

**ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Ahmet Faruk ÜRÜN

**TAŞINABİLİR POTANSİYOSTAT TASARIMI VE
GERÇEKLEŞTİRİLMESİ**

BİYOMEDİKAL MÜHENDİSLİĞİ ANA BİLİM DALI

ADANA-2022

ÖZ
YÜKSEK LİSANS TEZİ

**TAŞINABİLİR POTANSİYOSTAT TASARIMI VE
GERÇEKLEŞTİRİLMESİ**

Ahmet Faruk ÜRÜN

**ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOMEDİKAL MÜHENDİSLİĞİ ANA BİLİM DALI**

Danışman	: Doç. Dr. Ahmet AYDIN Yıl: 2022 Sayfa: 89
Jüri	: Doç. Dr. Ahmet AYDIN : Doç. Dr. Murat AKSOY : Dr. Öğr. Üyesi Umut KÖKBAŞ

Bir biyolojik veya kimyasal madde veya olayın incelenmesinde ve onun üzerindeki değişimlerin algılanmasında sensörler kullanılmaktadır. Bir biyosensör, içerisinde bulunduğu ortamdaki analitin miktarını veya çeşidini bir elektrik sinyaline dönüştürür. Bunun sayesinde ortamdaki biyolojik malzeme kantitatif ve kalitatif olarak incelenebilir. Biyosensörler dönüştürücü yapısına göre, optik, ağırlık tabanlı ve elektrokimyasal olmak üzere 3 farklı sınıfa ayrılmaktadır. Bir elektrokimyasal biyosensör yapısı ise, elektrokimyasal hücre ve potansiyostattan oluşmaktadır. Bu tezde, elektrokimyasal ölçümlerde kullanılmak üzere, taşınabilir, kablosuz ve düşük maliyetli, voltametrik ve amperometrik ölçümler yapabilen bir potansiyostat tasarımı yapılmış ve bu tasarım gerçekleştirilmiştir. Bu potansiyostatta mikrodenetleyici olarak ESP32 kullanılmıştır. Diğer donanım elemanları ise mikrodenetleyici üzerinden beslenebilmesi sayesinde taşınabilirlik sağlanmıştır. Ayrıca kullanılan mikrodenetleyicide bulunan Bluetooth protokolüyle kablosuz haberleşme sağlanmıştır. Kullanıcı arayüzü ise Microsoft Visual Studio ile tasarlanmıştır. Daha sonra gerçekleştirilen bu potansiyostat bir dummy-cell devresiyle kalibre edilmiştir. Kalibre edilen potansiyostat kullanılarak, amperometrik ölçüm testi için glikoz ve voltametrik ölçüm testi için askorbik asit ölçüm deneyleri yapılmıştır. Yapılan bu deneyler sonucunda, glikoz ve askorbik asit kantitatif deneylerindeki regresyon oranı sırasıyla %88 ve %89 olarak bulunmuştur.

Anahtar Kelimeler: Potansiyostat, ESP32, elektrokimyasal sensör, taşınabilir

ABSTRACT

MSc THESIS

DESIGN AND IMPLEMENTATION OF PORTABLE POTENTIOSTAT

Ahmet Faruk ÜRÜN

ÇUKUROVA UNIVERSITY
INSTITUTE OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES
DEPARTMENT OF BIOMEDICAL ENGINEERING

Supervisor : Assoc. Prof. Dr. Ahmet AYDIN
Year: 2022, Pages: 89
Jury : Assoc. Prof. Dr. Ahmet AYDIN
: Assoc. Prof. Dr. Murat AKSOY
: Asst. Prof. Dr. Umut KÖKBAŞ

Sensors are used to examine a biological or chemical substance or event and detect changes. A biosensor converts the amount or type of analyte to an electric signal in its environment. The biological material in the environment can be examined quantitatively and qualitatively from the measured signal. Biosensors are classified into three different classes according to their transducer structure: optical, weight-based, and electrochemical. An electrochemical sensor structure consists of an electrochemical cell and a potentiostat. A portable, wireless, and low-cost potentiostat capable of performing voltammetric and amperometric measurements has been designed and implemented in electrochemical measurements in this thesis. ESP32 has been used as a microcontroller in this potentiostat. The voltage that other hardware elements need to work has been supplied via the microcontroller, thus providing portability. Additionally, the Bluetooth protocol has provided wireless communication between the microcontroller and the user. Then, this realized potentiostat has been calibrated with a dummy-cell circuit. The calibrated potentiostat is used for glucose and ascorbic acid measurement experiments to test the amperometric and voltammetric measurement functionality, respectively. As a result of these experiments, the regression rates in glucose and ascorbic acid quantitative experiments were 88% and 89%, respectively.

Keywords: Potentiostat, ESP32, electrochemical sensors, portable

GENİŞLETİLMİŞ ÖZET

Bir biyosensör, bir dönüştürücü eleman ile bir biyolojik tanıma elemanı (biyokimyasal reseptör) kullanarak analitik bilgi sağlayabilen entegre bir cihaz olarak tanımlanabilir. Biyosensörler yardımıyla vücudumuzda veya çevremizde bulunan birçok biyolojik analitin analizi yapılabilmektedir.

Biyosensörlerin sınıflandırması kullanılan biyoreseptöre ve dönüştürücüye göre ikiye ayrılmaktadır. Biyoreseptör kısmı enzim, antikor, hücre, DNA ve biyomimikler olmak üzere farklı sınıflarda incelenirken; dönüştürücü yapısına göre ise optik, ağırlık tabanlı ve elektrokimyasal biyosensörler olmak üzere üç temel sınıfta incelenebilir. Bu üç temel sınıftan en çok kullanılan elektrokimyasal biyosensörlerdir. Elektrokimyasal biyosensörler ise kullanılan tekniğe bağlı olarak, amperometrik, potansiyometrik, empedimetrik ve konduktometrik olmak üzere 4 farklı sınıfta incelenmektedir. Bu tekniklerin farklılığı da uygulanan dalga formundan kaynaklanmaktadır.

Bir elektrokimyasal sensör incelendiğinde potansiyostat ve elektrokimyasal hücre olmak üzere iki temel yapı karşımıza çıkmaktadır. Potansiyostat yapısı elektrokimyasal hücrede gerçekleşen yükseltgenme ve indirgenme tepkimelerinin başından sonuna kadar oluşan akımı ölçen ve bunu arayüze aktaran kısımdan oluşmaktadır. Ayrıca potansiyostat, elektrokimyasal hücreye, gerilimin kullanıcının parametrelerine göre ayarlanıp verildiği kısımdır. Elektrokimyasal hücre ise yükseltgenme ve indirgenme tepkimelerinin gerçekleştiği yerdir. Elektrokimyasal hücrede elektrotlar ve çözelti bulunmaktadır. Çözelti, kalitatif ve kantitatif olarak analizi yapılacak analitin belirlenmesinden sonra uygun çözünen ve çözücü maddelerle hazırlanır. Elektrot konfigürasyonu da iki elektrotlu ve üç elektrotlu olmak üzere ikiye ayrılmaktadır. İki elektrotlu konfigürasyonda bir çalışma elektrotu ile bir referans elektrotu bulunurken, üç elektrotlu yapıdaysa bu elektrotlara ek olarak karşıt elektrot bulunmaktadır. Akımın üzerinden geçtiği elektroda çalışma

elektrotu, devreyi sabit bir gerilimde tutan elektroda referans elektrotu, devreyi tamamlamak için kullanılan elektroda karşıt elektrot denilmektedir.

Bu tezde tasarlanan potansiyostatta mikrodnetleyici olarak ESP32 kullanılmıştır. Mikrodnetleyicideki dahili dönüştürücülerle hem dalga oluşumu sağlanmış hem de eş zamanlı olarak o dalganın görüntülenmesi sağlanmıştır. Ayrıca üzerindeki Bluetooth modülü sayesinde kablosuz olarak veri akışı sağlanabilmiş ve bir batarya eklentisiyle taşınabilir bir cihaz elde edilmiştir. Kullanıcı arayüzü ise Microsoft Visual Studio ile tasarlanmıştır. Tasarlanan sistem ile kullanıcı üç farklı dalga tipini üretebilmektedir.

Potansiyostat bir direnç yardımıyla oluşturulan dummy-cell devresiyle kalibre edilmiştir. Verilen voltaj ve bilinen bu direnç sayesinde, ohm kanunuyla kullanılarak akım hesaplanabilmektedir. Bu akımın da dönüşümü sonucunda oluşacak gerilim bilinmektedir. Sonuç olarak tüm bilinenler ile dummy-cell devresi sonucu elde edilen veriler karşılaştırılarak kalibrasyon işlemi gerçekleştirilir. Kalibrasyon işleminden başarı elde edildikten sonra, potansiyostat kullanılarak glikoz ve askorbik asit ölçüm deneyleri yapılmıştır. Yapılan bu deneyler sonucunda, glikozun kantitatif deneyindeki regresyon oranı yüzde 88 bulunurken bu oran askorbik asitte yüzde 95 olarak bulunmuştur.

TEŞEKKÜR

Tez çalışmam sürecinde her türlü desteği esirgemeyen, tecrübeleri ile yol gösteren danışman hocam Sayın Doç.Dr. Ahmet AYDIN' a göstermiş olduğu sabır ve katkılar için en içten dileklerimle teşekkürü bir borç bilirim.

Tez sunumunda ve savunmasında yer alan saygıdeğer jüri üyelerine katkıları ve destekleri için ayrıca teşekkür ederim.

Her koşulda yanımda hissettiğim, maddi ve manevi desteklerini hiçbir zaman esirgemeyen sevgili aileme de şükranlarımı sunuyorum.

Ayrıca tez yapılırken bana maddi ve manevi olarak destek olan Ömer Muhsin DÜNDAR' a, Yonca TOGAY' a, Mustafa AĞARTAN' a, Eray KOŞTUR' a ve İhsan TÜRKCAN' a, teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

SAYFA

ÖZ	I
ABSTRACT.....	II
GENİŞLETİLMİŞ ÖZET	III
TEŞEKKÜR.....	V
İÇİNDEKİLER	VI
ÇİZELGER DİZİNİ	VIII
ŞEKİLLER DİZİNİ	X
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	XVI
1. GİRİŞ	1
1.1. Biyosensör.....	2
1.2.1 Biyosensör Bileşenleri	6
1.2.2. Moleküler Tanıma.....	7
1.2.3. Elektrokimyasal Biyosensörler	7
1.2.3.1. Elektrokimyasal Hücre	8
1.2.3.2. Potansiyostat.....	10
1.2.3.3. Elektrokimyasal Hücredeki Elektrot Çeşitleri	10
1.2.3.4. Elektrokimyasal Ölçüm Türleri	12
1.2.3.5. Amperometrik Elektrokimyasal Biyosensörler	13
1.2.3.6. Potansiyometrik Elektrokimyasal Biyosensörler	16
1.2.3.7. Voltametrik Elektrokimyasal Biyosensörler.....	17
1.2.3.8. Empedimetrik Elektrokimyasal Biyosensörler	25
1.2.4. Çalışmanın Amacı.....	26
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR	29
2.1. Programlanabilir Potansiyostat (PSoC-Stat).....	29
2.1.1. Deneysel Çalışmalar	30
2.2. CheapStat	31

2.3. DStat	35
2.4. UWED (Universal Wireless Electrochemical Detection)	37
2.4.1. Deneysel Veriler	39
2.5. UMED(Universal Mobile Electrochemical Detector)	41
3. MATERYAL VE METOT	47
3.1. ESP32 WEMOS Lolin Lite Donanımı	49
3.2. Devre Tasarımı	51
3.2.1. Akım-Voltaj Dönüştürücü devresi (Transimpedans Amplifier)	55
3.3. Arayüz Tasarımı ve Program Yapısı	58
3.4. PCB tasarımı	66
3.5. Filtre Tasarımı	67
3.6. Cihaz Kabı Tasarımı	69
4. SONUÇLAR	71
4.1. Cihaz Dummy-Cell ile Kalibrasyonu	71
4.2. Glikoz Değerlerinin Ölçülmesi	72
4.2.1. Askorbik Asit Değerlerinin Ölçülmesi	76
5. TARTIŞMA	83
KAYNAKLAR	85
ÖZGEÇMİŞ	89

ÇİZELGER DİZİNİ

SAYFA

Çizelge 1.1. Analitiksel teknikler ile biyosensörler Avantaj ve Dezavantajlarının Karşılaştırılması	5
Çizelge 1.2. Biyosensör Bileşenleri ve Dönüştürücü Sistemi.....	6
Çizelge 1.3. Biyosensörlerde Kullanılan Reseptör Türleri ve Bunlara Bağlı, Belirli Türleri Tanıyan Elektrokimyasal Ölçüm Teknikleri	13
Çizelge 1.4. Ölçülecek ilgili analitlerle sınıflandırılmış ölçüm türleri için elektrokimyasal dönüştürücü tipi	26
Çizelge 3.1. ESP32 WEMOS Lolin Lite’ın Genel Özellikleri.....	50
Çizelge 3.2. TLC272 Yükseltecinin Özellikleri.....	53
Çizelge 3.3. ESP32 ve MCP4725 için frekans hesaplamaları ve mikrodenetleyiciye uygulanacak gecikme hesaplamaları	55
Çizelge 3.4. CD4051 Doğruluk Tablosu.....	56
Çizelge 5.1. Tüm Cihazların Karşılaştırılması.....	83



ŞEKİLLER DİZİNİ

SAYFA

Şekil 1.1. 1965 den 2018 a kadar iki farklı kaynakta yayınlanan biyosensör makalelerinin sayısından oluşan grafik.....	2
Şekil 1.2. Biyosensörlerin temel prensibi	4
Şekil 1.3. Biyosensörlerin Genel Yapısı	5
Şekil 1.4. Farklı yapıdaki elektrokimyasal hücrelerin şematik gösterimi	8
Şekil 1.5. İki elektrotlu bir kimyasal hücrenin gösterimi.....	9
Şekil 1.6. Üç elektrotlu bir kimyasal hücrenin gösterimi.....	9
Şekil 1.7. Kronoamperometrik çalışmalarda uygulanan gerilim-zaman grafiği ve elde edilen akım-zaman grafiği.....	14
Şekil 1.8. Kronoamperometrik çalışmalarda konsantrasyon profilinin zamanla değişim grafiği	15
Şekil 1.9. Doğrusal Tarama Voltammetri a) Anodik tarama potansiyeli-zaman grafiği b)Voltammogram (V1: Başlangıç Voltajı V2: Bitiş Voltajı Vp: Tepe Voltajı i0: Başlangıç Akımı ip: Akımın Tepe Noktası)	18
Şekil 1.10. Artan Tarama Hızının LSV ye olan etkisi	19
Şekil 1.11. a) Tarama potansiyeli-zaman grafiği b) Döngüsel Voltammetri (Fe ³⁺ +e ⁻ ↔Fe ²⁺ tepkimesi için)	21
Şekil 1.12. Artan Tarama Hızının CV ye olan etkisi	22
Şekil 1.13. CV verilerini bildirmek için yaygın olarak iki ortak düşünce	23
Şekil 1.14. İki farklı ortamda İki farklı elektrotla yapılan döngüsel voltammogramlar.....	24
Şekil 2.1. Veriler sonucunda miktar doğrusal bir şekilde arttırıldığında oluşan akımın da neredeyse doğrusal şekilde arttığı gözlemlenmiştir.	30
Şekil 2.2. Kronoamperometri deneyi (A: AccuCheck marka ile +500Mv gerilimi verilerek, glikoz çubuğu ile beraber farklı glikoz yoğunluklarının ölçümü,her birinde tek tip bir çubukla ölçüm yapılmıştır. B: Akım-yoğunluk karşılaştırması, Bu yoğunluklar	

