞİ ile YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak **KABUL** edilmiştir.

	Kabul	Ret
Başkan: Prof. Dr. Servet ÇETE/Gazi Üniversitesi	☒	☐
Üye: Prof. Dr. Nazife ASLAN/AHBV Üniversitesi	☒	☐
Üye: Prof. Dr. Pınar Esra ERDEN/AHBV Üniversitesi	☒	☐

PROPİL GALLAT TAYİNİ İÇİN ELEKTROKİMYASAL ANALİZ YÖNTEMİ
GELİŞTİRİLMESİ
(Yüksek Lisans Tezi)

Barış ŞENCEOL

ANKARA HACI BAYRAM VELİ ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

Temmuz 2024

ÖZET

Bu tez çalışmasında, bir antioksidan olan propil gallatın elektrokimyasal tayini için poli(L-Serin) (PSer), altın nanopartikül (AuNP) ve grafen (GR) ile modifiye edilmiş camı karbon elektroda (GCE) dayanan voltametrik bir sensör ve tirozinaz (Tyr), paladyum nanopartikül (PdNP), poli(L-Arjinin) (PArj) ve grafen kuantum nokta (GQD) ile modifiye edilmiş perde baskılı karbon elektroda (SPE) dayanan amperometrik bir biyosensör geliştirildi. Çalışmada hazırlanan modifiye elektrotların morfolojik analizleri taramalı elektron mikroskopi yöntemi kullanılarak gerçekleştirildi. Modifiye elektrotların elektrokimyasal karakterizasyonu için ise, dönüşümlü voltametri ve elektrokimyasal empedans spektroskopiden yararlanıldı. PSer/AuNP/GR/GCE ve Tyr/PdNP/PArj/GQD/SPE sensör ve biyosensörünün optimum yüzey bileşimi ve çalışma koşulları belirlendi. Optimum koşullarda sensör ve biyosensörün propil gallat için analitik performans faktörleri araştırıldı. Geliştirilen sensörün propil gallata $6,1 \times 10^{-7}$ – $5,7 \times 10^{-5}$ M aralığında doğrusal cevap gösterdiği, duyarlılığının $152,29 \mu\text{A mM}^{-1}$ ve gözlenebilme sınırının $1,05 \times 10^{-7}$ M olduğu belirlendi. Biyosensör için ise, doğrusal çalışma aralığı, duyarlık ve gözlenebilme sınırı sırasıyla $5,7 \times 10^{-7}$ – $3,2 \times 10^{-5}$ M, $47,72 \mu\text{A mM}^{-1}$ ve $1,32 \times 10^{-7}$ M olarak hesaplandı. PSer/AuNP/GR/GCE ve Tyr/PdNP/PArj/GQD/SPE'nin gerçek numunelerde propil gallat tayininde kullanılabilirliği zeytinyağı numunesinde araştırıldı ve hem sensör hem de biyosensörle propil gallat için yüksek geri kazanımlar elde edildi. Çalışmada elde edilen sonuçlar hazırlanan sensör ve biyosensörün propil gallatın elektrokimyasal tayini için literatürdeki yöntemlere iyi bir alternatif olabileceğini gösterdi.

BilimKodu : 20102
Anahtar Kelimeler : Antioksidan, propil gallat, elektrokimyasal yöntem, biyosensör, sensör, grafen, poli(amino asit), metal nanopartikül, grafen kuantum nokta
Sayfa Adedi : 97
Tez Danışmanı : Prof. Dr. Pınar Esra ERDEN

DEVELOPMENT OF ELECTROCHEMICAL ANALYSIS METHOD FOR THE
DETERMINATION OF PROPYL GALLATE
(M.Sc. Thesis)

Barış ŞENCEOL

ANKARA HACI BAYRAM VELİ UNIVERSITY
INSTITUTE OF GRADUATE STUDIES

July 2024

ABSTRACT

In this thesis, a voltametric sensor based on a glassy carbon electrode (GCE) modified with poly(L-Serine) (PSer), gold nanoparticles (AuNP) and graphene (GR) and an amperometric biosensor based on a screen-printed carbon electrode (SPE) modified with tyrosinase (Tyr), palladium nanoparticles (PdNP), poly(L-Arginine) (PARj) and graphene quantum dots (GQD) were developed for the electrochemical determination of antioxidant propyl gallate. The morphology analysis of the modified electrodes was performed by scanning electron microscopy method. Cyclic voltammetry and electrochemical impedance spectroscopy were used for the electrochemical characterization of the modified electrodes. The optimum surface composition and operating conditions of the PSer/AuNP/GR/GCE sensor and Tyr/PdNP/PARj/GQD/SPE biosensor were determined. The analytical performance factors of the sensor and biosensor for propyl gallate were investigated under optimum conditions. It was determined that the developed sensor showed linear response to propyl gallate in the range of 6.1×10^{-7} – 5.7×10^{-5} M, with a sensitivity of $152.29 \mu\text{A mM}^{-1}$ and detection limit of 1.0×10^{-7} M. The linear range, sensitivity and detection limit of the biosensor were calculated as 5.7×10^{-7} – 3.2×10^{-5} M, $47.72 \mu\text{A mM}^{-1}$ and 1.2×10^{-7} M, respectively. The usability of PSer/AuNP/GR/GCE and Tyr/PdNP/PARj/GQD/SPE for the determination of propyl gallate in real samples was investigated in olive oil sample and high recoveries were obtained for propyl gallate with both sensor and biosensor. The results showed that the prepared sensor and biosensor could be a good alternative to the methods in the literature for the electrochemical determination of propyl gallate.

BilimKodu : 20102
Antioxidant, propyl gallate, electrochemical method,
Anahtar Kelimeler : biosensor, sensor, graphene, poly(amino acid), metal
nanoparticles, graphene quantum dot
Sayfa Adedi : 97
Tez Danışmanı : Prof. Dr. Pınar Esra ERDEN

TEŞEKKÜR

Lisans ve yüksek lisans eğitimim boyunca desteğini benden esirgemeyen, tecrübesi ve bilgileri ile her konuda bana yardımcı olan değerli hocam Sayın Prof. Dr. Pınar Esra ERDEN'e sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Araştırmalarım sırasında tecrübesi ile her koşulda bana destek olan Sayın Doç. Dr. Ceren KAÇAR SELVİ'ye sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Hayatımın her basamağında sabırla beni dinleyip destekleyen canım annem Nihan ŞENCEOL'a ve babam Salih ŞENCEOL'a, tez boyunca her zaman yanımda olan kardeşim Yiğit ŞENCEOL'a, teyzem Aysun NİŞ'e ve arkadaşlarıma sonsuz teşekkürler.

Bariş ŞENCEOL

Bu tez çalışması Ankara Hacı Bayram Veli Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından TYL-2023-19 numaralı proje ile desteklenmiştir.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET.....	iv
ABSTRACT.....	v
TEŞEKKÜR.....	vi
İÇİNDEKİLER	vii
ŞEKİLLERİN LİSTESİ	xii
TABLoların LİSTESİ.....	xiv
RESİMLERİN LİSTESİ	xv
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	xvi
1. GİRİŞ.....	1
2. KURAMSAL TEMELLER.....	3
2.1. Gıda Katkı Maddeleri	3
2.1.1. Antioksidanlar	4
2.1.1.1. Doğal antioksidanlar	6
2.1.1.2. Sentetik antioksidanlar.....	7
2.1.1.2.1. Propil gallat	7
2.1.2. Antioksidanların İnsan Sağlığına Etkileri	9
2.1.3. Antioksidanların Analiz Yöntemleri	10
2.2. Elektrokimyasal Yöntemler.....	10
2.2.1. Voltametri.....	11
2.2.1.2. Dönüşümlü voltametri	12
2.2.1.3. Diferansiyel puls voltametri.....	13
2.2.2. Kronoamperometri	14
2.2.3. Elektrokimyasal Empedans Spektroskopisi.....	14
2.3. Sensörler	15
2.3.1. Sensörlerin Sınıflandırılması.....	17
2.4. Biyosensörler.....	18
2.4.1. Biyosensörlerin Sınıflandırılması.....	19
2.4.2. Elektrokimyasal Biyosensörler	20
2.5. Sensör ve Biyosensörün Performans Faktörleri	21
2.6. Elektrot Modifikasyonu.....	22
2.6.1. Karbon Temelli Nanomalzemeler	23

	Sayfa
2.6.2. Metal Nanopartiküller	24
2.6.3. Poli(amino asit)'ler	25
2.7. Literatür Çalışmaları	26
3. MATERYAL VE YÖNTEM	35
3.1. Cihazlar ve Donanımlar	35
3.2. Kullanılan Kimyasallar	35
3.3. Kullanılan Çözeltiler	36
3.3.1. Fosfat Tamponu	37
3.3.2. Redoks Probu	37
3.3.3. Propil Gallat Çözeltisi	37
3.3.4. L-Serin Çözeltisi	37
3.3.5. L-Arjinin Çözeltisi	37
3.3.6. Sodyum Sülfat Çözeltisi	37
3.3.7. Altın (III) Klorür Trihidrat Çözeltisi	37
3.3.8. Sülfürik Asit Çözeltisi	38
3.3.9. Paladyum Klorür Çözeltisi	38
3.3.10. Tirozinaz Çözeltisi	38
3.3.11. Sığır Serum Albümini Çözeltisi	38
3.3.12. Gluteraldehit Çözeltisi	38
3.3.13. Nafyon Çözeltisi	38
3.3.14. Seçicilik Çalışmasında Kullanılan Türlerin Çözeltileri	38
3.4. Propil Gallat Tayini İçin Sensör Hazırlanması	39
3.4.1. Camsı Karbon Elektrodun Temizlenmesi	39
3.4.2. Camsı Karbon Elektrodun Modifiye Edilmesi	39
3.4.2.1. Grafen modifiye elektrot	39
3.4.2.2. Grafen ve altın nanopartikül modifiye elektrot	39
3.4.2.3. Grafen, altın nanopartikül ve poli(L-Serin) modifiye elektrot	39
3.4.3. Sensör ile Elektrokimyasal Ölçümler	40
3.4.4. Sensörün Optimum Yüzey Bileşiminin Belirlenmesi	40
3.4.4.1. Grafen miktarı	40
3.4.4.2. Altın nanopartikül biriktirme süresi	40
3.4.4.3. Poli(L-Serin) modifikasyonunda kullanılan döngü sayısı	41

	Sayfa
3.4.5. Sensörün Elektrokimyasal Karakterizasyonu.....	41
3.4.6. Sensörün Optimum Çalışma pH'sının Belirlenmesi	41
3.4.7. Sensörün Performans Faktörleri	42
3.4.7.1. Doğrusal çalışma aralığı ve duyarlık	42
3.4.7.2. Gözlenebilme ve alt tayin sınırı	42
3.4.7.3. Tekrar kullanılabilirlik ve tekrar üretilebilirlik	42
3.4.7.4. Kararlılık.....	43
3.4.7.5. Girişim yapan türlerin etkisi	43
3.4.8. Sensör ile Gerçek Numune Analizi	43
3.5. Propil Gallat Tayini İçin Biyosensör Hazırlanması	44
3.5.1. Perde Baskılı Elektrotların Modifikasyonu	44
3.5.1.1. Grafen kuantum nokta modifiye elektrot	44
3.5.1.2. Grafen kuantum nokta ve poli(L-Arjinin) modifiye elektrot	44
3.5.1.3. Grafen kuantum nokta, poli(L-Arjinin) ve paladyum nanopartikül modifiye elektrot.....	44
3.5.1.4. Grafen kuantum nokta, poli(L-Arjinin), paladyum nanopartikül ve tirozinaz modifiye elektrot.....	44
3.5.2. Biyosensörün Optimum Yüzey Bileşiminin Belirlenmesi	45
3.5.2.1. Grafen kuantum nokta miktarı	45
3.5.2.2. Poli(L-Arjinin) modifikasyonunda kullanılan döngü sayısı	45
3.5.2.3. Paladyum nanopartikül biriktirme süresi	46
3.5.2.4. Enzim miktarı	46
3.5.3. Biyosensörün Elektrokimyasal Karakterizasyonu.....	46
3.5.4. Biyosensörün Optimum Çalışma Koşullarının Belirlenmesi	47
3.5.4.1. Tampon pH'sı	47
3.5.4.2. Çalışma potansiyeli.....	47
3.5.5. Biyosensörün Performans Faktörleri.....	47
3.5.5.1. Doğrusal çalışma aralığı ve duyarlık	47
3.5.5.2. Gözlenebilme ve alt tayin sınırı	47
3.5.5.3. Tekrar kullanılabilirlik ve tekrar üretilebilirlik	48
3.5.5.4. Uzun dönem kararlılığı	48
3.5.5.5. Girişim yapan türlerin etkisi	48
3.5.6. Biyosensör ile Gerçek Numune Analizi	48
4. ANALİZ BULGULARI ve TARTIŞMA.....	51

4.1. Propil Gallat Tayini İçin Geliştirilen Sensör	51
4.1.1. Propil Gallat Tayini İçin Geliştirilen Sensörün Yüzey Optimizasyonu	51
4.1.1.1. Grafen miktarının optimizasyonu	51
4.1.1.2. Altın nanopartikül biriktirme süresinin optimizasyonu	52
4.1.1.3. Poli(L-Serin) modifikasyonunda kullanılan döngü sayısının optimizasyonu.....	53
4.1.2. Sensörün Elektrokimyasal Davranışının ve Yüzey Morfolojisinin Karakterizasyonu.....	55
4.1.2.1. Dönüşümlü voltametri çalışmaları.....	55
4.1.2.2. Elektrokimyasal empedans spektroskopisi çalışmaları	56
4.1.2.3. Sensörün taramalı elektron mikroskobu çalışmaları.....	57
4.1.3. Propil Gallatın Elektrokimyasal Yükseltgenme Mekanizması	59
4.1.4. Sensörün pH Optimizasyonu.....	62
4.1.5. Sensörün Analitik Performans Faktörleri.....	63
4.1.5.1. Doğrusal çalışma aralığı ve duyarlılık	63
4.1.5.2. Gözlenebilirlik sınırı ve alt tayin sınırı.....	64
4.1.5.3. Tekrar kullanılabilirlik ve tekrar üretilebilirlik.....	64
4.1.5.4. Kararlılık.....	65
4.1.5.5. Girişim yapan türlerin etkisi	65
4.1.6. Sensör ile Gerçek Numune Analizi	66
4.2. Propil Gallat Tayini İçin Geliştirilen Biyosensör	67
4.2.1. Propil Gallat Tayini İçin Geliştirilen Biyosensörün Yüzey Optimizasyonu	67
4.2.1.1. Grafen kuantum nokta miktarı optimizasyonu	67
4.2.1.2. Poli(L-Arjinin) modifikasyonunda kullanılan döngü sayısının optimizasyonu.....	68
4.2.1.3. Paladyum nanopartikül biriktirme süresinin optimizasyonu	69
4.2.1.4. Enzim miktarı optimizasyonu	70
4.2.2. Biyosensörün Elektrokimyasal Davranışlarının ve Yüzey Morfolojisinin Karakterizasyonu	71
4.2.2.1. Dönüşümlü voltametri çalışmaları.....	71
4.2.2.2. Elektrokimyasal empedans spektroskopisi çalışmaları	73
4.2.2.3. Biyosensörün taramalı elektron mikroskobu çalışmaları.....	74

	Sayfa
4.2.3. Biyosensörün Çalışma Koşullarının Optimizasyonu	76
4.2.3.1. pH'nın etkisi	76
4.2.3.2. Çalışma potansiyelinin etkisi	77
4.2.4. Biyosensörün Performans Faktörleri.....	78
4.2.4.1. Doğrusal çalışma aralığı ve duyarlık	78
4.2.4.2. Gözlenebilme sınırı ve alt tayin sınırı	79
4.2.4.3. Tekrar kullanılabilirlik ve tekrar üretilebilirlik	79
4.2.4.4. Uzun dönem kararlılığı	80
4.2.4.5. Girişim yapan türlerin etkisi	80
4.2.5. Biyosensör ile Gerçek Numune Analizi	81
5. SONUÇ ve ÖNERİLER.....	83
KAYNAKÇA.....	89
ÖZGEÇMİŞ	97

ŞEKİLLERİN LİSTESİ

Şekil	Sayfa
Şekil 2.1. Propil gallatın kimyasal yapısı.....	9
Şekil 2.2. Tersinir bir sistem için tipik bir dönüşümlü voltamogram	13
Şekil 2.3. Bir sensörün genel gösterimi	16
Şekil 4.1. Grafen miktarının PSer/AuNP/GR/GCE'nin voltametrik cevabına etkisi ($3,8 \times 10^{-5}$ M propil gallat içeren 0,05 M pH 7,5 fosfat tamponu).....	52
Şekil 4.2. AuNP biriktirme süresinin PSer/AuNP/GR/GCE'nin voltametrik cevabına etkisi ($3,8 \times 10^{-5}$ M propil gallat içeren 0,05 M pH 7,5 fosfat tamponu).....	53
Şekil 4.3. Poli(L-Serin) oluşturulmasında kullanılan döngü sayısının PSer/AuNP/GR/GCE'nin voltametrik cevabına etkisi ($3,8 \times 10^{-5}$ M propil gallat içeren 0,05 M pH 7,5 fosfat tamponu)	54
Şekil 4.4. AuNP/GR/GCE'nin poli(L-Serin) ile kaplanması sırasında kaydedilen dönüşümlü voltamogram (0,1 M L-Serin içeren 0,05 M fosfat tamponu, 100 mV/s tarama hızı, 20 döngü).....	54
Şekil 4.5. (A) GCE, (B) GR/GCE, (C) AuNP/GR/GCE, (D) PSer/AuNP/GR/GCE'lerin dönüşümlü voltamogramları (0,1 M KCl ve 5,0 mM $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}/\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$ içeren redoks probu çözeltisi)	55
Şekil 4.6. (A) GCE, (B) GR/GCE, (C) AuNP/GR/GCE, (D) PSer/AuNP/GR/GCE'lerin Nyquist eğrileri (0,1 M KCl ve 5,0 mM $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}/\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$ içeren redoks probu çözeltisi).....	57
Şekil 4.7. (A) PSer/AuNP/GR/GCE'un $1,0 \times 10^{-3}$ M propil gallat varlığında ve yokluğunda dönüşümlü voltamogramları (0,05 M pH 7,5 fosfat tamponu), (B) PSer/AuNP/GR/GCE'un 10–150 mV/s arasında değişen çeşitli tarama hızlarında dönüşümlü voltamogramları ($3,8 \times 10^{-5}$ M propil gallat içeren 0,05 M pH 7,5 fosfat tamponu), (C) tarama hızı (v) – anodik pik akımı (I_{pa}) grafiği, (D) $\log I_{pa} - \log v$ ve (E) $E_{pa} - \ln v$ grafiği	61
Şekil 4.8. Propil gallatın PSer/AuNP/GR/GCE yüzeyindeki elektrokimyasal yükseltgenme mekanizması	62
Şekil 4.9. Tampon pH'sının PSer/AuNP/GR/GCE'nin voltametrik cevabına etkisi ($3,8 \times 10^{-5}$ M propil gallat içeren 0,05 M fosfat tamponu).....	62

Şekil 4.10. (A) PSer/AuNP/GR/GCE'ye art arda propil gallat eklenmesi ile elde edilen akım potansiyel grafiği, (B) PSer/AuNP/GR/GCE'nin propil gallat için kalibrasyon grafiği (pH 7,5 0,05 M fosfat tamponu)	63
Şekil 4.11. Grafen kuantum nokta miktarının Tyr/PdNP/PArj/GQD/SPE'nin amperometrik cevabına etkisi (0,05 M pH 7,5 fosfat tamponu, -0,25 V)	67
Şekil 4.12. Poli(L-Arjinin) oluşturulmasında kullanılan döngü sayısının Tyr/PdNP/PArj/GQD/SPE'nin amperometrik cevabına etkisi (0,05 M pH 7,5 fosfat tamponu, -0,25 V)	68
Şekil 4.13. GQD/SPE'nin poli(L-Arjinin) ile kaplanması için alınan dönüşümlü voltamogram (2,0 mM L-Arjinin içeren 0,05 M pH 7,0 fosfat tamponu, 100 mV/s tarama hızı, 10 döngü)	69
Şekil 4.14. Paladyum nanopartikül biriktirme süresinin Tyr/PdNP/PArj/GQD/SPE'nin amperometrik cevabına etkisi (0,05 M pH 7,5 fosfat tamponu, -0,25 V)	70
Şekil 4.15. Enzim miktarının Tyr/PdNP/PArj/GQD/SPE'nin amperometrik cevabına etkisi (0,05 M pH 7,5 fosfat tamponu, -0,25 V)	71
Şekil 4.16. (A) SPE, (B) GQD/SPE, (C) PArj/GQD/SPE, (D) PdNP/PArj/GQD/SPE ve (E) Tyr/PdNP/PArj/GQD/SPE'lerin dönüşümlü voltamogramları (0,1 M KCl ve 5,0 mM $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}/\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$ içeren redoks probu çözeltisi)	72
Şekil 4.17. (A) SPE, (B) GQD/SPE, (C) PArj/GQD/SPE, (D) PdNP/PArj/GQD/SPE, (E) Tyr/PdNP/PArj/GQD/SPE'lerin Nyquist eğrileri (0,1 M KCl ve 5,0 mM $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}/\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$ içeren redoks probu çözeltisi)	74
Şekil 4.18. Tampon pH'sının Tyr/PdNP/PArj/GQD/SPE'nin amperometrik cevabına etkisi (0,05 M fosfat tamponu, -0,25 V)	77
Şekil 4.19. Çalışma potansiyelinin Tyr/PdNP/PArj/GQD/SPE'nin amperometrik cevabına etkisi (0,05 M pH 7,5 fosfat tamponu)	78
Şekil 4.20. (A) Tyr/PdNP/PArj/GQD/SPE'ye art arda propil gallat eklenmesi ile elde edilen akım zaman grafiği ve (B) Tyr/PdNP/PArj/GQD/SPE'nin propil gallat için kalibrasyon grafiği (pH 7,5 0,05 M fosfat tamponu, -0,25 V)	79

TABLoların LİSTESİ

Tablo	Sayfa
Tablo 3.1. Kimyasalların alındığı firma ve saflık dereceleri veya derişimleri.....	36
Tablo 4.1. PSer/AuNP/GR/GCE'nin voltametrik cevabına bazı türlerin etkisi.....	66
Tablo 4.2. PSer/AuNP/GR/GCE ile zeytinyağında propil gallat için geri kazanımlar	66
Tablo 4.3. Tyr/PdNP/PArj/GQD/SPE'nin amperometrik cevabına bazı türlerin etkisi	80
Tablo 4.4. Biyosensör ile zeytinyağında propil gallat için geri kazanımlar.....	81
Tablo 5.1. Elektrokimyasal propil gallat tayini için geliştirilen sensörlerin performans faktörlerinin karşılaştırılması	86
Tablo 5.2. Elektrokimyasal propil gallat tayini için geliştirilen biyosensörlerin performans faktörlerinin karşılaştırılması	87

RESİMLERİN LİSTESİ

Resim	Sayfa
Resim 4.1. (A) SPE, (B) GR/SPE, (C) AuNP/GR/SPE (10 000×), (D) PSer/AuNP/GR/SPE, (E) AuNP/GR/SPE (25 000×) ile elde edilen SEM görüntüleri.....	58
Resim 4.2. (A) GQD/SPE, (B) PArj/GQD/SPE, (C) PdNP/PArj/GQD/SPE (10 000×), (D) Tyr/PdNP/PArj/GQD/SPE ve (E) PdNP/PArj/GQD/SPE (50 000×) yüzeylerinin SEM görüntüleri.....	75



KISALTMALAR

Bu çalışmada kullanılmış kısaltmalar, açıklamaları ile birlikte aşağıda sunulmuştur.

Kısaltmalar	Açıklamalar
μA	Mikroamper
μL	Mikrolitre
μm	Mikrometre
ABSA	Poli(p-aminobenzen-sülfonik asit)
AFM	Atomik kuvvet mikroskobu
AHBV	Ankara Hacı Bayram Veli
AuNP	Altın nanopartikül
AQ	Antrakininon
BHA	Bütil hidroksianisol
BHT	Bütil hidroksitoluen
BSA	Sığır serum albümini
BSS	Bağıl standart sapma
CE	Kapiler elektroforez
CS	Kitosan
CV	Dönüşümlü voltametri
DG	Dodesil gallat
DPV	Diferansiyel puls voltametri
EDX	Enerji dağılımlı X-ışınları spektroskopisi

Kısaltmalar	Açıklamalar
EIS	Elektrokimyasal empedans spektroskopisi
FAO	Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü
GA	Gluteraldehit
GC	Gaz kromatografi
GCE	Camsı karbon elektrot
GE	Altın elektrot
GOx	Glukoz oksidaz
GR	Grafen
GQD	Grafen kuantum nokta
HPLC	Yüksek performanslı sıvı kromatografi
HRP	Horseradish peroksidaz
HSCCC	Yüksek hızlı ters akım kromatografi
Hz	Hertz
L	Litre
LC-MS	Sıvı kromatografi-kütle spektrometri
LOD	Gözlenebilme sınırı
LOQ	Alt tayin sınırı
LSV	Doğrusal taramalı voltametri
M	Molar

Kısaltmalar	Açıklamalar
mHz	Milihertz
MHz	Megahertz
MS	Kütle spektrometri
mV	Milivolt
MWCNT	Çok duvarlı karbon nanotüp
NiNP	Nikel nanopartikül
NIRS	Yakın kızıl ötesi spektroskopi
NMR	Nükleer manyetik rezonans
nm	Nanometre
nM	Nanomolar
OG	Oktil gallat
PArj	Poli(L-Arjinin)
PdNP	Paladyum nanopartikül
PG	Propil gallat
PSer	Poli(L-Serin)
rGO	İndirgenmiş grafen oksit
RNT	Reaktif azot türleri
ROT	Reaktif oksijen türleri
RST	Reaktif sülfür türleri

Kısaltmalar	Açıklamalar
SPE	Perde baskılı karbon elektrot
SEM	Taramalı elektron mikroskobu
SS	Standart sapma
TBHQ	Tersiyer bütıl hidrokinon
TEM	Geçirimli elektron mikroskopi
TLC	İnce tabaka kromatografi
Tyr	Tirozinaz
U	Ünite
V	Volt
WHO	Dünya Sağlık Örgütü
XPS	X-ışını fotoelektron spektrometri
XRD	X-ışını kırınım yöntemi

1. GİRİŞ

Sentetik antioksidanlardan biri olan ve E310 koduyla bilinen propil gallat gıda endüstrisinde katı, sıvı yağların ve yağlı gıdaların peroksit kaynaklı acılaşmasını önlemek için katkı maddesi olarak kullanılmaktadır (Nguyen vd., 2021: 1; Shahidi ve Ambigaipalan, 2015: 824; Becker, 2007: 89). Propil gallatın fazla tüketiminin insan sağlığı üzerinde olumsuz etkileri olabileceğini gösteren çalışmalar vardır (Shahidi ve Ambigaipalan, 2015: 828). Bu nedenle propil gallatın hızlı, pratik, düşük maliyetli ve doğru tayini için analitik yöntemlerin geliştirilmesi hem klinik analizlerde hem de gıda endüstrisinde büyük önem taşımaktadır. Propil gallat kapiler elektroforez (Xiang vd., 2007: 713-714), yüksek performanslı sıvı kromatografi-kütle spektrometri (Xiu-Qin vd., 2009: 692), yüksek performanslı sıvı kromatografi (He vd., 2017: 404-405), akış enjeksiyon spektrofotometri (Capitán-Vallvey vd., 2001: 897) gibi farklı yöntemler kullanılarak analiz edilebilir. Literatür incelendiğinde propil gallat tayini için geliştirilmiş elektrokimyasal sensör ve biyosensörler bulunduğu da görülmektedir (Morales vd., 2005a: 572-579; Sivasankaran ve Kumar, 2019: B92-B94). Elektrokimyasal sensör ve biyosensörler kromatografi gibi klasik analiz yöntemleri ile kıyaslandığında basitlik, az miktarda numune gerektirme, pratiklik, düşük tayin sınırları, düşük maliyet, yüksek duyarlık ve seçicilik, hızlı ve güvenilir cevap, numune için genellikle ön ayırma gerektirmeme ve yerinde analiz imkânı gibi üstünlüklere sahiptirler (Motshakeri vd., 2022: 2427).

Günümüzde sensör ve biyosensörlerin duyarlık, çalışma aralığı, gözlenebilme sınırı gibi çeşitli analitik performans faktörlerini arttırmak için karbon nanomalzemeler, metal ve metal oksit nanopartiküller, polimerler, metal organik kafes yapılar veya kuantum noktalar gibi malzemeler ile modifiye edilmiş elektrotlar kullanılmaktadır (Sharma vd., 2018: 76-77; Kajal vd., 2022: 5; Naveen vd., 2017: 420-422; Facure vd., 2021: 490-497). Karbon nanomalzemelerden birisi olan grafen 2004 yılında Geim ve Novoselov tarafından keşfedilmiştir ve bal peteği şeklinde düzenlenmiş sp^2 hibritleşmesi yapmış karbon atomlarından oluşur. Grafen, yüksek mekanik kararlılık, yüksek elektron transfer yeteneği, geniş yüzey alanı, termal ve elektriksel iletkenlik özelliklerinden dolayı biyosensör ve sensör geliştirmede yaygın olarak kullanılmaktadır (Kour vd., 2020: 4; Bahadır ve Sezgintürk, 2016: 1-3). Karbon temelli nanomalzemelerden bir diğeri olan grafen kuantum noktalar ilk defa 2008

yılında Ponomarenko ve Geim tarafından üretilmiştir. Grafen kuantum noktalar kolaylıkla fonksiyonelleştirilebilme özelliği, yüksek biyouyumluluğu, büyük yüzey/hacim oranı, yüksek elektrik iletkenliği ve toksik olmama özelliklerinden dolayı son yıllarda (biyo)sensör geliştirme çalışmalarında kullanılmaya başlanmıştır (Mansuriya ve Altintas, 2020: 2-3; Karami vd., 2024: 2-4; Iannazzo vd., 2021: 3-5; Tian vd., 2018: 221-223). Metal nanopartiküller elektrodun iletkenliğini artırması, geniş yüzey alanı ve etkin biyomolekül immobilizasyonunu sağlaması, elektron transferini hızlandırması gibi özelliklerinden dolayı sensör ve biyosensör geliştirmede yaygın olarak tercih edilmektedir. Altın ve paladyum nanopartiküllerin elektrokimyasal (biyo)sensör geliştirme çalışmalarında başarılı uygulamaları rapor edilmiştir (Erden vd., 2021: 1-8; Wu vd., 2012: 33-37). Kolay hazırlanma, çok sayıda fonksiyonelleştirilmiş gruba sahip olma, biyouyumlu olma ve toksik özellik göstermeme gibi özelliklere sahip olan poli(amino asit)'ler modifiye elektrotların hazırlanmasında kullanılan bir diğer malzeme sınıfıdır. L-Arjinin ve L-Serinin elektrot yüzeyinde elektropolimerizasyonu ile oluşturulan poli(L-Arjinin) ve poli(L-Serin) elektrokimyasal (biyo)sensör hazırlamada kullanılan poli(amino asit)'lerdendir (Kordasht vd., 2021: 6-18).

Bu tez çalışmasında propil gallatın elektrokimyasal tayini için poli(L-Serin) (PSer), altın nanopartikül (AuNP) ve grafen (GR) ile modifiye camı karbon elektroda (GCE) dayanan voltametrik bir sensör ve tirozinaz (Tyr), paladyum nanopartikül (PdNP), poli(L-Arjinin) (PARj) ve grafen kuantum nokta (GQD) ile modifiye edilmiş perde baskılı elektroda (SPE) dayanan amperometrik bir biyosensör geliştirildi. Sensör ve biyosensör hazırlamada kullanılan tüm malzemelerin optimum miktarları tek seferde tek değişken yöntemi kullanılarak optimize edildi. Hazırlanan sensör ve biyosensörün yüzey morfolojileri incelendi ve elektrokimyasal karakterizasyonları yapıldı. Optimum çalışma koşulları da belirlenen sensör ve biyosensörün bu çalışma koşulları altında propil gallat için analitik performans faktörleri incelendi. Son olarak geliştirilen her iki yönteminde gerçek numunelerde propil gallat tayini için kullanılabilirliği zeytinyağı numunesinde test edildi.

2. KURAMSAL TEMELLER

2.1. Gıda Katkı Maddeleri

Gıda katkı maddeleri gıdaların pH, doku, lezzet, homojenlik, renk, tatlılık ve gevreklik gibi fizikokimyasal, biyolojik ve duyuşsal özelliklerini korumak ya da geliştirmek, raf ömrünü uzatmak, kalitesini ve kararlılığını muhafaza etmek ve arttırmak gibi çeşitli amaçlarla kullanılan maddelerdir (Martins vd., 2019: 732). Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü'nün (FAO) ve Dünya Sağlık Örgütü'nün (WHO) tanımına göre ise, gıda katkı maddeleri yalnız başına gıda gibi tüketilmeyen, gıda içinde bir bileşen olarak yer almayan, ancak üretim, işleme, hazırlama, paketlenme, ambalajlama, aktarma ve taşıma gibi aşamalarda belirli miktarlarda gıdaların içerisine eklenen çeşitli bileşiklerdir. Ancak, bu tanım besleyici nitelikleri korumak veya geliştirmek için gıdaya eklenen katkıları ve kontaminantları içermez (Carocho vd., 2014: 377).

Çok eski çağlardan beri insanoğlu gıdaları muhafaza etmek için farklı yöntemler kullanmıştır. 1800'lü yıllarda gıda işlemenin merkezileşmesi, yasal düzenlemelerin yetersizliği, kişisel sorumluluğun azalması gibi nedenlerle gıda katkı maddeleri kasıtlı olarak gıda taşıyıcı amacıyla kullanılmış ve bu durum gıda kalitesi konusunda dünya çapında bir soruna yol açmıştır. 1920'li yıllara gelindiğinde gıda analizlerinde etkin yöntemlerin geliştirilmesi ve gıda ile ilgili düzenlemelerin artmasıyla birlikte bu sorun önemli ölçüde giderilmiştir. 20. yüzyılın ortalarına gelindiğinde ise, işlenmiş gıdalar insan beslenmesinin önemli bir parçası haline gelmiş ve gıda katkı maddelerinin kullanımı daha da yaygınlaşmıştır. Günümüzde bu maddelerin yararları ve zararları ile ilgili pek çok tartışmalı çalışma olması nedeniyle kullanımlarına sıkı düzenlemeler getirilmiştir (Carocho vd., 2014: 377). Gıdalarda kullanılan bu katkı maddeleri her ülkenin kendi mevzuatları ve FAO/WHO tarafından yayınlanan "Kodeks Alimentarius" dayanan bir güvenlik politikasına göre kontrol edilir (Martins vd., 2019: 732).

Endüstriyel amaçla kullanılan gıda katkı maddeleri işlevlerine göre asitlik düzenleyiciler, topaklanma önleyiciler, köpük önleyiciler, antioksidanlar, hacim arttırıcılar, karbonatlayıcılar, taşıyıcılar, renklendiriciler, renk koruyucular, emülgatörler, emülsifiye edici tuzlar, sıkılaştırıcı maddeler, lezzet arttırıcılar, un işleme ajanları, köpükleştiriciler, jelleştiriciler, parlaticılar, nemlendiriciler,

koruyucular, itici gazlar, kabartıcılar, bağlayıcılar, sabitleyiciler, tatlandırıcılar ve yoğunlaştırıcılar olarak 25 grupta incelenmektedir (Martins vd., 2019: 734-735; Msagati, 2012: 9-10).

Örneğin renklendiriciler, gıdanın hazırlanması sırasında kaybolan renkleri geri getirmek, lezzet algısını artırmak veya gıdanın daha çekici görünmesini sağlamak için gıdaya eklenen bir tür katkı maddesidir (Wu vd., 2022: 8498). Asitlik düzenleyiciler, gıda maddelerinin pH değerini kontrol edebilen ya da değiştirebilen ve gıdada oluşabilecek yükseltgenme reaksiyonları veya enzimatik reaksiyonlar üzerinde etki göstererek gıdanın koku, lezzet, vizkozite ve raf ömrü gibi özelliklerini etkileyen maddelerdir (Martins vd., 2019: 733). Antioksidanlar, oksidasyonu geciktirerek ya da engelleyerek gıdayı bozulmaktan korumak amacıyla kullanılır (Wu vd., 2022: 8500). Lezzet arttırıcılar, gıdanın lezzetini geliştirmek amacıyla kullanılır. Monosodyum glutamat ve disodyum inosinat en yaygın kullanılan lezzet arttırıcılardandır (Carocho vd., 2014: 388). Parlaticılar gıdalara eklenerek daha parlak ve çekici görünmesini sağlayan katkı maddeleridir. Elma kabuğunda kullanılan mum gibi parlaticılar meyve ve sebze türü gıdaların raf ömrünün uzamasını da sağlar (Martins vd., 2019: 737). Gıdaların depolanması veya taşınması sırasında nem kaybetmesi hem görünüşünün bozulmasına hem de raf ömrünün kısalmasına neden olur. Gıdaların nem kaybetmesini engellemek için gliserol, mannitol gibi nemlendirici katkı maddeleri kullanılır (Msagati, 2012: 9-10). Gıda katkı maddeleri, Avrupa Birliği tarafından onaylanarak belirlenmiş E ile başlayan ve 3 ya da 4 rakam içeren bir kod ile gösterilir. Örneğin kırmızı gıda renklendiricisi olan azorubin E122, mantar ve maya engelleyici olarak kullanılan sorbik asit E200, yapay tatlandırıcı olarak kullanılan sakkarin E954, hacim arttırıcı olarak kullanılan amonyum fosfat ise E442 kodu ile gösterilir (Wood vd., 2004: 1-3).