4.8. ve 5. Saniye arası akım miktarı alınarak karşılaştırma yapılmıştır.).....	30
Şekil 2.3. CV görüntüsü ve Askorbik asidin akımının yoğunluğa göre değişim grafiği.....	32
Şekil 2.4. Ferrisiyanürün 1mM ve 2mM 'daki CV görüntüsü	33
Şekil 2.5. a) Asetaminofenin, 0,002, 0,005 ve 0,01 M'deki ve dokunulmamış bir çözeltinin CV görüntüsü b)850mV daki akım değerleriyle yoğunluklarının karşılaştırılması	34
Şekil 2.6. Potassium hexacyanoferrate(III)'ın döngüsel voltammetrisi ve karşılaştırılması(sol), 8 Potassium hexacyanoferrate(III)'ın kare dalga voltammetrisi(sağ)	36
Şekil 2.7. DStat Fark atım voltammetrisi(sol), EmStat Fark atım voltammetrisi (sağ)'nin mikro elektrotlar yardımıyla ölçümü	37
Şekil 2.8. A ve C)Genel Görünüm B)Devre şekli ve ana bileşenler).....	38
Şekil 2.9. A)K ⁺ iyon seçici elektrotla ticari referans elektrotunun potansiyometrik olarak karşılaştırılması B)Potasyum ferrisiyanürün(1mM ile 250µM arası) kronoamperometrik olarak karşılaştırılması.....	39
Şekil 2.10. 1mM ferrisiyanürün 100mV/s tarama hızındaki döngüsel voltammetrisinin UWED ile ticari bir cihazla karşılaştırılması.....	40
Şekil 2.11. 1mM ferrisiyanürün kare dalga voltammetrisinde UWED ile ticari bir cihazın karşılaştırılması (adım genişliği 5mV, büyüklüğü 50 mV, frekans 10 Hz).....	40
Şekil 2.12. A ve B)UMED in genel görünümü C ve D)Elektronik Tasarımı	41
Şekil 2.13. A) 0.1 M KCl içerisindeki 2.5 mM ferrisiyanür/ferrosiyanürün döngüsel voltammetrisinin karşılaştırılması B) 0.1 M KCl içerisindeki 1 mM ferrisiyanür/ferrosiyanürün kronoamperometrik karşılaştırılması.....	43

Şekil 2.14. Kandaki glikoz miktarının kronoamperometrisi ve yoğunluk-akım grafiği.....	44
Şekil 2.15. Farklı sodyum yoğunluktaki ürün çözeltisinin gerçek ve UMED ölçümlerinin karşılaştırılması	45
Şekil 3.1. AFUStat' ın genel şematik gösterimi.....	48
Şekil 3.2. ESP32 WEMOS Lolin Lite'in boyutları.....	49
Şekil 3.3. ESP32 WEMOS Lolin Lite'in işlevsem blok diyagramı	50
Şekil 3.4. Microchip firmasına ait harici bir DAC olan MCP4725 'e ait olan görsel	51
Şekil 3.5. Devre Tasarımının Proteus Uygulamasında Gösterimi	52
Şekil 3.6. Devre Şeması	52
Şekil 3.7. TLC272 yükseltecinin paket gösterimi.....	53
Şekil 3.8. CD4051 in fonksiyon diyagramı.....	56
Şekil 3.9. Devrenin öncelikle breadboard üzerinde tasarlanarak deneylerinin yapılışının gösterimi	57
Şekil 3.10. Devrenin kapalı kutu içerisindeki görünümü.....	58
Şekil 3.11. Arayüzden port seçim ekranı	59
Şekil 3.12. Kodun kurulum ve döngü kısmının ana yapısı	60
Şekil 3.13. Arayüz Seçim Diyagramı.....	61
Şekil 3.14. Tarama Hızı değerleri	62
Şekil 3.15. Üçgen dalganın oluşturulması	63
Şekil 3.16. Oluşturulan üçgen dalgaların aynı V/DIV ve t/DIV üzerinden gösterimi	63
Şekil 3.17. Testere dişi dalganın oluşturulması	64
Şekil 3.18. Oluşturulan testere dişi dalgaların aynı V/DIV ve t/DIV üzerinden gösterimi	64
Şekil 3.19. Kare dalganın oluşturulması	65
Şekil 3.20. 50mV/s de oluşturulan bir kare dalganın gösterimi	65
Şekil 3.21. Değerlerin okunduğu kod kısmı	66

Şekil 3.22. PCB tasarımı	66
Şekil 3.23. FIR Filtre yazılımı	68
Şekil 3.24. Filtresiz görüntü(mavi) ve filtreli görüntü(kırmızı) karşılaştırması.....	69
Şekil 3.25. Cihazın tasarımının 3 boyutlu şekilde gösterimi(Turuncu: Elektrot bağlanma kısmı, Siyah: Aç/Kapa Anahtarı, Mavi: micro-USB girişi).....	70
Şekil 3.26. Cihazın Görünümü (Boyutlar:59mmx51mmx56mm)	70
Şekil 4.1. Dummy Cell Devresi	71
Şekil 4.2. Dummy Cell Yardımıyla Oluşan Devre	71
Şekil 4.3. Dummy Cell Sonucu oluşan Grafik.....	72
Şekil 4.4. Glikoz miktarını tespit etmek amacıyla deneyde kullanılan kimyasallar (en solda:D-Glikoz, ortada: ph 7.01 tampon çözeltisi, en sağda: destile su)	73
Şekil 4.5. Glikoz çözeltisinin görünümü.....	73
Şekil 4.6. Deneyde kullanılan On-Call plus adındaki elektrotlar.....	74
Şekil 4.7. Kronoamperometri Değerleri Dalga formatı başladıktan 1.5 sn sonraki ölçümler (Mavi-90, Siyah-180, Kırmızı-240, Yeşil-360, Cyan-480 mg)	75
Şekil 4.8. Glikoz Değerlerinin Regresyonu	76
Şekil 4.9. Askorbik asit ölçümünde kullanılan kimyasallar (en solda:taze sıkılmış portakal suyu, ortada: 3M KCl çözeltisi, en sağda: askorbik asit).....	77
Şekil 4.10. Çalışma Elektrotu	77
Şekil 4.11. Karşıt Elektrot.....	78
Şekil 4.12. Referans Elektrot	79
Şekil 4.13. Askorbik asit deney düzeneği	79
Şekil 4.14. Döngüsel Voltammetri Değerleri(Kırmızı-Turuncu Suyu, Mavi-0.2, Siyah-0.4, Cyan-0.6 mg).....	80
Şekil 4.15. Askorbik Asit Değerlerinin +758 mV da Regresyonu.....	81

Şekil 4.16. Döngüsel Voltammetri Değerleri(Kırmızı-Turunç Suyu, Yeşil-0.2, Siyah-0.4, Mavi-0.6 mg).....	82
Şekil 4.17. Askorbik Asit Değerlerinin +776 mV da Regresyonu (MCP4725 kullanılarak)	82





SİMGELER VE KISALTMALAR

μA	: mikro-Amper
μM	: mikro-Molar
AC	: Alternative Current (Alternatif Akım)
ADC	: Analog Digital Converter(Analogdan Dijitale Dönüştürücü)
BLE	: Bluetooth Low Energy Protokolü
C	: Kapasitör
CA	: Chronoamperometry (Kronoamperometri)
CE	: Counter Electrode (Karşıt Elektrot)
CV	: Cyclic Voltammetry(Döngüsel Voltammetri)
DAC	: Digital Analog Converter (Dijitalden Analoga Dönüştürücü)
DC	: Direct Current (Doğru Akım)
DNA	: Deoksiribo Nükleik Asit
EEPROM	: (Electronically Erasable Programmable Read-Only Memory) (Elektronik olarak silinebilen, programlanabilen ve yalnızca okunabilen hafıza)
emf	: Electromotive Force (Elektromotor kuvveti)
FIR	: Finite Impulse Response (Sonlu Dürtü Cevabı)
g	: gram
GUI	: Graphical User Interface (Grafik Arayüzü)
Hz	: Hertz
k	: bin
LCD	: Liquid Crystal Display (Sıvı Kristal Ekran)
LSV	: Linear Sweep Voltammetry(Doğrusal Süpürme Voltammetrisi)
M	: Molar
mA	: mili-Amper
MEMS	: Micro Electro Mechanical Systems (mikro elektro-mekanik sistemler)

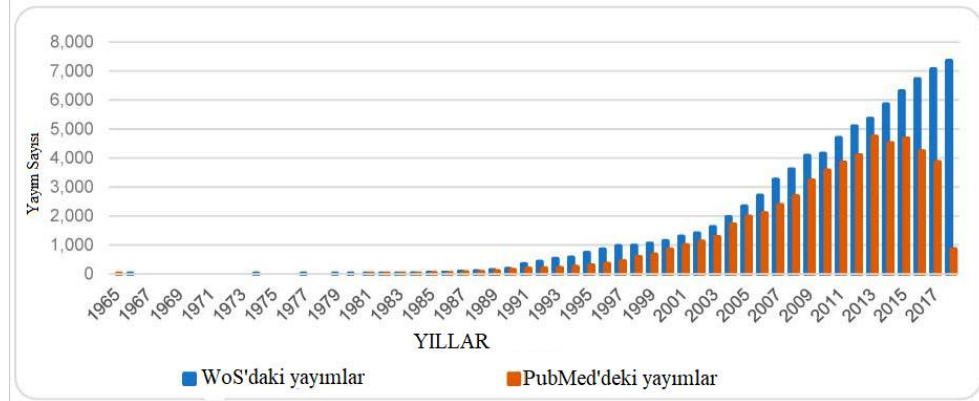
mg	: mili-gram
MHz	: Mega-Hertz
mL	: mili-Litre
mM	: mili-Molar
mV	: mili-Volt
nA	: nano-Amper
pA	: piko-Amper
PSoC	: Programmable System on a Chip (Bir chip üzerindeki programlanabilir sistem)
R	: Direnç
RE	: Reference Electrode (Referans Elektrodu)
SPE	: Screen Printed Electrode (Ekran Baskılı Elektrot)
TIA	: Transimpedance Amplifier (Transimpedans Yükselteci)
UMED	: Universal Mobile Electrochemical Detection (Evrensel Mobil Elektrokimyasal Tespit Cihazı)
UWED	: Universal Wireless Electrochemical Detection (Evrensel Kablosuz Elektrokimyasal Tespiti)
V	: Volt
WE	: Working Electrode (Çalışma Elektrodu)

1. GİRİŞ

Canlılar bulunduğu ortam ile etkileşim halindedir. Vücudumuzda bulunan kimyasal, fiziksel ve biyolojik sensörler yardımıyla çevremizde olan olayları anlayabiliriz. Örnek olarak gözümüzü, burnumuzu birer sensör olarak düşünebiliriz. Gözümüz gelen ışığı algılayarak beynimizin anlayacağı bir sinyale dönüştürür. Benzer şekilde burnumuz koku almaçlarıyla ortamda olan kokuyu algılar ve beyne bir sinyal olarak iletir. Yani vücudumuzda aslında birçok biyolojik sensör bulunmaktadır.

Canlı vücudunda bulunan organik ve organik olmayan maddelerin miktarında bir farklılık olduğunda, ya da biyolojik olarak uyumlu olmayan bir madde vücuda girdiğinde, vücut tepki göstermekte ve bu tepkiye bağlı olarak birçok hastalık ortaya çıkmaktadır. Vücutta bulunan herhangi bir madde miktarı hakkında bilgi alınması için biyolojik sinyalleri elektrik sinyallerine çeviren biyolojik sensörlere ihtiyaç duyulmaktadır. Bu biyolojik sensörlere kısaca biyosensör denilmektedir.

Son yıllarda biyosensörlerin kullanımı, biyolojik ve kimyasal süreçlerin sürekli izlenmesi ve bu süreçlerin anlamlandırma ihtiyacından dolayı artış göstermiştir. Biyosensörler, biyolojik bir algılama yapısı içeren analitik cihazlardır. Bu sensörler, basit, kullanımı kolay formatlarla, karmaşık biyoanalitik ölçümler sağlamak için fizikokimyasal dönüştürücülerle birlikte biyolojinin hassasiyetini ve özgüllüğünü kullanırlar.



Şekil 1.1. 1965 den 2018 a kadar iki farklı kaynaktan yayınlanan biyosensör makalelerinin sayısından oluşan grafik (Olson ve Bae, 2019)

Şekil 1.1 de gösterilen grafik incelendiğinde 1965-1980 yılları arasında biyosensör alanında çalışmalar oldukça az sayıdadır. Fakat son yıllarda biyosensör alanına olan ilginin arttığı görülmektedir.

Biyolojik ve biyokimyasal işlemlerin klinik tanılama, tıbbi uygulamalar ve daha birçok uygulamada rolü büyük önem arz etmektedir. (Turner, 2013)

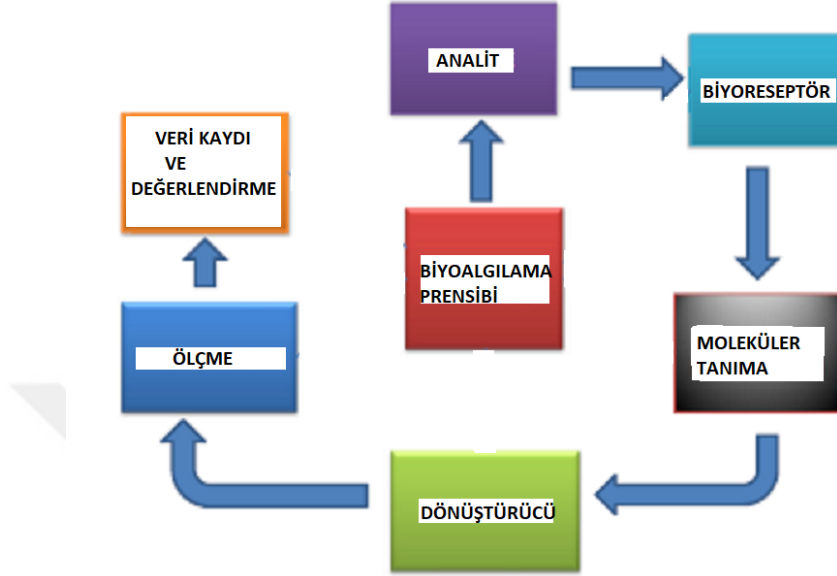
Günümüzde teknolojiye gelişmeler sayesinde biyosensörlerin kullanımı giderek artmış ve diğer birçok algılama tekniğinin yapamayacağını tespit etme özelliğine sahip olmuşlardır. Artık pek çok biyosensör üretilmekte ve değerli algılama sistemlerinin geliştirilmesinde kullanılmaktadır.