2.1.1. Antioksidanlar

Serbest radikaller, son derece kararsız ve diğer moleküllerle kimyasal reaksiyonlara girme eğiliminde olan ve yapısında eşleşmemiş elektronlar bulunan atomlar, moleküller veya iyonlardır. Bunlar, kararlı biyolojik moleküllerden elektron yakalayarak kendilerini kararlı hale getirirler. Serbest radikaller, reaktif oksijen türlerini (ROT), reaktif azot türlerini (RNT) ve reaktif kükürt türlerini (RST) oluşturan üç elementten türemişlerdir. Oksijen merkezli serbest radikaller reaktif

oksijen türleri olarak adlandırılır ve süperoksit ($O_2^{\cdot-}$), hidroksil ($HO^{\cdot}$), peroksil ($ROO^{\cdot}$), alkoksil ($RO^{\cdot}$) ve nitrik oksit ($NO^{\cdot}$) içerir (Gulcin, 2020: 652; Carocho vd., 2018: 107). Canlı organizmalar, metabolizmanın, normal solunumun ya da ksenobiyotiklerin otoksidasyonunun yan ürünleri olarak veya bazı hastalıklardan kaynaklanan stres sonucunda sürekli ROT'a maruz kalırlar. Tüm aerobik organizmalarda, hasarlı molekülleri yok etmek veya onarmak için antioksidan savunmalar bulunur. Normal bir hücrede oksijen türlerinin oluşumu çok arttığında ve antioksidan seviyeleri azaldığında oksidatif stres oluşur. Başka bir deyişle oksidatif stres, ROT ve antioksidan savunma arasındaki dengesizliğin sonucu olarak ortaya çıkar ve bazı hücresel işlevleri düzensizleştirerek patolojik durumlara yol açabilir. Oksidatif stres doku hasarına ve birçok hastalığın temeli olan hücre ölümüne neden olabilir. Oksidatif stresin kanser, arterioskleroz, sıtma ve romatoid artrit patolojisinde yer aldığı ve nörodejeneratif hastalıklar ile yaşlanma süreçlerinde rol oynayabildiği bildirilmiştir. Antioksidanlar hem gıdalarda hem de insan vücudunda oksidatif süreçleri ve ROT'un zararlı etkilerini azaltmada çok önemli bir rol oynar (Moure vd., 2001: 146-147; Gulcin, 2020: 653-657). Bir antioksidan, "oksitlenebilir bir substratına kıyasla düşük derişimlerde bulunduğunda, bu substratın oksidasyonunu büyük ölçüde geciktiren veya önleyen bir madde" şeklinde tanımlanabilir (Halliwell, 1995: 1341). Gıda katkı maddesi olarak antioksidanlar gıdalarda lipit peroksidasyonunu geciktirir ve ikincil lipit peroksidasyon oluşumunu önler (Gulcin, 2020: 678). Antioksidanlar serbest radikal oluşturmadan sahip oldukları elektronları serbest radikale vererek radikal zincir reaksiyonunu bitirir ve böylece gıdaların oksidasyona uğramasını engeller. Bunun sonucunda antioksidanlar gıdaların uzun süre korunmasına ve raf ömrünün uzamasına yardımcı olur (Msagati, 2012: 14; Shahidi ve Zhong, 2015: 757). Ancak gıdalarda kullanılan antioksidanların ucuz, düşük derişimlerde bile etkili, toksik etki göstermeyen, yüksek kararlılıkta, tatsız ve kokusuz özellikte olması ve gıda içinde iyi çözünürlük göstermesi gerekmektedir. Gıdalarda kullanımın yanı sıra antioksidanlar insan vücudunda serbest radikallerin ve ROT'un etkilerini azaltarak kronik hastalıkların ilerlemesini de engeller (Shahidi ve Ambigaipalan, 2015: 820-821; Gulcin, 2020: 675).

Antioksidanların yaygın olarak kullanımı antik çağlara dayanmaktadır. Hindistan, Tayland ve Çin'de iklimden kaynaklı yüksek sıcaklıklarda gıdaların bozulmasının gıdalara çeşitli baharatlar eklenmesiyle geciktirildiği bilinmektedir (Shahidi, 2015:

1). İlk defa 1773 yılında denizci hastalığı olarak bilinen iskorbüt hastalığının tedavisinde kullanılan sirke, hardal ve sarımsağın aslında hiçbir etki etmediği hastalara portakal, limon gibi turunçgillerde bol miktarda bulunan L-askorbat verildiğinde ise hastaların iyileştiği rapor edilmiştir (Sakihama ve Yamasaki, 2021: 306). Antioksidanlar doğal ve sentetik olarak iki grupta incelenebilir (López-Pedrouso vd., 2022: 1). Günümüzde yaygın olarak sentetik antioksidanlar kullanılmaktadır. Bunun temel nedeni, doğal antioksidanların hem maliyetinin yüksek olması hem de üretim verimliliğinin düşük olmasıdır (Moure vd., 2001: 146).

2.1.1.1. Doğal antioksidanlar

Gıdalarda sentetik antioksidanlar yaygın olarak kullanılsa da gıda içerisinde hem yağda hem de suda rahatlıkla çözümleri ve aynı zamanda sağlık açısından daha az zararlı olmaları nedeniyle doğal antioksidanlar da kullanılmaktadır (Moure vd., 2001: 146). Özellikle son yıllarda sentetik antioksidanların toksisitesi ve sağlık üzerindeki olası etkileri doğal antioksidanlara olan ilgiyi arttırmıştır. Bu tür antioksidanların insan sağlığı üzerinde bir risk oluşturmadığı düşünülmektedir ve gıdalarda kullanılabilecek doğal antioksidanlarla ilgili çalışmalar giderek yaygınlaşmaktadır (Gulcin, 2020: 657-658). Gıdalarda reaktif oksijen türleri, serbest radikaller ve oksidasyonu hızlandırıcı faktörler oksidatif strese yol açar. Antioksidanlar serbest radikal oluşumunu engelleyerek otoksidasyona karşı bir çözüm olur (Brewer, 2011: 221).

Meyve, sebze, tohum, yaprak, kabuk gibi bitkilerin tüm kısımlarında bulunabilen bitki fenolikleri başlıca doğal antioksidan kaynaklarıdır. Vanilik asit, *p*-hidroksibenzoik asit, *p*-kumarik asit, kafeik asit, sinnamik asit, rosmarinik asit gibi fenolik asitler, kuarterisin, kemferol gibi flavonoidler, β -karoten, likopen, lutein, retinol (vitamin A) gibi karateoidler, stilbenler, kumarinler, lignanlar, taninler ve tokoferoller (vitamin E) doğal antioksidan aktivitesine sahip önemli bileşiklerdir. İnsanlar diyet yoluyla doğal antioksidan aktiviteye sahip pek çok bileşiği vücutlarına almaktadır. Bu bileşiklerin en önemlilerinden birisi askorbik asittir (vitamin C). Suda çözünen bir vitamin olan askorbik asit en güçlü antioksidanlardan birisidir. Pek çok gıdada yüksek derişimlerde bulunan askorbik asit oksidanlarla reaksiyona girer, elektron transferi yoluyla zincirleme radikal reaksiyonlarını sonlandırabilir (Gulcin, 2020: 658-673).

2.1.1.2. Sentetik antioksidanlar

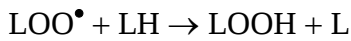
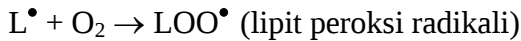
Sentetik antioksidanlar doğal antioksidanlara göre daha ucuz olmaları ve bol bulunmaları nedeniyle yaklaşık 70 yıldır gıdalarda katkı maddesi olarak kullanılmaktadır. Doğada bulunmayan ve laboratuvarında kimyasal olarak sentezlenen bu maddeler işleme ve depolama sırasında lipit oksidasyonunu engellemek ve böylece gıdanın raf ömrünü uzatmak amacıyla yağlara ve yağlı gıdalara ilave edilir. Doğal antioksidanların kararsızlığı nedeniyle gıda endüstrisinde sentetik antioksidanların kullanımı yaygındır. Bütıl hidroksitoluen (BHT), dodesil gallat (DG), bütıl hidroksianisol (BHA), tersiyer bütılhidrokinon (TBHQ), oktil gallat (OG) ve propil gallat (PG) gıdalarda kullanımına izin verilen sentetik fenolik antioksidanlardır (Gulcin, 2020: 675; Uzombah, 2022: 6-7). Ancak potansiyel toksisite etkileri nedeniyle sentetik fenolik antioksidanların gıda maddelerinde kullanımı yönetmeliklerle sıkı bir şekilde düzenlenmektedir. Monofenolik bir antioksidan olan BHA, 3-terciyer-bütıl-4-hidroksianisol ve 2-terciyer-bütıl-4-hidroksianisol olmak üzere iki izomerin karışımı olan beyaz mumsu pullar halinde bulunur. Kısa zincirli yağ asitlerinin oksidasyonunu önlemede özellikle etkin olan BHA katı ve sıvı yağlarda çok çözünür, suda ise çözünmez ve uçucu yağların tat ve renginin bozulmasını engellemek için kullanılır. BHA, fırınlanmış ve kızartılmış gıdalara, kuru tahıllara, patates içeren ürünlere, tatlı karışımlarına ve içeceklere katılır. (Shahidi ve Ambigaipalan, 2015: 825-827; Dolatabadi ve Kashanian, 2010: 1225). Tıpkı BHA gibi bir monofenol olan BHT moleküle daha fazla sterik engel yaratan iki tert-butıl grubunun varlığı nedeniyle BHA kadar etkili değildir. BHT hayvansal yağların oksidasyonunu bastırmada bitkisel yağlardan daha etkilidir (Shahidi ve Ambigaipalan, 2015: 827-828). TBHQ doymamış bitkisel yağlar, yenilebilir hayvansal yağlar ve çeşitli et ürünleri için kullanılan sentetik bir antioksidandır. TBHQ ilave edildiği gıdanın kokusunda ya da renginde herhangi bir değişikliğe neden olmaz (Kashanian ve Dolatabadi, 2009: 743). 1-oktanol ve gallik asitin esteri olan oktil gallat da gıdalarda TBHQ, BHA, BHT ve PG kadar olmasa da kullanılan fenolik bir sentetik antioksidandır (Gulcin, 2020: 657).

2.1.1.2.1. Propil gallat

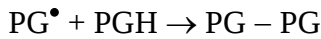
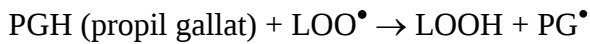
Propil gallat 3,4,5-trihidroksibenzoik asidin propil esteridir. $C_{10}H_{12}O_5$ molekül formülüyle bilinen propil gallatın kimyasal adı n-propil 3,4,5-trihidroksibenzoat olup,

yapısı Şekil 2.1’de verilmiştir. Beyaz veya krem rengine kristal şeklinde bulunan kokusuz bir katı olan PG, etanol, eter ve propan-1,2-diolde çözünürken sudaki çözünürlüğü düşüktür (EFSA, 2014: 7). PG, gallik asidin propil alkol ile esterleştirilmesi ve sonrasında fazla alkolün uzaklaştırılması için damıtılmasıyla hazırlanır (Dolatabadi ve Kashanian, 2010: 1225). E310 koduyla bilinen PG, 1948’den beri katı veya sıvı yağlarda ve yağlı gıdalarda peroksit kaynaklı acılaşmayı önlemek için kullanılmaktadır. PG’nin ayrıca kozmetik endüstrisinde, yapıştırıcılarda ve makine yağlarında katkı maddesi olarak kullanıldığı bilinmektedir (Nguyen vd., 2021: 1; Shahidi ve Ambigaipalan, 2015: 828). Erime noktası 146–150 °C aralığında olduğu için PG, ısıtım sırasında etkinliğini yitirir ve bundan dolayı 190 °C’yi aşan sıcaklıkları içeren uygulamalarda kullanımı uygun değildir (EFSA, 2014: 7, Shahidi ve Ambigaipalan, 2015: 828).

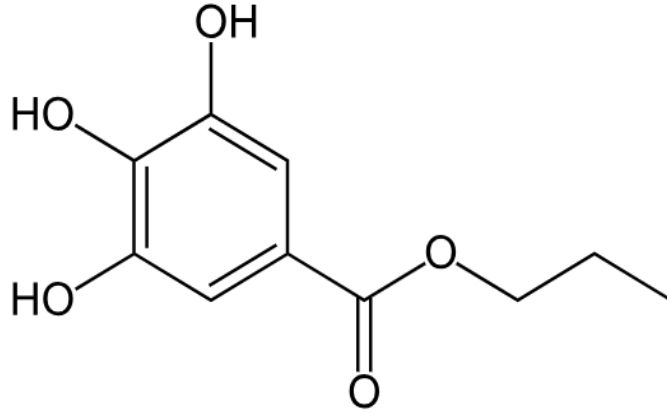
Bitkisel yağlar, et ürünleri, patates cipsleri, sakız, şeker vb. PG’nin sıklıkla kullanıldığı gıda ürünleridir (Uzombah, 2022: 7). PG’nin tolere edilebilir günlük alım miktarı 0–0,25 mg/kg vücut ağırlığı olarak bildirilmiştir (Shahidi ve Ambigaipalan, 2015: 828). PG’nin serbest radikal temizleyici olduğu ve yağların serbest radikal peroksidasyonunu önlemek için kullanılabileceği öne sürülmüştür. Lipid hasarı, tüm lipidler yükseltgeninceye kadar devam eder. Bu reaksiyon aşağıdaki gibi gerçekleşir:



Propil gallat bu reaksiyona lipit peroksi radikali oluşumu sonrası aşağıda gösterildiği gibi katılır.



Reaksiyona göre serbest lipit radikali oksijenle tepkimeye girerek lipit peroksi radikali oluşturur. Ardından propil gallatın yapısında bulunan hidroksil grupları hidrojen vererek serbest lipit radikalini ortadan kaldırır (Becker, 2007: 90-91).



Şekil 2.1. Propil gallatın kimyasal yapısı

2.1.2. Antioksidanların İnsan Sağlığına Etkileri

Antioksidanlar serbest radikal temizleme yeteneklerinden dolayı farklı hastalıklara neden olan oksidatif reaksiyonları önleyebilir. Antioksidanların insan sağlığına faydalı olabileceğini gösteren çalışmalar vardır. Ancak, kanserle ilgili araştırmalarda antioksidanların kanser tedavisinde bir yöntem olarak kullanılmasının yanı sıra kanser hücresinin ilerlemesinde arttırıcı bir etkiye sahip olduğu da gözlemlenmiştir (Sarangarajan vd., 2017: 1112). Serbest radikal üretimi ve antioksidan savunması arasındaki denge bozulduğunda oksidatif stres ortaya çıkar ve bu stres lipidlerde, proteinlerde, nükleik asitlerde ve çeşitli moleküllerde hasara yol açar. İnsan vücudunda oluşan hasarlar sonucunda artrit, vaskülit, glomerülonefrit, lupu, eritematöz yetişkin solunum yolu hastalıkları gibi inflamatuvar hastalıklar ortaya çıkabilirken, kalp hastalıkları, felç, bağırsak iskemi, hemokromatoz, mide ülseri, hipertansiyon nörolojik hastalıklar ve alkolizm gibi hastalıklar da tetiklenebilir (Lobo vd., 2010: 120-121).

Gıda endüstrisinde yaygın olarak kullanılan sentetik antioksidanların genel olarak güvenli olduğu kabul edilse bile bazı çalışmalar bunun aksini iddia etmektedir. Örneğin %1-2 oranında BHA'nın DNA'da kalıtsal değişikliklere neden olarak kemirgen midesinde tümör oluşumuna yol açtığı varsayılmaktadır. Ancak, diyetle alınan %0,25 ve %0,75 seviyelerindeki BHA'nın genç dişi fareleri monokrotalinin akut toksisitesine karşı koruduğu bulunmuştur. TBHQ'nun yüksek dozlarına maruz kalınmasının laboratuvar hayvanlarında DNA üzerinde olumsuz etkiler yaptığı ya da mide tümörlerinin öncüsü olduğu bildirilmiştir. Propil gallat ve metaboliti olan gallik asidin karaciğer toksisitesi sergilediği ve karsinogenezi arttırdığı gösterilmiştir.

PG'nin ayrıca mitokondriyi bozarak ATP tükenmesine yol açtığı ve sıçan hepatositleri için sitotoksik olduğu rapor edilmiştir. BHT'nin yüksek dozlarda alındığında K vitaminine bağlı kan pıhtılaşma faktörlerini azaltarak bazı fare ve kobay türlerinde ölüme neden olacak kadar şiddetli iç ve dış kanamaya neden olabileceği bildirilmiştir. BHT'nin genotoksik veya tekrarlanabilir şekilde kanserojen olmadığını, ancak 250 mg/kg/gün veya daha yüksek dozlarda tümör yapıcı özellik gösterebileceğini rapor eden çalışmalar da vardır. Uluslararası Kanser Araştırmaları Ajansı'nın genel değerlendirmesi ise, BHT'nin insanlar için kanserojen olmadığı yönündedir (Williams vd., 1999: 1027-1034; Shahidi ve Ambigaipalan, 2015: 825-828). Literatürdeki tüm bu çelişkili çalışmalar nedeniyle sentetik antioksidanların gıdalarda yasal düzenlemelerle belirlenen limitleri aşmayacak şekilde kullanılması büyük öneme sahiptir.

2.1.3. Antioksidanların Analiz Yöntemleri

Antioksidanların tahıl ürünlerinde, katı ve sıvı yağlarda, ballarda, içeceklerde ve çeşitli kuru gıdalarda nicel ve nitel analizinde çeşitli klasik analiz yöntemleri kullanılmaktadır. Yüksek performanslı sıvı kromatografi (HPLC), kolorimetri, gaz kromatografi (GC) ve spektrofotometri, kapiler elektroforez, gaz kromatografi-kütle spektrometri (GC-MS) gibi yöntemler antioksidan analizinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu yöntemlerin yanı sıra çevre dostu, ucuz, cevap süresi kısa, daha düşük tayin sınırına sahip, karmaşık numune hazırlama basamağı olmayan, yerinde analiz şansı tanıyan elektrokimyasal yöntemler de antioksidan analizlerinde kullanılmaktadır (Wang vd., 2021: 1-2, Hoyos-Arbeláez vd., 2017: 1372).

Propil gallatın tayininde ise kemilüminesans ile birleştirilmiş yüksek performanslı sıvı kromatografi (He vd., 2017: 404-405), akış enjeksiyon spektrofotometri (Capitán-Vallvey vd., 2001: 897), elektrokinetik kılcal kromatografi (Guan vd., 2006: 157-158), HPLC-MS (Xiu-Qin vd., 2009: 692-693) ve elektrokimyasal yöntemler (Sivasankaran ve Kumar, 2019: B92-B94) kullanılmaktadır.

2.2. Elektrokimyasal Yöntemler

Elektrokimyasal yöntemler akım, potansiyel ve yük gibi elektriksel büyüklüklerin ölçülmesi ve bu büyüklüklerin kimyasal parametrelerle ilişkilendirilmesine dayanır. Bu yöntemler çevresel izleme, endüstriyel uygulamalarda kalite kontrol ve klinik analizler başta olmak üzere pek çok alanda kullanılmaktadır (Wang, 2006: 1-2).

Elektrokimyasal teknikler, kromatografi, spektrometri gibi geleneksel yöntemlerle kıyaslandığında, basitlik, pratiklik, düşük maliyet, yüksek duyarlık ve seçicilik, düşük tayin sınırı, az miktarda numune gerektirme, hızlı ve güvenilir cevap, numune için genellikle ön ayırma gerektirmeme gibi üstünlüklere sahiptirler (Motshakeri vd., 2022: 2429).

Elektrokimyasal yöntemler elektrot ve çözelti arasındaki arayüzeyde gerçekleşir. Elektroanalitik ölçümlerde potansiyometrik ve potansiyostatik olarak iki ana tür vardır. Her iki türde de elektrokimyasal hücreyi oluşturan en az iki elektrot ve bir numune çözeltisi (elektrolit) bulunur. İki elektrottan birincisi çalışma elektrodudur. Çalışma elektrodu analiz edilecek maddeye cevap verirken referans elektrot ise sabit potansiyele sahiptir. Potansiyometri analit hakkındaki bilgilerin bir membran boyunca oluşan potansiyelin ölçülmesiyle elde edildiği akımın pratikçe sıfır olduğu statik bir tekniktir ve yöntemin seçiciliğini arttırmak için farklı iyon tanıma yeteneğine sahip çeşitli türlerde membranlar kullanılır. Potansiyostatik yöntemde ise, elektrot ile çözelti arasındaki yük aktarım süreçleri akımın sıfırdan farklı olduğu dinamik koşullarda incelenir. Bu yöntemde potansiyel uygulanarak bir elektron transfer reaksiyonu başlatılır ardından açığa çıkan akım ölçülür. Potansiyostatik yöntemlerde indirgenebilen ya da yükseltgenebilen elektroaktif maddeler analiz edilebilir. Potansiyostatik yöntemlerin avantajları yüksek hassasiyet, yüksek seçicilik, geniş çalışma aralığı, yerinde analiz imkânı ve düşük maliyettir (Wang, 2006: 1-2).

2.2.1. Voltametri

Voltametri yöntemi çalışma elektrotunun polarize olduğu koşullar altında akımın potansiyelin bir fonksiyonu olarak ölçülmesi temeline dayanır. Bu yöntemde en önemli olay polarizasyonun sağlanmasıdır ve bunun için mikroelektrotlar kullanılır (Skoog vd., 2000: 653-655). Voltametride genellikle üç elektrot kullanılmaktadır. Bu üç elektrot karşıt elektrot, referans elektrot ve çalışma elektrodu olarak adlandırılır. Referans elektrot sabit ve bilinen bir elektrot potansiyeline sahiptir. Referans elektrot, diğer iki elektrot arasındaki voltajı ölçerek çalışma elektrodunun potansiyelini kontrol etmeye yardımcı olur. Genellikle platin tel olan karşıt elektrot, sinyal kaynağından gelen elektriğin çözelti içerisinden geçerek çalışma elektroduna iletilmesi görevini görür. Çalışma elektrodunun elektrolit/elektrot arayüzeyinde

oluşan potansiyel fark potansiyostat yardımıyla kontrol edilir (Skoog vd., 2000: 653-655; Scholz, 2015: 1-3).

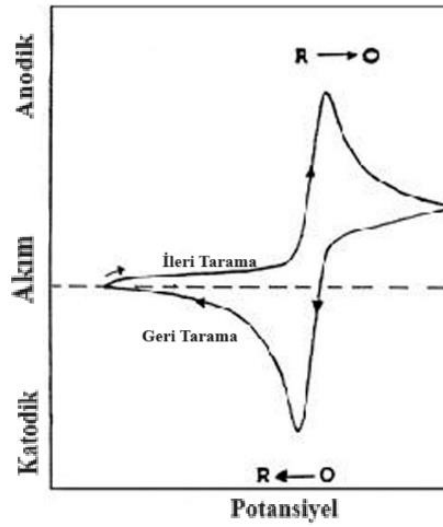
Voltametrinin atası 1922’de Jaroslav Heyrovskiy’nin geliştirmiş olduğu polarografidir. Bu yöntemde Heyrovsky çalışma elektrodu olarak damlayan civa elektrodu kullanmıştır. Kullanılan elektrodun kolayca yenilenebilir yüzeyi ve geniş katodik potansiyel aralığı nedeniyle, yöntem indirgenebilir türlerin tayininde yaygın biçimde kullanılmıştır (Scholz, 2015: 9-10; Wang, 2006: 69-75). Voltametri yöntemi farklı ortamlarda oluşan yükseltgenme ve indirgenme olaylarının, yüzeylerdeki adsorpsiyon süreçlerinin ve kimyasal modifikasyon yapılmış elektrotların yüzeylerindeki elektron transfer mekanizmalarının aydınlatılmasında kullanılır. Bu yöntemde, çalışma elektrodunun olduğu elektrokimyasal hücreye farklılaştırılabilir bir potansiyel uyarma sinyali uygulanır ve uygulanan bu sinyal bir akım oluşturur. Voltametrik yöntemler kullanılan uyarma sinyalinin türüne göre doğrusal taramalı voltametri, kare dalga voltametri, diferansiyel puls voltametri ve dönüşümlü voltametri gibi farklı gruplara ayrılır (Skoog vd., 2000: 653-655).

2.2.1.2. Dönüşümlü voltametri

Dönüşümlü voltametri (CV) elektrokimyasal reaksiyonları aydınlatmak için sıklıkla kullanılan bir yöntemdir. CV kullanılarak, redoks süreçlerinin termodinamiği ve heterojen elektron transferi reaksiyonlarının kinetiğinin yanı sıra adsorpsiyon süreçleri hakkında önemli bilgiler sağlanabilir. Dönüşümlü voltametri elektroaktif türlerin redoks potansiyellerinin tayin edilmesine ve ortamın redoks süreci üzerindeki etkisini incelemeye olanak sağladığından elektroanalitik çalışma yapılırken tercih edilen ilk yöntemdir. Bu yöntemde karıştırılmayan bir çözeltideki sabit çalışma elektroduna üçgen dalga şeklinde potansiyel uygulanarak potansiyelinin doğrusal olarak taranması sağlanır. Araştırılacak bilgiye göre bir veya birden fazla döngü alınabilir. Potansiyel taraması sırasında potansiyostat akımı ölçer, ölçülen akım potansiyele karşı grafiğe geçirilir ve bu grafik dönüşümlü voltamogram olarak adlandırılır (Wang, 2006: 29-37).

O yükseltgenmiş bir tür, R aynı türün indirgenmiş formu ve n sisteme potansiyel uygulandığında reaksiyonun gerçekleşmesi için gerekli elektron sayısı olmak üzere $O + ne^- \leftrightarrow R$ tersinir sistemi ele alındığında tek bir potansiyel döngüsü için beklenen voltamogram Şekil 2.2’de verilmektedir. Başlangıçta sadece R türünün olduğu

varsayılır. Döngünün ilk yarısı için hiçbir reaksiyonun gerçekleşmediği bir potansiyel değerinden başlayarak pozitif tarama potansiyeli seçilir. Potansiyel redoks süreci için karakteristik standart indirgeme potansiyeline (E°) yaklaştıkça, anodik akım bir tepe noktasına ulaşılana kadar artmaya başlar. Yükseltgenmenin gerçekleştiği potansiyel bölgesini geçtikten sonra potansiyel tarama yönü tersine çevrilir. Ters taramada ise, O molekülleri R'ye geri indirgenir ve katodik pik gözlenir (Hoyos-Arbeláez vd., 2017; 1374; Motshakeri vd., 2022: 2430).



Şekil 2.2. Tersinir bir sistem için tipik bir dönüşümlü voltamogram

Yalnızca ileri tarama gerçekleştirilir ve geri tarama yapılmazsa, bu teknik doğrusal taramalı voltametri (LSV) olarak adlandırılır. Dönüşümlü voltamogramdan reaksiyonun tersinir, tersinmez ya da yarı tersinir olduğu, aktarılan elektron sayısı ve çözeltide difüzyonun rolü veya elektrot yüzeyinde analitlerin adsorpsiyonu gibi birçok yararlı bilgi elde edilebilir (Motshakeri vd., 2022: 2430).

2.2.1.3. Diferansiyel puls voltametri

Puls teknikleri faradayik ve faradayik olmayan akımlar arasındaki oranı arttırarak voltametrik ölçümlerin tayin sınırlarını düşürmek amacıyla geliştirilmiştir. Kullanılan uyarma sinyalinin türüne göre puls teknikleri, normal puls voltametri, diferansiyel puls voltametri ve kare dalga voltametri gibi isimler alır (Wang, 2006: 77-80).

Diferansiyel puls voltametri (DPV) eser miktardaki organik ve inorganik türlerin tayininde yaygın olarak kullanılmaktadır. DPV, sabit büyüklükteki pulsların doğrusal bir potansiyel rampası üzerine bindirildiği bir yöntemdir. Bu yöntemde çalışma

elektroduna puls uygulanmadan hemen önce ve sonra akım ölçülür ve bu iki akımın farkı alınır. Elde edilen akım farkı elektroda uygulanan potansiyele karşı grafiğe geçirilir ve diferansiyel puls voltamogramları elde edilir. DPV’de puls uzunluğu genellikle 40 ila 60 ms arasında değerler alır ve pulsar arasındaki aralık 0,5 ile 5 sn arasında değişir. Bu voltamogramlarda pik akımının yüksekliği analiz edilen maddenin derişimi ile doğru orantılıdır. DPV’nin en önemli üstünlüklerinden birisi benzer redoks potansiyellerine sahip türlerin analizinin yapılabilmesidir. Çoğu zaman redoks potansiyelleri arasında 50 mV olan türler bu yöntem ile ölçülebilir (Wang, 2006: 77-80; Hoyos-Arbeláez vd., 2017: 1374).

2.2.2. Kronoamperometri

Kronoamperometri, çalışma elektrodunun potansiyelinin hiçbir faradayik reaksiyonun oluşmadığı bir değerden elektroaktif türlerin yüzey derişiminin pratikçe sıfır olduğu potansiyele adım adım çıkarılmasını içerir. Bu yöntemde, uygulanan sabit potansiyelde elektroaktif türün indirgenme ya da yükseltgenmesi nedeniyle oluşan akım ölçülür. Yöntemde elektroda uygulanan sabit potansiyel sonucu ortaya çıkan akım–zaman ilişkisi izlenir. Difüzyon sınırlı akım, elektrot yüzeyinin yakınındaki derişim gradyanına cevap olarak azalan zamanın bir fonksiyonu olarak kaydedilir (Wang, 2006: 67-69). Yöntem bir analit reaksiyonunun kinetiklerini araştırmak, analitin difüzyon katsayısını belirlemek gibi amaçlarla kullanılır (Motshakeri vd., 2022: 2430).

Kronoamperometri gibi potansiyel kontrollü bir yöntemde akımın zamanla değişimi Cottrell eşitliği ile verilir.

$$i(t) = \frac{nFACD^{1/2}}{\pi^{1/2}t^{1/2}} = kt^{-1/2}$$

Yukarıdaki Cottrell eşitliğinde n aktarılan elektron sayısını, F Faraday sabitini, A elektrodun elektroaktif alanını, C analitin derişimini, D analitin difüzyon katsayısını ve t ise zamanı ifade etmektedir (Wang, 2006: 67-69).

2.2.3. Elektrokimyasal Empedans Spektroskopi

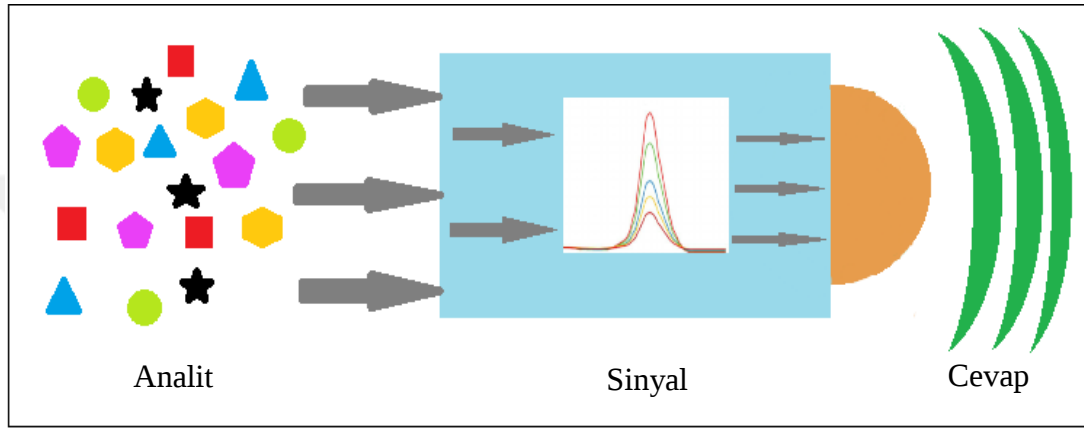
Elektrokimyasal empedans spektroskopi (EIS) elektrokimyasal sistemlerin iletkenliğini ve direncini incelemeye yarayan bir yöntemdir. EIS devredeki empedansın direnç birimi olan ohm ile ölçüldüğü elektrokimyasal tekniklerden

biridir. EIS kütle aktarımı, yük aktarımı ve difüzyon süreçlerini inceleyebilmek için kullanılabilir. Geleneksel bir elektrokimyasal hücrede elektrodun redoks türleriyle etkileşimi, elektroaktif türlerin derişimi, yük transferi ve elektrolitin direncine ek olarak yığın çözeltilerden elektrot yüzeyine kütle transferini içerir. Bu özelliklerden her birisi eşdeğer bir devre oluşturmak için seri veya paralel bağlanmış dirençler, kapasitörler ya da sabit faz elementlerinden oluşan elektriksel bir devre ile karakterize edilir. Elektrot çözelti arayüzeyinde gerçekleşen elektrokimyasal değişimler deneysel empedans spektrumuna karşılık gelen elektronik eşdeğer devre elemanları kullanılarak modellenenir. Tasarlanan elektrik devresinde yaygın olarak Randles modeli kullanılır. Bu model çözeltinin direnci (R_s), elektrot yüzeyindeki çift katmanlı kapasitans (C_d), yük aktarım direnci (R_{ct}) ve Warburg direncinden (W) oluşur. Empedans gerçek kısım ve sanal kısım olmak üzere ikiye ayrılır. Gerçek kısım ($Z_{gerçek}$) X ekseninde, sanal kısımda (Z_{sanal}) Y ekseninde olacak şekilde grafiğe geçirildiğinde Nyquist eğrileri elde edilir. Nyquist grafiğinde her nokta bir frekans noktasındaki empedans değerini ifade etmektedir. Nyquist grafiğinin şekli çalışma elektrodunun bileşimine ve elektrot yüzeyinde ya da çözeltide meydana gelen elektrokimyasal tepkimelere bağlıdır. Tipik bir Nyquist eğrisi genellikle bir yarım daire ve düz bir çizgiden oluşur. Nyquist eğrisinde yüksek frekansta elde edilen yarım daire elektron transferiyle sınırlı sürece karşılık gelirken düşük frekanslarda elde edilen düz çizgi ise difüzyonla sınırlı süreci göstermektedir. Elektron transferi çok hızlı gerçekleşiyorsa spektrum sadece doğrusal alanı içerirken elektron transferinin yavaş olduğu reaksiyonlarda büyük yarım daire oluşmaktadır. Oluşan yarım dairenin çapı (R_{ct}) elektron transfer direncini ifade eder (Magar vd., 2021: 1-21; Wang, 2006: 58-61). EIS elektrokimyasal sistemlerin kinetik ve mekanik verilerinde, korozyon araştırmalarında, yarı iletken biliminde, enerji dönüşüm ve depolama teknolojilerinde, kimyasal ve biyoalgılamada kullanılmaktadır (Lazanas ve Prodromidis, 2023: 162).

2.3. Sensörler

Sensörler gelen spesifik bilgileri belli kurallara göre çıkış sinyaline dönüştüren cihazlar olarak tanımlanmaktadır. Sensörler ışık, ses, sıcaklık ve basınç gibi fiziksel bilgileri algılayan fiziksel sensörler ve madde bileşimi, derişim gibi kimyasal bilgileri algılayan kimyasal sensörler olarak ikiye ayrılır (Yu vd., 2023: 1). Kimyasal

sensörler analitin derişiminden toplam bileşim analizine kadar geniş yelpazedeki kimyasal bilgiyi analitik olarak yararlı bir sinyale dönüştürebilen cihazlardır (Korotcenkov ve Cho, 2011: 1). Bir sensörün genel yapısı Şekil 2.3’de verilmiştir. Sensörler reseptör ve dönüştürücü olarak iki ana kısımdan oluşur. Reseptör analitle etkileşime giren algılama materyalidir. Dönüştürücü (transduser) ise, reseptörden gelen giriş sinyalini ölçülebilir bir sinyale dönüştüren sistemdir (Yu vd., 2023: 1; Gründler, 2007: 8-9).



Şekil 2.3. Bir sensörün genel gösterimi

Sensörlerin tarihsel gelişimine bakıldığında ilk olarak Nernst ve Kohlraush tarafından 1904’de termal iletkenlik esasına dayalı gaz sensörü geliştirilmiştir. Ardından 1909’da Haber ve Klemensiewicz cam elektrodu geliştirmiştir. 1922’de ise, Hughes ilk cam pH elektrodu bulmuştur. Ancak bu elektrot günlük kalibrasyon gerektirir ve kullanımı çözeltilerdeki veya ıslak yüzeylerdeki ölçümler ile sınırlıdır (Korotcenkov ve Cho, 2011: 7-9). 1940–1950 yılları arasında elektrot yüzeyindeki indirgenme-yükseltgenme tepkimeleri büyük ilgi görmeye başlamıştır ve bu tepkimeler bilim insanlarının metal iyonlarının ve bazı organik bileşiklerin tayini için analitik yöntemler geliştirmesine olanak sağlamıştır. 1956’da ise Lenand Clark tarafından dokularda ve biyolojik sıvılardaki oksijen miktarını ölçmek için oksijen elektrodu keşfedilmiştir. Bu elektrot, elektrokimyasal sensörlerin ilk uygulaması olarak kabul edilmektedir (Korotcenkov ve Cho, 2011: 7-9).

Kimyasal analizlerde kullanılan klasik yöntemler birçok dezavantaja sahiptir. Örneğin yaygın olarak kullanılan HPLC ve spektroskopik yöntemler gıda, farmasötik ve çevresel bileşiklerin analizinde yerinde analize imkân tanımama, yüksek maliyetli ve zahmetli olma, uzman analizciye ihtiyaç duyma gibi dezavantajlar gösterir.

Sensörler taşınabilir olması, pratik ve uzmanlık gerektirmeyen kullanımı ve klasik yöntemlere göre daha düşük maliyeti nedeniyle son yıllarda büyük ilgi görmektedir (Karimi-Maleh vd., 2020: 682-683; Khizar vd., 2022: 4). Sensörlerin kullanım alanları oldukça geniştir. Çevresel uygulamalarda sensörlerin kullanım alanlarına endüstriyel faaliyetler sonucunda açığa çıkan zehirli gazların analizi, suyun içinde bulunan toksik iyonların tespiti, tarımda kullanılan ilaç ve gübrelerin doğaya salınmasından kaynaklanan kirleticilerin analizi gibi örnekler verilebilir. Sağlık alanında ise sensörler, insan fizyolojisinde önemli rol oynayan maddelerin analizi, bakteri ve virüslerin belirlenmesi gibi uygulamalarda kullanılmaktadır. Gıda kalitesinin değerlendirilmesi için kullanılan vitaminler, sakkaritler, antioksidanlar, patojenik mikroorganizmalar gibi pek çok maddenin analizinde sensörler kullanılmaktadır. Diğer önemli kullanım alanı ise patlayıcıların, patojenik mikroorganizmaların ve zehirli gazların tespitidir (Banica, 2012: Başlık 1).

2.3.1. Sensörlerin Sınıflandırılması

Sensörler kullanılan dönüştürücü çeşidine göre elektrokimyasal, kütle duyarlı, kalorimetrik ve optik olarak dört grupta incelenir (Korotcenkov ve Cho, 2011: 5-7). Kütleye duyarlı sensörler, analit ile etkileşim sırasında sensör yüzeyindeki kütlede oluşan farklılıklara dayanır. Kütledeki değişim, algılama katmanı ile etkileşim sırasında analiz yapılacak maddenin birikmesinden kaynaklanır. Optik sensörler, analiz edilecek maddenin reseptör ile etkileşimi sonucu oluşan foton radyasyonunun yoğunluğunun ölçülmesine dayanır. Bu tip sensörlerde absorpsiyon, yansıma, floresans, fosforesans, kırılma indisi ve yüzey plazmon rezonansı gibi çeşitli optik transdüksiyon teknikleri kullanılır (Plata vd., 2010: 2538-2551). Kalorimetrik sensörler, analiz edilecek madde ile reseptör etkileşimi sonucunda açığa çıkan ısı değişimini incelemektedir (Banica, 2012: Başlık 1). Elektrokimyasal sensörler, elektrot ile çözelti arayüzeyinde meydana gelen iyon taşınması, iyon dağılımı ve elektron transferi reaksiyonlarına dayanır. Elektrokimyasal sensörler basitlik, hızlı cevap, düşük maliyet, minyatürleşmeye uygunluk, yerinde analiz imkânı, yüksek duyarlılık gibi özelliklere sahiptir. Bu tip sensörler voltametrik, potansiyometrik ve kondüktometrik olarak sınıflandırılır. Potansiyometrik sensörlerde çalışma elektrodu ile referans elektrot arasındaki potansiyel farkı ölçülür. Kondüktometrik sensörler, iki elektrot arasındaki iletkenlik değişimini ölçer. Voltametrik sensörlerde ise çalışma

elektroduna sabit ya da değişen bir potansiyel uygulandığında elektrot yüzeyindeki elektrokimyasal reaksiyon sonucu açığa çıkan akım ölçülür (Banica, 2012: Başlık 1; Plata vd., 2010: 2526-2527).

2.4. Biyosensörler

Biyosensörler, biyolojik bir bileşeni elektronik bir dönüştürücü ile birleştiren ve biyokimyasal sinyalleri elektrokimyasal, termal veya optik sinyallere dönüştüren analitik cihazlardır. Biyosensörde oluşan sinyalin büyüklüğü, biyoalgılama elemanın bağlandığı analitin derişimiyle orantılıdır (Verma ve Bhardwaj, 2015: 3099-3100; Bobade vd., 2016: 132-133). Biyosensörler, biyoreseptör ve dönüştürücü olmak üzere iki bölümden oluşur. Biyoreseptör, bir sinyal oluşturmak üzere analiti algılayan ve onunla etkileşime giren bileşendir, dönüştürücü ise sinyalin ölçülebilir analitik bir sinyale dönüşmesini sağlayan bölümdür (Gründler, 2007: 8-9; Banu vd., 2021: 382).

Biyosensörlerin tarihsel gelişimine bakıldığında, biyosensörün atası olarak kabul edilen Lenand Clark 1956 yılında bulduğu oksijen elektrodunu 1962 yılında glukoz oksidaz (GOx) enzimiyle modifiye ederek Champ Lyons ile birlikte glukoz biyosensörünü geliştirmiştir. Geliştirilen biyosensörle kanda bulunan glukozun enzim tarafından glukonik aside çevirilmesi sırasında harcanan O₂ miktarından yararlanarak glukoz derişimi hesaplanmıştır. Clark ve Lyons'un bu keşfiyle birlikte biyosensörler günümüze kadar gelişmeye devam etmiş ve farklı türlerin tayini için ticari biyosensörler piyasaya sürülmüştür (Newman ve Turner, 2007: 1-7 Korotcenkov ve Cho, 2011: 8-9). Biyosensörler klasik analitik yöntemlere göre yüksek duyarlık, basitlik, düşük maliyet, düşük tayin sınırı, kısa cevap süresi, uzman analize gerektirmemesi, yerinde analiz imkânı gibi avantajları nedeniyle çeşitli alanlarda sıklıkla kullanılmaktadır (Kaur vd., 2015: 534; Mehrotra, 2016: 153-159). Biyosensörler gıdalarda patojenlerin tespiti, gıda katkı maddelerinin tayini ve genel olarak gıda kalitesinin kontrolünde, tıp alanında, hastalıkların tespiti, teşhisi ve tedavisinde, tarım alanında, toprak ve suda bulunan kirleticilerin analizlerinde, biyosavunma alanında biyosavaş ajanı olarak adlandırılan kimyasalların tespitinde kullanılır (Mohankumar vd., 2021: 1; Mehrotra, 2016: 153-159, Chadha vd., 2022: 23-25; Vigneshvar vd., 2016: 4-11).

2.4.1. Biyosensörlerin Sınıflandırılması

Biyosensörler kullanılan dönüştürücü türüne göre dört grupta incelenir. Elektrokimyasal biyosensörler günümüzde en yaygın kullanılan biyosensör grubudur. Bu tip biyosensörlerde dönüştürücü yardımıyla biyoreseptör ve analit arasında meydana gelen elektrokimyasal reaksiyon sonucu oluşan akım, potansiyel, kapasitans ve empedans gibi sinyaller ölçülür. Optik biyosensörler optik dönüştürücü sistemine entegre edilmiş bir biyoreseptörden oluşan analitik cihazlardır. Optik biyosensörlerde biyoreseptör tarafından oluşturulan fiziksel veya kimyasal değişiklikler sonucu absorpsiyon, yansıma, kırılma, genlik, frekans veya ışık polarizasyonunda meydana gelen değişiklikler ölçülür. Kütle duyarlı biyosensörler karakteristik rezonans frekansındaki farklanmayı ölçerek bir piezoelektrik kristal yüzeyinde biriken analitin kütlelerinin belirlenmesi esasına dayanır (Naresh ve Lee, 2021: 2-9). Kalorimetrik biyosensörlerde biyokimyasal reaksiyon sırasında oluşan ısı değişimi ölçülür (Özoğlu vd., 2017: 186).

Biyosensörlerin diğer sınıflandırılma şekli, kullanılan biyoreseptör türüne göre yapılır. Biyoreseptör türüne göre biyosensörler enzim biyosensörleri, hücre biyosensörleri, mikrobiyal biyosensörler, nükleik asit biyosensörleri ve antikor biyosensörleri olarak sınıflandırılır (Naresh ve Lee, 2021: 2-9). Enzimler yüksek katalitik aktivite, seçicilik ve spesifiklik gösteren protein yapılı biyolojik makromoleküllerdir. Canlı organizmalarda enzimler metabolik süreçlerde yer alan binlerce spesifik reaksiyon için etkin katalizörlerdir. Clark ve Lyons tarafından 1962 yılında geliştirilen glukoz oksidaz temelli glukoz biyosensörü sonrasında bu tip biyosensörler daha çok ilgi görmeye başlamıştır (An vd., 2015: 283-296).

Enzim biyosensörlerinde, biyoreseptör kısmının oluşturulmasında enzimlerin immobilizasyonu büyük öneme sahiptir. Enzim immobilizasyonu için adsorpsiyon, kovalent bağlama, hapsedme, çapraz bağlama, mikrokapsülleme gibi teknikler kullanılabilir. Bu yöntemlerin her birinin avantajları ve dezavantajları vardır. Enzimlerin katı destekler üzerine adsorpsiyonu bilinen en basit immobilizasyon yöntemidir. Bu yöntemde katı destek belli bir süre için enzim çözeltisine daldırılır ve immobilizasyon gerçekleştirilir. Adsorpsiyon mekanizması Van der Waals kuvvetleri gibi zayıf etkileşimlere dayanır. Adsorpsiyon yönteminde enzim aktivitesinde herhangi bir kayıp gözlemlenmezken enzimler destek üzerine çok zayıf bağlandığı

için enzim desorpsiyonu ve biyosensörde buna bağlı gözlenen düşük kararlılık ana problemidir. Enzimler elektropolimerleşmiş film gibi üç boyutlu matrislere hapsedme yöntemi ile immobilize edilebilir. Hapsedme yöntemi ile immobilizasyona dayanan biyosensörler genellikle yüksek kararlılık gösterir. Ancak enzimin çözeltiye sızması ya da analit için olası difüzyon bariyerleri yöntemin performansını sınırlandırabilir. Kovalent bağlama yönteminde enzimler yüzeye fonksiyonel gruplarıyla bağlanırlar. Bu yöntemde katı destek genellikle immobilizasyon öncesi karbodiimit gibi çok fonksiyonlu bir reaktif ile aktive edilir ve enzim aktive edilmiş yüzeye bağlanır. Kovalent bağlama yöntemiyle immobilizasyonun enzimlerin tekrar kullanılabilirliğini ve depolama kararlılığını arttırdığı rapor edilmiştir. Çapraz bağlama yönteminde, enzimlerin gluteraldehit gibi bir bifonksiyonel ajan kullanılarak birbirlerine çapraz bağlanması yoluyla immobilizasyonu enzim temelli biyosensörlerin geliştirilmesinde sıklıkla kullanılan bir yöntemdir. Bu yöntemde biyomoleküller arasında kuvvetli kimyasal bağlar kurulur. Ancak, çapraz bağlama sırasında enzimin aktif merkezinde oluşabilecek değişiklikler enzim aktivitesinde kayıplara neden olabilir (Sassolas vd., 2012: 489-511; An vd., 2015: 283-296).

2.4.2. Elektrokimyasal Biyosensörler

Elektrokimyasal biyosensörler en fazla araştırılan ve kullanılan biyosensör grubudur. Elektrot ve analit arasında gerçekleşen elektrokimyasal reaksiyonları ölçülebilir sinyallere dönüştüren bu cihazlar kromatografik yöntemler ve spektroskopik yöntemler gibi klasik yöntemlere kıyasla daha düşük maliyetli, uzman analize gerektirmeyen yöntemlerdir. Bu cihazlar ayrıca kolaylıkla minyatürleştirilebilme, kısa cevap süresi, yüksek duyarlık, taşınabilirlik ve geniş tayin aralığı gibi üstün özellikler gösterir (Chadha vd., 2022: 32; Ahlawat vd., 2023: 2-3). Elektrokimyasal biyosensörler amperometrik, potansiyometrik ve kondüktometrik olmak üzere üç sınıfa ayrılır.

Amperometrik biyosensörler sabit bir potansiyel altında analiz edilecek maddenin derişimiyle orantılı olarak oluşan akım şiddetinin ölçülmesine dayanır. Clark ve Lyons'un geliştirdiği glukoz biyosensörü, amperometrik biyosensörün ilk örneğidir. Amperometrik biyosensörde, elektroda sabit bir potansiyel uygulanır. Elektrot yüzeyinde oluşan yükseltgenme-indirgenme reaksiyonu analiz edilecek maddenin derişimi ile orantılı akım üretir. Bu tip biyosensörler düşük tayin limiti ve yüksek

duyarlık göstermektedir. Amperometrik biyosensörler birinci, ikinci ve üçüncü nesil olarak üç gruba ayrılır (Bhardwaj, 2015: 3093-3119). Birinci nesil biyosensörler, analiz edilecek maddenin miktarının belirlenmesinde Clark'ın geliştirdiği glukoz biyosensöründe olduğu gibi H_2O_2 veya O_2 'nin doğrudan analizi prensibiyle çalışır. Analiz edilecek madde elektrot yüzeyinde yükseltgenerek akım üretilir ve oluşan bu akım ölçülür. Birinci nesil biyosensörlerin en büyük dezavantajı hidrojen peroksitin yükseltgenmesi ya da oksijen indirgenmesi için kullanılan yüksek potansiyellerdir. Elektroda uygulanan yüksek potansiyelde numunede bulunan dopamin, askorbik asit gibi elektroaktif türler yükseltgenerek sonuçların hatalı çıkmasına neden olabilir. Oksijen miktarı belirlenirken dış çevreden gelen oksijen de ölçümü etkileyebilir ve bu durumda yine hatalı sonuçlar elde edilebilir (Bhardwaj, 2015: 3093-3119). Birinci nesil biyosensörlerin bu dezavantajlarından dolayı ikinci nesil biyosensörler geliştirilmiştir. İkinci nesil biyosensörlerde elektron transferi için ferrosen, hidrokinon, ferrosiyanit, metilen mavisi gibi redoks medyatörleri kullanılır. Bu medyatörler daha düşük potansiyellerde çalışma imkânı tanıyarak analit dışındaki elektrokimyasal türlerden kaynaklanan girişim etkilerinin azaltılmasını sağlar (İbadullaeva vd., 2019: 697-698). İkinci nesil biyosensörlerde medyatör kullanımından kaynaklı zorlukları aşmak için üçüncü nesil biyosensörler ortaya çıkmıştır. Üçüncü nesil biyosensörlerde elektron transferi doğrudan enzim ile elektrot arasında gerçekleşir. Üçüncü nesil biyosensörlerde enzimin redoks potansiyeline yakın potansiyellerde çalışılabilir ve böylece bir difüzyon bariyeri oluşmaz. Bunun sonucunda da geliştirilen biyosensör yüksek seçicilik ve duyarlılığa sahip olur (Das vd., 2016: 386-397).

Potansiyometrik biyosensörde analiz edilecek maddenin derişimine bağılı olarak elektrotlar arasında bir potansiyel fark oluşur. Bu potansiyel farkından yararlanılarak analit derişimi belirlenir. Potansiyometrik biyosensörler amperometrik biyosensörlere göre daha düşük duyarlık ve daha yüksek tayin limitine sahiptir (Bhardwaj, 2015: 3093-3119). Kondüktometrik biyosensörler ise iletkenlik ile biyotanıma olaylarının ilişkisinden yararlanır (Moradi Hasan-Adab vd., 2022: 1061-1064).

2.5. Sensör ve Biyosensörün Performans Faktörleri

Bir (biyo)sensör geliştirilirken doğrusal çalışma aralığı, cevap süresi, kararlılık, tekrar kullanılabilirlik, duyarlık, tekrar üretilebilirlik ve seçicilik gibi performans

faktörlerinin incelenmesi gereklidir (Justino vd., 2010: 1172-1173, Naresh ve Lee, 2021: 6).

Duyarlık: Duyarlık analit derişimi ile dönüştürücünün sinyal yoğunluğu arasındaki ilişkiyi ifade eder. Diğer bir tanım ise (biyo)sensörün çok düşük derişimlerde bile analiti tayin edebilme yeteneğidir. Duyarlık kalibrasyon eğrisinin eğimine eşittir. İdeal bir (biyo)sensörün duyarlılığı yüksek olmalıdır (Justino vd., 2010: 1173; Velusamy vd., 2022: 6-7).

Seçicilik: Seçicilik (biyo)sensörün belirli bir hedefe bağlanma ve okunabilir bir sinyal üretme yeteneği olarak tanımlanır. Analit cevabı diğer tüm cevaplardan ayırt edilebiliyorsa yöntem seçicidir. Yüksek seçiciliğe sahip bir yöntem, dış ortamdan gelen bozucu türlerden etkilenmeden analit miktarını doğru bir şekilde ölçer (Justino vd., 2010: 1173; Velusamy vd., 2022: 6-7).

Doğrusal çalışma aralığı ve gözlenebilme sınırı: Doğrusal çalışma aralığı (biyo)sensör cevabının analit derişimi ile doğrusal bir şekilde değiştiği aralığı ifade eder. Elde edilen doğrusal çalışma aralığının en alt kısmı gözlenebilme sınırındır (Thévenot vd., 2001: 128-130; Keskin ve Arslan, 2020: 54).

Kararlılık: Kararlılık (biyo)sensörün yapısında veya ölçüm ortamında oluşabilecek değişikliklere karşı duyarlılığını koruyabilme kapasitesidir (Velusamy vd., 2022: 6-7).

Cevap süresi: Cevap süresi (biyo)sensörden elde edilecek cevabın %95'ine ulaşılabilmesi için geçen süredir (Naresh ve Lee, 2021: 6).

Tekrar kullanılabilirlik: Tekrar kullanılabilirlik (biyo)sensörün aynı numuneyi birden fazla kez ölçtüğünde benzer sonuçlar vermesi olarak tanımlanır (Naresh ve Lee, 2021: 6; Velusamy vd., 2022: 6-7).

Tekrar üretilebilirlik: Tekrar üretilebilirlik (biyo)sensörün defalarca özdeş bir şekilde üretilebilmesidir. Geliştirilen (biyo)sensörün kesinliği ve doğruluğu bu parametreye katkıda bulunur (Velusamy vd., 2022: 6-7).

2.6. Elektrot Modifikasyonu

Günümüzde (biyo)sensör geliştirmede camsı karbon elektrot, grafit elektrot, altın elektrot, perde baskılı elektrot, karbon pasta elektrot gibi çeşitli çalışma elektrotlarının olduğu gibi kullanılması yerine bu elektrotların bir ya da birden fazla

malzeme ile modifiye edilerek kullanılmasına sıklıkla rastlanmaktadır. Modifiye edilmiş elektrot ile geliştirilen (biyo)sensörler ile daha yüksek analitik performans elde edilmesi amaçlanmaktadır. Analitik performansın artırılabilmesi için çeşitli modifikasyon malzemeleri kullanılır. Bu modifikasyon malzemeleri karbon, metal ve metal oksit temelli nanomalzemeler, polimerler, medyatörler, metal organik kafesler ve kuantum noktalar gibi malzemelerdir (Sharma vd., 2018: 76-77).

2.6.1. Karbon Temelli Nanomalzemeler

Uzun yıllardır biyosensör ve sensör geliştirmede kullanılan çeşitli karbon nanomalzemeler, yüksek iletkenlik ve geniş yüzey alanı sağlama ve elektron transferini hızlandırma gibi avantajları nedeniyle tercih edilmektedir. Karbon nanomalzemelere fulleren, karbon nanotüpler, karbon noktalar, grafen ve türevleri karbon nanofiberler ve grafen kuantum noktalar örnek verilebilir.

Fulleren, karbonun allotropik modifikasyonudur. 1985 yılında Kroto ve arkadaşları tarafından keşfedilen ilk izole nanomateriyaldir. Küresel şekle sahip olan fullerenin karbon atomları sp^2 hibritleşmesi sırasında kovalent bağ kurar ve kürenin yüzeyindeki altıgenlerin ve beşgenlerin tepe noktalarında bulunur. Fulleren yüzey alanını, elektrokatalitik aktiviteyi ve elektron transferini arttırdığından dolayı sensör ve biyosensör geliştirmede kullanılmaktadır. Grafen sp^2 hibritleşmesi yapmış karbon atomlarından oluşur ve bal peteği şeklindedir. 2004 yılında Geim ve Novoselov tarafından keşfedilmiştir. Grafen çoğu karbon nanomalzemenin temel taşıdır. Yüksek elektron transfer kapasitesi, mekanik kararlılık, mükemmel termal iletkenlik, geniş yüzey alanı ve yüksek elektriksel iletkenlik özelliğinden dolayı yaygın olarak kullanılır (Kour vd., 2020: 4; Bahadır ve Sezgintürk, 2016: 1-3). Grafitin oksitlenmesi ile elde edilen grafen oksit katmanlı bir yapıya sahiptir. Yapısında oksijen içeren fonksiyonel gruplar bulunduğu için grafene göre elektron transfer verimliliği daha yüksektir. İndirgenmiş grafen oksit, grafen oksitin indirgenmesi sonucu oluşur ve elektriksel iletkenliği oldukça yüksektir (Fu vd., 2021: 9). Karbon nanotüpler 1991 yılında Ijima tarafından keşfedilmiştir. Tek veya birkaç grafen tabakasının silindirik şekilde sarılmasıyla oluşturulur. Tek bir grafen tabakası varsa tek duvarlı karbon nanotüp birkaç tane grafen tabakası varsa çok duvarlı karbon nanotüp olarak adlandırılır. Yüksek iletkenlik ve hızlı elektrot kinetiği özelliği sayesinde biyosensör ve sensör geliştirmede yaygın olarak kullanılır (Sanati vd.,

2019: 773). Karbon noktalar 10 nm çapında farklı nanopartiküller içeren malzemelerdir. Xu ve grubu tarafından çok duvarlı karbon nanotüplerin saflaştırılması sırasında yanlışlıkla keşfedilmiştir. Karbon noktalar yüksek iletkenlik, geniş yüzey alanı ve biyoyumluluk gibi özelliklerinden dolayı sensör ve biyosensör geliştirmede kullanılmaktadır (Gowthaman vd., 2023: 4). Karbon nanofiberler kavisli grafen tabakalarından oluşur ve silindir şeklindeyir. Yüksek elektriksel iletkenlik, biyoyumluluk, mekanik kararlılık özelliklerinden dolayı sensör ve biyosensör geliştirmede kullanılmaktadır. Karbon nanoboyuzlar tek bir grafen katmanından oluşan koni şeklinde bir morfolojiye sahiptir. Yüksek iletkenlik özelliğinden dolayı modifikasyon malzemesi olarak kullanılmaktadır (Maduraiveeran ve Jin, 2021: 8). Sıfır boyutlu olan grafen kuantum noktalar (GQD) hem karbon nokta hem de grafene özgün özellikler sergiler. Grafen kuantum noktalar grafenden farklı olarak sıfır olmayan bant aralığına sahiptir. GQD ilk defa 2008 yılında Ponomarenko ve Geim tarafından üretilmiştir. GQD, kimyasal oksidasyon, hidrotermal, lazer ablasyon, kimyasal buhar biriktirme gibi yöntemlerle elde edilebilir. Yan yüzeylerinde amid, amin, epoksi, hidroksil, karboksil ve karbonil gibi gruplar bulunmasından dolayı kolaylıkla fonksiyonelleştirilebilir. Yüksek biyoyumluluğ , floresans  zelliğ , geniş yüzey/hacim oranı, yüksek elektrik iletkenliğ  ve toksik olmama özelliklerinden dolayı günümüzde sensör ve biyosensör geliştirmede kullanılmaya başlanmıştır. GQD sensör ve biyosensör geliştirmenin yanı sıra biyolojik görüntülemede, fotodinamik terapi, antimikrobiyal malzemeler, yakıt hücreleri, güneş hücreleri, fotokataliz ve ışık yayan diyotlarda da kullanılmaktadır (Mansuriya ve Altintas, 2020: 2-3; Karami vd., 2024: 2-4; Iannazzo vd., 2021: 1-25; Tian vd., 2018: 221-223).

2.6.2. Metal Nanopartiküller

Modifiye elektrotlara dayanan sensör ve biyosensörlerin geliştirilmesi için yaygın kullanılan bir diğ r malzeme sınıfı metal nanopartiküllerdir. Altın, gümüş, platin, paladyum, rutenyum nanopartiküller ve bunların alaşımı olan altın-platin, gümüş-platin, platin-paladyum nanopartiküller elektrokimyasal (biyo)sensör geliştirirken geniş yüzey alanı sağlaması, iletkenliğ  arttırması, biyomoleküllerin immobilizasyonu için elektrot yüzeyinde uygun alan hazırlaması, elektron transferini hızlandırması gibi özelliklerinden dolayı sıklıkla tercih edilmektedir. Metal

nanopartiküller atomizasyon, ark deşarjı, lazer ablasyon, elektron ışın buharlaşması, odaklanmış iyon ışın litografisi gibi yöntemlerle sentezlenir. Metal nanopartiküller elektron transferini hızlandırmanın yanı sıra kemilüminesans reaksiyonlarını katalizler, kütledeki değişiklikleri güçlendirir ve kırılma indisi değişikliklerini artırır. Metal nanopartiküller biyoreaksiyonlar sonucu açığa çıkan elektronların taşınmasına veya fizikokimyasal değişikliklerin analit derişimiyle orantılı şekilde ölçülebilir sinyallere dönüşmesine olanak sağlar (Malathi vd., 2022: 2; Wang, 2012: 245-270).

Boyutları 1 nm ve 8 µm arasında değişen altın nanopartiküller, nanoküreler, nanoçubuklar, nanokabuklar, nanoküpler, nanokafesler ve dallanmış yapılar gibi farklı morfolojiler sergiler. Nanopartikülün morfolojisindeki farklılıklar nanopartikülün analitleri tayin etme yeteneğine etki eder. Özellikle küresel altın nanopartiküller biyolojik tayinlerde diğerlerine göre daha yaygın kullanılmaktadır (Kumalasari vd., 2024: 1-2). Altın nanopartiküller, biyomoleküllerin biyoaktivitelerini koruyarak immobilize edilmesini sağlama, elektron transferini hızlandırma, iletkenliği artırma ve H₂O₂, O₂, NADH gibi moleküllerin elektrokatalizinde arayüzler oluşturma gibi özelliklerinden dolayı biyosensör ve sensör geliştirmede kullanılmaktadır. Altın nanopartiküller kloroaurik asit çözeltisi kullanılarak elektrot yüzeyine elektrokimyasal olarak biriktirilirler (Pingarron vd., 2008: 1).

Paladyum nanopartiküller yüksek katalitik aktiviteye, iyi iletkenliğe ve yüksek elektron transfer hızına sahip olduğundan sensör ve biyosensör geliştirme çalışmalarında kullanılmaya başlanmıştır (Maduraiveeran ve Jin, 2017: 14-15). Paladyum nanopartiküller ayrıca, C–C bağının oluşumunda, hidrojenasyon, hidrodeklorinasyon, karbonilasyon ve oksidasyon gibi kimyasal dönüşümlerde en etkili katalizörlerdendir (Lu vd., 2011: 3500-3504).

2.6.3. Poli(amino asit)'ler

Amino asitler organik yan zincir ve karboksil ile amino grubu içeren iki fonksiyonel gruptan oluşur. Amino asitler, radikal polimerizasyonu, kendi kendine polimerizasyon, elektropolimerizasyon, oksidatif polimerizasyon gibi çeşitli polimerizasyon yöntemleri ile birleşerek polipeptitleri oluşturur. Amino asitler elektrokimyasal yöntem kullanılarak elektrot yüzeyinde polimerleştirilir ve elde edilen poli(amino asit)'ler sensör ve biyosensör hazırlamada sıklıkla kullanılır.

Poli(L-Lösin), poli(L-Histidin), poli(L-Alanin), poli(L-Tirozin), poli(L-Aspartik asit), poli(L-Serin), poli(L-Arjinin) sensör ve biyosensör geliştirmede kullanılan poli(amino asit)'lere örnek verilebilir. Bu poli(amino asit)'ler toksik olamama, biyoyumlu olma, biyolojik olarak parçalanabilirlik, elektrokimyasal kararlılık, elektrooptik özellikler ve çok sayıda fonksiyonel grup sahip olma gibi üstün özellikler gösterir. Sensör ve biyosensör geliştirmede poli(amino asit)'ler çeşitli fonksiyonel grupları sayesinde biyoreseptörlerin immobilizasyonunda kolaylık sağlamaktadır. Poli(amino asit)'ler aynı zamanda geliştirilen sensör veya biyosensörlerde kullanılan elektrotların yüzeyindeki elektrokimyasal cevabı arttırmada rol oynar (Kordasht vd., 2021: 1-18).

Poli(amino asit)'lerden biri olan poli(L-Arjinin) insanlarda ribozomal protein sentezinin önemli bir parçasıdır. Poli(L-Arjinin) bir karboksilik asit grubu, α -amino grubu ve bir guanidin grubuyla biten üç karbonlu alifatik düz zincirden oluşur. Bu poli(amino asit) yüksek biyoyumluk gösterdiği ve çok sayıda fonksiyonelleştirilmiş gruba sahip olduğu için elektrokimyasal (biyo)sensör geliştirmede sıkça kullanılmaktadır (Kordasht vd., 2021: 6-7). L-Serin, pürinlerin, pirimidinlerin ve diğeri amino asitlerin biyosentezinde rol oynayan önemli bir amino asittir (Song vd., 2008: 833-834). Serin yağ asitlerinin ve hücre zarlarının metabolizması için de önemlidir. L-serin elektrot yüzeyine diğeri amino asitler gibi elektropolimerizasyon yöntemi ile modifiye edilir. Poli(L-Serin) yüksek biyoyumluluğai sahip olup, elektron transfer hızını arttırabilir (Kordasht vd., 2021: 17-18). Poli(L-Serin) modifiye edilmiş camsi karbon elektrot polimer ve elektrot yüzeyi arasındaki güçlü π - π etkileşimleri nedeniyle kimyasal sensör olarak kullanılmıştır. Ayrıca, bu güçlü etkileşimlerin aşırı potansiyelin azalmasına ve elektron transferinin artmasına neden olduğu bildirilmiştir (Hung vd., 2020: 1-7).

2.7. Literatür Çalışmaları

Aşağıda propil gallat tayini için geliştirilmiş elektrokimyasal sensör ve biyosensörlere örnekler verilmiştir.

Yin ve grubu (2021) tarafından yapılan çalışmada propil gallat tayini için elektrokimyasal sensör geliştirilmiştir. Sensörü hazırlamak amacıyla GCE üzerine sırasıyla antrakınon (AQ), çok duvarlı karbon nanotüp (MWCNT) ve kitosan (CS) çözeltileri damlatılıp kurutulmuştur. Elektrot karakterizasyonu taramalı elektron

mikroskopi (SEM), elektrokimyasal empedans spektroskopisi ve dönüşümlü voltametri ile gerçekleştirilmiş ve modifikasyon malzemelerinin iletkenliği ve yüzey alanını arttırdığı belirlenmiştir. AQ/MWCNT/CS/GCE propil gallat varlığında farklı potansiyellerde sırasıyla propil gallat, AQ ve MWCNT'ün yükseltgenmesine ait üç pik vermiştir. Burada AQ ve MWCNT iç referans elektroaktif probalar olarak kullanılmıştır. Çalışmada GCE'nin AQ/MWCNT/CS kompozitiyle modifikasyonunun propil gallatın elektrokimyasal sinyalini arttırdığı ve duyarlılığı geliştirdiği rapor edilmiştir. Çalışmada hazırlanan sensör ile I_{PG}/I_{AQ} ve I_{PG}/I_{MWCNT} şeklindeki iki orantılı sinyal DPV yöntemi kullanılarak 1–30 μM aralığında artan propil gallat ile doğrusal bir şekilde artış göstermiştir. Gözlenebilme sınırı ise I_{PG}/I_{AQ} ve I_{PG}/I_{MWCNT} için sırasıyla 0,67 μM ve 0,76 μM olarak bildirilmiştir. Sensörün tekrar üretilebilirliği incelediğinde 5 farklı elektrotun 50 μM propil gallata cevabının bağıl standart sapması (BSS) %1,9 bulunmuştur. Bir ayın sonunda sensör başlangıç aktivitesinin %88'ini korumuştur. Seçicilik çalışmasında incelenen türlerin sensör cevabına herhangi bir girişim etkisi yapmadığı belirlenmiştir. Sensörün gerçek numunelerde kullanılabilirliği susam yağı, çeşitli yağların karışımı ve fıstık yağında incelenmiş ve %92 ile %107 aralığında geri kazanım değerleri bulmuştur (Yin vd., 2021: 1-7).

Ma ve grubunun (2022) yaptığı çalışmada propil gallat tayini için GCE'nin γ -aminobütirik asit ve altın ile modifiye edilmesiyle elektrokimyasal sensör geliştirilmiştir. Sensörün hazırlanması amacıyla γ -amino bütirik asit dönüşümlü voltametri yöntemi kullanarak (-0,9) V – (+2,2) V potansiyel aralığında 12 döngü ile GCE yüzeyinde polimerleştirilmiştir. Polimer modifiye elektrotun yüzeyine kloroaurik asit çözeltisinden yine dönüşümlü voltametri kullanılarak (-0,2) V – (+1,0) V potansiyel aralığında 16 döngü ile altın nanopartikül biriktirilmiştir. Elektrotların yüzey karakterizasyonu SEM ve enerji dağılımlı X-ray spektroskopisi (EDX) analizi ile gerçekleştirilmiştir. Modifiye elektrot ile propil gallat için elde edilen yükseltgenme piki modifiye edilmemiş elektrot ile elde edilenden 4,84 defa daha büyük bulunmuştur. Çalışma koşulları optimizasyonu için sensör cevabına pH, monomer çözeltisinin derişimi, dönüşümlü voltametri için potansiyel aralığı, tarama hızı ve döngü sayısının etkisi incelenmiştir. Optimum pH, elektropolimerizasyon için döngü sayısı ve tarama hızı sırasıyla pH 3,0, 12 döngü ve 10 mV/s olarak belirlenmiştir. Altın nanopartikül biriktirilmesi çalışmasında ise en iyi cevaplar 16

döngü sayısı ve 40 mV/s tarama hızında elde edilmiştir. Dönüşümlü voltametri ile doğrusal çalışma aralığı 0,06–3,6 μM , gözlenebilme sınırı 0,001 μM şeklinde belirlenmiştir. Aynı elektrotun sabit derişimdeki propil gallata cevabı 6 defa ölçüldüğünde sonuçların BSS değeri %2,1 olarak hesaplanmış, 20 günün sonunda sensörün başlangıç cevabının %97'sini koruduğu rapor edilmiştir. Hazır erişte, bisküvi ve yağda yapılan numune analizinde %94 ile %100,6 aralığında geri kazanımlar bulunmuştur (Ma vd., 2022: 1-6).

Chen ve grubu (2018) tarafından yapılan çalışmada propil gallatı tayin edebilmek için elektrokimyasal sensör geliştirilmiştir. Sensörde tek kullanımlık perde baskılı karbon elektrot (SPCE) kullanılmıştır. SPCE'nin çalışma elektrodu kobalt diselenid nanopartikülleri (CoSe_2) ve indirgenmiş grafen oksit (rGO) karışımı ile modifiye edilmiştir. Elektrot karakterizasyonu X-ışını kırınım yöntemi (XRD), X-ışını fotoelektron spektrometri (XPS), SEM, EDX, geçirimli elektron mikroskopi (TEM) yöntemleri ile gerçekleştirilmiştir. Çalışmada modifikasyon için kullanılan CoSe_2 @rGO miktarı ve tampon pH'sı dönüşümlü voltametri yöntemiyle optimize edilmiştir ve en iyi cevabın 8 μL CoSe_2 @rGO ile modifiye edilmiş elektrotla ve pH 7,0 fosfat tamponunda alındığı gözlenmiştir. Sensörün DPV ile propil gallat için doğrusal çalışma aralığı 0,075–460,15 μM , gözlenebilme sınırı 16,35 nM olarak belirlenmiştir. Ölçüm tekrarlanabilirliği sensörün 25 μM propil gallata verdiği cevaplarla incelenmiş ve aynı elektrot ile ardışık 10 ölçüm sonucunda BSS %3,29 olarak hesaplanmıştır. Tekrar üretilebilirlik ise 5 farklı elektrot için araştırılmış ve ölçümlerin BSS değeri %3,15 bulunmuştur. Hazırlanan sensörün 15. günün sonunda başlangıç cevabının %96,28'ini koruduğu ve iyi bir kararlılık gösterdiği belirtilmiştir. Ürik asit, dopamin, hidrokinon, askorbik asit, katekol, epinefrin ve norepinefrin ile gerçekleştirilen seçicilik çalışmasında bu türlerin sensör cevabına bir etkisi olmadığı gözlenmiştir. Sensörün gerçek numunelerde propil gallat tayininde kullanılabilirliği tavuk ve sığır etinde incelenmiş ve %94,4 ile %99,79 aralığında geri kazanımlar bulunmuştur. Sonuçların referans yöntem olarak seçilen HPLC sonuçları ile uyumlu olduğu belirtilmiştir (Chen vd., 2018: 1-9).