1.1 Biyosensör

Biyolojik sensör yani biyosensörlerin geliştirilmesinde ilk olarak 1962'de Clark ve Lyons tarafından geliştirilen pH ve oksijen elektrotunda enzimatik membran (zar) kullanılmış, üre ve kandaki glikoz miktarının ölçülebileceği ihtimali üzerinde durulmuştur. 1967'de Updike ve Hicks tarafından, oksijen elektrotunun üzerinde glikoz oksidaz içeren bir jelin polimerize edilmesi ile elde edilen bir enzim elektrotu hazırlanmıştır. Normal sensör yapısının biyolojik bir sistem ile

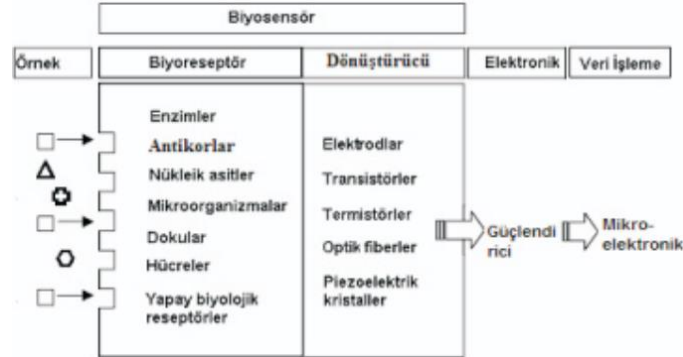
birleştirilmesi çözültideki yapıların teşhisinde kolaylık sağlamıştır. Buradan yola çıkılarak yeni bir sensör sınıfı olan biyolojik sensörler geliştirilmiştir. (Blum ,1991) Elektronik olarak çalışan biyosensörler, ortamda bulunan biyolojik analitlere karşı seçici özellik gösteren, analitlerin yapı ve yoğunluk bilgilerini ölçüp işlenebilir elektrik sinyaline dönüştüren analitik cihazlardır. Bazı biyosensörler biyolojik ve elektronik yapı olmak üzere iki kısımdan oluşur. Biyolojik yapıyı bir biyoreseptör, elektronik yapıyı ise bir dönüştürücü ve dönüşen veriyi işleyecek bir mikroişlemci oluşturur. Örnek olarak bir glikoz sensörü hassas ölçümler yaparak kandaki glikoz miktarını ölçebilmektedir. Fakat bu biyosensörde hassasiyet, doğrusallık gibi bazı özellikler bulunmuyorsa, ölçülen bilgi ile hesaplanan bilgiye denk olmadığı gözlemlenebilir. Bu durumlarda verilen bilginin düzeyine göre istenmeyen durumlar oluşabilir. Bundan dolayı biyosensörlerde bazı özelliklerin bulunması gerekmektedir ve bu özellikleri şöyle sıralayabiliriz:

- Hassas, kesin ve tekrarlanabilir yüksek bir hassasiyete sahip olmalıdırlar.
- Farklı konsantrasyon değerlerinde doğrusallık elde etmelidir.
- Ölçüm esnasında sıcaklık, pH gibi fiziksel parametreler en uygun hale getirilmelidir.
- Küçük ve biyoyumlu olmalıdır çünkü klinik uygulamalarda teşhis amacıyla kullanıldığında, girişimsel gözlem için kullanılabilirdir.
- Bunların dışında, biyosensör taşınabilir, uygun maliyetli, küçük ve yarı vasıflı operatörler tarafından kullanılabilir durumda olmalıdır.
- Son olarak gerçek zamanlı ölçümler yapabilmelidir. (Morrison et al., 2007)



Şekil 1.2. Biyosensörlerin temel prensibi (Morrison et al., 2007)

Biyosensörlerin temel prensibini Şekil 1.2 de de görüleceği gibi şu şekilde açıklayabiliriz. Bir analit, yani ölçülmesi istenilen biyomolekül, bir biyoreseptör tarafından algılanır. Buradan sonra moleküler tanıma dediğimiz biyoreseptör ile analitin birbirine bağlanma kısmı gerçekleşir. Daha sonra bu verileri gözlemlemek amacıyla bir dönüştürücü yardımıyla elektronik bir sinyale dönüştürülür. Daha sonra oluşan bu analog veriler dijital verilere dönüştürülür. Oluşan bu dijital veriler sayesinde ölçülen analitin kantitatif ve kalitatif olarak incelenmesi yapılabilir. Şekil 1.3 de ise biyosensörlerin genel çalışma algoritmasına yer verilmiştir.



Şekil 1.3. Biyosensörlerin Genel Yapısı (Aykut ve Temiz, 2006)

Biyosensörlerin birçok molekül tespiti üzerinde kullanılan analitik tekniklerine göre avantajları ve dezavantajları mevcuttur. Bu avantajlardan bazıları, biyosensörlerin daha hızlı analiz yapabilmesi, maliyetlerinin daha uygun olması, taşınabilir bir yapıda olması ve biyosensör ile tespit edilecek örneğin hazırlanmasının kolaylığıdır. Dezavantajı olarak ise bir biyosensör sadece bir analitin tespitine olanak sağlamaktadır. (Akbayirli ve Akyılmaz, 2007)

Çizelge 1.1. Analitiksel teknikler ile biyosensörler Avantaj ve Dezavantajlarının Karşılaştırılması (Kökbaş et al., 2013)

Biyosensörler	Analitik Teknikler
Hızlı ve gerçek zaman tespiti	Zaman Alıcı
Düşük Maliyet	Pahalı
Taşınabilir	Laboratuvarda görüntüleme
Basit Kullanım	Eğitimli Laboratuvar Personeli
Örnek hazırlamanın basitliği	Kapsamlı örnek hazırlama
Tek analit tespiti	Birden fazla analit tespiti
Duyarlı	Duyarlı
Özgül	Özgül
Tekrar Kullanılabilir	Tekrar Kullanılabilir

1.2.1 Biyosensör Bileşenleri

Biyosensörler üç temel kısımdan oluşur. Bu kısımlar; biyoreseptör, dönüştürücü ve sinyal işleme sistemidir. Analit ve reseptör bağlandıktan sonra bir dönüştürücü yapısıyla elektrik sinyaline dönüştürülerek veriler elde edilir. Bu veriler daha sonra bir sinyal işleme aşamasından geçerek analiz gerçekleştirilir.

Biyoreseptör(ligand) ya da biyolojik tanıma elemanı, hedef analitin yakalandığı biyolojik bağlanma bölgesidir. Biyoreseptörler genellikle 5 büyük sınıfa ayrılır. Bunlar; enzim, antikor/antijen, nükleik asit/DNA, hücresel yapı/hücre, biyomimetikdir. (Biyomimetik, insanların karmaşık problemleri çözmek için tasarladığı taklit model veya sistem)

Dönüştürücü ise moleküler tanıma sonucunda oluşan sinyal olaylarını, tespit edilebilir sinyallere dönüştüren kısımdır. Bu tespit edilebilir sinyaller elektrokimyasal (potansiyometri, iletkenlik tabanlı, impedimetri, amperometri, voltammetri), optik (kolorimetrik, floresan, luminans(ışıldama), interferometri), kalorimetrik(termistör), ağırlık değişimi (piezoelektrik/akustik dalga), ya da doğada bulunan manyetik bir sinyal olabilir. (Sağbaş ve Durakbaşı, 2009)

Çizelge 1.2. Biyosensör Bileşenleri ve Dönüştürücü Sistemi(Kökbaş et al., 2013)

Analit	Biyoreseptör	Dönüştürücü Sistemi
Hormon	Enzimler	Elektrokimyasal Esaslı
Enzim	Antikorlar	Yarı İletken Esaslı
Koenzim	Hücre	Optik Esaslı
Substrat	Doku Kesitleri	Fotometri Esaslı
İnhibitör	Mikroorganizmalar	Fluorometri Esaslı
Antikor-Antijen	Nükleik Asitler	Piezoelektrik
Nükleik Asit	Lipidler	Kuartz kristal mikrobalsan(QCM)

Tablo 3 de kullanılan analit yapısına bağlanacak olan reseptör yapısı görülmektedir. Örneğin bir hormon analiz edilecekse bunun için gereken

biyoreseptör yapısı enzimdir. Bunların bağlanması sonucu oluşacak tepkime, elektrokimyasal esaslı bir dönüştürücü sisteminde incelenir.

1.2.2. Moleküler Tanıma

Moleküler tanıma: bir molekülün bir başka molekülü, moleküler geometrisi ve arasında oluşan bağlanma etkileşimleri sayesinde "tanıma" yeteneğidir. Bu etkileşimler; hidrojen bağı, metalik bağ, hidrofobik kuvvetler, van der Waals kuvvetleri, halojen bağı ve elektrostatik, elektromanyetik etkiler gibi kovalent olmayan bağ ile iki veya daha fazla molekül arasındaki etkileşimi ifade eder.

Moleküler tanıma, biyolojideki birçok sürecin temelini oluşturur. Bunlar:

- Reseptör-substrat bağlama
- Enzim katalizi
- Multiprotein komplekslerinin montajı
- İyon pompaları, iyonoforlar ve kanallar aracılığıyla zarlar arasında aktif ve pasif iyon taşınması

1.2.3. Elektrokimyasal Biyosensörler

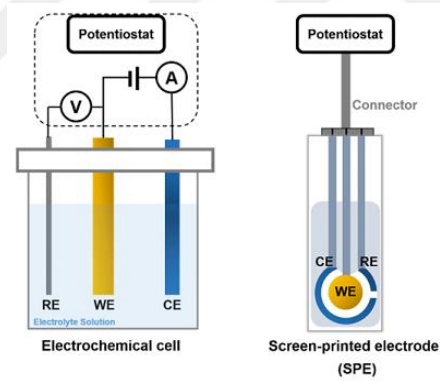
Elektrokimya, elektriksel ve kimyasal etkilerin karşılıklı ilişkisi ile ilgilenen kimya dalıdır. Bu alanın bir kısmı da, bir elektrik akımının geçişinin neden olduğu kimyasal değişikliklerin incelenmesini konu alır.

Elektrokimyasal algılamada uygulanan teknik, optik tekniklerin en hassas olanı olan floresans gibi optik algılama yöntemlerini tamamlayıcı niteliktedir. Elektrokimyasal algılama, bir referans elektrotla karşılaştırılarak ölçülen çözeltideki analitin kimyasal potansiyeline dayanır. Birçok kimyasal tepkime, çözeltinin elektriksel özelliklerinde bir miktar değişikliğe neden olan iyonlar veya elektronlar üretir ya da tüketir. Oluşan elektron değişikliği algılanabilir ve ölçüm parametresi olarak kullanılabilir. Elektrokimyasal yanıt çözeltinin yoğunluğundan ziyade analit türünün aktivitesine bağlıdır.

Elektrokimyasal biyosensörler, oksidasyon (yükseltgenme) ve indirgenme (redaksiyon) tepkimeleri sonucu üretilen akımı ölçmektedir. Üretilen bu akım, bulunan elektroaktif türlerin yoğunluğu ya da üretim/tüketim oranı ile ilişkilendirilebilir. Bir elektrokimyasal sensörün yapısında elektrokimyasal hücre ve potansiyostat bulunmaktadır. Elektrokimyasal hücre yapısı, çözelti ve elektrotlardan oluşmaktadır. Bu elektrotlar üzerinden geçen akım potansiyostat yardımıyla ölçülebilir.

1.2.3.1. Elektrokimyasal Hücre

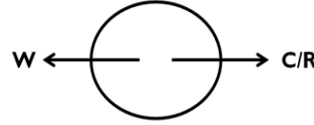
Elektrokimyasal hücre: Bir elektrokimyasal hücre içerisinde, çeşitli elektrotların ve çözeltinin bulunduğu tepkimeler sonucu oluşan hücre yapısıdır. Bir elektrokimyasal analizör, bir elektrokimyasal hücredeki potansiyeli ve/veya akımı ölçerek, bir analiti incelemede kullanılan bir araçtır.



Şekil 1.4. Farklı yapıdaki elektrokimyasal hücrelerin şematik gösterimi(Damiati ve Schuster, 2020)

Bir elektrokimyasal hücrenin 2 elektrotlu konfigürasyon ya da 3 elektrotlu konfigürasyon olmak üzere temelde iki farklı konfigürasyonu bulunmaktadır. Günümüzde gelişen teknolojiyle beraber bu elektrotlara hassasiyeti arttırmak amacıyla eklemeler yapılabilmektedir. İki elektrotlu konfigürasyonda hücrede bir

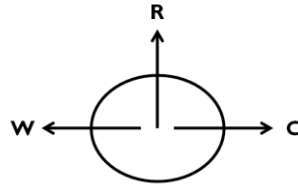
çalışan elektrot ve bir tane referans elektrot ya da bir tane yardımcı(karşıt) elektrot bulunmaktadır.



Şekil 1.5. İki elektrotlu bir kimyasal hücrenin gösterimi

İki elektrotlu elektrokimyasal hücrelerle yapılan deneylerde tüm hücre ölçülmektedir. Elektrokimyasal hücre boyunca akan akım tarafından düşen tüm voltaj ölçülmektedir. Birkaç genel durumda iki elektrotlu kurulumlar kullanılırlar. Bunlardan ilki, tüm hücre voltajının ölçüldüğü yerler olarak söylenebilir(piller, yakıt hücreleri). Diğer kullanım yeriye, yardımcı elektrot potansiyelinin deney boyunca kaymamasının bekleneyeği yerdir. Bu genellikle düşük akımlar ve/veya kısa zaman ölçekleri sergileyen sistemlerde kullanılır.

Üç elektrotlu bir yapıdaysa bir yardımcı elektrot bu elektrokimyasal hücre konfigürasyonuna eklenir. Elektrokimyasal hücrede bir çalışan elektrot, bir yardımcı(karşıt) elektrot ve bir referans elektrot bulunmaktadır.