Priscilla ve Wang (2022) tarafından yapılan çalışmada karbon nanofiber ve stronsiyum alüminat nanopartikül kullanarak amperometrik propil gallat sensörü geliştirilmiştir. Çalışma elektrodunun hazırlanması amacıyla GCE yüzeyine karbon

nanofiber stronsiyum alüminat kompozitinden 8 µL damlatılıp kurumaya bırakılmıştır. Elektrot modifikasyonunda kullanılan karbon nanofiberler geniş bir yüzey alanı sağlarken stronsiyum alüminat hem iletkenliği hem de duyarlılığı arttırmıştır. Hazırlanan kompozitin karakterizasyonu XRD, Fourier dönüşümlü kızıl ötesi spektrometri (FTIR), EDX ve SEM yöntemleriyle gerçekleştirilmiştir. Hazırlanan elektrotun elektrokimyasal karakterizasyonu için ise EIS ve CV yöntemleri kullanılmış ve modifikasyonda kullanılan kompozitin elektrot çözelti ara yüzeyinde yük transfer direncini azalttığı belirlenmiştir. Dönüşümlü voltametri çalışmasında ise en yüksek pik akımları ve en düşük pik potansiyelleri ayrımı kompozit ile modifiye edilmiş elektrot ile elde edilmiştir. Optimum çalışma pH'sı olarak belirlenen pH 7,0 fosfat tamponunda sensörün amperometrik yöntem ile propil gallat için doğrusal çalışma aralığı 0,1–1104,75 µM gözlenebilme sınırı 0,075 µM olarak verilmiştir. Aynı yöntem kullanılarak hazırlanan 6 farklı elektrotun 100 µM propil gallata amperometrik cevabı incelendiğinde sonuçların BSS değerinin %1,67 olduğu ve sensörün yüksek bir tekrar üretilebilirliğe sahip olduğu bildirilmiştir. Aynı elektrotun yine 100 µM propil gallata verdiği 10 ardışık cevabın BSS'si %1,75 olarak hesaplanmıştır. Çalışmada geliştirilen sensörün 30 günlük depolama sonucunda başlangıç cevabında önemli bir değişim olmadığı belirlenmiştir. Seçicilik çalışmasında askorbik asit, nitrofurantoin, hidrojen peroksit, sodyum nitrat, civa iyonları gibi maddelerin girişim etkisi yapmadığı gözlemlenmiştir. Gerçek numune analizinde Kanola yağı, zeytinyağı ve et numunelerinde geri kazanımlar %95,55 ile %105,91 aralığında bulunmuş ve bulunan sonuçların HPLC sonuçları ile karşılaştırılabilir olduğu rapor edilmiştir (Priscilla ve Wang, 2022: 1-8).

Wu ve grubu (2016) tarafından yapılan çalışmada propil gallatı ve bütül hidroksianisolü aynı anda tayin edebilmek için elektrokimyasal bir biyosensör geliştirilmiştir. Biyosensörün hazırlanması amacıyla ilk olarak GCE yüzeyi 10 µL altın nanopartikül ve grafen karışımı damlatılıp kurutularak modifiye edilmiş, sonrasında bu elektrot enzim immobilizasyonu için 12 saat boyunca horseradish peroksidaz (HRP) enzimi içeren fosfat tamponunda bekletilmiştir. İkinci aşamada enzim elektrot yüzeyine Au-Pt nanotüp çözeltisinden 10 µL damlatıp kurutulmuştur. Elektrot karakterizasyonunda UV-Vis absorpsiyon spektroskopisi, EDX, XRD, SEM ve TEM kullanılmıştır. Karakterizasyonda elektrot hazırlamada kullanılan malzemelerin GCE yüzeyine başarılı bir şekilde modifiye edildiği gözlemlenmiştir.

Elektrodun elektrokimyasal performansını incelemek için CV ve EIS kullanılmış ve modifikasyon malzemelerinin elektron transferini, iletkenliği ve yüzey alanını arttırdığını gözlemlenmiştir. Britton-Robinson (BR) tamponu kullanılarak yapılan pH optimizasyonu çalışmasında doğrusal taramalı voltametri (LSV) yöntemi ile en iyi cevaplar pH 2,0'de elde edilmiştir. Çalışmada ayrıca HRP ve Au-Pt nanotüp miktarı da optimize edilmiş ve sırasıyla 5 mg/L ile 5 mM olarak belirlenmiştir. LSV yöntemi ile bütül hidroksianisol ve propil gallat için yükseltgenme potansiyelleri sırasıyla 624 mV ve 655 mV olarak kaydedilmiştir. Sensörün doğrusal çalışma aralığı bütül hidroksianisol için 0,3–50 mg/L propil gallat için ise 0,1–100 mg/L olarak bulunmuştur. Gözlenebilme sınırı ise bütül hidroksianisol için 0,046 mg/L propil gallat için ise 0,024 mg/L olarak hesaplanmıştır. Her bir analitten 100 mg/L kullanılarak gerçekleştirilen tekrarlanılabilirlik çalışmasında BSS değerleri bütül hidroksianisol için %4,6 ve propil gallat için %3,8 olarak belirlenmiştir. Tekrar üretilebilirlik için BSS değerleri ise bütül hidroksianisol için %5,2 ve propil gallat için %4,5 olarak hesaplanmıştır. 10 hafta sonunda geliştirilen biyosensörün kararlılığını koruduğu gözlemlenmiştir. Ter-bütül hidrokinon ve bisfenol A ile gerçekleştirilen seçicilik çalışmasında bu türlerin biyosensör cevabına herhangi bir etkisi olmadığı bulunmuştur. Fıstık yağı, zeytinyağı, cips ve bisküvide yapılan gerçek numune çalışmasında biyosensörün bütül hidroksianisol ve propil gallat için geri kazanımları %87,3–%126,3 aralığında bulunmuş ve elde edilen sonuçların HPLC sonuçlarıyla benzer olduğu kaydedilmiştir (Wu vd., 2016: 89-96).

Sivasankaran ve Kumar'ın (2019) yaptıkları çalışmada nikel nanopartikül (NiNP) kullanarak propil gallat tayini için sensör geliştirilmiştir. Çalışma elektrodunun hazırlanması amacıyla GCE yüzeyine -1250 mV potansiyelde 1000 saniye boyunca potansiyostatik biriktirme yöntemi kullanılarak NiNP'ler kaplanmıştır. Elektrot modifikasyonun gerçekleşip gerçekleşmediği SEM, atomik kuvvet mikroskobu (AFM), CV ve EIS yöntemleri kullanılarak araştırılmış ve nanopartiküllerin elektrot yüzeyine başarılı bir şekilde kaplandığı gözlemlenmiştir. Çalışmada kullanılan tampon türü ve pH'sı optimize edilmiş ve en iyi cevapların pH 8,0 fosfat tamponunda elde edildiği belirlenmiştir. Nikel nanopartiküllerin elektrot yüzeyine biriktirilmesi için optimum sürenin 1000 saniye olduğu da bulunmuştur. Hazırlanan sensörün DPV yöntemi ile propil gallata $1,0 \times 10^{-3}$ – $4,0 \times 10^{-4}$ M aralığında $I_p (A) = 0,0064 C (M) + 4,0 \times 10^{-6}$ ($R^2 = 0,987$) eşitliğine göre $3,0 \times 10^{-4}$ – $2,0 \times 10^{-6}$ M aralığında ise $I_p(A) =$

$0,0162 C (M) - 7,0 \times 10^{-8}$ ($R^2 = 0,999$) eşitliğine göre doğrusal cevap verdiği bildirilmiştir. Gözlenebilme sınırı ise $5,85 \times 10^{-8}$ M olarak verilmiştir. EDTA, NaCl, CH_3COOH , Na_2SO_3 , bütül hidroksitoluen, oktil gallat, sitrik asit, bütül hidroksianisol ve askorbik asit türlerinin sensör cevabına bir girişim yapmadığı belirlenmiştir. Sensörün analitik uygulanabilirliği hindistan cevizi yağı, ayçiçek yağı ve margarinde propil gallat analizi ile araştırılmış ve %98 ile %101 aralığında geri kazanımlar hesaplanmıştır (Sivasankaran ve Kumar, 2019: B92-B94).

Shi ve grubu (2018) tarafından yapılan çalışmada DPV yöntemi ile propil gallatı ve bütül hidroksianisolü aynı anda tayin edebilmek için grafen oksit ve β -siklodekstrin kompoziti ile modifiye edilmiş GCE kullanılarak sensör geliştirilmiştir. Elektrot karakterizasyonu için ilk olarak SEM ve TEM yöntemi kullanmış ve hazırlanan kompozitin GCE yüzeyine başarıyla modifiye edildiği gözlemlenmiştir. XPS, FTIR, UV-Vis absorpsiyon spektroskopisi, EDX, XRD ve Raman spektroskopisi kullanılarak SEM ve TEM ile elde edilen sonuçlar desteklenmiştir. Yapılan karakterizasyon sonucu sensör hazırlamada kullanılan kompozit malzemenin yüzey alanını arttırdığı belirlenmiştir. Tampon türünün ve pH'sının optimizasyonu için sırasıyla fosfat tamponunda pH 5,8–8,0; borik asit-boraks tamponunda pH 7,4–9,0; sodyum karbonat-sodyum bikarbonat tamponunda pH 9,15–10,68 ve son olarak BR tamponunda pH 1,81–11,92 aralığında denemeler yapılmış ve propil gallat ve bütül hidroksianisolün yükseltgenme piklerinin en iyi BR tamponunda birbirinden ayrıldığı ve pik akımlarının en yüksek pH 5,72 de elde edildiği belirlenmiştir. Voltametrik yöntemde biriktirme süresi ve potansiyeli optimize edilmiş ve en yüksek pik akımlarının -0,4 V potansiyel ve 240 saniye biriktirme ile elde edildiği bulunmuştur. Çalışmada geliştirilen sensörün doğrusal çalışma aralığı bütül hidroksianisol için 0,05–30 μM propil gallat için ise 0,1–30 μM olarak belirlenmiştir. Gözlenebilme sınırları ise bütül hidroksianisol için 0,03 μM propil gallat için ise 0,01 μM olarak hesaplanmıştır. 5 $\mu mol/L$ 'lik sabit bütül hidroksianisol ve propil gallat derişiminde gerçekleştirilen tekrarlanabilirlik çalışmasında sonuçların BSS değeri bütül hidroksianisol için %4,2 propil gallat için %3,6 olarak belirlenmiştir. Na^+ , Cl^- , K^+ , NO_3^- , Zn^{+2} , glukoz, Ca^{+2} , Mg^{+2} , sitrik asit, Al^{3+} , C vitamini, tartarik asit, ter-bütül hidrokinon ve gallik asidin sensör cevabına bir girişim yapmadığı kaydedilmiştir. Fıstık yağı, mısır yağı, kolza tohumu yağı ve harman yağda hazırlanan sensörle

propil gallat ve bütül hidroksianisol tayini yapılmış, yer fıstığı yağında iki antioksidan tayin edilebilirken diğer yağlarda sadece bütül hidroksianisol tayin edilebilmiştir. Sensörün propil gallat için geri kazanımı %95,3 ile %108,6 bütül hidroksianisol için ise %93,1 ile %105,5 aralığında hesaplanmıştır (Shi vd., 2018: 2467-2474).

Morales ve grubu (2005) tarafından propil gallat tayini için tirozinaz enzimi içeren bir biyosensör geliştirilmiştir. Çalışma elektrodu hazırlanırken ilk olarak grafit ve tirozinaz enzimi karıştırılıp elde edilen kompozit malzeme çalışma elektrodu olarak kullanılan teflona modifiye edilmiştir. Ölçümler sabit faz olarak etil asetat, dağılmış faz olarak fosfat tamponu ve emülsüfiye ajan olarak dioktilsülfosüksinat içeren susuz ortamda yapılmıştır. Çalışmada propil gallatın yükseltgenmesi sonucunda oluşan *o*-kinondan faydalanılmıştır. Tampon pH'sının biyosensör cevabı üzerine etkisi pH 5,0–8,0 fosfat tamponunda araştırılmış ve en iyi sonuç pH 7,4'de elde edilmiştir. Optimum çalışma potansiyeli -0,4 V ile +0,1 V arasında incelenmiş ve en yüksek cevapların alındığı -0,1 V çalışma potansiyeli olarak belirlenmiştir. Amperometri yöntemi ile propil gallat için doğrusal çalışma aralığı $4,0 \times 10^{-6}$ – $1,0 \times 10^{-4}$ M ve gözlenebilme sınırı $1,2 \times 10^{-6}$ şeklinde verilmiştir. $4,0 \times 10^{-5}$ M propil gallat varlığında yapılan tekrar üretilebilirlik çalışmasında BSS %9,7 bulunmuştur. Biyosensörün yüksek seçiciliğe sahip olduğu ve domuz yağında yapılan gerçek numune analizlerinde geri kazanımın %101 bulunduğu rapor edilmiştir (Morales vd., 2005a: 572-579).

Morales ve grubunun (2005) yaptığı çalışmada propil gallatı tayin edebilmek için amperometrik yöntem kullanılarak tirozinaz enzimi içeren bir biyosensör geliştirilmiştir. Biyosensör hazırlanırken grafit ve tirozinaz enzimi karıştırılıp elde edilen kompozit malzeme teflona modifiye edilmiştir. Tayin için propil gallatın yükseltgenmesi sonucunda açığa çıkan *o*-kinonun indirgenmesi kullanılmıştır. Çalışmada propil gallat tayini için hem fosfat tamponu hem de asetonitril-tris tamponu kullanılmış ve bu tamponların sensör cevabına etkisi incelenmiştir. Asetonitril-tris tamponu için 80:20 asetonitril-tris tamponu karışımı ile pH 7,4 de en iyi cevapların alındığı bulunmuş, fosfat tamponu ile yapılan çalışmada ise optimum çalışma pH'sı 6,5 olarak rapor edilmiştir. Biyosensörün doğrusal çalışma aralığı fosfat tamponu için $2,0 \times 10^{-6}$ – $1,0 \times 10^{-4}$ M, asetonitril-tris tamponu için ise $8,0 \times 10^{-6}$ M– $2,0 \times 10^{-4}$ M verilmiştir. Gözlenebilme sınırı asetonitril-tris ve fosfat tamponlarında

sırasıyla $9,0 \times 10^{-7}$ M ve $1,1 \times 10^{-6}$ M şeklinde rapor edilmiştir. Çalışmada biyosensörün fosfat tamponu için $5,0 \times 10^{-5}$ M asetonitril-tris tamponu için $4,0 \times 10^{-4}$ M propil gallat varlığında tekrarlanabilirliği incelendiğinde BSS sırasıyla %3,4 ve %8,2 olarak hesaplanmıştır. Hazırlanan sensörün fosfat tamponunda 40 gün asetonitril-tris tamponunda 50 gün boyunca kararlılığını koruduğu gözlemlenmiştir. Her iki tamponda da yapılan seçicilik çalışmasında bütil hidroksianisol, ter-bütil hidrokinon, bütil hidroksitoluen, askorbik asit, oklit galat, dodesil galat ve sitrik asidin biyosensör cevabını etkilemediği ve biyosensörün yüksek seçicilik sergilediği kaydedilmiştir. Gerçek numune çalışmasında et suyu bulyonlarında fosfat tamponuyla zeytinyağı numunesinde ise asetonitril-tris tamponunda gerçekleştirilen propil gallat analizlerinde %99–%101 aralığında değişen geri kazanımlar kaydedilmiştir. Gerçek numune sonuçlarının HPLC yöntemi ile bulunan sonuçlarla uyumlu olduğu bildirilmiştir (Morales vd., 2005b: 71-78).

Vikraman ve grubunun (2013) yaptığı çalışmada propil gallatı DPV yöntemi kullanarak tayin edebilmek için altın elektrodun (GE) MWCNT ile modifiye edilmesiyle sensör geliştirilmiştir. Çalışma elektrodu hazırlanırken GE'lerin yüzeyine nafyon-su içerisinde dağıtılmış MWCNT'lerden 3 μ L damlatılıp kurutulmuştur. Propil gallatın elektrokimyasal davranışı $1,0 \times 10^{-3}$ M propil gallat varlığında asetat tamponunda DPV yöntemi ile incelenmiştir. Sensörde kullanılan MWCNT miktarı, tampon türü ve tampon pH'sı DPV yöntemiyle optimize edilmiş ve en iyi cevabın 3 μ L MWCNT ve pH 7,0 asetat tamponunda alındığı gözlenmiştir. Sensörün doğrusal çalışma aralığı $1,0 \times 10^{-5}$ – $1,0 \times 10^{-4}$ M, gözlenebilme sınırı $6,3 \times 10^{-7}$ M şeklinde kaydedilmiştir. $1,0 \times 10^{-3}$ M propil gallat varlığında tekrarlanabilirlik çalışmasında BSS %2,96 olarak hesaplanmıştır. Sodyum sülfat, sitrik asit, NaCl, CH_3COOH ve EDTA ile yapılan seçicilik çalışmasında sensörün herhangi bir girişimciden etkilenmediği gözlemlenmiştir. Sensörün analitik uygulanabilirliği bitkisel yağ numunelerinde incelenmiş ve geri kazanımlar %100,5–%102,5 arasında bulunmuştur. Bitkisel yağ numunelerinde bulunan sonuçların spektrofotometri yöntemiyle bulunan sonuçlarla yakın olduğu bildirilmiştir (Vikraman vd., 2013: 775-780).

Cyriac ve grubu (2016) altın nanopartikül ve poli(p-aminobenzen-sülfonik asit) (ABSA) kompoziti ile modifiye edilmiş GCE kullanılarak elektrokimyasal propil

gallat sensörü geliştirmiştir. Sensörün hazırlanması amacıyla ABSA, CV yöntemi kullanarak (-0,5) V – (+2,0) V potansiyel aralığında 30 döngü ile GCE yüzeyinde polimerleştirilmiştir. Polimer modifiye elektrotun yüzeyine kloroaurik asit çözeltisinden yine CV kullanılarak 0 V–1,3 V potansiyel aralığında 20 döngü ile altın nanopartikül biriktirilmiştir. Sensörün çalışma koşulları optimizasyonu için tampon türü ve pH, polimerin ve altın nanopartikülün modifikasyonda kullanılan döngü sayısı incelenmiş ve sırasıyla pH 7,0 fosfat tamponu, 30 ve 20 döngü bulunmuştur. DPV yöntemi ile sensörün doğrusal çalışma aralığı ve gözlenebilme sınırı sırasıyla $1,0 \times 10^{-4}$ – $9,0 \times 10^{-6}$ M ve $1,9 \times 10^{-7}$ M olarak bildirilmiştir. $1,0 \times 10^{-4}$ M propil gallat varlığında tekrar üretilebilirlik incelendiğine BSS %1,1 bulunmuştur. Hindistan cevizi ve ayçiçeği yağında yapılan gerçek numune analizlerinde geri kazanımın %98,9–%101,3 arasında değiştiği belirlenmiştir (Cyriac vd., 2016: B683-688).

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Cihazlar ve Donanımlar

Elektrokimyasal ölçümlerde Metrohm Autolab, Iviumstat (CompactStat) ve Palmsens (EmStat3) marka analiz cihazları ve BASi C-3 marka hücre standı kullanıldı. Sensör çalışmasında Ag/AgCl (BASi MF-2052, 3M KCl) referans elektrot, Pt tel (BASi MW-1032) karşıt elektrot ve camsı karbon (GCE) (BASi MF-2012) çalışma elektrotu kullanıldı. Biyosensör çalışması ise, gümüş referans elektrot, karbon karşıt elektrot ve karbon çalışma elektrodunun bir arada bulunduğu perde baskılı karbon elektrot (SPE-DropSens-C110) ile yapıldı.

Çalışmada kullanılan tüm malzemeler Mettler Toledo marka 0,01 mg duyarlılıkta analitik terazide tartıldı. Kullanılacak çözeltiler bidestile saf su (ELGA Purelab Classic Ultra Pure Water System) ile hazırlanıp Isolab marka ultrasonik banyo ve vorteks karıştırıcıda karıştırılarak homojen hale gelmesi sağlandı. Çözeltilerin pH'larının ayarlanmasında Thermo Orion (720A) pH-iyon metre ve Thermo Scientific Orion marka cam pH elektrotu kullanıldı. pH metrenin kalibrasyonu için pH 4,00 ve pH 10,00 tampon çözeltilerinden (Thermo Scientific Orion) yararlanıldı.

Sensör ve biyosensör geliştirmede kullanılan elektrotların yüzey morfolojisi Tescan marka GAIA3+Oxford XMax 150 model taramalı elektron mikroskobu kullanılarak belirlendi.

3.2. Kullanılan Kimyasallar

Sensör ve biyosensör geliştirmede kullanılan kimyasalların alındığı firmalar ve saflık dereceleri veya derişimleri Tablo 3.1'de verildi.

Kullanılan kimyasallar	Saflık derecesi/derişimi	Alındığı firma
Argon gazı	%99,99	Oksan
Grafen	2 mg/mL (suda)	Dropsens
L-Serin	%99,5	Sigma-Aldrich
Altın (III) klorür trihidrat	≥%99,0	Sigma-Aldrich
Sodyum sülfat	%99,0	Panreac Quimica
Grafen kuantum noktalar	%0,005 (suda)	Sigma-Aldrich

Kullanılan kimyasallar	Saflık derecesi/derişimi	Alındığı firma
L-Arjinin monohidroklörür	≥%99,0	Merck
Paladyum (II) klorür	%99,0	Sigma-Aldrich
Tirozinaz	25 U	Sigma-Aldrich
Nafyon	%5,0	Sigma-Aldrich
Sığır serum albümini	≥%96,0	Sigma-Aldrich
Gluteraldehit	%25,0	Sigma-Aldrich
Sülfürik asit	%96,0	Carlo Erba Reag.
Disodyum hidrojenfosfat-7-hidrat	≥%98,5	Sigma-Aldrich
Sodyum dihidrojen fosfat	≥%99,0	Sigma-Aldrich
Potasyum klorür	%99,0-100,5	Merck
Potasyum hekzasiyanoferrat (III)	%99,0	Sigma-Aldrich
Potasyum hekzasiyanoferrat (II) trihidrat	%99,5	Sigma-Aldrich
Etanol	>%99,8	Sigma-Aldrich
Metanol	≥%99,9	Merck
Hidroklörük asit	%35,0	Merck
Sodyum hidroksit	≥%98,0	Riedel-de Haën
Propil gallat	≥%98,0	Sigma-Aldrich
Tert-bütöl hidrokinon	%97,0	Sigma-Aldrich
Bütöl hidroksianisol	%99,0	Sigma-Aldrich
Bütöl hidroksitoluen	≥%98,5	Sigma-Aldrich
Askorbik asit	≥%99,0	Sigma-Aldrich
Ürik asit	≥%99,9	Sigma-Aldrich
Lityum karbonat	≥%99,0	Sigma-Aldrich
D-(+)-glukoz	≥%99,5	Sigma-Aldrich
Sitrik asit	≥%98,0	Sigma-Aldrich
Sodyum klorür	≥%99,0	Sigma-Aldrich

Tablo 3.1. Kimyasalların alındığı firma ve saflık dereceleri veya derişimleri

3.3. Kullanılan Çözeltiler

Aşağıda tez çalışmasında kullanılan çözeltilerin nasıl hazırlandığı ayrıntıları ile açıklandı. Çözeltiler kullanılmadığı zamanlarda buzdolabında +4°C’de saklandı.

3.3.1. Fosfat Tamponu

0,05 M fosfat tamponu elde etmek için uygun miktarlarda disodyum hidrojenfosfat-7-hidrat ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) ve sodyum dihidrojen fosfat (NaH_2PO_4) tartıldı ve bidestile saf suda çözülerek balon jojede hacme tamamlandı. 0,1 M NaOH veya 0,1 M HCl ile istenilen pH'ya ayarlandı.

3.3.2. Redoks Probu

Potasyum hekzasiyanoferrit (II) trihidrat [$\text{K}_4\text{Fe}(\text{CN})_6 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$] ve potasyum hekzasiyanoferrat (III) [$\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$] derişimi 5,0 mM ve KCl derişimi 0,1 M olan redoks probu çözeltisini hazırlamak amacıyla söz konusu kimyasalların uygun miktarları tartılarak bidestile saf suda çözüldü ve balon jojede hacme tamamlandı.

3.3.3. Propil Gallat Çözeltisi

0,01 M derişime sahip stok çözelti hazırlamak amacıyla uygun miktarda propil gallat tartıldı, etanolde çözüldü ve balon jojede istenilen hacme etanol ile tamamlandı. Kullanılacak farklı derişimdeki propil gallat çözeltileri stok çözeltiden alınan uygun miktarların fosfat tamponu kullanılarak seyreltilmesi ile hazırlandı.

3.3.4. L-Serin Çözeltisi

0,1 M derişime sahip L-Serin çözeltisi hazırlamak amacıyla uygun miktarda L-Serin tartıldı ve pH 5,0 fosfat tamponunda çözülüp balon jojede fosfat tamponu ile istenilen hacme tamamlandı.

3.3.5. L-Arjinin Çözeltisi

2,0 mM derişimde L-Arjinin çözeltisi hazırlamak için uygun miktarda L-Arjinin monohidroklörür tartıldı ve pH 7,0 fosfat tamponunda çözülerek balon jojede fosfat tamponunda istenilen hacme tamamlandı.

3.3.6. Sodyum Sülfat Çözeltisi

0,2 M sodyum sülfat çözeltisi hazırlamak için uygun miktarda Na_2SO_4 tartıldı ve bidestile saf suda çözülerek balon jojede hacme tamamlandı.

3.3.7. Altın (III) Klorür Trihidrat Çözeltisi

Derişimi 1,0 mM olan altın (III) klorür trihidrat çözeltisi, tartılan uygun miktardaki altın (III) klorür trihidratın Bölüm 3.3.6'da anlatıldığı gibi hazırlanan Na_2SO_4

çözeltisinde çözülmesi ve yine bu çözelti kullanılarak balon jojede hacme tamamlanması ile elde edildi.

3.3.8. Sülfürik Asit Çözeltisi

0,5 M sülfürik asit çözeltisi hazırlamak için uygun miktarda H_2SO_4 alındı ve bidestile saf su kullanılarak balon jojede hacme tamamlandı.

3.3.9. Paladyum Klorür Çözeltisi

Paladyum (II) klorürden tartılan uygun miktarın 0,5 M H_2SO_4 çözeltisinde çözülüp balon jojede hacme tamamlanması ile 0,5 mM paladyum klorür çözeltisi hazırlandı.

3.3.10. Tirozinaz Çözeltisi

Tirozinaz enzimi 0,05 M fosfat tamponu (pH 6,5) kullanılarak aktivitesi 50 U/ μ L olacak şekilde çözüldü ve kısımlara ayrıldı. Elde edilen çözeltiler kullanılmadığı zamanlarda derin dondurucuda $-40\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'de saklandı.

3.3.11. Sığır Serum Albümini Çözeltisi

Sığır serum albümini çözeltisi (BSA) hazırlanması için uygun miktarda sığır serum albümini tartıldı ve 1 mg/mL derişimde olacak şekilde 0,05 M pH 7,5 fosfat tamponunda çözüldü. Çözelti balon jojede istenilen hacme tamamlandı.

3.3.12. Gluteraldehit Çözeltisi

%0,25'lik gluteraldehit çözeltisi (GA) hazırlayabilmek için %25'lik ticari GA'dan 1 mL alındı ve 100 mL'ye bidestile saf su ile tamamlandı.

3.3.13. Nafyon Çözeltisi

Uygun miktarda alınan %5'lik nafyon çözeltisi derişimi %0,5 olacak şekilde %50 etanol-su karışımında seyreltilti.

3.3.14. Seçicilik Çalışmasında Kullanılan Türlerin Çözeltileri

Seçicilik çalışmasında kullanılan türlerin 0,01 M'lık stok çözeltilerini hazırlamak için TBHQ, BHA ve BHT'den tartılan uygun miktarlar etanolde çözüldü ve balon jojede istenilen hacme tamamlandı. Askorbik asit, glukoz, sitrik asit, potasyum klorür ve sodyum klorürün 0,01 M'lık çözeltileri ilgili türlerden tartılan uygun miktarların bidestile saf suda çözülmesi ve balon jojede hacme tamamlanması ile elde edildi. Ürik asitin 0,01 M'lık stok çözeltilerini hazırlamak için ise, ürik asit ve lityum

karbonattan tartılan uygun miktarlar bidestile saf suda çözülerek balon jojede hacme tamamlandı.

3.4. Propil Gallat Tayini İçin Sensör Hazırlanması

3.4.1. Camsı Karbon Elektrodun Temizlenmesi

Sensör geliştirmede çalışma elektrodu olarak kullanılan GCE'lerin temizleme işlemleri BASi (MF-2060) marka temizleme kiti ile yapıldı. Bu amaçla ilk olarak, GCE'ler 0,05 μm 'lik alümina içeren çözeltiden temizleme pedine damlatılması ve elektrot ile pedin yüzeyinde dairesel hareketler yapılmasıyla temizlendi ve yüzeyleri parlatıldı. Temizlenen elektrot bidestile saf su ile birkaç defa yıkandı ve elektrot yüzeyindeki alümina kalıntılarının tamamen uzaklaştırılması sağlandı. Elektrodun ilk olarak bidestile saf su daha sonra ise etanol içerisinde ultrasonik banyoda bekletilmesiyle temizleme işlemi tamamlandı.

3.4.2. Camsı Karbon Elektrodun Modifiye Edilmesi

3.4.2.1. Grafen modifiye elektrot

Grafen modifiye camsı karbon elektrot (GR/GCE) hazırlamak amacıyla temizlenmiş GCE yüzeyine 2 mg/mL'lik grafen (GR) çözeltisinden 5 μL damlatılıp oda sıcaklığında kurumaya bırakıldı.

3.4.2.2. Grafen ve altın nanopartikül modifiye elektrot

Temizlenmiş GCE yüzeyine 5 μL GR damlatılıp kurutulduktan sonra Bölüm 3.3.7'de anlatıldığı gibi hazırlanan altın çözeltisinden elektrokimyasal hücreye 5 mL alınıp GR/GCE'nin yüzeyine -0,4 V potansiyelde 200 saniye (Erden vd., 2021: 1-8) altın nanopartikül biriktirildi. Grafen ve altın nanopartikül modifiye elektrot AuNP/GR/GCE olarak gösterildi.

3.4.2.3. Grafen, altın nanopartikül ve poli(L-Serin) modifiye elektrot

Grafen, altın nanopartikül ve poli(L-Serin) modifiye elektrot elde etmek için ilk olarak temizlenmiş GCE'nin yüzeyine 5 μL GR damlatılıp kurutuldu. GR/GCE yüzeyine Bölüm 3.4.2.2'de açıklanan yöntem kullanılarak altın nanopartikül biriktirildi. Elde edilen AuNP/GR/GCE Bölüm 3.3.4'de açıklandığı gibi hazırlanan L-Serin çözeltisinden 5 mL içeren elektrokimyasal hücrenin içerisine daldırıldı ve dönüşümlü voltametri yöntemi ile -0,6 V ile +2,0 V arasında 100 mV/s tarama

hızında 20 döngü alınarak elektrot yüzeyinde poli(amino asit) oluşturuldu (Hung vd., 2020: 1-7). Bu şekilde hazırlanan grafen, altın nanopartikül ve poli(L-Serin) modifiye elektrot PSer/AuNP/GR/GCE şeklinde gösterildi ve sensör çalışması boyunca çalışma elektrodu olarak kullanıldı.

3.4.3. Sensör ile Elektrokimyasal Ölçümler

Sensör ile propil gallat tayini DPV ile yapıldı. DPV yönteminde potansiyel tarama aralığı (-1,0) V – (+1,0) V, modülasyon genliği 25 mV, tarama hızı 10 mV/s, modülasyon zamanı 0,05 saniye, basamak potansiyeli 5 mV olarak kullanıldı.

3.4.4. Sensörün Optimum Yüzey Bileşiminin Belirlenmesi

Sensör geliştirmede kullanılan modifikasyon malzemelerinin elektrot yüzeyindeki optimum miktarları tek seferde tek değişken yöntemi ile belirlendi. Bu yöntemle göre, bileşenlerden birinin miktarı değiştirilirken diğerlerinin miktarı sabit tutuldu. GR, AuNP ve PSer için optimum parametreler belirlenirken DPV yöntemi kullanılarak sensörün sabit derişimde ($3,8 \times 10^{-5}$ M) propil gallata verdiği cevap akımlarından yararlanıldı. Propil gallata en yüksek cevap akımını veren sensörün hazırlanmasında kullanılan miktar ya da parametre ilgili modifikasyon malzemesi için optimum kabul edildi. Grafiklerde hata çubukları üç ölçümün standart sapmasını ifade etmektedir.

3.4.4.1. Grafen miktarı

Sensörde kullanılacak GR miktarını optimize edebilmek için elektrot yüzeyine 2,5; 5,0; 7,5 ve 10,0 μ L grafen damlatıldı. Hazırlanan dört farklı GR/GCE yüzeyine altın nanopartikül ve poli(L-Serin) modifiye edildikten sonra sensörlerin $3,8 \times 10^{-5}$ M propil gallata elektrokimyasal cevabı DPV yöntemi ile ölçüldü ve en iyi cevap akımını veren sensörün hazırlanmasında kullanılan GR miktarı optimum seçildi.

3.4.4.2. Altın nanopartikül biriktirme süresi

GR/GCE yüzeyine AuNP biriktirme süresini optimize edebilmek için elektrokimyasal hücreye Bölüm 3.3.7’de anlatıldığı gibi hazırlanan altın (III) klorür trihidrat çözeltisinden 5 mL ilave edildi ve elektrotlara 100, 200, 300 ve 400 saniye nanopartikül biriktirmesi yapıldı. Farklı saniyelerde AuNP biriktirilerek modifiye edilen dört farklı AuNP/GR/GCE’nin yüzeyine PSer kaplandı ve elde edilen sensörlerin $3,8 \times 10^{-5}$ M propil gallata elektrokimyasal cevabı DPV yöntemi ile

incelendi. En yüksek cevabın elde edildiği sensörde kullanılan nanoprtikül biriktirme süresi optimum olarak belirlendi.

3.4.4.3. Poli(L-Serin) modifikasyonunda kullanılan döngü sayısı

Sensör yüzeyinin PSer ile modifiye edilmesi için kullanılacak optimum döngü sayısına karar verebilmek için hazırlanan dört farklı AuNP/GR/GCE yüzeyine Bölüm 3.3.4’de anlatıldığı gibi hazırlanan L-Serin çözeltisinden dönüşümlü voltametri yöntemi ile 10, 15, 20 ve 25 döngü ile poli(amino asit) modifikasyonu yapıldı. Hazırlanan modifiye elektrotların $3,8 \times 10^{-5}$ M propil gallata cevabı DPV ile incelendi. En yüksek cevap akımını veren PSer/AuNP/GR/GCE’nin hazırlanmasında kullanılan döngü sayısı optimum olarak kabul edildi.

3.4.5. Sensörün Elektrokimyasal Karakterizasyonu

Modifikasyonda kullanılan maddelerin, elektrodun elektrokimyasal davranışına etkisini belirlemek için Bölüm 3.4.2’de açıklandığı gibi hazırlanan GCE, GR/GCE, AuNP/GR/GCE ve PSer/AuNP/GR/GCE’lerin dönüşümlü voltamogramları (-0,2) V – (+0,6) V potansiyel aralığı ve 50 mV/s tarama hızı kullanılarak redoks probu içerisinde alındı. Söz konusu elektrotların empedans ölçümleri redoks probu içerisinde 0,2 V’da 0,05–100000 Hz frekans aralığında 1 mV genlik kullanılarak gerçekleştirildi.

Propil gallatın PSer/AuNP/GR/GCE yüzeyindeki yükseltgenme mekanizmasını aydınlatmak amacıyla sabit derişimde propil gallat içeren pH 7,5 fosfat tamponunda farklı tarama hızlarında dönüşümlü voltamogramlar alındı. Propil gallata ait yükseltgenme pik akımlarının tarama hızıyla değişimi, pik akımlarının logaritmasının tarama hızının logaritmasıyla değişimi, yükseltgenme pik potansiyelinin tarama hızının ln değeri ile değişimi grafiğe geçirilerek elde edilen verilerden propil gallat için yükseltgenme mekanizması önerildi. Çalışmada Laviron eşitliğinden yararlanılarak propil gallatın yükseltgenmesi sırasında aktarılan elektron sayısı hesaplandı. Ayrıca, pik potansiyelinin pH ile değişimi incelenerek yükseltgenme mekanizmasında protonların rol oynayıp oynamadığı belirlendi.

3.4.6. Sensörün Optimum Çalışma pH’sının Belirlenmesi

PSer/AuNP/GR/GCE’nin propil gallata verdiği voltametrik cevaba pH’nın etkisini araştırmak amacıyla Bölüm 3.3.1’de açıklandığı gibi hazırlanan ve pH’ları 6,0–8,5

arasında değişen fosfat tamponları kullanıldı. Sensörün incelenen her pH’da $3,8 \times 10^{-5}$ M propil gallata verdiği cevap DPV yöntemi ile ölçüldü ve en yüksek cevap akımının kaydedildiği pH optimum seçildi.