Şekil 1.6. Üç elektrotlu bir kimyasal hücrenin gösterimi

Üç elektrotlu konfigürasyonlar, iki elektrotlu konfigürasyonlara göre deneysel olarak belirgin bir avantaja sahiptir. Bu avantaj, çalışan elektrotun potansiyel değişikliklerinin, karşıt(yardımcı) elektrotta meydana gelebilecek değişikliklerden bağımsız olarak ölçülmesidir. Bu izolasyon, belirli bir reaksiyonun

güvenli ve doğru bir şekilde çalışılmasına izin verir. Bu nedenle elektrokimyasal deneylerde kullanılan en yaygın konfigürasyon üç elektrotlu konfigürasyondur.

1.2.3.2. Potansiyostat

Potansiyostat, elektrokimyasal hücreyi kontrol etmek ve elektroanalitik deneyleri gerçekleştirmek için gerekli olan elektronik donanımdır. Potansiyostatlar kontrol edebildiği çalışma elektrodu sayısına göre bipotentiostat ve polipotentiostat olarak isimlendirilirler. Bir bipotentiostat iki çalışan elektrotu kontrol edebilen, bir polipotentiostat ikiden fazla çalışan elektrotu kontrol edebilen potansiyostatlardır.

Çalışma elektrotunun potansiyeli, sabit bir potansiyele sahip olan referans elektrotuna göre kontrol edilerek ayarlanır. Bu potansiyel yardımıyla çalışma elektrotu üzerinde bir tepkime gerçekleşir. Bu tepkimenin sonucunda bir akım oluşur. Kontrol edilerek değiştirilen potansiyel sayesinde akımda da değişim olur. Bu akım değişimi sonucu analitin kantitatif ve kalitatif analizi yapılır.

İlk potansiyostatların çoğu bağımsız olarak çalışabilir ve fiziksel bir veri izleme yoluyla veri çıkışı sağlayabilir yapıdaydılar. Modern potansiyostatlar ise, kişisel bir bilgisayarla arayüz oluşturacak ve özel bir yazılım paketi aracılığıyla çalışacak şekilde tasarlanmıştır. Yazılım, kullanıcının deneyler ve deneysel koşullar arasında hızla geçiş yapmasına olanak tanır (Abdullah et al., 2019).

1.2.3.3. Elektrokimyasal Hücredeki Elektrot Çeşitleri

Bir elektrokimyasal hücrede genel olarak, çalışma elektrodu, referans elektrot ve yardımcı(karşıt) elektrot bulunur.

a) Çalışma Elektrotu

Çalışma elektrotu (Working Electrode) ilgili reaksiyonun gerçekleştiği elektrottur.

Üç elektrotlu bir elektrokimyasal hücrede, çalışma elektrotu, çalışan elektrot üzerindeki tepkimenin indirgeme (redüksiyon) ya da yükseltgenmesine (oksidasyon) bağlı olarak katodik veya anodik olarak adlandırılabilir.

Çalışan elektrotun yapıldığı malzeme voltametrik ölçümlerin performansı için önemlidir. Çalışma elektrotunda bu malzeme seçimi iki faktöre bağlı olarak yapılmaktadır. İlki hedef analitin redoks davranışı, diğeri ölçüm için gerekli bölge üzerinden akan akım. İlgili tepkime (oksidasyon ya da redüksiyon) çalışma elektrotunda gerçekleştiğinden, hem yüksek gürültü karakteristiği hem de tekrarlanabilir bir yanıt verebilmelidir.

Çalışma elektrotunun çeşitleri yapıldığı malzemeye göre değişmektedir. Elektrot çeşitlerinin isimleri yapıldığı malzeme ya da yapım şeklinin ismini almaktadır. Bunlar: Camsı karbon(Glassy-Carbon), altın elektrot, cıva elektrot, ekran baskılı(screen-printed) elektrot, gümüş elektrot, indiyum kalay oksit kaplı cam elektrot, karbon pastası elektrot vb. Bunlardan en yaygın olarak kullanılanlar ise, platin, altın, cıva ve camsı karbondur. Daha özel uygulamalarda ise yarı iletken ve diğer metaller kullanılmaktadır.

b) Referans Elektrotu

Referans elektrotu, elektrokimyasal hücrede sabit bir potansiyel üretmek için kullanılır.

Bir elektrottan akım geçişi elektrotun potansiyelini değiştirebilir. Referans elektrotun potansiyelini sabit tutmak amacıyla, iki faktöre göre, referans elektrotu seçimi yapılır. Bunlardan ilki potansiyostatın, yüksek empedansa sahip referans elektrotuna karşı az tolerans göstermesinden ötürü, düşük empedansa sahip olmasıdır. Yüksek empedanslı referans elektrotu sadece potansiyostatın tepkisini göstermekle kalmayarak sistemin çevresel gürültüye duyarlılığını da artırır. Diğeri ise, referans elektrot polarize(kutuplaşma) olmayan bir elektrot olmalıdır. Çünkü küçük akımların geçişi potansiyeli değiştirmez. Referans elektrotlar, zamanla kararlı olan ve sıcaklığın değişimiyle birlikte aktivite değerleri iyi bir şekilde gösterebilen

yarı hücre bileşenleri kullanılarak yapılmalıdır. Sabit, yeniden üretilebilir elektrot potansiyellerine sahip olmalıdırlar. En bilinen referans elektrotu, birim aktivitede hidrojen iyonları içeren bir çözeltiye daldırılan, hidrojen gazının adsorbe edildiği, platin benzeri inert bir yapıdan oluşan standart hidrojen elektrotudur. (Lewenstam ve Inzelt, 2013)

En çok kullanılan referans elektrotu gümüş/gümüş klorid(Ag/AgCl) elektrottur.

c) Yardımcı(Karşı) Elektrot

Yardımcı elektrot(CE), elektrokimyasal hücredeki akım devresini kapatmak için kullanılan bir elektrottur. Genellikle inert bir malzemeden (örneğin platin, altın, grafit ve camı karbon) yapılır ve elektrokimyasal reaksiyona katılmaz. Akım çalışan elektrot ve karşı elektrot arasında aktığı için, CE'nin toplam yüzey alanı çalışma elektrotunun alanından daha yüksek olmalıdır, böylece elektrokimyasal kinetiğinde sınırlayıcı bir faktör olmayacaktır. (Thomas ve Henze, 2001).

Çalışan elektrot bir anot olarak çalıştığında, karşı elektrot bir katot olarak işlev görür Bu olay çift taraflı olarak değişebilir. Çalışan elektrot katot ise karşı elektrot bir anot olarak görev yapmaktadır.

1.2.3.4. Elektrokimyasal Ölçüm Türleri

Moleküler tanıma olayı sırasında elektrokimyasal değişikliğin tespitine bağlı olarak, elektrokimyasal ölçüm türleri beş sınıfa ayrılabilir:

1. Amperometrik
2. Potansiyometrik
3. Voltametrik
4. Empedimetrik
5. İletkenlik tabanlı

Çizelge 1.3. Biyosensörlerde Kullanılan Reseptör Türleri ve Bunlara Bağlı, Belirli Türleri Tanıyan Elektrokimyasal Ölçüm Teknikleri(Thvenot et al., 1999)

Analit	Reseptör/Kimyasal Sistem	Ölçme Tekniği
İyon	Değerlik Metal Oksitler İyon İletken İnorganik Kristaller Biyolojik İyonoforlar İyon Değiştirici Camlar Enzim(s)	Potansiyometrik Voltammetrik
Çözülmüş gazlar, buharlar, kokular	İki Tabakalı Lipit veya Hidrofobik Zar İnert Metal Elektrot Enzim(s)	Potansiyometrik, Voltammetrik Amperometrik Amperometrik veya Potansiyometrik
Substratlar	Enzim(S), Tüm Hücreler	Amperometrik, Potansiyometrik
Antikor	Antijen Oligonükleotit	Amperometrik, Potansiyometrik veya Empedimetrik

Çizelge 1.4. de, elektrokimyasal biyosensörlerin birçok analitin analizinde kullanılmaktadır. Analitin reseptöre karşı göstereceği davranış farklıdır ve kullanılan metot seçimi bu davranışa göre çeşitlilik göstermektedir. Örneğin bir iyon incelendiğinde kullanılan metot ya amperometrik ya da voltammetrik olmalıdır. Bu iki ölçüm tekniği yine kullanılan analitin elektrokimyasal tepkimedeki oluşturacağı akım ya da voltaj değişimine göre değişmektedir.

1.2.3.5. Amperometrik Elektrokimyasal Biyosensörler

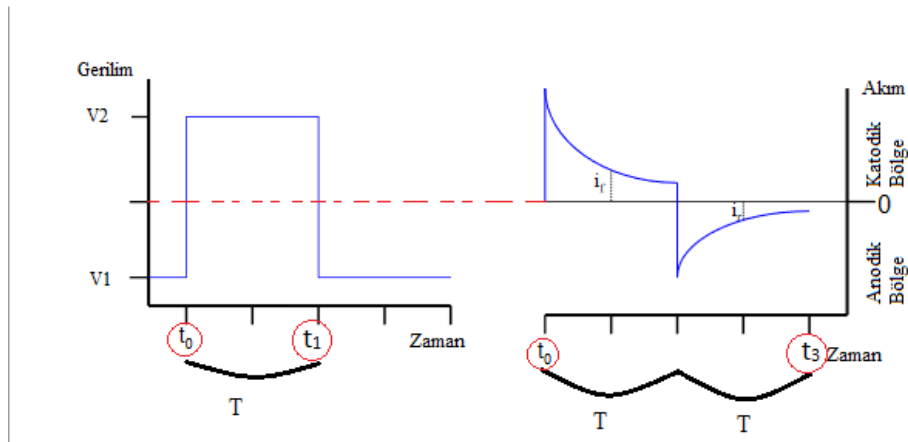
Amperometrik elektrokimyasal biyosensörler, elektroaktif maddelerin elektrokimyasal oksidasyonundan veya indirgenmesinden kaynaklanan akımları,

çalışan elektroda uygulanan sabit bir potansiyel (gerilim) altında moleküler tanıma elemanı ile ölçer.

Elektroaktif maddelerin elektron alış-verişi yapmaya iten kuvvet uygulanan potansiyeldir. Elde edilen akım, analit konsantrasyonu ile orantılı ve aynı zamanda moleküler tanıma sürecini temsil eder.

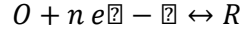
a) Kronoamperometri Tekniği

Bu teknikte çalışma elektrotuna uygulanan gerilim ani bir şekilde değiştirilir. Bu ani değişiklik belirli değerlerde yapılır. Çalışma elektrotunun gerilimi faradayik bir tepkime olmayacak bir gerilimden (V_1), elektron transferi hızının çok büyük olduğu gerilime (V_2) aniden değiştirilir. Bunun sonucunda durgun bir ortamda, bir akım-zaman ilişkisi ortaya çıkar. Bu akım zaman ilişkisini incelemenin dayanan tekniği, “Kronoamperometri” (CA, chronoamperometry) denir.

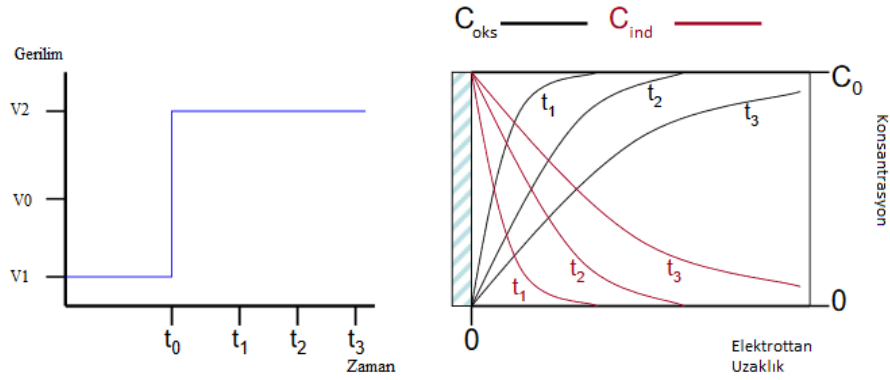


Şekil 1.7. Kronoamperometrik çalışmalarda uygulanan gerilim-zaman grafiği ve elde edilen akım-zaman grafiği (Rezaei & Irannejad, 2019)

Bu teknikte kütle transferi, sadece difüzyonun etkisi ile gerçekleşir. Başlangıç çözeltisindeki yükseltgen türü (O) ve indirgenen tür (R) dir.



Tersinir olan yukarıdaki tepkime sırasında, çalışma elektrotuna ilk olarak indirgenme veya yükseltgenme oluşturmayacak bir V1 gerilimi uygulanır. Daha sonra gerilim Şekil 1.10 da görüldüğü gibi daha yüksek bir gerilime aniden değiştirilir. Uygulanan V2 potansiyeli belirli bir süre(τ)sabit tutulur. Bu esnada akım-zaman grafiği incelenir.



Şekil 1.8. Kronoamperometrik çalışmalarda konsantrasyon profilinin zamanla değişim grafiği (Rezaei & Irannejad, 2019)

Şekil 1.11 de zaman değiştikçe grafikte akım-yoğunluk grafiğindeki değişim görülmektedir. t_0 anında ölçülen akım ile t_3 anında ölçülen akım birbirinden farklıdır. Bu yüzden kronoamperometri tekniği incelenirken, analitin farklı miktarlardaki ölçümlerinde aynı saniyedeki akım değeri karşılaştırılır.

Akım-zaman grafiğindeki değişim Cottrell eşitliği ile açıklanır. Cottrell eşitliğine bakılarak;

$$i(t) = nFAC D^{0.5} \pi^{0.5} t^{-0.5} = k t^{-1/2}$$

$i(t)$: Akım

t : zaman

F:Faraday sabiti (96485 C/mol)

C:Analitin derişimi

D:Difüzyon katsayısı

A:Elektrodun alanı(cm²)

n: Bir analit molekülünü azaltmak / oksitlemek için gereken elektronların sayısı

Cottrell eşitliğine göre ;

- Maddenin difüzyon katsayısı
- Çalışma elektronun gerçek alanı
- Elektron transfer tepkimesinin hız sabiti
- Elektrot reaksiyonunun mekanizması
- Elektron aktarım basamağına eşlik eden bir kimyasal tepkimenin hız sabiti
- Elektrotta bir adsorbsiyon meydana gelip gelmediği

bulunabilir. (Adsorbsiyon: Çözünmüş katı maddeler ile sıvı ve gaz maddelerin atomlarının yüzeye tutunması ile ilgili kimyasal ve fiziksel bir kuvvettir.)