3.4.7. Sensörün Performans Faktörleri

3.4.7.1. Doğrusal çalışma aralığı ve duyarlık

PSer/AuNP/GR/GCE’nin doğrusal çalışma aralığını ve duyarlığını hesaplamak için 0,05 M pH 7,5 fosfat tamponundan 5 mL alınarak elektrokimyasal hücreye eklendi. Hücrenin içerisine artan derişimlerde propil gallat eklenerek DPV yöntemi ile sensörün cevap akımları incelendi ve diferansiyel puls voltamogramları çizildi. Kaydedilen cevap akımlarının ilave edilen propil gallat derişimine karşı grafiğe geçirilmesi ile sensör için kalibrasyon grafiği oluşturuldu. Kalibrasyon grafiğinde akım ile derişim arasındaki ilişkinin doğrusal olduğu bölge sensörün çalışma aralığı olarak kaydedildi. Kalibrasyon eğrisinin doğrusal kısmının eğimi ise sensörün duyarlığı olarak belirlendi.

3.4.7.2. Gözlenebilme ve alt tayin sınırı

Sensörün gözlenebilme sınırını (LOD) ve alt tayin sınırını (LOQ) belirlemek amacıyla sensörün doğrusal çalışma aralığının en alt noktasındaki propil gallat derişimine verdiği cevap art arda 10 kez DPV yöntemi ile ölçüldü. Ölçülen cevap akımlarının standart sapması (s) hesaplandı. Kalibrasyon grafiğinin eğimi (m) kullanılarak gözlenebilme sınırı $LOD = 3,3 s/m$, alt tayin sınırı ise $LOQ = 10 s/m$ formüllerinden bulundu.

3.4.7.3. Tekrar kullanılabilirlik ve tekrar üretilebilirlik

PSer/AuNP/GR/GCE’nin tekrar kullanılabilirliğini belirlemek amacıyla sensörün ardışık propil gallat eklemelerine cevabı DPV ile art arda beş defa ölçüldü. Oluşturulan beş kalibrasyon grafiğinin duyarlıklarının BSS’si hesaplandı ve sensörün tekrar kullanılabilirliği belirlendi. Sensörün tekrar üretilebilirliğini incelemek için aynı modifikasyon yöntemi kullanılarak beş modifiye GCE hazırlandı ve bu elektrotların ardışık propil gallat eklemelerine cevabı DPV ile belirlendi. Kalibrasyon grafiklerinin eğimlerinin BSS değerleri hesaplanarak sensörün tekrar üretilebilirliği bulundu.

3.4.7.4. Kararlılık

PSer/AuNP/GR/GCE'nin kararlılığını belirlemek için sensörün $3,8 \times 10^{-5}$ M sabit derişimde propil gallata cevabı art arda 50 defa ölçüldü. Ölçüm sonuçlarının BSS değeri hesaplandı ve sensörün kararlılığı belirlendi.

3.4.7.5. Girişim yapan türlerin etkisi

PSer/AuNP/GR/GCE'nin propil gallata cevabına etki edebilecek TBHQ, BHA, BHT, askorbik asit, ürik asit, glukoz, sitrik asit, potasyum klorür ve sodyum sülfat gibi türlerin girişim etkisi incelendi. Bu amaçla ilk olarak elektrokimyasal hücredeki fosfat tamponu üzerine $5,7 \times 10^{-6}$ M propil gallat çözeltisi eklenip DPV yöntemiyle cevap akımı kaydedildi. Ardından girişim yapabilecek türün derişimi de $5,7 \times 10^{-6}$ M olacak şekilde aynı hücreye ekleme yapıp cevap akımı ölçüldü. Bu uygulama her bir potansiyel girişim yapan tür için ayrı ayrı tekrarlandı. Propil gallat için ölçülen cevap akımı (i_1) girişim ve yapabilecek türler için ölçülen cevap akımı (i_2) kaydedilip % girişim etkisi aşağıdaki formülden hesaplandı.

$$\% \text{Girişim etkisi} = \frac{(i_2 - i_1)}{i_1} \times 100$$

3.4.8. Sensör ile Gerçek Numune Analizi

PSer/AuNP/GR/GCE'nin gerçek numunelerde propil gallat analizinde kullanılabilirliği zeytinyağı numunesinde incelendi. Zeytinyağı numunesinden tartılan 5 gramlık kısım 5 mL metanol ile karıştırılıp 30 dakika vortekslenildi (Yin vd., 2021: 1-7). Homojen hale gelen karışım 30 dakika 3000 rpm'de santrifüjlenip üstteki kısım farklı bir tüpe alındı. Elde edilen çözelti metanol ile 1:1 oranında seyreltildi. Bu özütten alınan uygun miktar 5 mL 0,05 M pH 7,5 fosfat tamponunun içerisine eklendi ve DPV yöntemi ile akım değerleri okundu. Elektrokimyasal hücreye standart propil gallat çözeltisinden ilaveler yapılarak standart ekleme grafikleri oluşturuldu. Bu grafiklerden numune içindeki propil gallat miktarı belirlendi. Daha sonra aynı numunede propil gallat için geri kazanım çalışması yapıldı. Bu amaçla yağ numunesinden hazırlanan ve içerdiği propil gallat miktarı analiz edilen özüte standart propil gallat çözeltisinden bilinen bir miktar ilave edilerek katkılama (spike) yapıldı. Katkılanmış özütten alınan uygun bir miktar 5 mL 0,05 M pH 7,5 fosfat tamponunun içerisine eklendi ve DPV yöntemi ile cevap akımları okundu. Elektrokimyasal hücreye standart propil gallat çözeltisinden ilaveler yapılarak standart ekleme

grafikleri oluşturuldu. Oluşturulan grafiklerden katkılanmış numune içindeki propil gallat miktarı belirlendi. Katkılanmış numune içinde bulunması beklenen propil gallat miktarı ve bulunan propil gallat miktarı kıyaslanarak % geri kazanım değerleri hesaplandı.

3.5. Propil Gallat Tayini İçin Biyosensör Hazırlanması

3.5.1. Perde Baskılı Elektrotların Modifikasyonu

3.5.1.1. Grafen kuantum nokta modifiye elektrot

Grafen kuantum nokta modifiye perde baskılı elektrot (GQD/SPE) hazırlamak için SPE'lerin yüzeyine grafen kuantum nokta (GQD) çözeltisinden 3 µL damlatılıp oda sıcaklığında kurumaya bırakıldı.

3.5.1.2. Grafen kuantum nokta ve poli(L-Arjinin) modifiye elektrot

Bölüm 3.3.5'de anlatıldığı gibi hazırlanan L-Arjinin çözeltisinden 5 mL alınıp elektrokimyasal hücrenin içerisine eklendi. Daha sonra bu hücrenin içerisine Bölüm 3.5.1.1'de açıklandığı gibi hazırlanan GQD/SPE daldırıldı. Dönüşümlü voltametri kullanılarak -2,0 V ile +2,5 V arasında 100 mV/s tarama hızında 10 döngü alındı ve GQD/SPE yüzeyinde poli(amino asit) oluşması sağlandı (Zhou vd., 2014: 1973-1979). Elde edilen modifiye elektrot (PARj/GQD/SPE) oda sıcaklığında kurutuldu.

3.5.1.3. Grafen kuantum nokta, poli(L-Arjinin) ve paladyum nanopartikül modifiye elektrot

Grafen kuantum nokta, poli(L-Arjinin) ve paladyum nanopartikül modifiye elektrot hazırlamak amacıyla Bölüm 3.3.9'da anlatıldığı gibi hazırlanan paladyum klorür çözeltisinden 5 mL alınıp elektrokimyasal hücreye ilave edildi ve Bölüm 3.5.2.2'de açıklandığı gibi elde edilen PARj/GQD/SPE'nin yüzeyine -0,1 V potansiyelde 60 saniye boyunca paladyum nanopartikül biriktirildi (Mukdasai vd., 2015: 280-288). Grafen kuantum nokta, poli(L-Arjinin), paladyum nanopartikül modifiye elektrot PdNP/PARj/GQD/SPE şeklinde simgelendi.

3.5.1.4. Grafen kuantum nokta, poli(L-Arjinin), paladyum nanopartikül ve tirozinaz modifiye elektrot

Enzim modifiye elektrotun hazırlanması için PdNP/PARj/GQD/SPE'nin yüzeyine tirozinaz enzimi immobilize edildi. İmmobilizasyon işlemi için 2 µL BSA, 2 µL GA,

8 μL Tyr ve 8 μL pH 7,5 fosfat tamponu karıştırıldı. Hazırlanan bu çözeltiden mikropipet yardımıyla 5 μL alınıp PdNP/PArj/GQD/SPE'nin yüzeyine damlatıldı ve kurumaya bırakıldı. Ardından enzim damlatılıp kurutulmuş PdNP/PArj/GQD/SPE'nin yüzeyine Bölüm 3.3.13'de anlatıldığı gibi hazırlanan nafyon çözeltisinden mikropipet ile 3 μL damlatıldı ve elektrot oda sıcaklığında kurutuldu. Elde edilen biyosensör Tyr/PdNP/PArj/GQD/SPE şeklinde gösterildi.

3.5.2. Biyosensörün Optimum Yüzey Bileşiminin Belirlenmesi

Biyosensör geliştirmede kullanılan grafen kuantum nokta, poli(L-Arjinin), paladyum nanopartikül ve tirozinaz enziminin miktarını optimize edebilmek için tek seferde tek değişken yönteminden yararlanıldı. Modifikasyon malzemelerinin optimum miktarları belirlenirken amperometri yöntemi kullanıldı. Hazırlanan biyosensörlerin optimum şartlarda -0,25 V sabit potansiyelde elde edilen kararlı hal akımları ölçüldü. Biyosensörlerin farklı derişimlerde propil gallat ilavelerine verdiği cevap akımları kaydedildi. Ölçülen akımlardan kararlı hal akımının çıkarılması ile bulunan akım farklarının derişime karşı grafiğe geçirilmesiyle oluşturulan kalibrasyon grafiklerinde en yüksek duyarlılığı veren miktar ya da parametre optimum olarak kabul edildi.

3.5.2.1. Grafen kuantum nokta miktarı

Biyosensörde kullanılan grafen kuantum nokta miktarını optimize edebilmek için elektrot yüzeyine 2,0; 3,0; 4,0; 5,0 ve 6,0 μL grafen kuantum nokta çözeltisi damlatıldı ve modifiye elektrot oda sıcaklığında kurutuldu. Hazırlanan beş farklı GQD/SPE yüzeyine poli(L-Arjinin) ve paladyum nanopartikül modifiye edildikten sonra tirozinaz enzimi Bölüm 3.5.1.4'de açıklandığı gibi immobilize edildi. Elde edilen biyosensörlerin propil gallata cevabı amperometri yöntemi ile belirlendi. Oluşturulan kalibrasyon grafiklerinde en yüksek duyarlılığın elde edildiği biyosensörün hazırlanması için kullanılan GQD miktarı optimum olarak seçildi.

3.5.2.2. Poli(L-Arjinin) modifikasyonunda kullanılan döngü sayısı

Elektrot yüzeyinin poli(L-Arjinin) ile modifiye edilmesi için kullanılacak optimum döngü sayısına karar vermek için GQD/SPE'ler Bölüm 3.3.5'de anlatıldığı gibi hazırlanan L-Arjinin çözeltisinden 5 mL içeren elektrokimyasal hücreye daldırıldı ve -2,0 V ile +2,5 V arasında 100 mV/s tarama hızı kullanılarak 5, 10, 15 ve 20 döngü ile elektrot yüzeyine poli(amino asit) kaplandı. Bu elektrotlara paladyum

nanopartikül ve tirozinaz modifiye edilmesi ile elde edilen biyosensörlerin propil gallata amperometrik cevabı ölçüldü. En yüksek duyarlılığı veren Tyr/PdNP/PArj/GQD/SPE'deki döngü sayısı optimum olarak seçildi.

3.5.2.3. Paladyum nanopartikül biriktirme süresi

Paladyum nanopartikül biriktirme süresini optimize etmek için elektrokimyasal hücreye Bölüm 3.3.9'da anlatıldığı gibi hazırlanan paladyum klorür çözeltisinden 5 mL alındı ve içerisine PArj/GQD/SPE daldırıldı. Elektrotun üzerine -0,1 V potansiyelde 30, 60, 90 ve 120 saniye paladyum nanopartikül biriktirildi. Hazırlanan dört farklı elektrot yüzeyine enzim immobilizasyonu gerçekleştirildi. Farklı saniyelerde paladyum biriktirilerek modifiye edilen dört farklı Tyr/PdNP/PArj/GQD/SPE'nin propil gallata cevabı amperometri yöntemi ile ölçüldü. Kalibrasyon grafikleri çizilerek en yüksek duyarlılığı gösteren biyosensörün hazırlanmasında kullanılan paladyum nanopartikül biriktirme süresi optimum olarak seçildi.

3.5.2.4. Enzim miktarı

Hazırlanan biyosensörde tirozinaz enzimi miktarını optimize edebilmek için PdNP/PArj/GQD/SPE yüzeyine 60 U, 100 U, 140 U ve 180 U enzim immobilize edildi. Hazırlanan dört farklı Tyr/PdNP/PArj/GQD/SPE biyosensörünün propil gallata cevabı amperometri ile belirlendi. Akım farklarının propil gallat derişimine karşı grafiğe geçirilmesi ile oluşturulan kalibrasyon eğrilerinden en yüksek duyarlılığı veren biyosensörün hazırlanmasında kullanılan enzim miktarı optimum olarak seçildi.

3.5.3. Biyosensörün Elektrokimyasal Karakterizasyonu

Modifikasyon aşamasında kullanılan maddelerin elektrodun elektrokimyasal davranışına etkisini incelemek için SPE, GQD/SPE, PArj/GQD/SPE, PdNP/PArj/GQD/SPE ve Tyr/PdNP/PArj/GQD/SPE'lerin dönüşümlü voltamogramları -0,3 V ile +0,8 V aralığında 50 mV/s tarama hızında Bölüm 3.3.2'de anlatıldığı gibi hazırlanan redoks probu içerisinde alındı. Aynı elektrotların empedans ölçümleri redoks probu içerisinde 0,2 V potansiyelde, 1 mV genlikte 0,05–100000 Hz frekans aralığında gerçekleştirildi.

3.5.4. Biyosensörün Optimum Çalışma Koşullarının Belirlenmesi

3.5.4.1. Tampon pH'sı

Tyr/PdNP/PArj/GQD/SPE'nin propil gallata karşı verdiği cevaba tampon pH'sının etkisini inceleyebilmek için pH'sı 6,0–8,5 arasında 0,5 pH birimi değiştirilerek farklı pH'larda fosfat tamponları hazırlandı. Biyosensörün her pH'da propil gallat cevabı amperometrik yöntemle ölçüldü ve bulunan akım farklarının derişime karşı grafiğe alınmasıyla oluşturulan kalibrasyon grafiklerinden elde edilen duyarlıklar belirlendi. Bu duyarlıklar pH'ya karşı grafiğe alındı ve en yüksek duyarlığın gözleendiği pH optimum seçildi.

3.5.4.2. Çalışma potansiyeli

Tyr/PdNP/PArj/GQD/SPE biyosensörünün optimum çalışma potansiyelini belirlemek amacıyla modifiye elektrotların 0,05 M pH 7,5 fosfat tamponunda -0,1 V ile -0,4 V aralığında değişen farklı potansiyelerde propil gallata verdiği amperometrik cevap akımı incelendi. Hesaplanan akım farkları kullanılarak kalibrasyon grafiği oluşturuldu ve her potansiyel için duyarlık değeri hesaplandı. En yüksek duyarlık elde edilen potansiyel optimum çalışma potansiyeli olarak seçildi.

3.5.5. Biyosensörün Performans Faktörleri

3.5.5.1. Doğrusal çalışma aralığı ve duyarlık

Tyr/PdNP/PArj/GQD/SPE'nin doğrusal çalışma aralığını ve duyarlığını belirlemek amacıyla 0,05 M pH 7,5 fosfat tamponundan 5 mL alınarak elektrokimyasal hücreye eklendi. Biyosensörün sabit potansiyelde kararlı hal akımı kaydedildi. Hücreye standart propil gallat çözeltilerinden art arda farklı derişimlerde ilaveler yapıldı ve her ilave sonrası elde edilen akım farkları hesaplandı. Bulunan akım farkları ilave edilen derişime karşı grafiğe geçirilerek kalibrasyon grafiği oluşturuldu. Kalibrasyon grafiğinin doğrusal kısmı biyosensörün çalışma aralığı, doğrusal kısmın eğimi ise duyarlık olarak alındı.

3.5.5.2. Gözlenebilme ve alt tayin sınırı

Tyr/PdNP/PArj/GQD/SPE'nin LOD ve LOQ değerlerini belirleyebilmek için biyosensörün doğrusal çalışma aralığının en alt noktasındaki propil gallat derişimine verdiği amperometrik cevaplar art arda 10 kez ölçüldü. Hesaplanan akım farklarının

standart sapması (s) bulundu. Kalibrasyon grafiğinin eğimi (m) kullanılarak, gözlenebilme sınırı $LOD = 3,3 s/m$, alt tayin sınırı ise $LOQ = 10 s/m$ formülleri ile hesaplandı.

3.5.5.3. Tekrar kullanılabilirlik ve tekrar üretilebilirlik

Tyr/PdNP/PArj/GQD/SPE'nin tekrar kullanılabilirliğini belirleyebilmek için aynı biyosensörün propil gallat cevabı amperometri yöntemi ile ölçüldü ve art arda beş defa kalibrasyon grafiği çizildi. Çizilen kalibrasyon grafiklerinin duyarlıklarının BSS değeri hesaplanarak tekrar kullanılabilirlik belirlendi.

Aynı yöntem kullanılarak hazırlanan beş farklı Tyr/PdNP/PArj/GQD/SPE'nin propil gallat cevabı amperometrik yöntemle ölçüldü ve çizilen kalibrasyon grafiklerinin duyarlıklarının BSS değerleri hesaplanarak tekrar üretilebilirlik belirlendi.

3.5.5.4. Uzun dönem kararlılığı

Tyr/PdNP/PArj/GQD/SPE'nin uzun dönem kararlılığını belirleyebilmek için aynı biyosensörün farklı zamanlarda sabit derişimdeki propil gallata cevabı ölçüldü. Ölçümler arasında biyosensör kuru ortamda buzdolabında muhafaza edildi. Birinci gün elde edilen biyosensör cevabı 20 gün sonunda ölçülen biyosensör cevabı ile kıyaslanarak biyosensörün cevabındaki düşüş hesaplandı.

3.5.5.5. Girişim yapan türlerin etkisi

Hazırlanan biyosensörün propil gallat cevabına çeşitli türlerin girişim etkisi incelendi. Bu amaçla ilk olarak elektrokimyasal hücreye $2,0 \times 10^{-6}$ M derişimde olacak şekilde standart propil gallat çözeltisi eklenip amperometri yöntemiyle cevap akımları kaydedildi. Ardından girişim yapabilecek TBHQ, BHA, BHT, askorbik asit, ürik asit, glukoz, sitrik asit, potasyum klorür ve sodyum sülfat gibi türlerin derişimi $2,0 \times 10^{-6}$ M olacak şekilde aynı hücreye ekleme yapıp cevap akımları incelendi. Propil gallat için okunan cevap akımı (i_1) ve girişim etkisi yapabilecek türler için okunan cevap akımı (i_2) kaydedilip % girişim etkisi aşağıdaki formülden hesaplandı.

$$\% \text{Girişim etkisi} = \frac{i_2}{(i_1 + i_2)} \times 100$$

3.5.6. Biyosensör ile Gerçek Numune Analizi

Tyr/PdNP/PArj/GQD/SPE biyosensörünün gerçek numunelerde propil galat tayininde kullanılabilirliğini belirlemek için zeytinyağı numunesi kullanıldı. Numune

analize Bölüm 3.4.7’de anlatıldığı gibi hazırlandı. Elde edilen özütten alınan uygun miktar 5 mL 0,05 M pH 7,5 fosfat tamponunun içerisine ilave edildi ve amperometrik yöntemle biyosensörün cevap akımı ölçüldü. Elektrokimyasal hücreye standart propil gallat çözeltisinden ilaveler yapılarak standart ekleme grafikleri oluşturuldu. Bu grafiklerden numune içindeki propil gallat miktarı belirlendi. Daha sonra aynı numunede propil gallat için geri kazanım çalışması yapıldı. Bu amaçla yağ numunesinden hazırlanan ve içerdiği propil gallat miktarı belirlenen özüte standart propil gallat çözeltisinden belirli miktar ilave edilerek katkılama yapıldı. Katkılanmış özütten belirli miktar alınarak 5 mL 0,05 M pH 7,5 fosfat tamponunun içerisine ekleme yapıldı ve amperometri yöntemi ile biyosensörün cevap akımı ölçüldü. Elektrokimyasal hücreye standart propil gallat çözeltisinden ilaveler yapılarak standart ekleme grafikleri oluşturuldu. Oluşturulan grafiklerden katkılanmış numune içindeki propil gallat miktarı belirlendi. Katkılanmış numune içinde bulunması beklenen propil gallat miktarı bulunan propil gallat miktarı ile karşılaştırıldı ve % geri kazanım hesaplandı.



4. ANALİZ BULGULARI ve TARTIŞMA

Bu tez çalışmasında propil gallatı tayin edebilmek için karbon nanomalzeme, poli(amino asit) ve metal nanopartikül kullanarak elektrokimyasal sensör ve biyosensör hazırlanması amaçlandı. Sensör çalışmasında karbon nanomalzeme olarak grafen, poli(amino asit) olarak poli(L-Serin), metal nanopartikül olarak ise altın nanopartikül seçildi. Biyosensör çalışmasında ise, karbon nanomalzeme olarak grafen kuantum noktalar, poli(amino asit) olarak poli(L-Arjinin), metal nanopartikül olarak paladyum nanopartikül ve tirozinaz enzimi kullanıldı. Literatürde propil gallatı tayin edebilmek için geliştirilen sensör ve biyosensörler incelendiğinde bu çalışmada sensör hazırlanmasında kullanılan grafen, altın nanopartikül ve poli(L-Serin)'in veya biyosensör hazırlanmasında kullanılan paladyum nanopartikül, poli(L-Arjinin) ve grafen kuantum noktaların birlikte kullanıldığı bir çalışmaya rastlanmadı.

Bu çalışmada propil gallatı tayin edebilmek için elektrokimyasal yöntem kullanılarak bir sensör ve bir biyosensör geliştirildi. Geliştirilen bu sensör ve biyosensörde kullanılan modifikasyon malzemelerinin miktar optimizasyonu yapılarak sensör ve biyosensörün en uygun çalışma koşulları belirlendi. Belirlenen bu çalışma koşullarında sensör ve biyosensörün performans faktörleri ve gıda numunesinde propil gallat tayininde kullanılabilirliği araştırıldı. Çalışmada ayrıca, sensör ve biyosensörün yüzey morfolojisi ve elektrokimyasal davranışı da incelendi. Elde edilen sonuçlar ve bu sonuçlar ışığında yapılan irdelemeler aşağıda ayrıntılarıyla verildi.

4.1. Propil Gallat Tayini İçin Geliştirilen Sensör

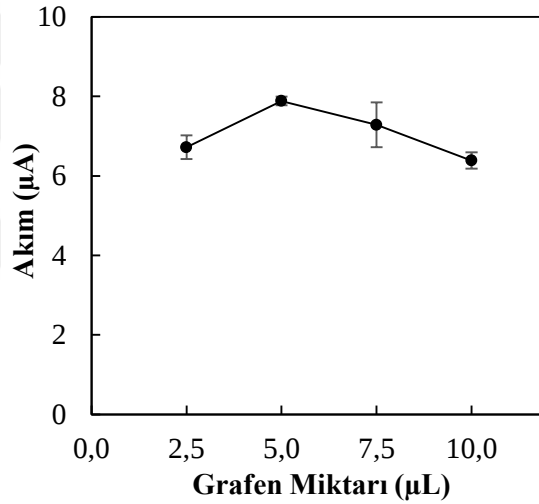
4.1.1. Propil Gallat Tayini İçin Geliştirilen Sensörün Yüzey Optimizasyonu

Sensörün hazırlanmasında kullanılan modifikasyon malzemelerinin miktarlarının sensörün analitik performansına etkisi büyüktür. Tezde geliştirilen sensör ile en yüksek analitik performansı elde edebilmek için modifikasyonda kullanılan grafen, altın nanopartikül ve poli(L-Serin)'in GCE yüzeyindeki miktarları tek seferde tek değişken yöntemi kullanılarak optimize edildi.

4.1.1.1. Grafen miktarının optimizasyonu

GCE'nin ilk katmanında bulunan grafen miktarını optimize etmek için elektrot yüzeyine 2,5; 5,0; 7,5 ve 10,0 μL olmak üzere dört farklı miktar grafen modifiye

edildi. GR/GCE yüzeyine altın nanopartikül ve poli(L-Serin) modifiye edilmesiyle hazırlanan sensörlerin sabit derişimde ($3,8 \times 10^{-5}$ M) propil gallata elektrokimyasal cevabı Bölüm 3.4.4.1’de anlatıldığı gibi DPV yöntemi ile incelendi ve bulunan sonuçlar Şekil 4.1’de verildi. Şekil incelendiğinde grafen miktarının artmasıyla cevap akımının arttığı, 5 µL grafen ile modifiye edilen sensörde en yüksek cevabın elde edildiği, daha yüksek grafen miktarlarında ise cevabın düştüğü görüldü. Bu nedenle, en yüksek sensör cevabının elde edildiği 5 µL optimum grafen miktarı olarak seçildi. Elektrot yüzeyine fazla grafen modifiye edilmesi durumunda cevaplarda gözlenen düşüşün literatür verileri ile uyumlu olarak grafen tabakasının kalınlığının artmasıyla substratın elektrot yüzeyine ulaşmasının zorlaşmasından kaynaklanabileceği düşünüldü (Ma ve Chen, 2015: 445-450).

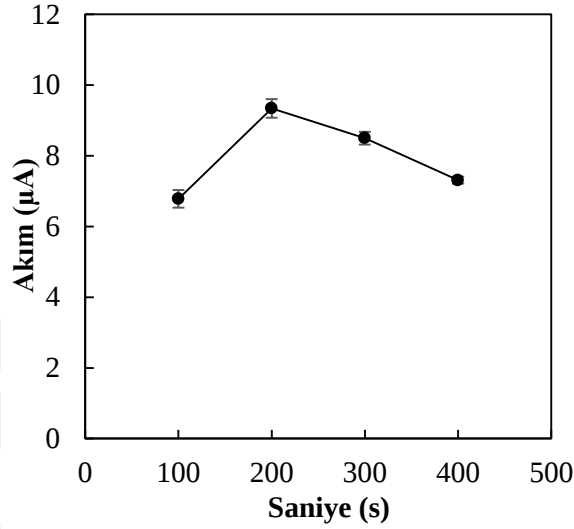


Şekil 4.1. Grafen miktarının PSer/AuNP/GR/GCE’nin voltametrik cevabına etkisi ($3,8 \times 10^{-5}$ M propil gallat içeren 0,05 M pH 7,5 fosfat tamponu)

4.1.1.2. Altın nanopartikül biriktirme süresinin optimizasyonu

GCE’nin modifikasyonunda kullanılan altın nanopartikülün elektrot yüzeyine biriktirme süresinin optimize edilebilmesi için GR/GCE’lerin yüzeyine 100; 200; 300 ve 400 saniye süreyle Bölüm 3.4.2.2’de anlatıldığı gibi altın nanopartikül biriktirildi. Elektrot yüzeyine poli(amino asit)’in de modifiye edilmesiyle hazırlanan sensörlerin propil gallata verdiği cevap $3,8 \times 10^{-5}$ M propil gallat varlığında DPV yöntemiyle kaydedildi. Farklı altın nanopartikül biriktirme sürelerinde hazırlanan sensörlerin propil gallata verdiği cevaplar Şekil 4.2’de verildi. Çalışmada en yüksek propil gallat cevabının 200 saniye altın nanopartikül biriktirilen sensör ile elde edildiği gözlemlendi.

ve bu süre optimum altın nanopartikül biriktirme süresi olarak belirlendi. Literatürde elektrot yüzeyine altın nanopartikül biriktirme süresinin artışının elektrodun etkin yüzey alanını azaltabileceği ve bunun cevap akımlarında düşüşe yol açabileceği rapor edilmiştir (Erden vd., 2021: 1-8). Çalışmamızda 200 saniyeden daha uzun altın biriktirme sürelerinde hazırlanan sensörün cevap akımlarında gözlenen düşüşün sebebinin de bu olabileceği değerlendirildi.

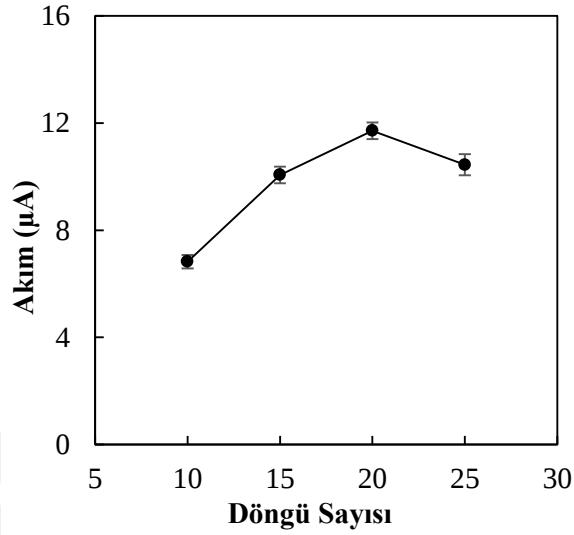


Şekil 4.2. AuNP biriktirme süresinin PSer/AuNP/GR/GCE'nin voltametrik cevabına etkisi ($3,8 \times 10^{-5}$ M propil gallat içeren 0,05 M pH 7,5 fosfat tamponu)

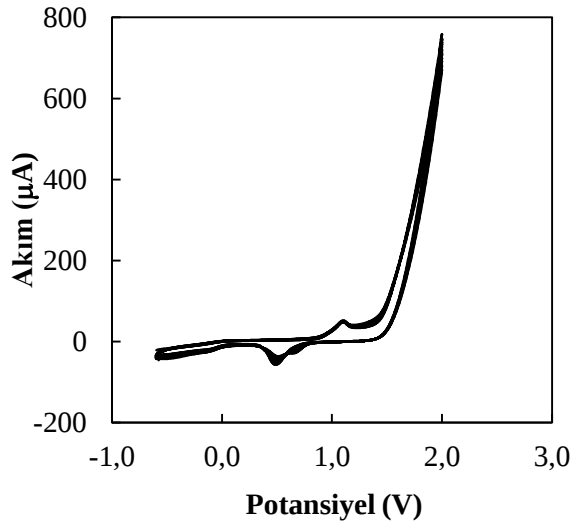
4.1.1.3. Poli(L-Serin) modifikasyonunda kullanılan döngü sayısının optimizasyonu

Çalışmada grafen ve altın nanopartikül modifiye edilmiş GCE yüzeyine son olarak poli(amino asit) kaplandı. Poli(amino asit) olarak seçilen poli(L-Serin)'in elektrot yüzeyinde oluşturulması için kullanılacak döngü sayısının sensörün cevabına etkisini incelemek için AuNP/GR/GCE yüzeyine Bölüm 3.4.2.3'de açıklandığı gibi 10, 15, 20 ve 25 döngü ile poli(L-Serin) kaplandı ve dört farklı sensör hazırlandı. Hazırlanan sensörlerin $3,8 \times 10^{-5}$ M propil gallat içeren pH 7,5 fosfat tamponunda DPV yöntemi kullanılarak cevap akımları incelendiğinde polimerin döngü sayısının artmasıyla cevap akımının arttığı ancak 20 döngüden sonra cevap akımının azaldığı gözlemlendi (Şekil 4.3). Çalışmada elektrot yüzeyinde poli(L-Serin) oluşturulması için kullanılacak optimum döngü sayısı 20 olarak belirlendi ve bu döngü sayısında elde edilen dönüşümlü voltamogram Şekil 4.4'de verildi. 20 döngüden daha yüksek döngü sayıları kullanıldığında sensör cevabının düşmesinin elektrot yüzeyinde oluşan

kalın poli(amino asit) tabakasının elektrodun elektrokatalitik özelliğine olumsuz bir etki yapmasından kaynaklanabileceği düşünüldü (You vd., 2022: 1-10). Şekil 4.4’de verilen voltamogramda gözlenen anodik ve katodik pikler literatür ile uyumludur (Hung vd., 2020:1-7)



Şekil 4.3. Poli(L-Serin) oluşturulmasında kullanılan döngü sayısının PSer/AuNP/GR/GCE’nin voltametrik cevabına etkisi ($3,8 \times 10^{-5}$ M propil gallat içeren 0,05 M pH 7,5 fosfat tamponu)

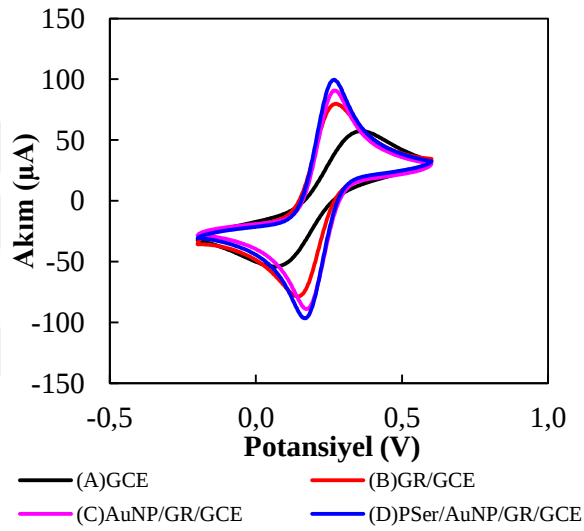


Şekil 4.4. AuNP/GR/GCE’nin poli(L-Serin) ile kaplanması sırasında kaydedilen dönüşümlü voltamogram (0,1 M L-Serin içeren 0,05 M fosfat tamponu, 100 mV/s tarama hızı, 20 döngü)

4.1.2. Sensörün Elektrokimyasal Davranışının ve Yüzey Morfolojisinin Karakterizasyonu

4.1.2.1. Dönüşümlü voltametri çalışmaları

Sensörün elektrokimyasal davranışları Bölüm 3.4.3’de açıklandığı gibi dönüşümlü voltametri ve elektrokimyasal empedans spektroskopisi yöntemleri kullanılarak incelendi. İlk olarak optimum bileşimde hazırlanan GCE, GR/GCE, AuNP/GR/GCE ve PSer/AuNP/GR/GCE’lerin dönüşümlü voltamogramları 50 mV/s tarama hızında 0,1 M KCl ve 5,0 mM $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}/\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$ içeren redoks probu çözeltisi kullanılarak alındı ve sonuçlar Şekil 4.5’de verildi.



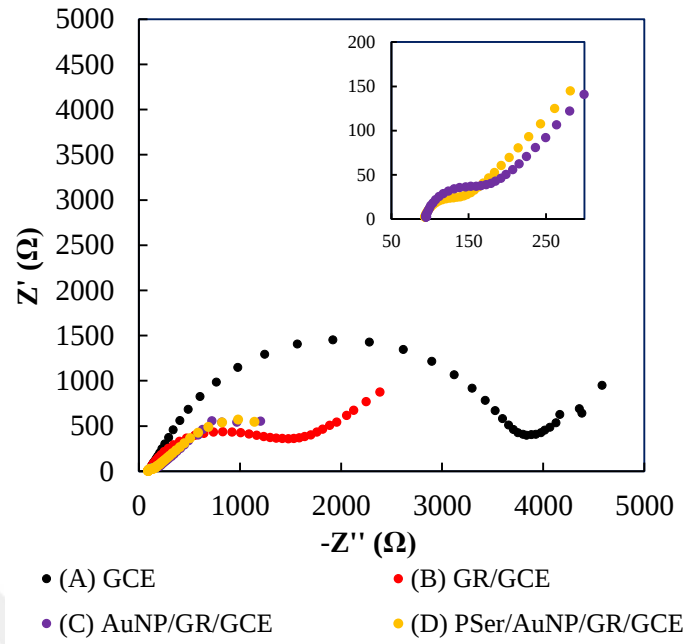
Şekil 4.5. (A) GCE, (B) GR/GCE, (C) AuNP/GR/GCE, (D) PSer/AuNP/GR/GCE’lerin dönüşümlü voltamogramları (0,1 M KCl ve 5,0 mM $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}/\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$ içeren redoks probu çözeltisi)

Şekil 4.5.’de gösterildiği gibi GCE ile $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}/\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$ çiftinin redoks davranışına karşılık gelen yükseltgenme ve indirgenme pikleri elde edildi. GCE’ye göre grafen modifiye edilmiş GCE’de daha yüksek pik akımları kaydedildi. Bu yüksek pik akımının modifikasyonda kullanılan grafenin hem iletkenliği artırmasından hem de elektron transferini hızlandırmasından kaynaklandığı düşünüldü (Khumngern vd., 2024: 1-8). GR/GCE’nin üzerine altın nanopartikül modifiye edildiğinde ise pik akımının daha da arttığı görüldü. Bu artışın literatürde belirtildiği gibi altın nanopartikülün hem elektrodun yüzey alanını hem de iletkenliğini artırmasından kaynaklandığı değerlendirildi (Erden vd., 2021: 1-8). Dönüşümlü voltametri çalışmasında en yüksek pik akımları PSer/AuNP/GR/GCE ile

elde edildi. Literatür incelendiğinde poli(L-Serin)'in pik akımlarını arttırıcı etki yaptığı görülmüştür (You vd., 2022: 1-10). Bu açıdan elde ettiğimiz veriler literatür ile uyum içindedir.

4.1.2.2. Elektrokimyasal empedans spektroskopisi çalışmaları

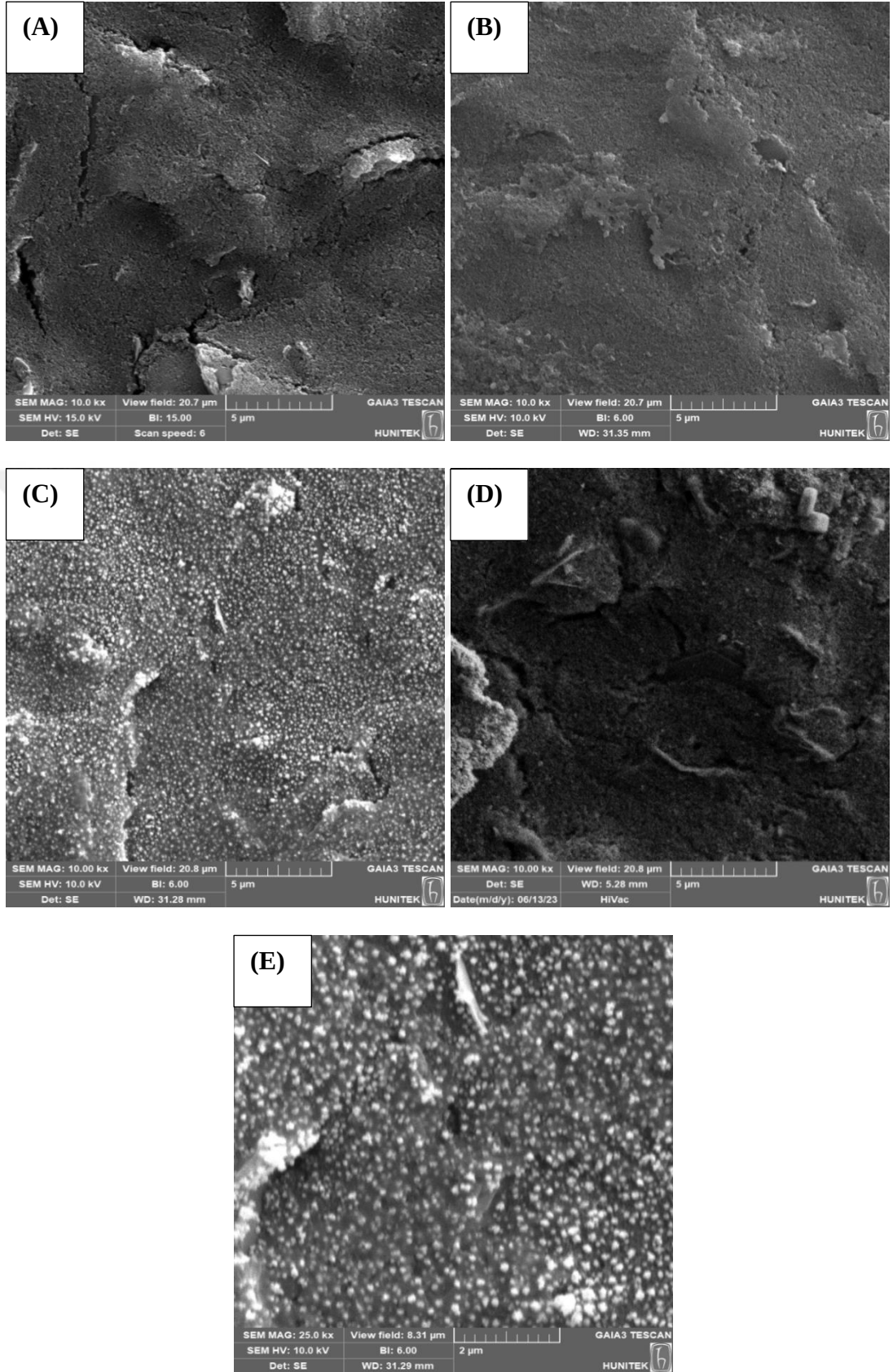
Elektrokimyasal empedans spektroskopisi modifiye edilmiş elektrotların elektrokimyasal özelliklerinin incelenmesinde yaygın kullanılan bir yöntemdir. Tez çalışmasında modifiye edilmemiş GCE, GR/GCE, AuNP/GR/GCE ve PSer/AuNP/GR/GCE'lerin EIS ölçümlerinde 0,1 M KCl ve 5,0 mM $\text{Fe(CN)}_6^{3-}/\text{Fe(CN)}_6^{4-}$ içeren redoks probu çözeltisi kullanıldı ve elde edilen Nyquist eğrileri Şekil 4.6'da sunuldu. Şekil incelendiğinde en yüksek yük transfer direncinin modifiye edilmemiş GCE ile elde edildiği görüldü. GCE yüzeyi grafen ile modifiye edildiğinde yük transfer direncinin boş GCE ile karşılaştırıldığında daha düşük olduğu belirlendi ve bunun sebebinin grafenin elektron transferini kolaylaştırıcı etki yapması olduğu düşünüldü (Liu vd., 2011: 129-135). GR/GCE yüzeyine altın nanopartikül biriktirildikten sonra yük transfer direncinin GR/GCE ve modifiye edilmemiş GCE'ye göre çok daha düşük olduğu saptandı. Bu durum altın nanopartiküllerin iletken doğasına bağlandı ve nanopartiküllerin elektrot yüzeyine başarılı bir şekilde biriktirildiğini gösterdi (Örenli vd., 2023: 1-11). En düşük yük transfer direnci ise, PSer/AuNP/GR/GCE ile elde edildi. Yük transfer direncindeki bu düşüşün sebebinin literatür verileri ile uyumlu biçimde iletken poli(L-Serin) tabakasının elektrot yüzeyine kaplanması olduğu düşünüldü (Narayana vd., 2015: 57-65).



Şekil 4.6. (A) GCE, (B) GR/GCE, (C) AuNP/GR/GCE, (D) PSer/AuNP/GR/GCE'lerin Nyquist eğrileri (0,1 M KCl ve 5,0 mM $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}/\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$ içeren redoks probu çözeltisi)

4.1.2.3. Sensörün taramalı elektron mikroskobu çalışmaları

Elektrot modifikasyonunun her basamağında kullanılan malzemelerin elektrodun yüzey morfolojisine etkisini belirlemek için SEM tekniğinden yararlanıldı. Resim 4.1'de (A) SPE, (B) GR/SPE, (C) AuNP/GR/SPE ve (D) PSer/AuNP/GR/SPE ile elde edilen SEM görüntüleri verildi. Ölçümlerde karbon yüzey olarak GCE yerine SPE kullanıldı.



Resim 4.1. (A) SPE, (B) GR/SPE, (C) AuNP/GR/SPE (10 000 $\times$), (D) PSer/AuNP/GR/SPE, (E) AuNP/GR/SPE (25 000 $\times$) ile elde edilen SEM görüntüleri

SEM görüntüleri incelendiğinde grafenin SPE yüzeyini homojen bir şekilde kapladığı ve modifiye edilmemiş SPE'nin yüzey morfolojisinde azda olsa değişiklik yaptığı gözlemlendi (Görsel 4.1B). GR/SPE yüzeyine altın nanopartikül biriktirilmesi sonucu elde edilen elektrodun SEM görüntüsü altınların elektrot yüzeyinde düzenli bir şekilde dağıldığını ve nanopartikül biriktirme işleminin başarıyla tamamlandığını gösterdi (Görsel 4.1C). Poli(L-Serin) kaplanan elektrodun yüzey morfolojisinin ise, önemli ölçüde değiştiği gözlemlendi (Görsel 4.1D). Altın nanopartikül ve grafen modifiye elektrodun farklı büyütmede (25 000×) alınan SEM görüntüsü altın nanoparçacıkların elektrot yüzeyinde düzgün bir şekilde yayıldığını kanıtladı (Görsel 4.1E).

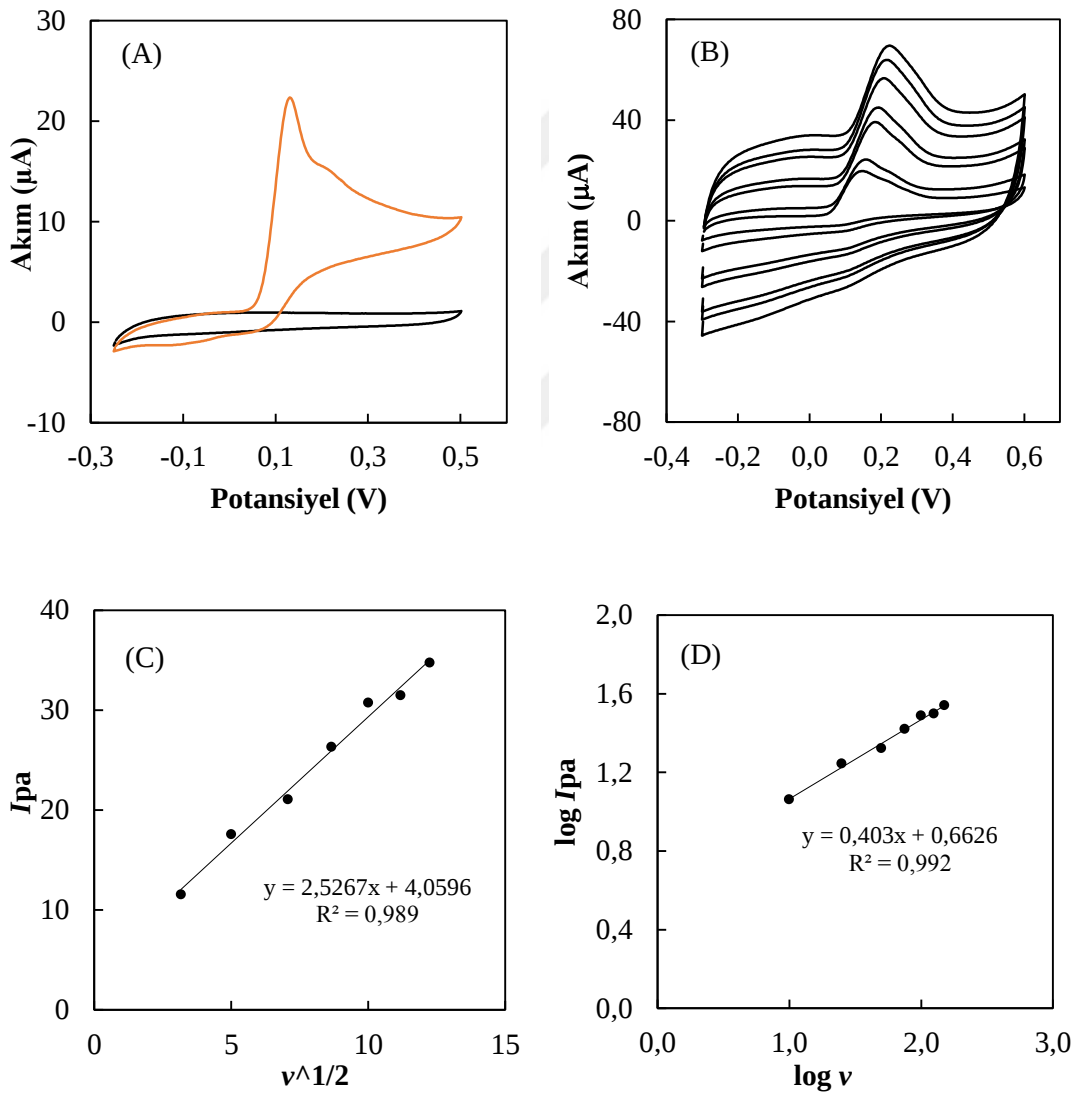
4.1.3. Propil Gallatın Elektrokimyasal Yükseltgenme Mekanizması

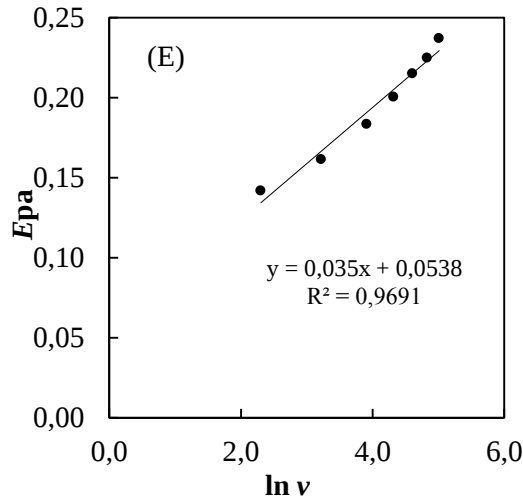
Sensör yüzeyinde propil gallatın elektrokimyasal yükseltgenme mekanizmasını aydınlatabilmek için hazırlanan modifiye elektrotun 0,05 M pH 7,5 fosfat tamponunda dönüşümlü voltametri yöntemi ile propil gallat varlığında ve yokluğunda kaydedilen elektrokimyasal cevabı incelendi ve ilgili dönüşümlü voltamogram Şekil 4.7A'da verildi. Sensör yüzeyinde propil gallatın yükseltgenme piki yaklaşık +0,15 V'da elde edildi. Tarama hızının propil gallatın yükseltgenmesi üzerindeki etkisi $3,8 \times 10^{-5}$ M propil gallat içeren pH 7,5 fosfat tamponunda dönüşümlü voltametri yöntemi kullanılarak 10-150 mV/s arasında değişen farklı tarama hızlarında incelendi. Kaydedilen voltamogramlar Şekil 4.7B de verildi. Propil gallata ait yükseltgenme pik akımlarının tarama hızının karekökü ile doğrusal olarak değiştiği gözlemlendi ve ilgili grafik Şekil 4.7C'de verildi. Yükseltgenme pik akımının logaritması ve tarama hızının logaritması arasındaki ilişki ise $\log I_{pa} = 0,403 \log v + 0,6626$ ($R^2 = 0,992$) eşitliği ile ifade edildi (Şekil 4.7D). Yükseltgenme pik akımının logaritması ve tarama hızının logaritması grafiğe geçirildiğinde elde edilen eğrinin eğimi teorik değer olan 0,5'e yakın bulundu. Tüm bu sonuçlar propil gallatın PSer/AuNP/GR/GCE yüzeyinde elektrokimyasal yükseltgenmesinin difüzyon kontrollü olduğunu gösterdi (Chu vd., 2022: 1-10; Cyriac vd., 2016: B683-B688; Massah vd., 2021: 1-8).

Yükseltgenme pik potansiyeli (E_{pa}) ve tarama hızının ln değeri arasındaki ilişki şu şekilde ifade edilebilir: $E_{pa} = 0,0350 + 0,0538 \ln v$ ($R^2 = 0,9691$). Pik potansiyelinin ln v ile ilişkisi Laviron eşitliği ile verilir (Laviron, 1974: 395-402).

$$E_p = E^0 + \frac{RT}{\alpha nF} \left(\ln \frac{RTk_s}{\alpha nF} - \ln v \right)$$

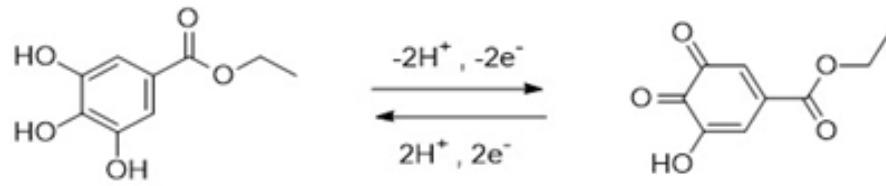
Çalışmamızda pik potansiyelinin $\ln$ tarama hızıyla doğrusal bir şekilde değiştiği görüldü. Bu eğrinin eğimi $RT/\alpha nF$ 'ye eşittir. Burada yük transfer değerini ifade eden α 0,5 olarak kabul edildi. n ise yükseltgenme reaksiyonunda yer alan elektronların sayısıdır. Laviron eşitliğini ve Şekil 4.7E'de verilen eğrinin eğimini kullanarak n değeri yaklaşık 2 olarak hesaplandı. Bu sonuçlardan propil gallatın yükseltgenmesinin 2 elektronlu bir elektrot reaksiyonu olduğu sonucuna varıldı.





Şekil 4.7. (A) PSer/AuNP/GR/GCE'un $1,0 \times 10^{-3}$ M propil gallat varlığında ve yokluğunda dönüşümlü voltamogramları (0,05 M pH 7,5 fosfat tamponu), (B) PSer/AuNP/GR/GCE'un 10–150 mV/s arasında değişen çeşitli tarama hızlarında dönüşümlü voltamogramları ($3,8 \times 10^{-5}$ M propil gallat içeren 0,05 M pH 7,5 fosfat tamponu), (C) tarama hızı (v) – anodik pik akımı (I_{pa}) grafiği, (D) $\log I_{pa} - \log v$ ve (E) $E_{pa} - \ln v$ grafiği

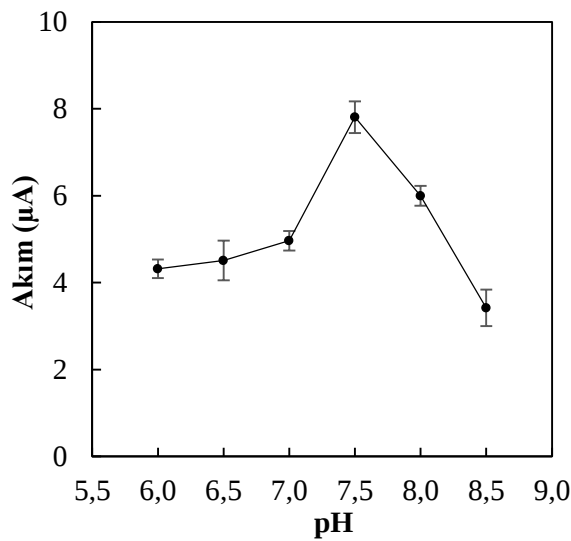
Propil gallatın yükseltgenmesinde protonların rolünü belirlemek için yükseltgenme potansiyelinin pH ile değişimi 6,0 – 8,5 aralığında incelendi. pH değeri arttıkça pik potansiyelinin negatif yöne doğru kaydığı gözlemlendi. Bu sonuç elektrot reaksiyonunda protonların yer aldığını gösterdi (Yin vd., 2021: 1-7). Yükseltgenme pik potansiyeli ve pH arasındaki doğrusal ilişki $E_{pa} = -0,065 \text{ pH} + 0,667$ ($R^2 = 0,998$) eşitliği ile verildi. Eğrinin eğiminin teorik değer olan 59 mV/pH'ya yakın olması propil gallatın yükseltgenmesinin 2 elektron ve 2 proton içerdiğini gösterdi. Bu bilgiler ışığında propil gallatın PSer/AuNP/GR/GCE yüzeyinde ilgili kinona yükseltgenme mekanizması Şekil 4.8'de verildi. Literatür incelendiğinde propil gallat için farklı elektrotların yüzeyinde benzer yükseltgenme mekanizmaları rapor edildiği görüldü (Chen vd., 2018: 1-9; Yin vd., 2021: 1-7; Sivasankaran ve Kumar, 2019: B92-B94).



Şekil 4.8. Propil gallatın PSer/AuNP/GR/GCE yüzeyindeki elektrokimyasal yükseltgenme mekanizması

4.1.4. Sensörün pH Optimizasyonu

Propil gallat sensörünün hazırlanması için elektrot modifikasyonunda kullanılan malzemelerin miktar optimizasyonu yapıldıktan sonra optimum çalışma pH'sını belirlemek amacıyla sensörün Bölüm 3.4.5.1'de açıklandığı gibi $3,8 \times 10^{-5}$ M propil gallat varlığında pH'sı 6,0–8,5 arasında değişen 0,05 M fosfat tamponlarında voltametrik cevap akımları incelendi ve ilgili pH–akım grafiği Şekil 4.9'da verildi. Şekil incelendiğinde akımın pH 6,0'dan pH 7,5'e kadar arttığı ancak pH 7,5'dan sonra düştüğü belirlendi. En yüksek cevap akımının elde edildiği pH 7,5 PSer/AuNP/GR/GCE için optimum çalışma pH'sı olarak seçildi. Literatürde propil gallat tayini için geliştirilmiş elektrokimyasal sensörler incelendiğinde pH 8,0 (Yin vd., 2021: 4; Sivasankaran ve Kumar, 2019: B92-B94) pH 7,0 (Chen vd., 2018: 1-9; Priscilla ve Wang, 2022: 5; Cyriac vd., 2016: B683-B688) pH 3,0 (Ma vd., 2022: 1-6) gibi farklı pH'ların da optimum olarak seçildiği görüldü.



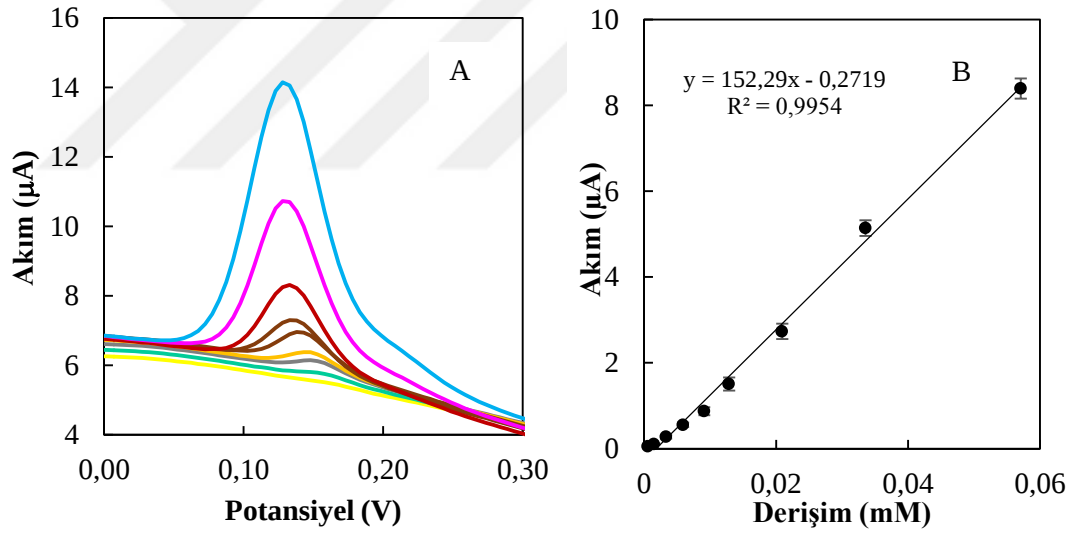
Şekil 4.9. Tampon pH'sının PSer/AuNP/GR/GCE'nin voltametrik cevabına etkisi ($3,8 \times 10^{-5}$ M propil gallat içeren 0,05 M fosfat tamponu)

4.1.5. Sensörün Analitik Performans Faktörleri

PSer/AuNP/GR/GCE'nin yüzey bileşimi ve çalışma pH'sı optimize edildikten sonra analitik performans faktörleri araştırıldı ve ilgili çalışmalar aşağıda sunuldu.

4.1.5.1. Doğrusal çalışma aralığı ve duyarlılık

Sensörün propil gallata duyarlılığını ve doğrusal çalışma aralığını belirlemek amacıyla PSer/AuNP/GR/GCE'nin farklı derişimlerdeki propil gallat eklemelerine cevabı DPV yöntemi kullanılarak 0,05 M pH 7,5 fosfat tamponunda incelendi. Kaydedilen diferansiyel puls voltamogramları Şekil 4.10A'da verildi. Propil gallat eklemeleri sonucu oluşan cevap akımlarının derişime karşı grafiğe alınması ile kalibrasyon eğrisi oluşturuldu (Şekil 4.10B). Bu kalibrasyon grafiğinden yararlanılarak sensörün doğrusal çalışma aralığı $6,1 \times 10^{-7} - 5,7 \times 10^{-5}$ M, duyarlılığı ise $152,29 \mu\text{A mM}^{-1}$ olarak bulundu.



Şekil 4.10. (A) PSer/AuNP/GR/GCE'ye art arda propil gallat eklenmesi ile elde edilen akım potansiyel grafiği, (B) PSer/AuNP/GR/GCE'nin propil gallat için kalibrasyon grafiği (pH 7,5 0,05 M fosfat tamponu)

Geliştirilen sensör için elde edilen çalışma aralığı literatürde propil gallat için geliştirilen sensörlerin çalışma aralığıyla karşılaştırıldığında karbon nanofiber ve stronsiyum alüminat nanopartikül ile modifiye edilmiş sensörün ($1,0 \times 10^{-7} - 1,1 \times 10^{-3}$ M) (Priscilla ve Wang, 2022: 1-8) ve kobalt diselenid nanopartikül, indirgenmiş grafen oksit ile modifiye edilmiş sensörün ($7,5 \times 10^{-8} - 1,1 \times 10^{-4}$ M) (Chen vd., 2018: 1-

9) geliştirmiş olduğumuz sensöre göre daha geniş bir çalışma aralığına sahip olduğu belirlendi. Geliştirmiş olduğumuz sensör çok duvarlı karbon nanotüple modifiye edilmiş altın elektrotla karşılaştırıldığında ise ($1,0 \times 10^{-5}$ – $1,0 \times 10^{-4}$ M) (Vikraman vd., 2013: 775-780) daha geniş çalışma aralığına sahiptir. Shi ve grubunun geliştirmiş oldukları grafen oksit ve β -siklodekstrin kompozit modifiye sensörün ($1,0 \times 10^{-7}$ – $3,0 \times 10^{-5}$ M) (Shi vd., 2018: 2467-2474) alışma aralığının ise geliştirdiğimiz sensörün çalışma aralığına yakın olduğu görüldü.

4.1.5.2. Gözlenebilme sınırı ve alt tayin sınırı

Çalışmada geliştirilen propil gallat sensörünün gözlenebilme sınırı ve alt tayin sınırı değerlerini belirleyebilmek için Bölüm 3.4.6.2’de açıklandığı gibi kalibrasyon grafiğinden elde edilen sonuçlar doğrultusunda sensörün, grafikte bulunan en düşük noktadaki derişim olan $6,1 \times 10^{-7}$ M propil gallata verdiği voltametrik cevap akımlarından yararlanıldı. PSer/AuNP/GR/GCE sensörünün propil gallata verdiği voltametrik cevapların standart sapma (s) değeri ve kalibrasyon grafiğinden bulunan eğim (m) kullanılarak sensörün gözlenebilme sınırı $1,05 \times 10^{-7}$ alt tayin sınırı ise $3,2 \times 10^{-7}$ olarak hesaplandı. Geliştirilen sensör için gözlenebilme sınırı literatürde propil gallat için geliştirilen diğer sensörlerin gözlenebilme sınırı ile karşılaştırıldığında Yin ve grubunun geliştirdiği ayrı ayrı antrakınon ve çok duvarlı karbon nanotüp içeren sensörlerin ($6,7 \times 10^{-7}$ M ve $7,6 \times 10^{-7}$ M) (Yin vd., 2021: 1-7) gözlenebilme sınırı geliştirdiğimiz sensöre göre daha yüksek iken γ -aminobutirik asit ve altın ile modifiye edilmiş sensör ($1,0 \times 10^{-9}$ M) (Ma vd., 2022: 1-6) ile kobalt diselenid nanopartikül ve indirgenmiş grafen oksit modifiye sensör ($1,6 \times 10^{-8}$ M) (Chen vd., 2018: 1-9) geliştirmiş olduğumuz sensöre göre daha düşük gözlenebilme sınırına sahiptir.

4.1.5.3. Tekrar kullanılabilirlik ve tekrar üretilebilirlik

PSer/AuNP/GR/GCE sensörünün tekrar kullanılabilirliği belirlemek için Bölüm 3.4.6.3’de anlatıldığı gibi aynı sensör ile aynı gün içerisinde beş kez kalibrasyon eğrisi çizildi. Kalibrasyon grafiğinden elde edilen beş farklı duyarlılığın BSS değeri %4,1 olarak hesaplandı. Bulunan bu BSS değeri aynı gün aynı elektrotla yapılan ölçümlerin hem birbirine yakın olduğunu hem de sensörün tekrar kullanılabilirliğinin yüksek olduğunu gösterdi. Geliştirilen sensörün tekrar üretilebilirliğini inceleyebilmek için aynı yöntem kullanılarak beş farklı PSer/AuNP/GR/GCE

hazırlandı. Her modifiye elektrot ile propil gallat için kalibrasyon grafiği çizildi ve çizilen kalibrasyon grafiklerinden elde edilen beş farklı duyarlılığın BSS'si %4,9 olarak hesaplandı. Bulunan sonuca göre geliştirilen sensörün tekrar üretilebilirliğinin iyi olduğu değerlendirildi.

4.1.5.4. Kararlılık

PSer/AuNP/GR/GCE'nin kararlılığını belirlemek için sensörün $3,8 \times 10^{-5}$ M sabit derişimde propil gallata cevabı art arda 50 defa ölçüldü. Ölçüm sonuçlarının BSS değeri hesaplandı ve sensörün 50 ölçüm sonucunda başlangıç cevabının %95'ini koruduğu görüldü. Bu sonuç sensörün yüksek kararlılığa sahip olduğunu ve cevapta önemli bir kayıp olmadan defalarca kullanılabileceğini gösterdi.

4.1.5.5. Girişim yapan türlerin etkisi

Hazırlanan sensörün gıda numunelerinde propil gallat analizinde kullanılması planlandığından sensörün bu tür numunelerde bulunan diğer bileşiklere karşı cevabı Bölüm 3.4.6.5'de anlatıldığı gibi incelendi. Bu amaçla, TBHQ, BHA, BHT, askorbik asit, ürik asit, glukoz, sitrik asit, potasyum klorür ve sodyum sülfatın sensörün voltametrik cevabı üzerine etkisi araştırıldı. PSer/AuNP/GR/GCE'nin $5,7 \times 10^{-6}$ M propil gallata ve aynı derişimdeki girişim yapabilecek türlere karşı cevabı DPV yöntemi ile incelendi ve elde edilen cevap akımlarından yararlanılarak %girişim değerleri Bölüm 3.4.7.5'de verilen formül yardımıyla hesaplandı. Çalışma sonucu elde edilen yüzde girişim değerleri Tablo 4.1'de verildi.

Tablo incelendiğinde araştırılan türlerden askorbik asit, ürik asit, glukoz, sitrik asit, sodyum sülfat ve potasyum klorürün PSer/AuNP/GR/GCE'nin propil gallata voltametrik cevabı üzerinde önemli bir girişim etkisinin olmadığı (<%5) bulundu. TBHQ ise sadece %6'lık bir girişim etkisi gösterdi. BHA ve BHT'nin ise sensörün propil gallat cevabına sırasıyla %28,9 ve %25,1 etkisi olduğu gözlemlendi. Bu iki türün gösterdiği girişim etkisinin daha yüksek olmasının türlerin yükseltgenme potansiyellerinin yakın olmasından kaynaklandığı düşünüldü. Bu girişim etkisinin giderilmesi için gerçek numune analizinde standart ekleme yöntemi kullanıldı.

Türler	Girişim, %
TBHQ	-6,0
BHA	-28,9
BHT	-25,1
Askorbik asit	2,4
Ürik asit	-3,8
Glukoz	-4,2
Sitrik asit	2,0
Sodyum sülfat	0,7
Potasyum klorür	-0,6

Tablo 4.1. PSer/AuNP/GR/GCE'nin voltametrik cevabına bazı türlerin etkisi

4.1.6. Sensör ile Gerçek Numune Analizi

Tezde geliştirilen sensörün gerçek numunelerde propil gallat tayininde kullanılabilirliğini araştırmak için zeytinyağı numunesi kullanıldı. Bölüm 3.4.7'de anlatıldığı gibi hazırlanan zeytinyağı numunelerinde standart ekleme yöntemi kullanılarak ilk olarak propil gallat olmadığı tespit edildi ve numunelere standart propil gallat çözeltisinden katkılama (spike) yapılarak elde edilen numunelerde geri kazanım çalışması yapıldı. Bulunan sonuçlar Tablo 4.2'de verildi. Tablo incelendiğinde zeytinyağı numunesinde üç farklı derişimdeki propil gallat için %100,36–%101,77 arasında değişen geri kazanımlar elde edildi. Bulunan geri kazanımlar doğrultusunda geliştirilen sensör ile zeytinyağı numunesinde propil gallat tayininin başarılı bir şekilde yapılabileceği düşünüldü.

Eklenen propil gallat, µg/L	Bulunan propil gallat, µg/L	Geri kazanım, %±SS
208,0	211,72±4,02	101,77±1,93
310,5	311,65±10,15	100,36±3,27
412,0	414,11±10,45	100,50±2,54

Tablo 4.2. PSer/AuNP/GR/GCE ile zeytinyağında propil gallat için geri kazanımlar

SS: üç ölçüm sonucunun standart sapması

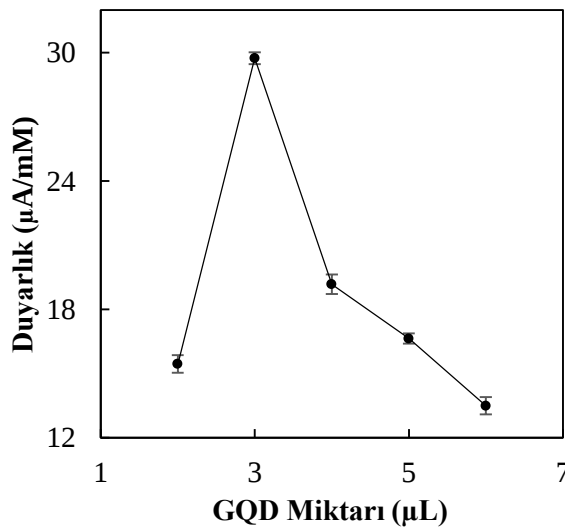
4.2. Propil Gallat Tayini İçin Geliştirilen Biyosensör

4.2.1. Propil Gallat Tayini İçin Geliştirilen Biyosensörün Yüzey Optimizasyonu

Tyr/PdNP/PArj/GQD/SPE biyosensörü ile en iyi performansı elde edebilmek için modifikasyonda kullanılan grafen kuantum nokta, paladyum nanopartikül, poli(L-Arjinin) ve tirozinaz enziminin miktarları tek seferde tek değişken yöntemi ile optimize edildi. Bu kapsamda yapılan çalışmalar ve bulunan sonuçlar aşağıda verildi.

4.2.1.1. Grafen kuantum nokta miktarı optimizasyonu

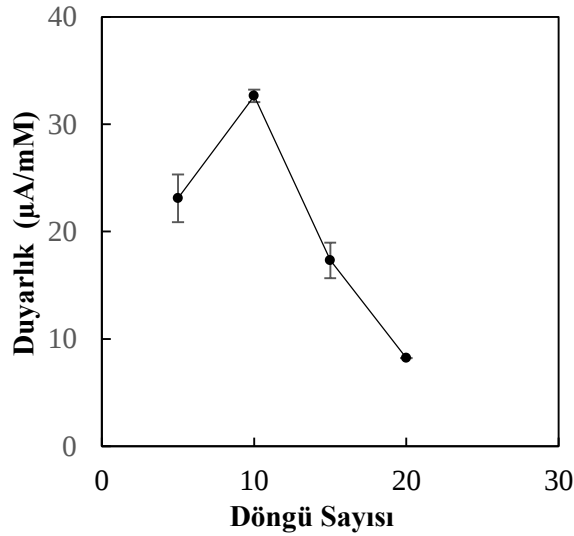
Grafen kuantum nokta miktarını optimize etmek için Bölüm 3.5.2.1’de açıklandığı gibi SPE’nin çalışma elektrotu yüzeyine 2,0; 3,0; 4,0; 5,0 ve 6,0 μL olmak üzere beş farklı miktarda grafen kuantum nokta modifiye edildi. Daha sonra elektroda poli(L-Arjinin), paladyum nanopartikül ve tirozinaz enziminin modifiye edilmesiyle hazırlanan Tyr/PdNP/PArj/GQD/SPE’nin propil gallata amperometrik cevabı incelendi ve sonuçlar Şekil 4.11’de verildi. Grafen kuantum nokta miktarının artmasıyla duyarlılığın arttığı, en yüksek duyarlılığın 3 μL grafen kuantum nokta ile hazırlanan biyosensörle elde edildiği ve 3 μL ’den sonra duyarlılığın azaldığı görüldü. Sonuç olarak en yüksek biyosensör cevabının elde edildiği 3 μL optimum grafen kuantum nokta miktarı olarak seçildi. Literatürde de elektrot yüzeyine damlatılan grafen kuantum nokta miktarının artmasıyla duyarlılığın bir noktaya kadar arttığı ancak sonra düştüğü rapor edilmiştir (Mollarasouli vd., 2018: 28-34).