(Bard ve Faulkner, 2002)

1.2.3.6. Potansiyometrik Elektrokimyasal Biyosensörler

Potansiyometrik biyosensörlerde moleküler tanıma tepkimesi, bir indirgenme potansiyeline, bir zar potansiyeline veya bir iyonun aktivitesine neden olur. Bu nedenle, potansiyometrik biyosensörler, başka bir elektrota göre bir elektrotta bir potansiyelin ölçümünü kullanır.(Bard ve Faulkner, 2002)

Çoğunlukla, seçici geçirgen (Bir iyon değişim zarından: anyonları geçirir, ancak katyonları geçirmez veya tam tersi) bir dış katmana, zara veya istenen bir türe(biyoaktif bir madde, genellikle enzim) duyarlı bir yüzeyden oluşur.

Enzimle katalize edilen tepkime, iyon seçici bir elektrot tarafından tespit edilen bir türü üretir veya tüketir.

1.2.3.7. Voltammetrik Elektrokimyasal Biyosensörler

Voltammetrik elektrokimyasal biyosensörlerde kullanılan teknik voltametridir. Voltametri, elektrokimyasal analizde diğer tekniklere göre, çok yönlü bir tekniktir.

Voltammetrik teknikte hem akım hem de potansiyel ölçülür ve kaydedilir. Akımın tepe noktasının konumu belirli bir kimyasalla ilişkili ve tepe akım yoğunluğu ise o türün konsantrasyonu ile orantılıdır.(Bard & Faulkner, 2002)

Voltammetri, tek bir elektrokimyasal deneyde farklı tepe potansiyellerine sahip birden çok bileşiği algılayabilir ve böylece birden çok analitin eşzamanlı olarak algılanmasını sağlar. Voltammogram adı verilen akım-gerilim grafiği, oluşan indirgenme ve yükseltgenme tepkimeleri sonucunda ortaya çıkan akım değerlerinden ve potansiyostata verilen gerilim değerlerinden oluşmaktadır.

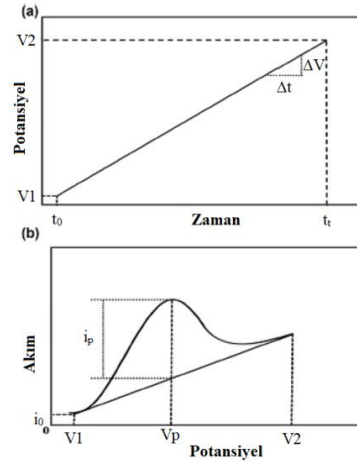
Voltammetrik yöntemler arasında;

- Döngüsel Voltammetri(Cyclic Voltammetry, CV)
- Doğrusal Tarama Voltammetri(Linear Sweep Voltammetry, LSV)
- Hidrodinamik Voltammetri
- Diferansiyel Atım Voltammetri
- AC Voltammetri
- Polarografi
- Sıyırma Voltammetri

bulunmaktadır. Bunlardan en yaygın olarak kullanılan iki yöntem CV ve LSV dir.

a) Doğrusal Tarama Voltammetri(LSV)

Çalışan elektrot potansiyeli, doğrusal yönde arttırılarak tarama işlemi gerçekleştirilir.



Şekil 1.9. Doğrusal Tarama Voltammetri a) Anodik tarama potansiyeli-zaman grafiği b) Voltammogram (V1: Başlangıç Voltajı V2: Bitiş Voltajı V_p : Tepe Voltajı i_0 : Başlangıç Akımı i_p : Akımın Tepe Noktası)(Chandran et al., 2015)

Şekil 1.9 daki grafikte gerilim V_1 den başlanarak V_2 değerine kadar arttırılmaktadır. Eşzamanlı olarak verilen bu gerilimler sonucu gerçekleşen tepkimede ortaya çıkan akımlar toplanılır. Tepe gerilim değeri bize analitin indirgenme tepkimesindeki maksimum akıma ulaştığı noktayı verir.

Oluşan akım değeri Faraday'ın elektroliz kanununa göre şöyle ifade edilebilir:“ Bir elektrotta serbest hale geçen madde miktarı, elektrolitten geçen elektrik yükü ile doğru orantılıdır. Elektrotta serbest kalan madde miktarı, bu maddenin eşdeğer ağırlığıyla doğru orantılıdır.”

$$Q = I \times t$$

Q:Değişikliğe uğrayan madde miktarı I:akım şiddeti

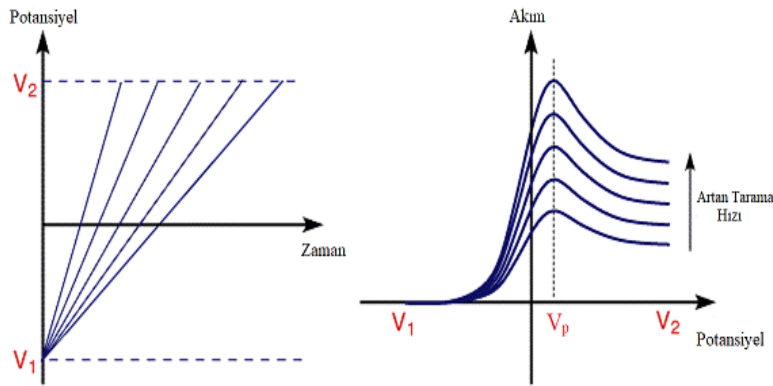
t:zaman

Faradayik akım, Faraday yasalarına uyar ve elektroaktif bileşiğin(Aox, Adsorbe Edilebilir Organik Halojenürler) deşarj olmasından kaynaklanır. Kapasitif akım, elektrot ve çözelti arasındaki arayüzde bir çift elektrik katmanının büyümesiyle üretilir. Bu çift katman, solüsyondaki destekleyici elektrolitin yüksek konsantrasyonundan kaynaklanır ve yüksek kapasiteli bir kondansatör görevi görür. Elektrottan geçen toplam akım, nihayet bu kondansatörün şarj akımının (kapasitif akım) ve faradayik akımın toplamına bağlıdır.

Gerilim tarama hızı(scan rate) (v), hattın eğiminden hesaplanır. Aralığı taramak için harcanan zamanı açıkça değiştirerek tarama hızını değiştiririz. Kaydedilen doğrusal tarama voltammogramının özellikleri, aşağıdakileri içeren bir dizi faktöre bağlıdır:

- Elektron transfer reaksiyonlarının hızı
- Elektroaktif türlerin kimyasal reaktivitesi
- Voltaj tarama hızı

LSV’de, tarama hızı artırıldığında kapasitif akım artar.



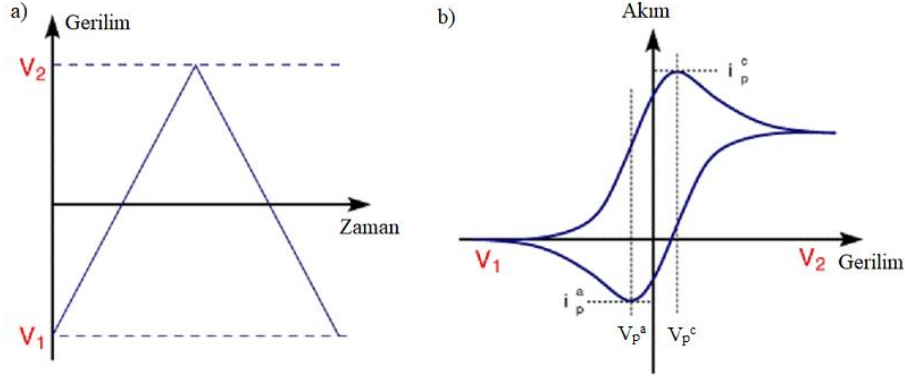
Şekil 1.10. Artan Tarama Hızının LSV ye olan etkisi(Andrienko, 2008)

Her eğri aynı forma sahiptir, ancak toplam akımın artan tarama hızıyla arttığı Şekil 1.10 da görülmektedir. Tarama hızı düştükçe doğrusal süpürme voltammogramının kaydedilmesi daha uzun sürecektir.

Bu nedenle, elektrot yüzeyinin üzerindeki difüzyon katmanının boyutu, kullanılan voltaj tarama hızına bağlı olarak farklı olacaktır. Yavaş bir voltaj taramasında, hızlı bir taramaya kıyasla difüzyon katmanı, elektrot alanından çok daha fazla büyük olacaktır. Elektrotta olan akım, akı ile doğru orantılı olduğundan, akımın büyüklüğü yavaş tarama hızlarında daha düşük ve yüksek hızlarda daha yüksek olacaktır. Bu, LSV'yi (ve CV'yi) incelerken önemli bir noktayı vurgular, ancak grafikte herhangi bir zaman eksenine olmamasına rağmen, voltaj tarama hızı görülen davranışı güçlü bir şekilde etkiler. Tüm tarama hızlarında maksimum akımın pozisyonu, aynı tepe noktasına sahip voltaj değerine geldiği açıktır. Bu hızlı elektron aktarım kinetiğine sahip elektrot tepkimelerinin bir özelliğidir. Bu hızlı süreçler genellikle tersinir elektron aktarım tepkimeleri olarak adlandırılır.

b) Döngüsel Voltammetri(CV)

Döngüsel voltammetri, çalışan elektrotta üçgen şekilli bir tarama gerçekleştiren LSV'ye benzer. Bu durumda voltaj sabit bir oranda iki değer arasında taranır, voltaj V_2 'ye ulaştığında tarama tersine çevrilir ve voltaj V_1 'e kadar tarama yapılır. Döngüsel bir voltammetrinin grafiği kapalı bir eğriden oluşur: tersine çevrilebilir redoks çiftleri hem katodik hem de anodik tepe noktaları gösterirken, geri döndürülemez redoks sistemleri yalnızca bir tepe gösterir.



Şekil 1.11. a) Tarama potansiyeli-zaman grafiği b) Döngüsel Voltammetri ($\text{Fe}^{3+} + e^- \leftrightarrow \text{Fe}^{2+}$ tepkimesi için)(Andrienko, 2008)

(V_1 : Anodik yönde başlangıç, katodik yönde bitiş gerilimi V_2 : Katodik yönde başlangıç, anodik yönde bitiş gerilimi i_p^c : Katodik yöndeki tepe akımı i_p^a : Anodik yönde tepe akımı V_p^a : Anodik yöndeki tepe gerilimi V_p^c : Katodik yöndeki tepe gerilimi)

Şekil 1.11 deki grafikte, potansiyostata verilen gerilim V_1 den başlanarak V_2 değerine kadar artırılmaktadır. Sonrasında V_2 den V_1 e doğrusal olarak azaltılır. Eşzamanlı olarak verilen bu gerilimler sonucu gerçekleşen tepkimede ortaya çıkan akımlar toplanılır. Gerilimi önce yükseltip sonra azaltmasının nedeni, hem indirgenme hem de yükseltgenme tepkimeleri sonucunda oluşan akım değerlerini incelemektir. Tepe gerilim değeri bize analitin indirgenme tepkimesindeki maksimum akıma ulaştığı noktayı verir.

Bir redoks sistemi potansiyel tarama boyunca dengede kalırsa, redoks işleminin tersine çevrilebilir.

Tepe akımı ise Randles-Ševčík denkliğine göre hesaplanırsa;

$$i_p = 2.69 \times 10^5 \times n^{3/2} \times A \times C \times D^{1/2} \times V^{1/2}$$

n: aktarılan elektron molekülünün sayısı

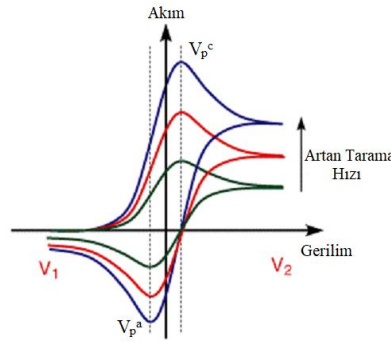
A: elektron yüzey alanı(cm^2)

C: konsantrasyon($\text{mol} \cdot \text{cm}^{-3}$)

D: Difüzyon katsayısı(cm^2s^{-1})

Tepe voltajının pozisyonları, voltaj tarama hızının bir fonksiyonu olarak değişmez.

Tıpkı LSV’de olduğu gibi CV’de de tarama hızı aynı etkiyi göstermektedir.



Şekil 1.12. Artan Tarama Hızının CV ye olan etkisi(Wang, J.,2000)

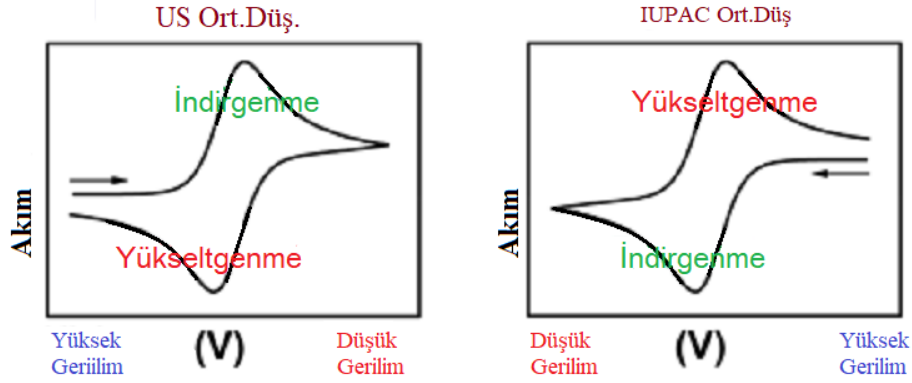
Şekil 1.12 de görüldüğü gibi tarama hızı artmasına rağmen tepe noktalarındaki gerilim değerleri değişmezken, akım değerleri artmaktadır. Bunun neden elektrotta olan elektron transferidir.

CV verilerini bildirmek için yaygın olarak iki kural kullanılır:

- IUPAC Ortak Düşüncesi
- US Ortak Düşüncesi

IUPAC (International Union of Pure and Applied Chemistry veya IUPAC) adlandırma sistemi, kimyasal bileşiklerin adlandırması ve genelde kimya bilimini tanımlamakta kullanılan bir sistemdir. Uluslararası Temel ve Uygulamalı Kimya Birliği tarafından kurulmuştur.

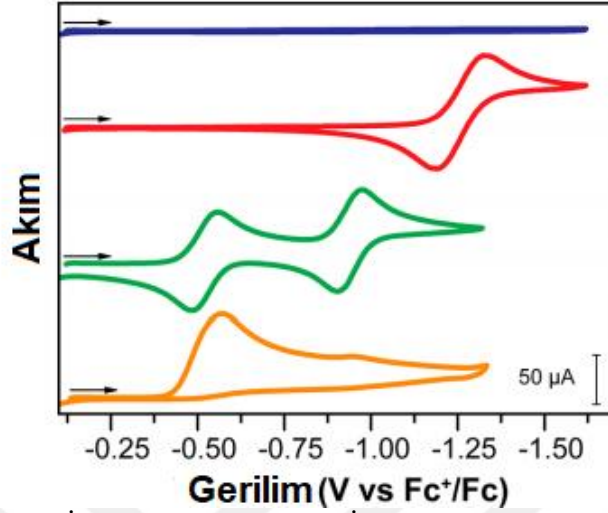
US ise Amerika Birleşik Devletleri Anayasa Konvansiyonu tarafından belirlenen kuralları temsil etmektedir.



Şekil 1.13. CV verilerini bildirmek için yaygın olarak iki ortak düşünce

Şekil 1.13 de görülen iki ortak düşünceye göre bir kabulde CV yapıları aynı değerleri göstermektedir. Fakat bu değerleri pozitif yönde 180° döndürülmüş bir şekilde gözlemlenmektedir. Bunun sonucunda ise indirgenme ve yükseltgenmenin olduğu tepe noktaları yer değişmektedir.

Seçtiğimiz analite göre CV grafiklerinde farklılık olabilir. Bunun başlıca nedenlerinden birisi denklem tersinir olsa da, denklem ileri yönlü taramada hiçbir tepe değeri göstermeyebilir veya birden fazla tepe değeri gösterebilir. Bu da çözeltinin indirgenmesinin ya da yükseltgenmesinin bir tarama yönü boyunca sıfır, bir veya birden fazla olacağını gösterir.



Şekil 1.14. İki farklı ortamda İki farklı elektrotla yapılan döngüsel voltammogramlar(Elgrishi et al., 2018)

Şekil 1.14 de görülen mavi eğri N_2 altında sade bir elektrotun voltammogramı, kırmızı eğri ise hava altında sade bir elektrotun voltammogramı, yeşil eğri N_2 altında $[CoCp(dppe)(CH_3CN)](PF_6)_2$ ($dppe$ = difenilfosfinoetan) voltammogramı, turuncu eğri ise Hava altında $[CoCp(dppe)(CH_3CN)](PF_6)_2$ ($dppe$ = difenilfosfinoetan) voltammogramı göstermektedir.

Voltammogramlar $0.25M [NBu_4][PF_6]CH_3CN$ çözeltisinde, 100 mV/s tarama hızında, 3 mm bir camı karbon çalışma elektrotu, 3 mm bir camı karbon karşıt elektrot ve gümüş tel bir referans elektrotu ile oluşturulmuştur.(Noemie Elgrishi ve ark., 2018)

Bu voltammogramlardan gözlemlendiği gibi kimisinde herhangi bir indirgenme yükseltgenme tepkimesi görülmezken, bir diğer ortamda birden fazla indirgenme yükseltgenme tepkimesi gözlemleniyor, bir diğerinde ise sadece indirgenme gözlemlenmektedir.

1.2.3.8. Empedimetrik Elektrokimyasal Biyosensörler

Biyomalzemelerin elektrotlar üzerinde immobilizasyonu, elektrotların kapasitansında ve ara yüzey elektron transfer direncinde değişiklikler oluşturarak empedansta değişikliklere neden olur. Elektriksel olarak iletken polimerlerin sensör yüzeylerindeki biyoafinite(bir maddenin başka bir maddeyle birleşme eğilimi derecesi) etkileşimleri için empedimetrik elektrokimyasal biyosensörler kullanılır.

a) Elektrokimyasal Empedans Spektroskopisi

Empedans spektroskopisi veya elektrokimyasal empedans spektroskopisi, elektrot yüzeyinde meydana gelen bağlanma olaylarını araştırmak için kullanılan güçlü bir elektrokimyasal tekniktir.

EIS (Elektrokimyasal Empedans Spektroskopisi) deneyi için WE, RE ve CE'den oluşan aynı üç elektrot sistemi kullanılır. Elektrokimyasal empedans genellikle, elektrokimyasal sisteme bir DC potansiyeli üzerine bindirilmiş düşük genlikli bir AC sinüs dalgası potansiyeli uygulanarak ölçülür. AC sinyali, frekans alanını tarayarak farklı süreçlerin farklı zaman sabitleriyle ayrı ayrı uyarılmasına izin verir. Bu nedenle, kimyasal reaksiyonlar gibi yavaş süreçler ve iyonik iletim gibi hızlı reaksiyonlar bu şekilde bağımsız olarak incelenebilir. Empedans, Redoks bileşiği ve elektrot ara yüzü arasındaki elektron transfer direnci, elektrot ve çözeltideki yüklü iyonlar arasındaki kapasitans, elektrotlar arasındaki çözelti direnci ve redoks bileşiğinin elektrota difüzyon hızından kaynaklanan empedansdan oluşmaktadır.

Randles klasik hücre eşdeğer devre modeli üç elektrotlu yapılarda oluşan karmaşık empedansı modellemektedir.

Çizelge 1.4. Ölçülecek ilgili analitlerle sınıflandırılmış ölçüm türleri için elektrokimyasal dönüştürücü tipi (Thvenot et al., 1999)

Ölçme Tipi	Dönüştürücü	Dönüştürücü Analiti
Potansiyometrik	• İyon Seçici Elektrot(ISE) • Cam Elektrot • Gaz Elektrot • Metal Elektrot	• K^+, Cl^-, Ca^{+2}, F^-, ... • H^+, Na^+, ... • CO_2, NH_3 • redox türleri
Amperometrik	• Metal ya da Karbon Elektrot • Kimyasal olarak düzenlenmiş elektrotlar(CME)	• O_2, şekerler, alkol, ... • Şekerler, alkol, fenoller, oligonükleotitler
Empedimetrik veya Kondüktometrik	• Birbirine Bağlı Elektrotlar • Metal Elektrotlar	• Üre, yükü değiştirilmiş türler, oligonükleotitler
İyon değişimi ya da alan etkili	• İyon seçici alan etkili transistor(ISFET) • Enzim alan etkili transistor(EnFET)	• H^+, K^+, ...

1.2.4. Çalışmanın Amacı

Biyosensörler, kullanılan analitlerine ve ölçüm yapılarına göre çeşitlilik göstermektedir. Bu çeşitlilik farklı yapılarda biyosensör yapılarını meydana getirmiştir. Biyosensör çeşitlerinden elektrokimyasal biyosensörler diğer biyosensör türlerine göre bazı uygulamalarda daha yaygın kullanılmaktadır.

Elektrokimyasal biyosensörde potansiyostat yapısı bulunmaktadır. Bu potansiyostat yapısı içerisinde belirli devre elemanları bulunmaktadır. Analite uygun olarak Tablo.5 de görülen ölçme tipine göre sinyal üretmektedir. Daha sonrasında onu da bir gerilim-akım ilişkisi üreterek analizini gerçekleştirmektedir.

Elektrokimyasal biyosensörler birçok hastalığın ya da tedavi sürecinde de kullanılmaktadır. Buna verilebilecek en güzel örneklerden birisi diyabet hastalığıdır. Diyabet hastalığında kandaki glikoz(şeker) miktarı ya artmaktadır ya da çok düşmektedir. Bu miktarın ölçümü içinse bir biyosensör gerekmektedir. Kandaki

glikoz miktarı analizi, bir solüsyondaki alkol miktarı, bir sıvının PH miktarı gibi uygulamalarda biyosensörler ve dolayısıyla potansiyostatlar sıkça kullanılmaktadır. Ama bu potansiyostatlar genel olarak büyük yapıdadır ve taşınmaya uygun değildir.

Bu çalışmanın amacı taşınabilir, küçük boyutlara sahip, voltametrik ve amperometrik ölçümler yapabilen, kablosuz bir potansiyostat yapısı oluşturmaktır. Aynı zamanda bu potansiyostatlar yüksek maliyetlidir. En uygun maliyetler dahi yaklaşık 100 \$'ı bulmaktadır. Fakat tasarlanan bu sistemde çok daha uygun maliyetli bir potansiyostat tasarımını yapmak hedeflenmektedir.





2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

Literatürde daha önce potansiyostat tasarımları yapılmış ve çeşitli farklılıklar gözlemlenmiştir.

2.1. Programlanabilir Potansiyostat (PSoC-Stat)

Prattana Lopin ve Kyle Lopinin tasarımına göre, dışarıdan herhangi bir elektronik bileşene ihtiyaç duymayan bir entegre devre sayesinde elektrokimyasal deneyler yapılabilmektedir. Bu entegre devreye ise PSoC (Programmable System on a Chip) denilmektedir. Bu devre ihtiyaç duyulan tüm elemanları üzerinde bulundurmaktadır.

Devredeki elemanları kontrol etmek ve kullanıcıya bilgi vermek amacıyla Python dilinde yazılımla bir grafik kullanıcı arayüzü(GUI) tasarımı yapılmıştır. Python kullanmalarının nedenleri ise, hem açık kaynaklı bir yazılım olması hem de yazması kolay bir dil olmasıdır.

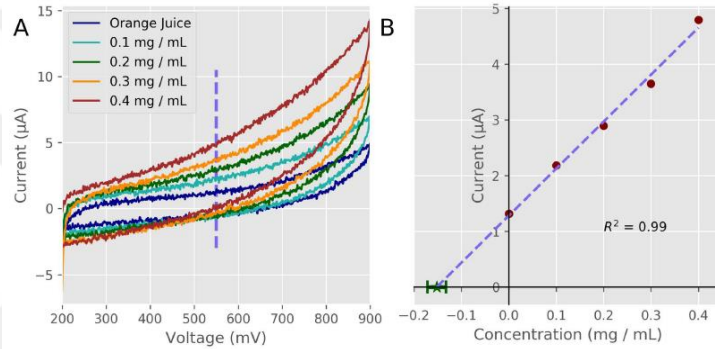
PSoC potansiyostat döngüsel voltammetri(portakal suyundaki C vitamini yoğunluğu için), amperometri(glikoz çubuğundaki glikoz yoğunluğu hesabı için) ve sıyırma voltammetrisi(sudaki yük için) için gerekli yazılım ve donanımsal özelliklere sahiptir.(Lopin ve Lopin, 2018)

PSoC-STAT ın teknik özellikleri;

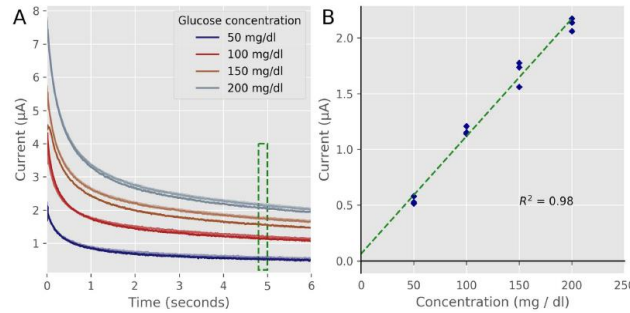
- Voltaj Aralığı: $\pm 2V$
- Akım Sınırı(mA):0.1
- Analog Dijital Dönüştürücü Çözünürlüğü:12 bit
- Maliyet:25\$
- Maksimum Örnekleme Hızı(kHz):50
- Dijital Analog Dönüştürücü Çözünürlüğü:12 bit (Lopin ve Lopin, 2018)

Deney için gerekli olan çalışma, yardımcı ve referans elektrotunu belirli malzemeler kullanarak tasarlanmıştır. Bunlar 2B bir kaleminden elde edilen bir grafit elektrotla çalışma elektrotu yapılmıştır. Bir gümüş kablo yardımıyla ise yardımcı ve referans elektrot tasarlanmıştır. Gümüş teli bir çözeltiyle 5-15 dakika arasında bekleterek Ag/AgCl katman elde edilmiştir. Bu şekilde maliyeti en uygun şekilde hücre tasarımı yapılmaya çalışılmıştır.(Lopin ve Lopin, 2018)

2.1.1. Deneysel Çalışmalar



Şekil 2.1. Veriler sonucunda miktar doğrusal bir şekilde arttırıldığında oluşan akımın da neredeyse doğrusal şekilde arttığı gözlemlenmiştir.(Lopin ve Lopin, 2018)



Şekil 2.2. Kronoamperometri deneyi (A: AccuCheck marka ile +500Mv gerilimi verilerek, glikoz çubuğu ile beraber farklı glikoz yoğunluklarının ölçümü,her birinde tek tip bir çubukla ölçüm yapılmıştır. B: Akım-yoğunluk karşılaştırması, Bu yoğunluklar 4.8. ve 5. Saniye arası akım miktarı alınarak karşılaştırma yapılmıştır.)(Lopin ve Lopin, 2018)

Şekil 2.2 deki veriler ışığında ve deney sonucunda da aynı saniye içerisinde farklı yoğunluktaki glikozların sonucunda çıkan akım grafiğinin doğrusal bir grafik oluşturmasıdır. Regresyon değeri ise R^2 0.98 olarak gösterilmektedir.

2.2. CheapStat

Potansiyostatlar elektrokimyasal araştırmalarda en önemli araçlardan birisidir. Buradaki önemli faktörlerden birisi de maliyettir. Akademik laboratuvarlarda ve endüstri gruplarında genel kullanım amacı ve araştırmanın kalitesi için 10.000 \$'a kadar maliyet yükselebilmektedir.

Bu tasarımda yapılan cihaz ticari olarak tasarlanan cihazlara, kalite ve kabiliyetleri açısından, bir rakip cihaz olmaktan ziyade uygun maliyetli bir potansiyostat tasarımını amaçlamaktadır.

CheapStat'ın teknik özellikleri;

- Voltaj Aralığı: $\pm 0.99V$
- Akım Aralığı(mA):0.05
- Gürültü: Listelenmemiş
- Analog Dijital Dönüştürücü Çözünürlüğü:12 bit
- Maliyet:80\$-135\$
- Maksimum Örnekleme Hızı(kHz):2
- Dijital Analog Dönüştürücü Çözünürlüğü(1mV):1(Rowe et al., 2011)

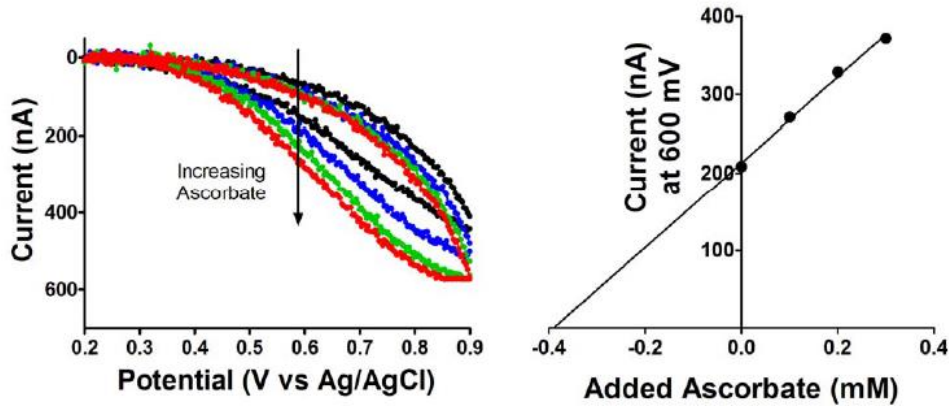
Cihaz döngüsel, kare dalga, doğrusal tarama ve sıyırma voltammetrisine -990mV ile +990mV arasında 1 ile 1000 Hz arasında ölçüm yapabilecek şekilde tasarlanmıştır. Üç satırlı bir LCD ve kumanda kolu(joystick) yardımıyla parametre (frekans, başlangıç voltajı, bitiş voltajı, tarama hızı) ayarı yapılabilmektedir. (Rowe et al., 2011)

a) Deneysel Veriler

Portakal Suyundaki Askorbik Asit Yoğunluğunun Hesaplanması

Askorbik asidin kullanılmasının nedeni redoks bakımından aktiftir. Deney için, 4 adet portakal suyu hazırlanmıştır. Bir tanesi belirli bir miktarda ayarlanmamış, diğerleri ise sırasıyla 0.1M, 0.2M, 0.3M olarak hazırlanmıştır. Her birine iletkenliğini arttırmak amacıyla 1M potasyum klorit eklenmiştir.