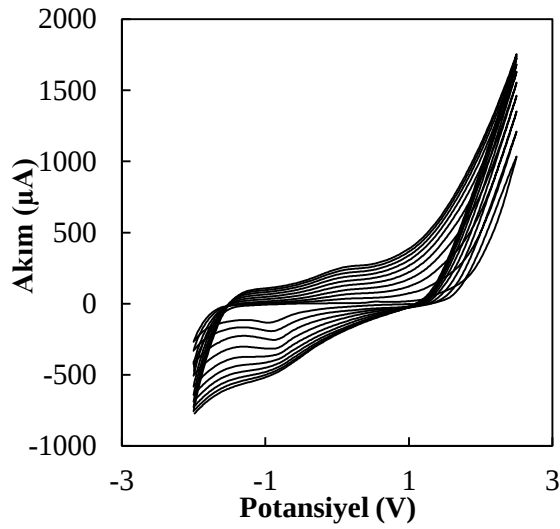
Şekil 4.11. Grafen kuantum nokta miktarının Tyr/PdNP/PArj/GQD/SPE’nin amperometrik cevabına etkisi (0,05 M pH 7,5 fosfat tamponu, -0,25 V)

4.2.1.2. Poli(L-Arjinin) modifikasyonunda kullanılan döngü sayısının optimizasyonu

Biyosensörde grafen kuantum nokta ile modifiye edilmiş SPE yüzeyine poli(amino asit) olarak seçilen poli(L-Arjinin) modifiye edildi. Poli(amino asit)'in elektrot yüzeyinde oluşturulması için kullanılacak döngü sayısının biyosensörün analitik cevabı üzerine etkisini belirlemek amacıyla GQD/SPE yüzeyine Bölüm 3.5.1.2'de açıklandığı gibi 5, 10, 15 ve 20 döngü ile poli(L-Arjinin) kaplandı. Ardından yüzeye nanopartikül ve enzim modifiye edilip Tyr/PdNP/PArj/GQD/SPE hazırlandı. Hazırlanan biyosensörlerin propil gallata amperometrik cevabı belirlendi ve sonuçlar Şekil 4.12'de gösterildi. Şekil incelendiğinde döngü sayısının artmasıyla biyosensörün duyarlılığının arttığı, 10 döngü ile hazırlanan biyosensör ile en yüksek duyarlılığın elde edildiği, daha yüksek döngü sayılarında hazırlanan biyosensörde ise, duyarlılığın azaldığı gözlemlendi. Literatürde döngü sayısının artmasıyla elektrodun yüzeyinde kalın bir polimer tabakası oluşup elektrokatalitik özelliği azalttığı kaydedilmiştir (Salajegheh vd., 2019: 215-224). Duyarlıkta gözlenen düşüşün sebebinin bu olabileceği düşünüldü. Çalışmada optimum döngü sayısı 10 olarak belirlendi ve bu döngü sayısında kaydedilen dönüşümlü voltamogram Şekil 4.13'de verildi.



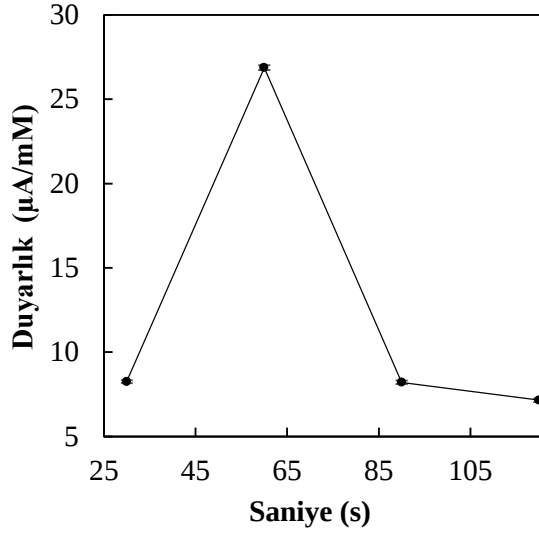
Şekil 4.12. Poli(L-Arjinin) oluşturulmasında kullanılan döngü sayısının Tyr/PdNP/PArj/GQD/SPE'nin amperometrik cevabına etkisi (0,05 M pH 7,5 fosfat tamponu, -0,25 V)



Şekil 4.13. GQD/SPE'nin poli(L-Arjinin) ile kaplanması için alınan dönüşümlü voltamogram (2,0 mM L-Arjinin içeren 0,05 M pH 7,0 fosfat tamponu, 100 mV/s tarama hızı, 10 döngü)

4.2.1.3. Paladyum nanopartikül biriktirme süresinin optimizasyonu

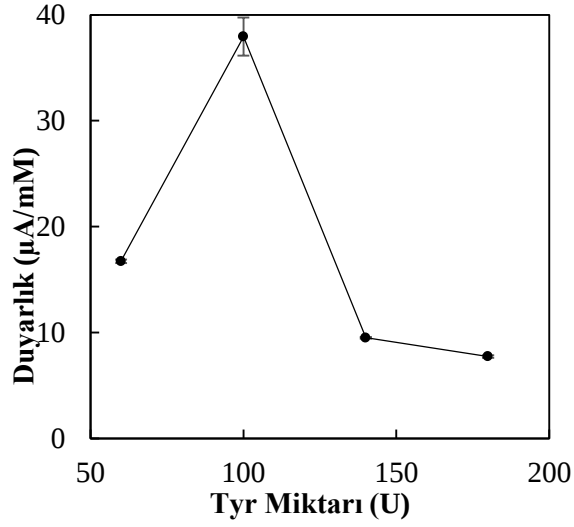
SPE'nin modifikasyonunda kullanılan paladyum nanopartikülün biriktirme süresinin optimize edilebilmesi için PARj/GQD/SPE'lerin yüzeyine 30, 60, 90 ve 120 saniye süreyle Bölüm 3.5.1.3'de açıklandığı gibi paladyum nanopartikül biriktirildi. Modifiye edilmiş SPE yüzeyine tirozinaz enziminin immobilize edilmesiyle hazırlanan biyosensörlerin propil gallata amperometrik cevabı ölçüldü. Farklı paladyum biriktirme sürelerinde hazırlanan biyosensörlerle propil gallat için elde edilen duyarlıklar Şekil 4.14'de verildi. Şekil analiz edildiğinde, en yüksek propil gallat cevabının 60 saniye paladyum nanopartikül biriktirilen biyosensör ile elde edildiği gözlemlendi ve bu süre optimum paladyum nanopartikül biriktirme süresi olarak belirlendi. Biriktirme süresinin artmasıyla duyarlılığın azalmasının literatür verileri ile uyumlu şekilde elektrodun yüzey alanındaki azalmadan kaynaklanabileceği düşünüldü (Mukdasai vd., 2015: 280-288).



Şekil 4.14. Paladyum nanopartikül biriktirme süresinin Tyr/PdNP/PArj/GQD/SPE'nin amperometrik cevabına etkisi (0,05 M pH 7,5 fosfat tamponu, -0,25 V)

4.2.1.4. Enzim miktarı optimizasyonu

Çalışmada biyosensörün hazırlanması için elektrot yüzeyine immobilize edilecek enzim miktarının optimizasyonu Bölüm 3.5.1.4'de belirtildiği gibi gerçekleştirildi. Bu amaçla, aynı şekilde hazırlanan dört adet PdNP/PArj/GQD/SPE yüzeyine 60 U, 100 U, 140 U ve 180 U tirozinaz immobilize edildi. Bu biyosensörlerin propil gallata amperometrik cevabı ölçüldü ve elde edilen duyarlıklar enzim ünitesine karşı grafiğe geçirildi. Şekil 4.15'de her bir enzim ünitesinde bulunan duyarlıklar gösterildi. Elde edilen bu grafikten Tyr/PdNP/PArj/GQD/SPE'nin yüzeyinde bulunan enzim miktarının artmasıyla duyarlılığın 100 U'ye kadar arttığı ancak yüzeydeki tirozinaz enzimi miktarı 100 U'den büyük olduğunda duyarlılığın azaldığı gözlemlendi. Sonuç olarak, geliştirilen biyosensörde optimum enzim miktarı 100 U olarak belirlendi. Duyarlıktaki azalmanın elektrot üzerindeki enzim miktarı arttıkça substratın elektrot yüzeyine difüzyonunun zorlaşmasından kaynaklanabileceği düşünüldü (Wang vd., 2018: 174-182).

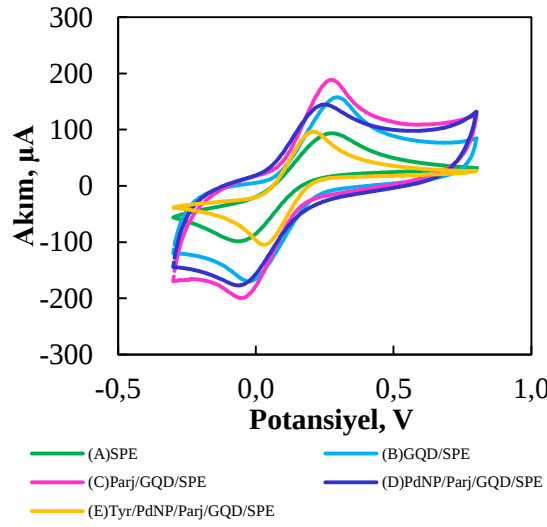


Şekil 4.15. Enzim miktarının Tyr/PdNP/PArj/GQD/SPE'nin amperometrik cevabına etkisi (0,05 M pH 7,5 fosfat tamponu, -0,25 V)

4.2.2 Biyosensörün Elektrokimyasal Davranışlarının ve Yüzey Morfolojisinin Karakterizasyonu

4.2.2.1. Dönüşümlü voltametri çalışmaları

Biyosensör çalışmasında modifiye edilmiş elektrotların elektrokimyasal davranışları dönüşümlü voltametri ve elektrokimyasal empedans spektroskopisi yöntemleri kullanılarak incelendi. Optimum bileşimde hazırlanan SPE, GQD/SPE, PArj/GQD/SPE, PdNP/PArj/GQD/SPE ve Tyr/PdNP/PArj/GQD/SPE'lerin dönüşümlü voltamogramları 50 mV/s tarama hızında 0,1 M KCl ve 5,0 mM $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}/\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$ içeren redoks probu çözeltisi kullanılarak alındı ve sonuçlar Şekil 4.16'da verildi.

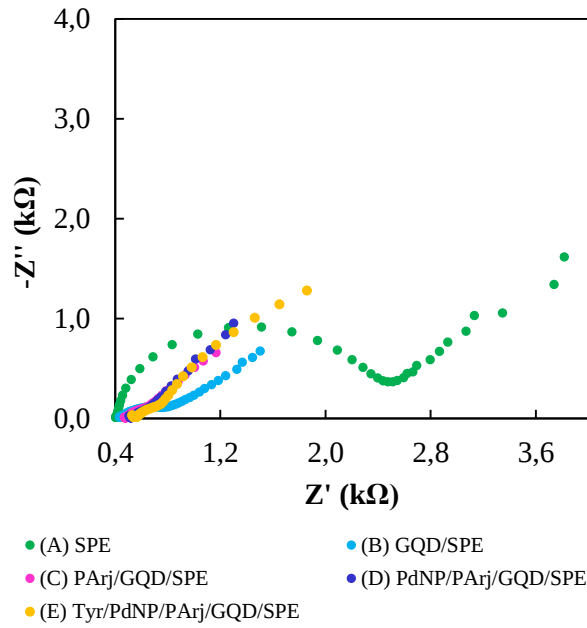


Şekil 4.16. (A) SPE, (B) GQD/SPE, (C) PARj/GQD/SPE, (D) PdNP/PARj/GQD/SPE ve (E) Tyr/PdNP/PARj/GQD/SPE'lerin dönüşümlü voltamogramları (0,1 M KCl ve 5,0 mM $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}/\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$ içeren redoks probu çözeltisi)

Şekil 4.16'da gösterilen dönüşümlü voltamogramlar incelendiğinde SPE'de $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}/\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$ çiftinin redoks davranışına karşılık gelen yükseltgenme indirgenme pikleri elde edildi. Modifiye edilmemiş SPE'ye göre grafen kuantum nokta modifiye edilmiş SPE'de daha yüksek pik akımları kaydedildi. Bu yüksek pik akımının modifikasyonda kullanılan grafen kuantum noktanın hem elektrodun yüzey alanını arttırmasından hem de elektron transferini hızlandırmasından kaynaklandığı düşünüldü (Hongxia vd., 2019: 1-8; Zahed vd., 2024: 1-6). GQD/SPE'nin üzerine poli(L-Arjinin) modifiye edildiğinde ise pik akımının daha da arttığı görüldü. Bu artışın poli(L-Arjinin) filmin literatürde de belirtildiği gibi elektrokimyasal aktiviteyi arttırmasından kaynaklandığı değerlendirildi (Li vd., 2022: 1-10; Bolat vd., 2023: 4). Dönüşümlü voltametri çalışmasında en yüksek pik akımları PdNP/PARj/GQD/SPE ile elde edildi. Bu artışın kullanılan modifikasyon malzemelerinin sinerjik etkisi ile elektron transfer kinetiklerinin artışından oluştuğu düşünüldü. Enzim immobilize edilmiş modifiye elektrotun pik akımlarında ise, PdNP/PARj/GQD/SPE ile elde edilen pik akımlarına göre düşüş gözlemlendi. Bu düşüş iletken olamayan tirozinaz enziminin başarılı bir şekilde elektrot yüzeyine immobilize edildiğini gösterdi (Dalkıran vd., 2019: 1324-1333).

4.2.2.2. Elektrokimyasal empedans spektroskopisi çalışmaları

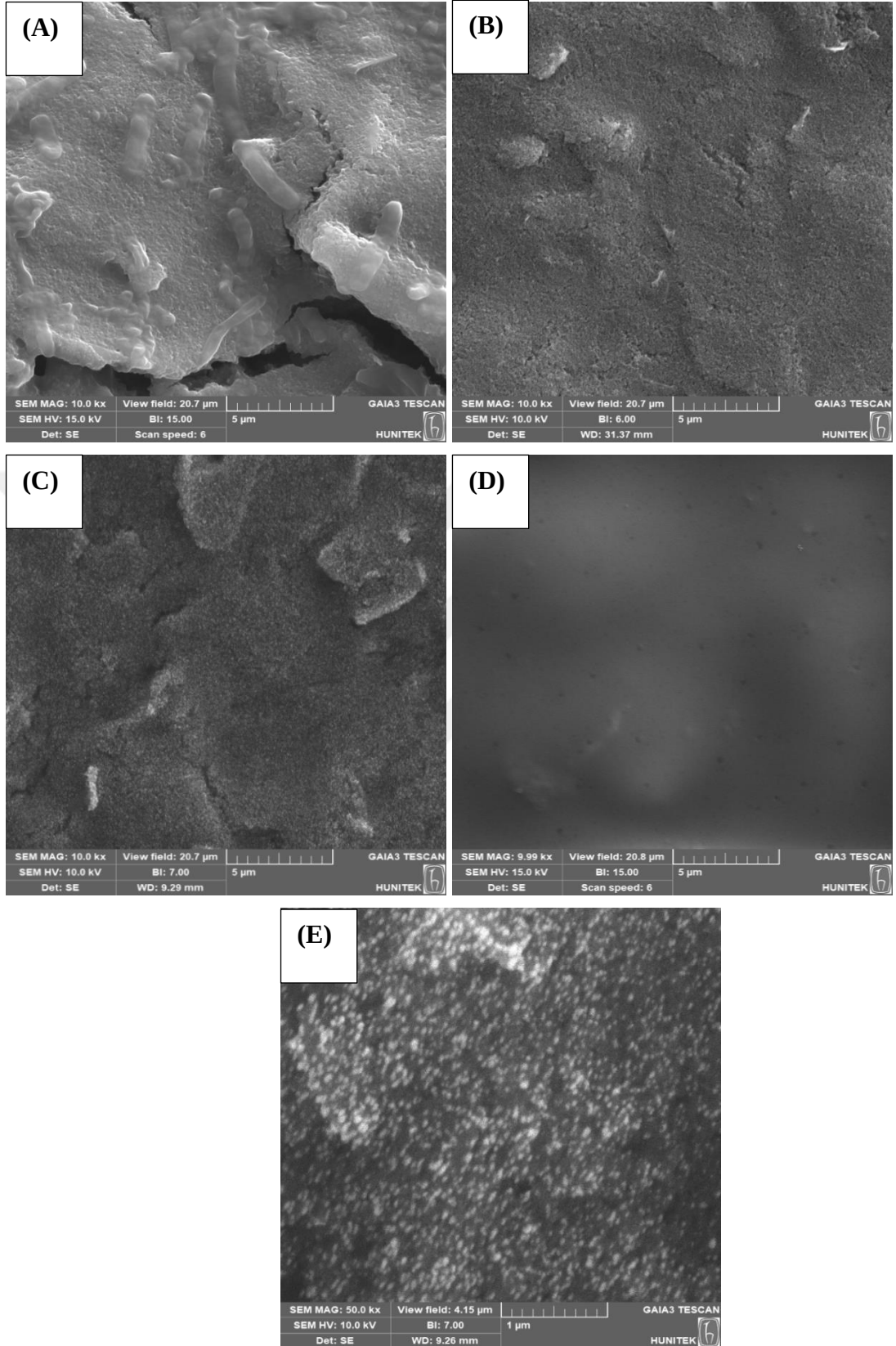
(A) SPE, (B) GQD/SPE, (C) PARj/GQD/SPE, (D) PdNP/PARj/GQD/SPE ve (E) Tyr/PdNP/PARj/GQD/SPE'lerin 0,1 M KCl ve 5,0 mM $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}/\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$ içeren redoks probu çözeltisinde kaydedilen elektrokimyasal empedans spektrumları Şekil 4.17'de verildi. Şekil analiz edildiğinde en yüksek yük transfer direncinin modifiye edilmemiş SPE ile elde edildiği görüldü. SPE yüzeyi grafen kuantum nokta ile modifiye edildiğinde yük transfer direncinin düştüğü gözlemlendi ve bunun sebebinin grafen kuantum noktaların elektron transferini kolaylaştırıcı etki yapması olduğu düşünüldü (Zahed vd., 2024: 1-8). GQD/SPE yüzeyine poli(L-Arjinin) kaplandıktan sonra yük transfer direncinin GQD/SPE ve modifiye edilmemiş SPE'ye göre çok daha düşük olduğu saptandı. Poli(L-Arjinin) modifikasyonu sonrası gözlenen düşüşün literatür verileri ile uyumlu bir şekilde poli(aminoasit)'in iletkenliğinden kaynaklandığı düşünüldü (Bolat vd., 2023: 4). Paladyum nanopartiküllerin PARj/GQD/SPE yüzeyine biriktirilmesi sonrası yük transfer direncinde küçük bir düşüş olduğu görüldü. Elde edilen veri literatürde paladyum nanopartikül varlığında yük transfer direncinde düşüş görülen çalışmalarla uyumludur (Mukdasai vd., 2015: 280-288). PdNP/PARj/GQD/SPE yüzeyine tirozinaz enzimi immobilize edildikten sonra yük transfer direncinde gözlenen artışın elektrik iletkenliği zayıf olan enzimlerin varlığında elektron transferinin azalmasından kaynaklandığı düşünüldü (Wang vd., 2018: 174-182).



Şekil 4.17. (A) SPE, (B) GQD/SPE, (C) PARj/GQD/SPE, (D) PdNP/PARj/GQD/SPE, (E) Tyr/PdNP/PARj/GQD/SPE'lerin Nyquist eğrileri (0,1 M KCl ve 5,0 mM $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}/\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$ içeren redoks probu çözeltisi)

4.2.2.3. Biyosensörün taramalı elektron mikroskobu çalışmaları

Biyosensör hazırlanmasında kullanılan modifikasyon malzemelerinin elektrot yüzey morfolojisine etkisi SEM yöntemi kullanılarak incelendi. Resim 4.2 (A) GQD/SPE, (B) PARj/GQD/SPE, (C) PdNP/PARj/GQD/SPE (10 000×), (D) Tyr/PdNP/PARj/GQD/SPE ve (E) PdNP/PARj/GQD/SPE (50 000×) yüzeylerinin SEM görüntülerini göstermektedir. GQD/SPE (Resim 4.2A) ve PARj/GQD/SPE'lerin (Resim 4.2B) SEM görüntüleri incelendiğinde poli(amino asit)'in yüzeyi homojen şekilde kapladığı gözlemlendi. PARj/GQD/SPE yüzeyine paladyum nanopartikül biriktirilmesi sonucu elde edilen elektrodun yüzey morfolojisinin önemli ölçüde değiştiği ve paladyum nanopartiküllerin yüzeye düzgün bir şekilde dağıldığı belirlendi (Resim 4.2C). PdNP/PARj/GQD/SPE'nin farklı büyütme ile (50 000×) elde edilen SEM görüntüsünde paladyum nanopartiküller daha net bir şekilde gözlemlendi (Resim 4.2E). Elektrot yüzeyine enzim modifiye edildiğinde ise morfolojide büyük bir değişiklik olduğu görüldü (Resim 4.2D). Bu sonuç tirozinaz enziminin elektrot yüzeyine immobilizasyonunun etkili bir şekilde yapıldığını gösterdi.



Resim 4.2. (A) GQD/SPE, (B) PARj/GQD/SPE, (C) PdNP/PARj/GQD/SPE (10 000 $\times$), (D) Tyr/PdNP/PARj/GQD/SPE ve (E) PdNP/PARj/GQD/SPE (50 000 $\times$) yüzeylerinin SEM görüntüleri

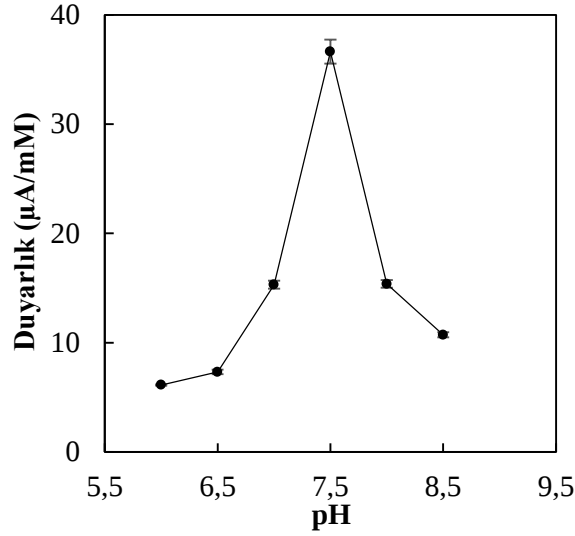
4.2.3. Biyosensörün Çalışma Koşullarının Optimizasyonu

Biyosensörün çalışma koşullarını optimize etmek için kullanılan fosfat tamponunun pH'sının ve çalışma potansiyelinin biyosensörün propil gallata amperometrik cevabı üzerine etkisi araştırıldı ve elde edilen sonuçlar aşağıda detaylı şekilde sunuldu.

4.2.3.1. pH'nın etkisi

Tampon pH'sı enzim aktivitesine etki eden en önemli parametrelerden birisidir. Enzimlerin aktivitesinde oluşabilecek düşüş ve artış enzimin yapısındaki bazik veya asidik grupların iyonizasyonundan veya deiyonizasyonundan meydana gelmektedir (Frankenberger ve Johanson, 1982: 433-437). Çalışmada hazırlanan Tyr/PdNP/PArj/SPE'nin optimum çalışma pH'sına karar vermek için Bölüm 3.5.4.1'de açıklandığı gibi pH'sı 6,0–8,5 arasında değişen 0,05 M fosfat tamponlarında biyosensörün propil gallata amperometrik cevap akımları incelendi ve elde edilen pH–duyarlık grafiği Şekil 4.18'de verildi. Şekil incelendiğinde duyarlığın pH 6,0'dan pH 7,5'a kadar arttığı ancak pH 7,5'dan sonra düştüğü belirlendi. En yüksek duyarlığın kaydedildiği pH 7,5 biyosensör için optimum çalışma pH'sı olarak seçildi. Literatürde serbest tirozinaz enzimi için optimum pH aralığının 5,0–8,0 olduğu belirtilmiştir (Ikehata ve Nicell, 2000: 191-199). Çalışmada elde edilen optimum pH, serbest tirozinaz için rapor edilen optimum pH aralığı ile uyumludur.

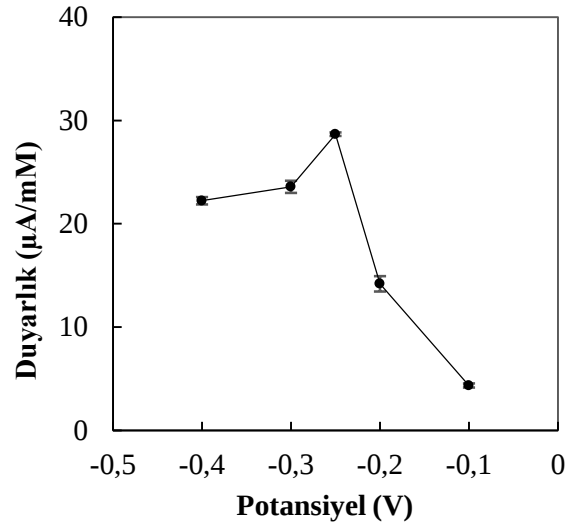
Literatürde propil gallat tayini için geliştirilmiş biyosensörler incelendiğinde fosfat tamponunda pH 6,5 (Morales vd., 2005b: 71-78), asetonitril-tris tamponunda pH 7,4 (Morales vd., 2005b: 71-78), BR tamponunda pH 2,0 (Wu vd., 2016: 89-96), fosfat tamponunda pH 7,4 (Morales vd., 2005a: 572-579) gibi pH'ların optimum seçildiği görüldü.



Şekil 4.18. Tampon pH'sının Tyr/PdNP/PArj/GQD/SPE'nin amperometrik cevabına etkisi (0,05 M fosfat tamponu, -0,25 V)

4.2.3.2. Çalışma potansiyelinin etkisi

Hazırlanan biyosensörün optimum çalışma potansiyelini belirleyebilmek için Bölüm 3.5.4.2'de anlatıldığı gibi biyosensörün (-0,1) V – (-0,4) V aralığında değişen farklı potansiyellerde propil gallata amperometrik cevabı incelendi ve elde edilen duyarlıklar potansiyele karşı grafiğe alındı (Şekil 4.19). Grafikten duyarlılığın -0,25 V'a kadar arttığı sonra düştüğü belirlendi. En yüksek duyarlılığın elde edildiği -0,25 V biyosensör için optimum çalışma potansiyeli olarak seçildi. Bu düşük çalışma potansiyeli özellikle gerçek numunelerde bulunabilecek ve ölçüm sonuçlarına etki edebilecek elektrokimyasal türlerin etkisinin en aza indirilmesi açısından büyük öneme sahiptir. Propil gallat biyosensörünün cevap mekanizması propil gallatın yükseltgenmesi sonucunda açığa çıkan o-kinonun -0,25 V'da indirgenmesine dayanmaktadır.



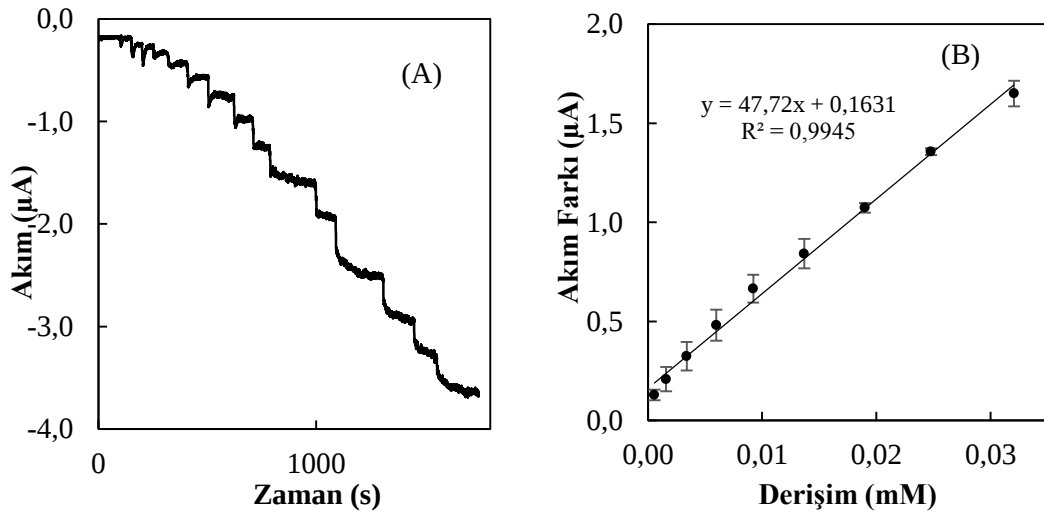
Şekil 4.19. Çalışma potansiyelinin Tyr/PdNP/PArj/GQD/SPE'nin amperometrik cevabına etkisi (0,05 M pH 7,5 fosfat tamponu)

4.2.4. Biyosensörün Performans Faktörleri

Biyosensörün yüzey bileşimi ve çalışma koşullarının optimize edilmesinin ardından analitik performans faktörleri araştırıldı ve ilgili çalışmalar aşağıda sunuldu.

4.2.4.1. Doğrusal çalışma aralığı ve duyarlık

Tyr/PdNP/PArj/GQD/SPE biyosensörünün propil gallata karşı duyarlılığını ve doğrusal çalışma aralığını belirlemek amacıyla biyosensörün optimum çalışma koşulları altında propil gallat çözeltisinden art arda yapılan eklemelere cevabı amperometri yöntemi kullanılarak ölçüldü. Elde edilen akım–zaman grafiği ve kalibrasyon eğrisi Şekil 4.20'de verildi. Kalibrasyon grafiğinden yararlanılarak Tyr/PdNP/PArj/GQD/SPE'nin doğrusal çalışma aralığı $5,7 \times 10^{-7} - 3,2 \times 10^{-5}$ M duyarlığı ise $47,72 \mu\text{A mM}^{-1}$ olarak bulundu. Geliştirilen biyosensörün çalışma aralığı literatürde propil gallat için geliştirilen biyosensörün çalışma aralığıyla karşılaştırıldığında tirozinaz enzimi immobilize edilmiş teflon grafit elektrodun ($2,0 \times 10^{-6} - 1,0 \times 10^{-4}$ M) (Morales vd., 2005b: 71-78) çalışma aralığına yakın olduğu belirlendi.



Şekil 4.20. (A) Tyr/PdNP/PArj/GQD/SPE'ye art arda propil gallat eklenmesi ile elde edilen akım zaman grafiği ve (B) Tyr/PdNP/PArj/GQD/SPE'nin propil gallat için kalibrasyon grafiği (pH 7,5 0,05 M fosfat tamponu, -0,25 V)

4.2.4.2. Gözlenebilme sınırı ve alt tayin sınırı

Çalışmada geliştirilen biyosensörün gözlenebilme sınırı ve alt tayin sınırı Bölüm 3.5.5.2'de açıklandığı gibi belirlendi. Biyosensörün LOD değeri $1,32 \times 10^{-7}$ M LOQ değeri ise $4,0 \times 10^{-7}$ M olarak hesaplandı. Hesaplanan LOD değeri literatürde propil gallat için geliştirilen biyosensörün LOD değeri ile karşılaştırıldığında tirozinaz enzimi immobilize edilmiş teflon grafit elektrodun gözlenebilme sınırının ($1,3 \times 10^{-6}$ M) (Morales vd., 2005a: 572-579) daha yüksek olduğu görüldü.

4.2.4.3. Tekrar kullanılabilirlik ve tekrar üretilebilirlik

Biyosensörünün tekrar kullanılabilirliği belirleyebilmek için Bölüm 3.5.5.3'de açıklandığı gibi aynı biyosensör ile aynı gün içerisinde beş kez kalibrasyon grafiği çizildi. Kalibrasyon grafiğinden elde edilen beş farklı duyarlılığın BSS değeri %3,0 olarak bulundu. Bulunan bu BSS değeri sensörün tekrar kullanılabilirliğinin yüksek olduğunu gösterdi.

Tyr/PdNP/PArj/GQD/SPE biyosensörünün tekrar üretilebilirliğini inceleyebilmek için beş farklı biyosensör hazırlandı. Her biyosensör ile propil gallat için kalibrasyon grafiği çizildi ve çizilen kalibrasyon grafiklerinden elde edilen beş farklı duyarlılığın BSS'si %1,3 bulundu. Bu sonuca göre geliştirilen biyosensörün tekrar üretilebilirliğinin çok yüksek olduğu değerlendirildi.

4.2.4.4. Uzun dönem kararlılığı

Tyr/PdNP/PArj/GQD/SPE'nin uzun dönem kararlılığı Bölüm 3.5.5.4.'de açıklandığı gibi incelendi. Biyosensörün 20 gün boyunca farklı günlerde sabit derişimdeki propil gallata cevabı ölçüldü ve 20 gün sonunda başlangıç cevabının %87'sini koruduğu belirlendi. 20 gün sonunda cevaptaki düşüşün enzimin zamanla aktivitesini kaybetmesinden kaynaklandığı düşünöldü.

4.2.4.5. Girişim yapan türlerin etkisi

Çalışmada biyosensörün cevabına TBHQ, BHA, BHT, askorbik asit, ürik asit, glukoz, sitrik asit, potasyum klorür ve sodyum sülfat türlerinin girişim etkisi Bölüm 3.5.5.5'de açıklandığı şekilde incelendi. Bu amaçla, Tyr/PdNP/PArj/GQD/SPE'nin $2,0 \times 10^{-6}$ M propil gallata amperometrik cevabı belirlendi ve ortama aynı derişimdeki girişim etkisi yapabilecek türler sırayla eklenerek amperometrik cevaba etkisi incelendi. Elde edilen yüzde girişim sonuçları Tablo 4.3'de verildi. Tablo incelendiğinde test edilen türlerin girişim etkisinin %10'dan daha düşük olduğu göröldü. Girişim etkisinin oldukça az olmasının çalışma potansiyelinin düşük olmasından kaynaklandığı değerlendirildi. Bu sonuçlardan çalışmada hazırlanan propil gallat biyosensörünün seçiciliğinin yüksek olduğu söylenebilir.

Türler	Girişim, %
TBHQ	8,5
BHA	1,4
BHT	4,2
Askorbik asit	7,0
Ürik asit	2,6
Glukoz	1,7
Sitrik asit	2,0
Sodyum sülfat	1,2
Potasyum klorür	0,4

Tablo 4.3. Tyr/PdNP/PArj/GQD/SPE'nin amperometrik cevabına bazı türlerin etkisi

4.2.5. Biyosensör ile Gerçek Numune Analizi

Biyosensörün gerçek numunede propil gallat tayininde kullanılabilirliğini incelemek için zeytinyağı numunesi kullanıldı. Yağ numunesi analize Bölüm 3.4.8’de anlatıldığı gibi hazırlandı. Standart ekleme yöntemi ile yağ numunesinde propil gallat olmadığı belirlendi. Numuneye standart propil gallat çözeltisinden katkılama yapıldı ve katkılanmış numunedeki propil gallat miktarı standart ekleme yöntemi ile belirlendi. Katkılanan ve bulunan propil gallat miktarının karşılaştırılmasıyla hesaplanan geri kazanımların %98,38–%102,95 aralığında olduğu görüldü (Tablo 4.4). Sonuçlar biyosensörün sıvı yağlarda propil gallatı tayin etmede kullanılabileceğini gösterdi.

Eklenen propil gallat, µg/L	Bulunan propil gallat, µg/L	Geri kazanım, %±SS
208,0	204,67±2,37	98,38±1,14
310,5	315,06±6,59	101,46±2,12
412,0	424,19±6,65	102,95±1,62

Tablo 4.4. Biyosensör ile zeytinyağında propil gallat için geri kazanımlar

SS: üç ölçüm sonucunun standart sapması



5. SONUÇ ve ÖNERİLER

Bu tez çalışmasında propil gallatın elektrokimyasal tayini için literatürde ilk defa poli(L-Serin), altın nanopartikül ve grafen ile modifiye edilmiş camsı karbon elektroda dayanan voltametrik bir sensör ve tirozinaz enzimi, paladyum nanopartikül, poli(L-Arjinin) ve grafen kuantum nokta ile modifiye edilmiş perde baskılı karbon elektroda dayanan amperometrik bir biyosensör geliştirildi.

Bu kapsamda çalışmada,

- Hem sensörün hem de biyosensörün geliştirilmesinde kullanılan modifikasyon maddelerinin miktarları tek seferde tek değişken yöntemi kullanılarak optimize edildi ve her iki yöntem için de optimum çalışma koşulları belirlendi.
- Sensör ve biyosensör hazırlama aşamasında kullanılan tüm elektrotların modifikasyon basamakları taramalı elektron mikroskopi, dönüşümlü voltametri ve elektrokimyasal empedans spektroskopisi yöntemleri kullanılarak aydınlatıldı ve her bir modifikasyon malzemesinin etkisi incelendi.
- Sensör ve biyosensörün analitik performans faktörleri belirlendi.
- Geliştirilen yöntemlerin sıvı yağlarda propil gallatı tayin etmek için kullanılabileceği gösterildi.
- Sensör geliştirmede kullanılan grafen, altın nanopartikül ve poli(L-Serin)'in birlikte kullanılmasının sensör cevabını artırıcı yönde etkisi olduğu belirlendi.
- Biyosensör geliştirmede birlikte kullanılan grafen kuantum nokta, poli(L-Arjinin) ve paladyum nanopartiküllerin biyosensörün performansının geliştirilmesine katkı sağladığını bulundu.