Çalışma elektrotu olarak 1 tane grafit kalem kullanılmıştır. Standart Ag/AgCl bir referans elektrotu ve platin bir yardımcı elektrot kullanılmıştır. Döngüsel voltammetrinin voltaj ayarı ise 200mV ile 900mV arasında yapılmış ve 500 mV'daki değerler karşılaştırılmıştır. (Rowe et al., 2011)



Şekil 2.3. CV görüntüsü ve Askorbik asidin akımının yoğunluğa göre değişim grafiği

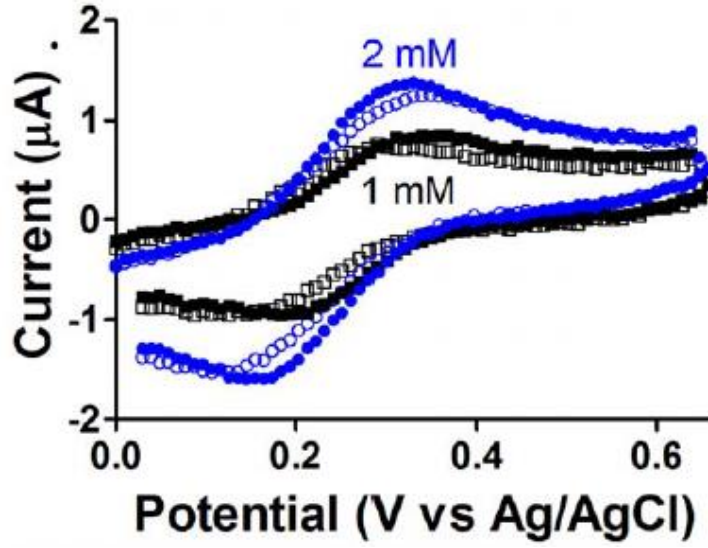
Şekil 2.3 de CheapStat da kullanılarak yapılan askorbik asit deneyinin döngüsel voltammogram grafiği görülmektedir. Fakat şeklin b kısmında cihazın verilerinin doğrusal olduğu gösterilse de regresyon değeri verilmemiştir.

Ferrisiyanürün (Ferricyanide) Redoks Reaksiyonunun Görüntülenmesi

Döngüsel voltammetride en çok kullanılan çift olan ferrisiyanür (ferricyanide)-ferrosiyanür (ferrocyanide) kullanılmıştır. Bu çiftin en çok kullanılmasının nedeni ise kolay görüntülenmesidir.

Bu deneyde potasyum ferrisiyanürü 50 mL 1 M potasyum nitrat içinde 1 ve 2 mM'lik nihai yoğunluklara kadar çözdürülmüştür.

Çalışma elektrotu olarak basit platin disk elektrot kullanılmıştır. Ag/AgCl referans elektrotu ve platin bir kablo olarak yardımcı elektrot kullanılmıştır. Gerilim aralığı olarak 0 ile 650 mV arası ve tarama hızı olarak ise 10 mV/s kullanılan parametrelerdir.



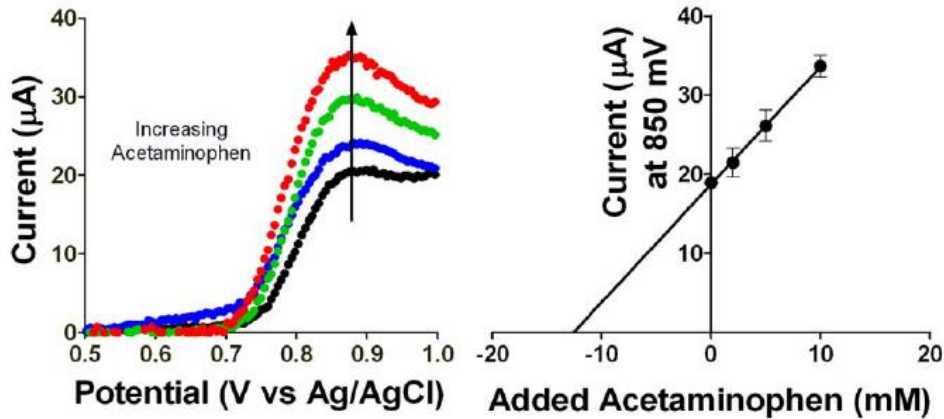
Şekil 2.4. Ferrisiyanürün 1mM ve 2mM 'daki CV görüntüsü

Şekil 2.4 üzerinde görülen grafik, mavi ile belirtilen 2mM ve siyah ile belirtilen 1mM ferrisiyanürün üzerine uygulanan gerilim sonucu elde edilen döngüsel voltammogramdır.

Doğrusal Süpürme Voltametri Kullanarak Reçetesiz Ağrı İlaçlarında Asetaminofen İçeriğinin Analizi

Asetaminofen, doğrusal süpürme voltammetrisi ile ölçülebilen bir Redox aktif ilaçtır. Bu deneyde ticari bir ağrı kesiciyi (500 mg asetaminofen içeren) 250 mL 2 M sülfürik asit içinde 13.33 mM nihai teorik yoğunluğa kadar çözündürülmüş.

Bunu dört örneğe bölerek, 0, 0,002M, 0,005M ve 0,01 M'de artan miktarlarda eksojen, saf asetaminofen ile üçünü karıştırılmış. Çalışma elektrotu olarak 0,08 mm çapında Teflon kaplı altın bir tel kullanılmış ve 1 cm uzunluğundaki bu tel, 1 cm uzunluğunda ısıtılmış ve altın yüzey ortaya çıkarılmış. Sırasıyla referans ve karşı elektrot olarak standart bir Ag/AgCl elektrotu ve bir uzunlukta platin tel kullanılmış. Bu numuneler üzerinde, 10 mV/sn hızında 500 ila 1000 mV potansiyel aralığında lineer süpürme voltammetrisi uygulanmış.



Şekil 2.5. a) Asetaminofenin, 0,002, 0,005 ve 0,01 M'deki ve dokunulmamış bir çözeltinin CV görüntüsü b) 850mV'daki akım değerleriyle yoğunluklarının karşılaştırılması

Şekil 2.5 de CheapStat da kullanılarak yapılan döngüsel voltametri görülmektedir.(Rowe et al., 2011)

2.3. DStat

Michael Dryden ve Aaron Wheeler'in tasarımındaki asıl amaç çok yönlü ve açık kaynaklı bir potansiyostat tasarımı oluşturmaktır. Dstat çok yönlü özelliklerinden biriside pikoamper seviyelerine kadar düşük akım ölçümlerine izin vermesidir. Tasarlanan devrenin beslemesi de bir USB üzerinden sağlanmaktadır. Kullanıcı içinse bir yazılımla ara yüz tasarımı yapılmıştır. Aynı zamanda kolay ve ucuz olmasıyla beraber açık kaynaklı olmasından dolayı herhangi bir kişinin dışardan bu ürünü kurmasına izin vermektedir. DStat Cheapstat'a göre voltammetrik ölçümlerde daha hassas ölçümler elde etmiştir. Çok yönlü yanlarından birisi ise mikro seviyesindeki sıvıların ölçümünü yapabilmektedir.

Dstat buradaki verilerin karşılaştırmasını, kapalı kutu bir potansiyostatlar (EmStat1, PalmSens BV, Utrecht, NL), açık kaynaklı potansiyostat olan CheapStat ve pH ölçümü içinse bir pH metre ile yapmıştır.

DStat'ın teknik özellikleri;

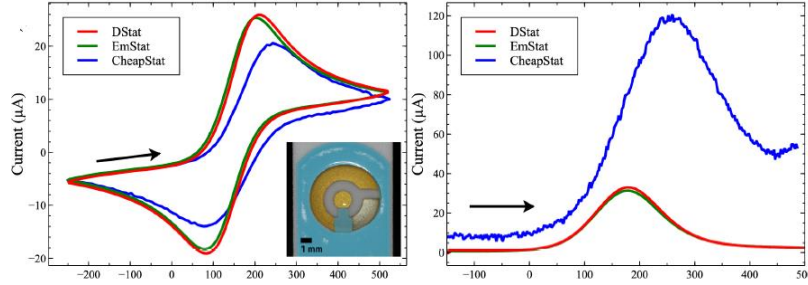
- Voltaj Aralığı: $\pm 1.5V$
- Akım Sınırı(mA):10
- Analog Dijital Dönüştürücü Çözünürlüğü:24 bit
- Maliyet: ~120\$
- Maksimum Örnekleme Hızı(kHz):30
- Dijital Analog Dönüştürücü Çözünürlüğü:12 bit(Dryden & Wheeler, 2015)

a) Deneyler

Potassium hexacyanoferrate (III) Ölçümü

10 mM bir potassium hexacyanoferrate(III) çözeltisi bir pH 7 McIlvaine tamponuyla beraber hazırlanarak SPE yardımıyla ölçülmüştür.

Döngüsel voltammetri için -250 ile 520mV arası 100mV/s tarama hızında ölçümler yapılmıştır. Kare dalga voltammetri içinse bu değerler -150 ile 500 mV ve her bir adım uzunluğuyse 2mV olacak şekilde ayarlanmıştır.



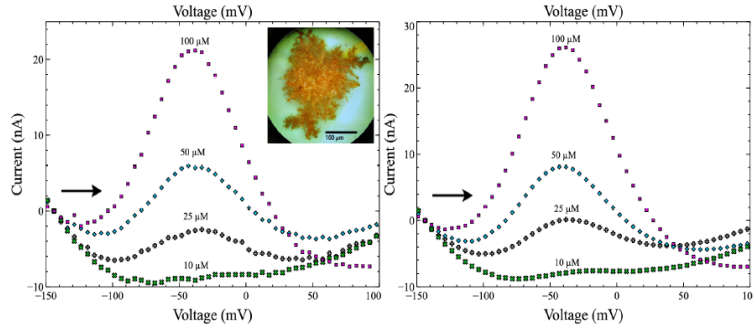
Şekil 2.6. Potassium hexacyanoferrate(III)'ün döngüsel voltammetrisi ve karşılaştırılması(sol), 8 Potassium hexacyanoferrate(III)'ün kare dalga voltammetrisi(sağ)(Dryden & Wheeler, 2015)

Şekil 2.6 da DStat ve CheapStat yapıları ki bu yapılar ticari olarak değil araştırma olarak üretilen cihazlar ve EmStat karşılaştırması yapılmaktadır. DStat'ın EmStat verilerine çok yakın değerler gösterdiği fakat aynı çözeltilerle ölçüm yapan CheapStat verilerinin daha tutarsız olduğu görülmektedir.

4-aminophenol Ölçümü

4-aminophenol çözeltisi(100,50,25 ve 10μM) 50mM pH 9 Tris-HCl tamponunun içerisinde hazırlanmıştır. Buradaki ölçümler mikro pipetler yardımıyla yapılmıştır.

Fark atım voltammogramları için -300 ile 250 mV arasında adım aralığı 5mV, atım yüksekliği 50mV,atım periyodu 100ms ve atım genişliği 50ms olarak ayarlanmıştır.



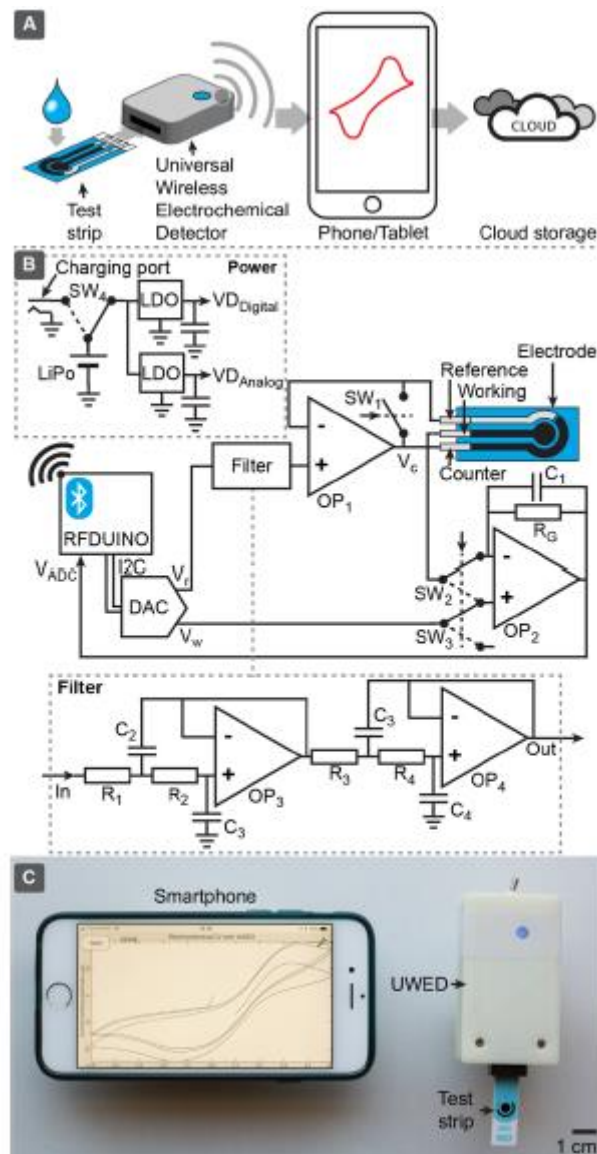
Şekil 2.7. DStat Fark atım voltammetrisi(sol), EmStat Fark atım voltammetrisi (sağ)nın mikro elektrotlar yardımıyla ölçümü

Şekil 2.7 de DStat ve EmStat(ticari cihaz) yapısının birbiriyle karşılaştırılması görülmektedir. Burada DStat'ın EmStat'a oranla az daha olsa daha fazla gürültüye sahip olduğu gözlemlenmektedir.