Geliştirilen sensör ve biyosensörün analitik performans faktörleri propil gallat için literatürde yer alan elektrokimyasal (biyo)sensörlerin performans faktörleri ile karşılaştırılarak Tablo 5.1.'de ve Tablo 5.2'de verildi. Tablo incelendiğinde PSer/AuNP/GR/GCE sensörü ve Tyr/PdNP/PArj/GQD/SPE biyosensörü ile propil gallat için tablodaki pek çok (biyo)sensöre göre yüksek duyarlık, geniş çalışma aralıkları, düşük gözlenebilirlik sınırları, yüksek tekrar üretilebilirlik ve tekrar kullanılabilirlik ve iyi bir kararlılık elde edildiği ve geliştirilen yöntemlerin propil gallat tayini için mevcut sensör ve biyosensörlere alternatif olabileceği değerlendirildi.

Sonuç olarak bu tez çalışmasında fenolik yapıda sentetik bir antioksidan olan propil gallatın doğru, pratik, düşük maliyetli ve hızlı elektrokimyasal tayini için voltametrik bir sensör ve amperometrik bir biyosensör başarılı bir şekilde geliştirildi ve geliştirilen sensör ve biyosensörün sıvı yağlarda propil gallat tayini için kullanılabileceği gösterildi. Geliştirilen voltametrik sensörün ve amperometrik biyosensörün literatüre katkısı yanında, gıda analizlerinde de yararlı olabileceği düşünülmektedir. Çalışmada literatürde sınırlı biyosensör uygulaması olan grafen kuantum noktaların elektrokimyasal biyosensör geliştirilmesi için kullanımı da incelenmiş olup elde edilen sonuçların literatüre katkı sağlayacağı düşünülmektedir. Grafen kuantum noktalar farklı analitlerin tayini için biyosensör geliştirilmesinde kullanılabilir. Ayrıca çalışma propil gallat tayini için geliştirilmiş amperometrik biyosensörün sınırlı sayıda enzim temelli propil gallat biyosensörüne yeni bir örnek olarak literatüre katkı sağlayacağı düşünülmektedir

Kullanılan Elektrot	Yöntem	Çalışma Potansiyeli, V	Çalışma Aralığı, M	Gözlenebilme Sınırı, M	Duyarlık, $\mu\text{A } \mu\text{M}^{-1}$	pH	Tekrarlanabilirlik, %BSS	Kararlılık/Raf Ömrü	Uygulama	Kaynaklar
AuNC ¹ / pGABA ² / GCE	CV	-	$6,0 \times 10^{-8}$ – $3,6 \times 10^{-6}$	$1,0 \times 10^{-9}$	$14,2 \mu\text{A } \mu\text{M}^{-1}$	3,0	2,1	%97 (20 gün sonunda)	Hazır erişte, bisküvi ve yağ	Ma vd., 2022: 1-6
CoSe ₂ @rGO/ SPE	DPV	-	$7,5 \times 10^{-8}$ – $4,6 \times 10^{-4}$	$1,6 \times 10^{-8}$	$12,84 (\mu\text{A } \mu\text{M}^{-1} \text{ cm}^{-2})$	7,0	3,29	%96,28 (15 gün sonunda)	Tavuk ve sığır eti	Chen vd., 2018: 1-9
SrAl ₂ O ₄ ³ /f-CNF ⁴ @GCE	Amperometri	0,2	$1,0 \times 10^{-7}$ – $1,1 \times 10^{-3}$	$7,5 \times 10^{-8}$	$1,142 (\mu\text{A } \mu\text{M}^{-1} \text{ cm}^{-2})$	7,0	1,75	30 gün	Kanola yağı, zeytinyağı, et	Priscilla ve Wang, 2022: 1-8
NiNPs/GCE	DPV	-	$2,0 \times 10^{-6}$ – $3,0 \times 10^{-4}$ $4,0 \times 10^{-4}$ – $1,0 \times 10^{-3}$	$5,85 \times 10^{-8}$	0,0064 (A/M) 0,0162 (A/M)	8,0	-	-	Hindistan cevizi yağı, ayçiçek yağı ve margarin	Sivasankaran ve Kumar, 2019: B92-B94
GO/NH ₂ - β -CD ⁵ /GCE	DPV	-	$1,0 \times 10^{-7}$ – $3,0 \times 10^{-5}$	$1,0 \times 10^{-8}$	$0,0508 \mu\text{A } \mu\text{M}^{-1}$	5,72	3,6	-	Fıstık yağı, mısır yağı, kolza tohumu yağı ve harman yağı	Shi vd., 2018: 2467-2474

¹ AuNC: Altın nanoküme

² pGABA: poli γ -amino bütirik asit

³ SrAl₂O₄: Stronsiyum alüminat nanopartikül

⁴ f-CNF: fonksiyonelleştirilmiş karbon nanofiber

⁵ NH₂- β -CD: Aminlenmiş β -siklodekstrin

Kullanılan Elektrot	Yöntem	Çalışma Potansiyeli, V	Çalışma Aralığı, M	Gözlenebilme Sınırı, M	Duyarlık, $\mu\text{A } \mu\text{M}^{-1}$	pH	Tekrarlanabilirlik, %BSS	Kararlılık/Raf Ömrü	Uygulama	Kaynaklar
MWCNT/GE	DPV	-	$1,0 \times 10^{-5} - 1,0 \times 10^{-4}$	$6,3 \times 10^{-7}$	-	7,0	2,96	-	Bitkisel yağ	Vikraman vd., 2012: 775-780
AuNP/poly(p-ABSA)/GCE	DPV	-	$1,0 \times 10^{-4} - 9,0 \times 10^{-6}$	$1,9 \times 10^{-7}$	$0,38 \mu\text{A } \mu\text{M}^{-1}$	7,0	1,1	7 gün	Hindistan cevizi ve ayçiçek yağı	Cyriac vd., 2016: B683-B688
MIP ⁶ /PTH ⁷ /MWCNT/GCE	DPV	-	$5,0 \times 10^{-8} - 1,0 \times 10^{-4}$	$2,4 \times 10^{-8}$	$0,4896 \mu\text{A } \mu\text{M}^{-1}$	5,0	2,3	-	Yağ ve kurabiye	Dai vd., 2016: 741-747
PSer/AuNP/GR/GCE	DPV	-	$6,1 \times 10^{-7} - 5,7 \times 10^{-5}$	$1,05 \times 10^{-7}$	$152,12 \mu\text{A } \text{mM}^{-1}$	7,5	4,1	-	Zeytinyağı	Bu çalışma

Tablo 5.1. Elektrokimyasal propil gallat tayini için geliştirilen sensörlerin performans faktörlerinin karşılaştırılması

⁶ MIP: Moleküler baskılı polimer

⁷ PTH: Poli(tiyonin)

Kullanılan Elektrot	Yöntem	Çalışma Potansiyeli, V	Çalışma Aralığı, M	Gözlenebilme Sınırı, M	Duyarlık, $\mu\text{A M}^{-1}$	pH	Tekrarlanabilirlik, %BSS	Kararlılık/Raf Ömrü	Uygulama	Kaynaklar
Tirozinaz-Grafit/Teflon	Amperometri	-0,1	$8,0 \times 10^{-6}$ – $2,0 \times 10^{-4}$ $4,0 \times 10^{-6}$ – $1,0 \times 10^{-4}$	$1,3 \times 10^{-6}$ $1,2 \times 10^{-6}$	$2,1 \times 10^3 \mu\text{A M}^{-1}$ $1,3 \times 10^3 \mu\text{A M}^{-1}$	7,4	-	70 gün	Domuz yağı	Morales vd., 2005a: 572-579
Tirozinaz-Grafit/Teflon	Amperometri	-0,2 (Fosfat tamponu) -0,1 (Asetonitril-tris tamponu)	$2,0 \times 10^{-6}$ – $1,0 \times 10^{-4}$ (Fosfat tamponu) $8,0 \times 10^{-6}$ – $2,0 \times 10^{-4}$ (Asetonitril-tris tamponu)	$9,0 \times 10^{-7}$ (Fosfat tamponu) $1,1 \times 10^{-6}$ (Asetonitril-tris tamponu)	$15,2 \times 10^3 \mu\text{A M}^{-1}$ (Fosfat t) $6,5 \times 10^3 \mu\text{A M}^{-1}$ (Asetonitril-tris t.)	6,5 (Fosfat tamponu) 7,4 (Asetonitril-tris tamponu)	3,4 (Fosfat tamponu) 8,2 (Asetonitril-tris tamponu)	40 gün (Fosfat tamponu) 50 gün (Asetonitril-tris tamponu)	Et suyu bulyonu, zeytinyağı	Morales vd, 2005b: 71-78
Nafyon/SAP ⁸ /H RP/Au-GN ⁹ /GCE	LSV	-	0,1-100 mg L ⁻¹	0,024 mg L ⁻¹	0,674 ($\mu\text{A mgL}^{-1}$)	2,0	3,8	10 hafta	Fıstık yağı, zeytinyağı cips, bisküvi	Wu vd., 2016: 89-96
Tyr/PdNP/PArj/GQD/SPE	Amperometri	-0,25	$5,7 \times 10^{-7}$ – $3,2 \times 10^{-5}$	$1,32 \times 10^{-7}$	$47,7 \mu\text{A mM}^{-1}$	7,5	3,0	3 hafta	Zeytinyağı	Bu çalışma

Tablo 5.2. Elektrokimyasal propil gallat tayini için geliştirilen biyosensörlerin performans faktörlerinin karşılaştırılması

⁸ SAP: Altın platin nanotüp

⁹ Au-GN: Altın grafen kompozit



KAYNAKÇA

- Ahlawat, J., Sharma, M., & Pundir, C. S. (2023). Advances in xanthine biosensors and sensors: A review. *Enzyme and Microbial Technology*, 110377.
- An, N., Zhou, C. H., Zhuang, X. Y., Tong, D. S., & Yu, W. H. (2015). Immobilization of enzymes on clay minerals for biocatalysts and biosensors. *Applied Clay Science*, 114, 283-296.
- Banica, F. G. (2012). *Chemical sensors and biosensors: fundamentals and applications*. John Wiley & Sons.
- Bahadır, E. B., & Sezgintürk, M. K. (2016). Applications of graphene in electrochemical sensing and biosensing. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 76, 1-14.
- Banu, N. D., Jerca, F. A., & Jerca, V. V. (2021). Biosensors. In *Food, medical, and environmental applications of polysaccharides* (pp. 381-400). Elsevier.
- Becker, L. (2007). Final report on the amended safety assessment of Propyl Gallate. *International Journal of Toxicology*, 26, 89-118.
- Brewer, M. S. (2011). Natural antioxidants: sources, compounds, mechanisms of action, and potential applications. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 10(4), 221-247.
- Bhardwaj, T. (2015). Review on biosensor technologies. *International Journal of Advanced Research in Engineering and Technology*, 6(2), 36-62.
- Bobade, S., Kalorey, D. R., & Warke, S. (2016). Biosensor Devices: A review on their biological applications. *Bioscience Biotechnology Research Communications*, 9, 132-137.
- Bolat, G., Yaman, Y. T., Abacı, S., & Seyyar, S. (2023). Poly-arginine/graphene oxide functionalized disposable sensor for monitoring fenitrothion pesticide residues in water and cucumber samples. *Materials Today Chemistry*, 30, 101517.
- Capitán-Vallvey, L. F., Valencia, M. C., & Nicolás, E. A. (2001). Monoparameter sensors for the determination of the antioxidants butylated hydroxyanisole and n-propyl gallate in foods and cosmetics by flow injection spectrophotometry. *Analyst*, 126(6), 897-902.
- Carocho, M., Morales, P., & Ferreira, I. C. (2018). Antioxidants: Reviewing the chemistry, food applications, legislation and role as preservatives. *Trends in Food Science & Technology*, 71, 107-120.
- Carocho, M., Barreiro, M. F., Morales, P., & Ferreira, I. C. (2014). Adding molecules to food, pros and cons: A review on synthetic and natural food additives. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 13(4), 377-399.
- Chadha, U., Bhardwaj, P., Agarwal, R., Rawat, P., Agarwal, R., Gupta, I., ... & Chakravorty, A. (2022). Recent progress and growth in biosensors technology: A critical review. *Journal of Industrial and Engineering Chemistry*, 109, 21-51.
- Chen, S. M., Manavalan, S., Rajaji, U., Govindasamy, M., Chen, T. W., Ajmal Ali, M., ... & Elshikh, M. S. (2018). Determination of the antioxidant propyl gallate in meat by using a screen-printed electrode modified with CoSe₂ nanoparticles and reduced graphene oxide. *Microchimica Acta*, 185, 1-9.
- Chu, H., Sun, X., Zha, X., Khan, S. U., & Wang, Y. (2022). Ultrasensitive electrochemical detection of butylated hydroxy anisole via metalloporphyrin

- covalent organic frameworks possessing variable catalytic active sites. *Biosensors*, 12(11), 975.
- Cyriac, S. T., Thomas, D., Vikraman, A. E., & Kumar, K. G. (2016). Electrochemical sensor for propyl gallate, based on synergic effect of gold nanoparticle and poly (p-aminobenzenesulfonic acid). *Journal of the Electrochemical Society*, 163(14), B683.
- Dai, Y., Li, X., Fan, L., Lu, X., & Kan, X. (2016). "Sign-on/off" sensing interface design and fabrication for propyl gallate recognition and sensitive detection. *Biosensors and Bioelectronics*, 86, 741-747.
- Dalkıran, B., Erden, P. E., Kaçar, C., & Kılıç, E. (2019). Disposable Amperometric Biosensor Based on Poly- L- lysine and Fe₃O₄NPs- chitosan Composite for the Detection of Tyramine in Cheese. *Electroanalysis*, 31(7), 1324-1333.
- Das, P., Das, M., Chinnadayala, S. R., Singha, I. M., & Goswami, P. (2016). Recent advances on developing 3rd generation enzyme electrode for biosensor applications. *Biosensors and Bioelectronics*, 79, 386-397.
- Dolatabadi, J. E. N., & Kashanian, S. (2010). A review on DNA interaction with synthetic phenolic food additives. *Food Research International*, 43(5), 1223-1230.
- EFSA Panel on Food Additives and Nutrient Sources Added to Food (ANS). (2014). Scientific Opinion on the re- evaluation of propyl gallate (E310) as a food additive. *EFSA Journal*, 12(4), 3642.
- Erden, P. E., Selvi, C. K., & Kılıç, E. (2021). A novel tyramine biosensor based on carbon nanofibers, 1-butyl-3-methylimidazolium tetrafluoroborate and gold nanoparticles. *Microchemical Journal*, 170, 106729.
- Facure, M. H., Schneider, R., Lima, J. B., Mercante, L. A., & Correa, D. S. (2021). Graphene quantum dots-based nanocomposites applied in electrochemical sensors: A recent survey. *Electrochem*, 2(3), 490-519.
- Frankenberger Jr, W. T., & Johanson, J. B. (1982). Effect of pH on enzyme stability in soils. *Soil Biology and Biochemistry*, 14(5), 433-437.
- Fu, S., Zhu, Y., Zhang, Y., Zhang, M., Zhang, Y., Qiao, L., ... & Wang, D. (2021). Recent advances in carbon nanomaterials-based electrochemical sensors for phenolic compounds detection. *Microchemical Journal*, 171, 106776.
- Gowthaman, N. S. K., Amalraj, M., Kesavan, S., Rajalakshmi, K., Shankar, S., Sinduja, B., ... & Chang, W. S. (2023). Zero-, one-and two-dimensional carbon nanomaterials as low-cost catalysts in optical and electrochemical sensing of biomolecules and environmental pollutants. *Microchemical Journal*, 109291.
- Gründler, P. (2007). *Chemical sensors: an introduction for scientists and engineers*. Springer Science & Business Media.
- Guan, Y., Chu, Q., Fu, L., Wu, T., & Ye, J. (2006). Determination of phenolic antioxidants by micellar electrokinetic capillary chromatography with electrochemical detection. *Food Chemistry*, 94(1), 157-162.
- Gulcin, İ. (2020). Antioxidants and antioxidant methods: An updated overview. *Archives of Toxicology*, 94(3), 651-715.
- Halliwell, B. (1995). Antioxidant characterization: methodology and mechanism. *Biochemical Pharmacology*, 49(10), 1341-1348.
- He, Y., Xu, S., Deng, M., Yang, D., & Chen, F. (2017). Determination of propyl gallate in edible oil by high-performance liquid chromatography with chemiluminescence detection. *Instrumentation Science & Technology*, 45(4), 404-411.

- Hoyos-Arbeláez, J., Vázquez, M., & Contreras-Calderón, J. (2017). Electrochemical methods as a tool for determining the antioxidant capacity of food and beverages: A review. *Food Chemistry*, 221, 1371-1381.
- Hongxia, C., Ji, H., Zaijun, L., Ruiyi, L., Yongqiang, Y., & Xiulan, S. (2019). Electrochemical aptasensor for detection of acetamiprid in vegetables with graphene aerogel-glutamic acid functionalized graphene quantum dot/gold nanostars as redox probe with catalyst. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 298, 126866.
- Hung, C. M., Huang, C. P., Chen, S. K., Chen, C. W., & Dong, C. D. (2020). Electrochemical analysis of naproxen in water using poly (L-serine)-modified glassy carbon electrode. *Chemosphere*, 254, 126686.
- Iannazzo, D., Espro, C., Celesti, C., Ferlazzo, A., & Neri, G. (2021). Smart biosensors for cancer diagnosis based on graphene quantum dots. *Cancers*, 13(13), 3194.
- Ibadullaeva, S. Z., Appazov, N. O., Tarahovsky, Y. S., Zamyatina, E. A., Fomkina, M. G., & Kim, Y. A. (2019). Amperometric multi-enzyme biosensors: development and application, a short review. *Biophysics*, 64, 696-707.
- Ikehata, K., & Nicell, J. A. (2000). Characterization of tyrosinase for the treatment of aqueous phenols. *Bioresource Technology*, 74(3), 191-199.
- Justino, C. I., Rocha-Santos, T. A., & Duarte, A. C. (2010). Review of analytical figures of merit of sensors and biosensors in clinical applications. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 29(10), 1172-1183.
- Kajal, N., Singh, V., Gupta, R., & Gautam, S. (2022). Metal organic frameworks for electrochemical sensor applications: A review. *Environmental Research*, 204, 112320.
- Karimi- Maleh, H., Karimi, F., Alizadeh, M., & Sanati, A. L. (2020). Electrochemical sensors, a bright future in the fabrication of portable kits in analytical systems. *The Chemical Record*, 20(7), 682-692.
- Karami, M. H., Abdouss, M., Rahdar, A., & Pandey, S. (2024). Graphene quantum dots: Background, synthesis methods, and applications as nanocarrier in drug delivery and cancer treatment: An updated review. *Inorganic Chemistry Communications*, 112032.
- Kashanian, S., & Dolatabadi, J. E. N. (2009). DNA binding studies of 2-tert-butylhydroquinone (TBHQ) food additive. *Food Chemistry*, 116(3), 743-747.
- Kaur, H., Kumar, R., Babu, J. N., & Mittal, S. (2015). Advances in arsenic biosensor development—a comprehensive review. *Biosensors and Bioelectronics*, 63, 533-545.
- Keskin, M., & Arslan, F. (2020). Biyosensörler. *Gazi Üniversitesi Fen Fakültesi Dergisi*, 1(1-2), 51-60.
- Khizar, S., Zine, N., Jaffrezic-Renault, N., Elaissari, A., & Errachid, A. (2022). Prospective analytical role of sensors for environmental screening and monitoring. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 157, 116751.
- Khumngern, S., Choosang, J., Kanatharana, P., Thavarungkul, P., & Numnuam, A. (2024). Voltametric sensor for an anti-cancer drug cisplatin based on bismuth nanoparticles/graphene modified glassy carbon electrode. *Talanta*, 267, 125147.
- Kordasht, H. K., Hasanzadeh, M., Seidi, F., & Alizadeh, P. M. (2021). Poly (amino acids) towards sensing: Recent progress and challenges. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 140, 116279.

- Korotcenkov, G., & Cho, B. K. (2011). *Introduction to Chemical Sensor Technologies*. Chem. Sens. Compr. Sens. Technol., Momentum Press, New York.
- Kour, R., Arya, S., Young, S. J., Gupta, V., Bandhoria, P., & Khosla, A. (2020). Recent advances in carbon nanomaterials as electrochemical biosensors. *Journal of the Electrochemical Society*, 167(3), 037555.
- Kumalasari, M. R., Alfanaar, R., & Andreani, A. S. (2024). Gold Nanoparticles (AuNPs): A Versatile Material for Biosensor Application. *Talanta Open*, 100327.
- Lazanas, A. C., & Prodromidis, M. I. (2023). Electrochemical impedance spectroscopy— a tutorial. *ACS Measurement Science Au*, 3(3), 162-193.
- Laviron, E. (1974). Surface linear potential sweep voltammetry: Equation of the peaks for a reversible reaction when interactions between the adsorbed molecules are taken into account. *Journal of Electroanalytical Chemistry and Interfacial Electrochemistry*, 52(3), 395-402.
- Li, Y., Ma, Y., Lichtfouse, E., Song, J., Gong, R., Zhang, J., ... & Xiao, L. (2022). In situ electrochemical synthesis of graphene-poly (arginine) composite for p-nitrophenol monitoring. *Journal of Hazardous Materials*, 421, 126718.
- Liu, T., Xu, M., Yin, H., Ai, S., Qu, X., & Zong, S. (2011). A glassy carbon electrode modified with graphene and tyrosinase immobilized on platinum nanoparticles for sensing organophosphorus pesticides. *Microchimica Acta*, 175, 129-135
- López-Pedrouso, M., Lorenzo, J. M., & Franco, D. (2022). Advances in natural antioxidants for food improvement. *Antioxidants*, 11(9), 1825.
- Lobo, V., Patil, A., Phatak, A., & Chandra, N. (2010). Free radicals, antioxidants and functional foods: Impact on human health. *Pharmacognosy Reviews*, 4(8), 118.
- Lu, L. M., Li, H. B., Qu, F., Zhang, X. B., Shen, G. L., & Yu, R. Q. (2011). In situ synthesis of palladium nanoparticle–graphene nanohybrids and their application in nonenzymatic glucose biosensors. *Biosensors and Bioelectronics*, 26(8), 3500-3504.
- Ma, X., Lv, H., Chen, M., Liu, H., Xue, S., Zhu, Q., & Wang, X. (2022). Novel electrochemical sensor for determination of propyl gallate based on poly (γ -aminobutyric acid) incorporating gold nanoclusters. *Microchemical Journal*, 183, 107954.
- Ma, X., & Chen, M. (2015). Electrochemical sensor based on graphene doped gold nanoparticles modified electrode for detection of diethylstilboestrol. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 215, 445-450.
- Maduraiveeran, G., & Jin, W. (2021). Carbon nanomaterials: Synthesis, properties and applications in electrochemical sensors and energy conversion systems. *Materials Science and Engineering: B*, 272, 115341.
- Maduraiveeran, G., & Jin, W. (2017). Nanomaterials based electrochemical sensor and biosensor platforms for environmental applications. *Trends in Environmental Analytical Chemistry*, 13, 10-23.
- Magar, H. S., Hassan, R. Y., & Mulchandani, A. (2021). Electrochemical impedance spectroscopy (EIS): Principles, construction, and biosensing applications. *Sensors*, 21(19), 6578.
- Malathi, S., Pakrudheen, I., Kalkura, S. N., Webster, T. J., & Balasubramanian, S. (2022). Disposable biosensors based on metal nanoparticles. *Sensors International*, 3, 100169.

- Mansuriya, B. D., & Altintas, Z. (2020). Applications of graphene quantum dots in biomedical sensors. *Sensors*, 20(4), 1072.
- Martins, F. C., Sentanin, M. A., & De Souza, D. (2019). Analytical methods in food additives determination: Compounds with functional applications. *Food Chemistry*, 272, 732-750.
- Massah, R. T., Ntep, T. J. M. M., Njanja, E., Jiokeng, S. L. Z., Liang, J., Janiak, C., & Tonle, I. K. (2021). A metal-organic framework-based amperometric sensor for the sensitive determination of sulfite ions in the presence of ascorbic acid. *Microchemical Journal*, 169, 106569.
- Mehrotra, P. (2016). Biosensors and their applications—A review. *Journal of Oral Biology and Craniofacial Research*, 6(2), 153-159.
- Moure, A., Cruz, J. M., Franco, D., Domínguez, J. M., Sineiro, J., Domínguez, H., ... & Parajó, J. C. (2001). Natural antioxidants from residual sources. *Food Chemistry*, 72(2), 145-171.
- Mohankumar, P., Ajayan, J., Mohanraj, T., & Yasodharan, R. (2021). Recent developments in biosensors for healthcare and biomedical applications: A review. *Measurement*, 167, 108293.
- Mollarasouli, F., Serafin, V., Campuzano, S., Yáñez-Sedeño, P., Pingarrón, J. M., & Asadpour-Zeynali, K. (2018). Ultrasensitive determination of receptor tyrosine kinase with a label-free electrochemical immunosensor using graphene quantum dots-modified screen-printed electrodes. *Analytica Chimica Acta*, 1011, 28-34.
- Moradi Hasan-Abad, A., Esmaili, M. A., Ghotaslou, A., Atapour, A., Khoshroo, A., & Naghian, E. (2022). A review: electrochemical biosensors for testosterone detection. *Analytical and Bioanalytical Electrochemistry*, 14(11), 1060-1077.
- Morales, M. D., González, M. C., Serra, B., Reviejo, A. J., & Pingarrón, J. M. (2005a). Composite amperometric tyrosinase biosensors for the determination of the additive propyl gallate in a reversed micellar medium. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 106(2), 572-579.
- Morales, M. D., González, M. C., Reviejo, A. J., & Pingarrón, J. M. (2005b). A composite amperometric tyrosinase biosensor for the determination of the additive propyl gallate in foodstuffs. *Microchemical Journal*, 80(1), 71-78.
- Motshakeri, M., Sharma, M., Phillips, A. R., & Kilmartin, P. A. (2022). Electrochemical methods for the analysis of milk. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 70(8), 2427-2449.
- Msagati, T. A. (2012). *The chemistry of food additives and preservatives*. John Wiley & Sons.
- Mukdasai, S., Crowley, U., Pravda, M., He, X., Nesterenko, E. P., Nesterenko, P. N., ... & Moore, E. (2015). Electrodeposition of palladium nanoparticles on porous graphitized carbon monolith modified carbon paste electrode for simultaneous enhanced determination of ascorbic acid and uric acid. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 218, 280-288.
- Narayana, P. V., Reddy, T. M., Gopal, P., Reddy, M. M., & Naidu, G. R. (2015). Electrocatalytic boost up of epinephrine and its simultaneous resolution in the presence of serotonin and folic acid at poly (serine)/multi-walled carbon nanotubes composite modified electrode: a voltametric study. *Materials Science and Engineering: C*, 56, 57-65.
- Naresh, V., & Lee, N. (2021). A review on biosensors and recent development of nanostructured materials-enabled biosensors. *Sensors*, 21(4), 1109.

- Naveen, M. H., Gurudatt, N. G., & Shim, Y. B. (2017). Applications of conducting polymer composites to electrochemical sensors: A review. *Applied Materials Today*, 9, 419-433.
- Newman, J. D., & Turner, A. P. (2007). Historical perspective of biosensor and biochip development. *Handbook of Biosensors and Biochips*, Wiley-Interscience.
- Nguyen, V. H., Le, M. N., Nguyen, H. B., Ha, K. O., Pham, T. H. V., Nguyen, T. H., ... & Trinh, N. T. (2021). Propyl gallate. *Molbank*, 2021(2), M1201.
- Özoğlu, Ö., ÜNAL, M. A., & Güneş Altutaş, E. (2017). Biyosensörler: gıda ve sağlık alanında laktat biyosensörleri. *Türk Yaşam Bilimleri Dergisi*, 2(2), 180-193.
- Örenli, D., Selvi, C. K., Öztürk, F., Erden, P. E., & Kılıç, E. (2023). Electrochemical (bio) sensors based on carbon quantum dots, ionic liquid and gold nanoparticles for bisphenol A. *Analytical Biochemistry*, 662, 115002.
- Pingarrón, J. M., Yanez-Sedeno, P., & González-Cortés, A. (2008). Gold nanoparticle-based electrochemical biosensors. *Electrochimica Acta*, 53(19), 5848-5866.
- Plata, M. R., Contento, A. M., & Ríos, A. (2010). State-of-the-art of (bio) chemical sensor developments in analytical Spanish groups. *Sensors*, 10(4), 2511-2576.
- Priscillal, I. J. D., & Wang, S. F. (2022). Synchronously activated strontium aluminate nanoflakes anchored functionalized carbon nanofiber nanocomposite for sensitive amperometric detection of food additive: Propyl gallate. *Food Chemistry*, 389, 133119.
- Sakihama, Y., & Yamasaki, H. (2021). Phytochemical antioxidants: Past, present and future. *Antioxidants—Benefits, sources, mechanisms of action*. Edited by Viduranga Waisundara, Intech Open,
- Salajegheh, M., Ansari, M., Foroghi, M. M., & Kazemipour, M. (2019). Computational design as a green approach for facile preparation of molecularly imprinted polyarginine-sodium alginate-multiwalled carbon nanotubes composite film on glassy carbon electrode for theophylline sensing. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 162, 215-224.
- Sanati, A., Jalali, M., Raeissi, K., Karimzadeh, F., Kharaziha, M., Mahshid, S. S., & Mahshid, S. (2019). A review on recent advancements in electrochemical biosensing using carbonaceous nanomaterials. *Microchimica Acta*, 186, 1-22.
- Sarangarajan, R. S. P. G., Meera, S., Rukkumani, R., Sankar, P., & Anuradha, G. (2017). Antioxidants: Friend or foe?. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, 10(12), 1111-1116.
- Sassolas, A., Blum, L. J., & Leca-Bouvier, B. D. (2012). Immobilization strategies to develop enzymatic biosensors. *Biotechnology Advances*, 30(3), 489-511.
- Scholz, F. (2015). Voltametric techniques of analysis: the essentials. *ChemTexts*, 1(4), 17.
- Shahidi, F., & Ambigaipalan, P. (2015). Phenolics and polyphenolics in foods, beverages and spices: Antioxidant activity and health effects—A review. *Journal of Functional Foods*, 18, 820-897.
- Shahidi, F., & Zhong, Y. (2015). Measurement of antioxidant activity. *Journal of Functional Foods*, 18, 757-781.
- Shahidi, F. (Ed.). (2015). *Handbook of antioxidants for food preservation*. Edited by Fereidoon Shahidi, Woodhead Publishing Series in Food Science Technology and Nutrition: number 276, Elsevier, Woodhead Publishing

- Sharma, S., Singh, N., Tomar, V., & Chandra, R. (2018). A review on electrochemical detection of serotonin based on surface modified electrodes. *Biosensors and Bioelectronics*, 107, 76-93.
- Shi, Z., Tan, J., Hu, Y., Li, G., & Xiao, X. (2018). Simultaneous Determination of Antioxidants in Edible Oils Using Graphene Oxide/ β - Cyclodextrin- modified Electrochemical Sensor. *Electroanalysis*, 30(10), 2467-2474.
- Sivasankaran, U., & Kumar, K. G. (2019). Communication—Electrochemical sensing of synthetic antioxidant propyl gallate: A cost effective strategy using nanoparticles. *Journal of the Electrochemical Society*, 166(2), B92.
- Skoog, D. A., Holler, F. J., Nieman, T. A., Kılıç, E., Köseoğlu, F., & Yılmaz, H. (2000). *Enstrümantal Analiz İlkeleri*, Bilim Yayıncılık.
- Song, J., Yang, J., & Hu, X. (2008). Electrochemical determination of estradiol using a poly (L-serine) film-modified electrode. *Journal of Applied Electrochemistry*, 38, 833-836.
- Thévenot, D. R., Toth, K., Durst, R. A., & Wilson, G. S. (2001). Electrochemical biosensors: recommended definitions and classification. *Biosensors and Bioelectronics*, 16(1-2), 121-131.
- Tian, P., Tang, L., Teng, K. S., & Lau, S. P. (2018). Graphene quantum dots from chemistry to applications. *Materials Today Chemistry*, 10, 221-258.
- Uzombah, T. A. (2022). The implications of replacing synthetic antioxidants with natural ones in the food systems. Edited by Miguel A. Prieto and Paz Otero IntechOpen
- Velusamy, K., Periyasamy, S., Kumar, P. S., Rangasamy, G., Pauline, J. M. N., Ramaraju, P., ... & Vo, D. V. N. (2022). Biosensor for heavy metals detection in wastewater: A review. *Food and Chemical Toxicology*, 168, 113307.
- Verma, N., & Bhardwaj, A. (2015). Biosensor technology for pesticides—a review. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 175, 3093-3119.
- Vigneshvar, S., Sudhakumari, C. C., Senthilkumaran, B., & Prakash, H. (2016). Recent advances in biosensor technology for potential applications—an overview. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 4, 11.
- Vikraman, A. E., Rasheed, Z., Rajith, L., Lonappan, L. A., & Krishnapillai, G. K. (2013). MWCNT-modified gold electrode sensor for the determination of propyl gallate in vegetable oils. *Food Analytical Methods*, 6, 775-780.
- Wang, J. (2012). Electrochemical biosensing based on noble metal nanoparticles. *Microchimica Acta*, 177, 245-270.
- Wang, Y., Zhai, F., Hasebe, Y., Jia, H., & Zhang, Z. (2018). A highly sensitive electrochemical biosensor for phenol derivatives using a graphene oxide-modified tyrosinase electrode. *Bioelectrochemistry*, 122, 174-182.
- Wang, W., Xiong, P., Zhang, H., Zhu, Q., Liao, C., & Jiang, G. (2021). Analysis, occurrence, toxicity and environmental health risks of synthetic phenolic antioxidants: A review. *Environmental Research*, 201, 111531.
- Wang, J. (2006). *Analytical Electrochemistry*. A John Wiley & Sons, Inc., Publication, Canada.3.,250.
- Williams, G. M., Iatropoulos, M. J., & Whysner, J. (1999). Safety assessment of butylated hydroxyanisole and butylated hydroxytoluene as antioxidant food additives. *Food and Chemical Toxicology*, 37(9-10), 1027-1038.
- Wood, R., Foster, L., Damant, A., & Key, P. (2004). *Analytical methods for food additives*. Elsevier.

- Wu, L., Zhang, C., Long, Y., Chen, Q., Zhang, W., & Liu, G. (2022). Food additives: From functions to analytical methods. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 62(30), 8497-8517.
- Wu, L., Yin, W., Tang, K., Li, D., Shao, K., Zuo, Y., ... & Han, H. (2016). Enzymatic biosensor of horseradish peroxidase immobilized on Au-Pt nanotube/Au-graphene for the simultaneous determination of antioxidants. *Analytica Chimica Acta*, 933, 89-96.
- Wu, G. H., Wu, Y. F., Liu, X. W., Rong, M. C., Chen, X. M., & Chen, X. (2012). An electrochemical ascorbic acid sensor based on palladium nanoparticles supported on graphene oxide. *Analytica Chimica Acta*, 745, 33-37.
- Xiang, Q., Gao, Y., Xu, Y., & Wang, E. (2007). Capillary electrophoresis-amperometric determination of antioxidant propyl gallate and butylated hydroxyanisole in foods. *Analytical Sciences*, 23(6), 713-717.
- Xiu-Qin, L., Chao, J., Yan-Yan, S., Min-Li, Y., & Xiao-Gang, C. (2009). Analysis of synthetic antioxidants and preservatives in edible vegetable oil by HPLC/TOF-MS. *Food Chemistry*, 113(2), 692-700.
- Yin, C., Wang, Y., & Zhuang, Q. (2021). Dual-ratiometric electrochemical sensor for propyl gallate detection. *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 880, 114817.
- You, Z., Zhang, Y., Duan, S., & Liu, L. (2022). Electrochemical Detection of Olivetol Based on Poly (L-Serine) Film Layered Copper Oxide Modified Carbon Paste Electrode (pL-Serine/CuO/CPE). *Nanomaterials*, 13(1), 70.
- Yu, X., Fu, L., Wang, T., Liu, Z., Niu, N., & Chen, L. (2023). Multivariate chemical analysis: From sensors to sensor arrays. *Chinese Chemical Letters*, 109167.
- Zahed, F. M., Hatamluyi, B., & Bojdi, M. K. (2024). A sensitive electrochemical sensor based on graphene quantum dots/hierarchical flower-like gold nanostructures for determination of cytostatic drug flutamide. *Materials Science and Engineering: B*, 300, 117109.
- Zhou, Y., Wang, P., Su, X., Zhao, H., & He, Y. (2014). Sensitive immunoassay for the β -agonist ractopamine based on glassy carbon electrode modified with gold nanoparticles and multi-walled carbon nanotubes in a film of poly-arginine. *Microchimica Acta*, 181, 1973-1979.

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Soyadı, adı: ŞENCEOL, Barış
Uyruğu: T.C.

Eğitim

Derece	Eğitim Birimi	Mezuniyet Tarihi
Yüksek lisans:	Ankara Hacı Bayram Veli Üniversitesi/Kimya AnaBilim Dalı	2024
Lisans	Gazi Üniversitesi/Kimya Bölümü	2021
Lise	Dikmen Anadolu Meslek Lisesi	2017

İş Deneyimi

Yıl	Yer	Görev
2024- Devam ediyor	Novagenix Biyomedikal İlaç Ar-Ge Merk. San. Tic. A.Ş.	Kimyager

Yabancı Dil:

İngilizce

Hobiler:

Basketbol oynamak, sanatsal faaliyetlere katılmak