2.4. UWED (Universal Wireless Electrochemical Detection)

Bu tasarımın amacı, kablosuz bir şekilde elektrokimyasal verileri akıllı bir telefona aktarabilmektir. Akıllı telefona aktarılırken “BLE(Bluetooth Low Energy)” protokolü kullanılmıştır. Verilerin kaydı görüntülenmesi işlemleri telefon üzerinden olmasından dolayı tasarımda donanım ve boyut olarak bir avantaj kazanılmıştır. UWED potansiyometri, kronoamperometri, döngüsel voltammetri ve kare dalga voltammetrisi gibi elektrokimyasal teknikleri uygulayabilmektedir.

Daha önce yayınlanan CheapStat, DStat gibi açık kaynaklı potansiyostatlara göre farklılıklarından birisi telefon bağlantısına izin vermesidir. Telefona verilerin gönderilmesi, verileri buluta(cloud) kaydedilmesi sağlanmıştır.



Şekil 2.8. A ve C)Genel Görünüm B)Devre şekli ve ana bileşenler (Ainla et al., 2018)

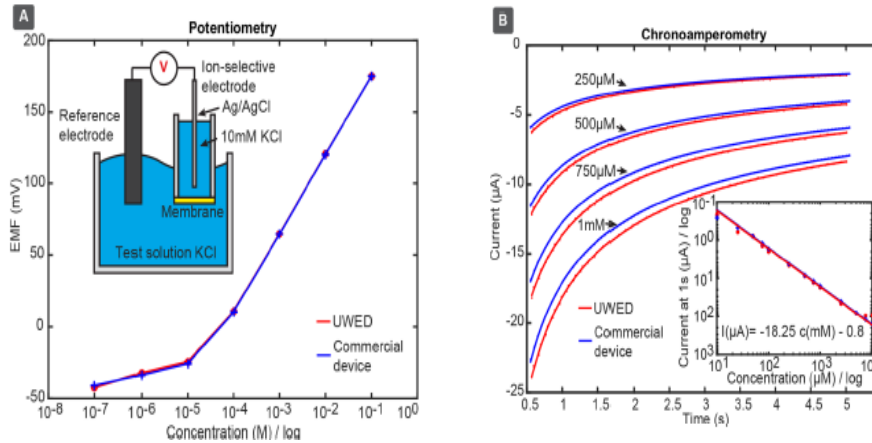
Şekil 2.8 deki devrede sinyal kontrolü 2 tane 16 bitlik DAC üzerinden sağlanırken, verileri filtreledikten sonra akım bir TIA devresinden geçerek voltaja çevriliyor. Ardından da 16 bitlik bir ADC tarafından dijital veriler oluşturulmuştur.

UWED'in teknik özellikleri;

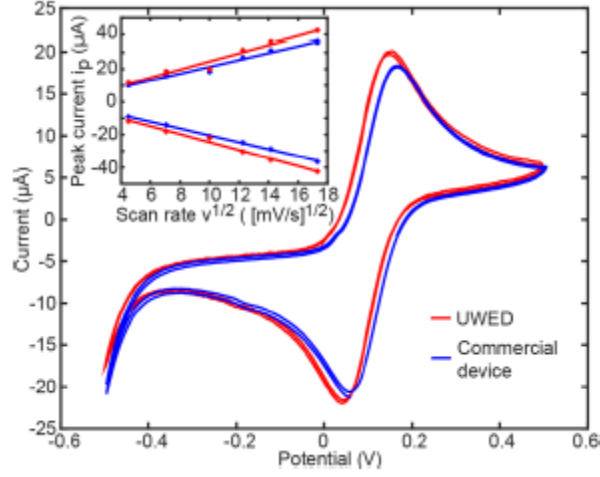
- Voltaj Aralığı: $\pm 1.5V$
- Akım Aralığı: $\pm 180\mu A$
- Gürültü: $6.4nA-30nA$
- Analog Dijital Dönüştürücü Çözünürlüğü: 16 bit
- Maliyet: $\sim 60\$$
- Dijital Analog Dönüştürücü Çözünürlüğü(1mV): 0.05
- Besleme: 3.7V lityum iyon polimer batarya (Ainla et al., 2018)

2.4.1. Deneysel Veriler

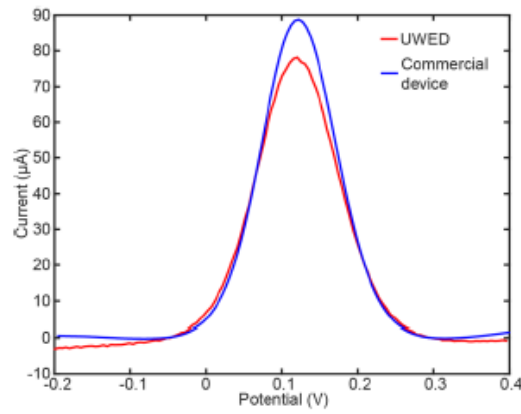
Bu deneylerde ticari olarak kullanılan bir SPE tipi elektrot (DRP-110CNT-GNP, DropSens) kullanılmıştır. Döngüsel voltammetri için bir $10\mu M-10mM$ ferrisiyanür çözeltisi hazırlanmıştır. Potansiyometrik analiz için K^+ ve Na^+ iyon seçici elektrotlar kullanılmıştır.



Şekil 2.9. A) K^+ iyon seçici elektrotla ticari referans elektrotunun potansiyometrik olarak karşılaştırılması B) Potasyum ferrisiyanürün (1mM ile 250 μM arası) kronoamperometrik olarak karşılaştırılması (Ainla et al., 2018)



Şekil 2.10. 1mM ferrisiyanürün 100mV/s tarama hızındaki döngüsel voltammetrisinin UWED ile ticari bir cihazla karşılaştırılması(Ainla et al., 2018)



Şekil 2.11. 1mM ferrisiyanürün kare dalga voltammetrisinde UWED ile ticari bir cihazın karşılaştırılması (adım genişliği 5mV, büyüklüğü 50 mV, frekans 10 Hz)

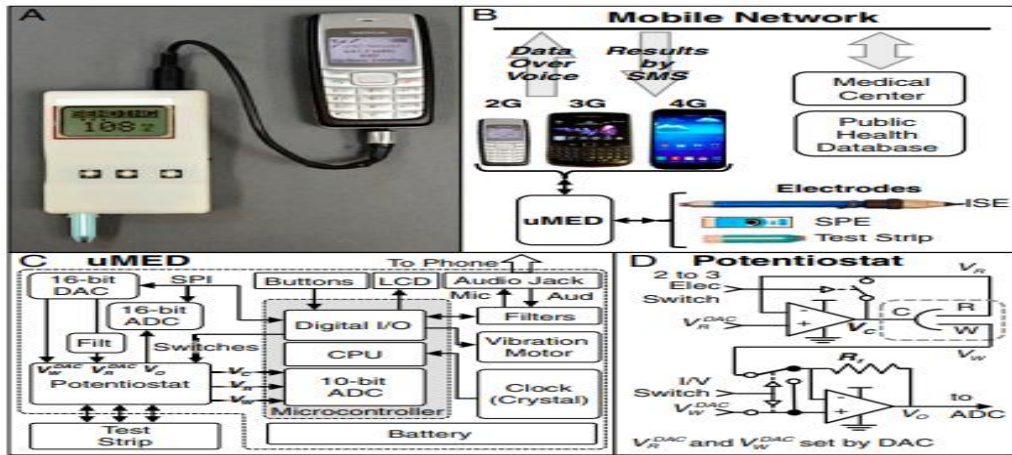
Şekil 2.9, Şekil 2.10 ve Şekil 2.11 de UWED ile bir ticari cihazın ölçümleri karşılaştırılmıştır. “Duck-shape” denilen CV yapısında çok az bir yapıya sahipken kare dalga voltammetrisinde diğerine oranla fark biraz daha artmıştır. (Ainla et al., 2018)

2.5. UMED(Universal Mobile Electrochemical Detector)

Bu tasarımda, açık kaynaklı olarak, herhangi bir cep telefonu kullanarak en yaygın elektrokimyasal analiz biçimlerini doğrudan "bulut(cloud)"a bağlayan ucuz, elde taşınabilir bir cihazı açıklamaktadır. Her biri farklı kullanımlara sahip çok çeşitli önemli elektro analitik tekniklere (kronoamperometri, döngüsel voltammetri, diferansiyel darbe voltammetrisi, kare dalga voltammetrisi ve potansiyometri) dayalı esnekliğe sahip algılama sağlayabilmiştir.

Dört deneyde, cihazın analitik performansını gösterir:

1. Kişisel sağlık için kandaki glikozun saptanmasını,
2. Sahada çevresel izleme için sudaki ağır metalleri (kurşun, kadmiyum ve çinko) izleme
3. Klinik analiz için idrarda sodyum
4. Klinik araştırmalar için bir sıtma antijeni (Plasmodium falciparum histidin bakımından zengin protein 2)



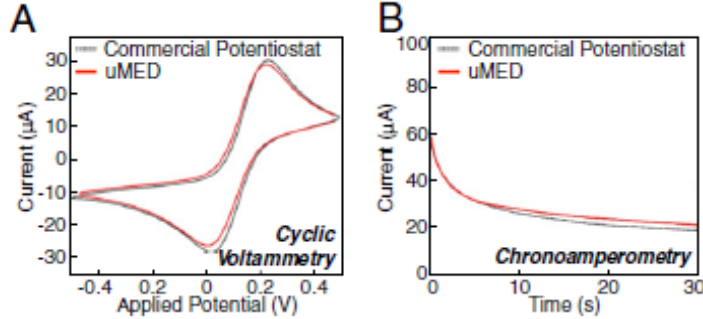
Şekil 2.12. A ve B)UMED in genel görünümü C ve D)Elektronik Tasarımı (Nemiroski et al., 2014)

Şekil 2.12 de A bölümünde cihazın dışardan nasıl görüldüğü ve telefon ile nasıl bir bağlantı gerçekleştirdiği gözlemlenmektedir. B bölümünde UMED in genel yapısı ve UMED ile kullanılabilecek elektrokimyasal elektrot yapıları gözlemlenmektedir. C kısmında ise UMED'in mikroişlemci yapısı ve bağlantıları gözlemlenmektedir. Arayüz olarak telefonun arayüzü kullanılmış ve mikroişlemci yapısında 16 bit ADC ve DAC yapısı bulunmaktadır. D kısmında ise elektronik yapısı gözlemlenmektedir.

UMED'in teknik özellikleri;

- Voltaj Aralığı: $\pm 2V$
- Akım Aralığı(mA):0.156
- Gürültü: 5-0.5 nA
- Analog Dijital Dönüştürücü Çözünürlüğü:16 bit
- Maliyet: ~25\$
- Maksimum örnekleme hızı(kHz):0.8
- Dijital Analog Dönüştürücü Çözünürlüğü(1mV):0.05
- Besleme:3.7V lityum iyon polimer batarya(Nemiroski et al., 2014)

16 bitlik bir DAC sayesinde verilecek sinyal üretilmektedir.3 buton ve 1 adet LC yardımıyla kullanıcıya bir ara yüz oluşturulmuştur.



Şekil 2.13. A) 0.1 M KCl içerisindeki 2.5 mM ferrisiyanür/ferrosiyanürün döngüsel voltammetrisinin karşılaştırılması B) 0.1 M KCl içerisindeki 1 mM ferrisiyanür/ferrosiyanürün kronoamperometrik karşılaştırılması (Nemiroski et al., 2014)

Şekil 2.13. de bir ticari potansiyostat ile UMED in aynı çözelti üzerindeki karşılaştırması yer almaktadır. Buradan da anlaşılacağı üzere ticari cihaz ile UMED birebir aynı olmamasına rağmen çok yakın veriler elde etmektedir. (Nemiroski et al., 2014)

UMED' in performansını karşılaştırmak için ticari bir cihaz olarak Autolab PGSTAT12, Metrohm ve bir pH metre(443i, Corning) kullanılmıştır.

Elektrokimyasal ayarlamalara bakacak olursak;

Döngüsel Voltammetri için -0.5 ile 0.5 V arası bir gerilim 2.5 mV adımlarla 50 mV/s tarama hızında uygulanmıştır.

Kronoamperometri için 0.5 V ve 30 saniye şeklinde sinyal uygulanmıştır.

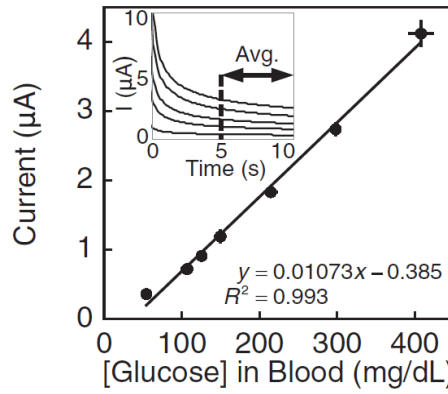
Kare dalga voltammetri için -0.2 ile 0.6 V arasında, tepeden tepeye gerilim 50mV, adım büyüklüğü 4mV ve frekansı 10Hz olacak şekilde uygulanmıştır.

a) Elektrokimyasal Deneyler

Deneylerde ekran baskılı elektrotlar(SPE), glikoz test çubukları, iyon seçici elektrotlar kullanılmıştır.

Kandaki Glikoz Ölçümü

Bu deneyde TrueTrak, CVS tipi bir glikoz test çubuğu kullanılmıştır. Glikoz analizinde kullanılan elektrokimyasal tekniğe göre (Kronoamperometri) ölçümler gerçekleştirilmiştir.

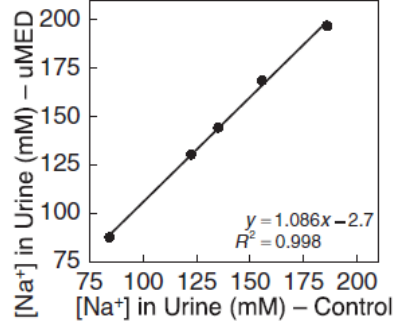


Şekil 2.14. Kandaki glikoz miktarının kronoamperometrisi ve yoğunluk-akım grafiği

Şekil 2.14 de 6 farklı glikoz miktarının ölçümü sonucunda elde edilen akımların birbirlerine oranları verilmektedir. 5. saniyede alınan akım değerlerinin regresyon değeri R^2 ise 0.993 dür. Bunun sonucunda bu verilerin %99.3 oranında doğrusal olduğu söylenebilir.

Ürindeki Sodyum Yoğunluğu Tespiti

Tampon olarak 4M NH_4Cl ile 4 M NH_4OH , çözelti olarak farklı sodyum seviyelerinde çözeltiler hazırlanarak potansiyometrik ölçümler yapılmıştır.



Şekil 2.15. Farklı sodyum yoğunluktaki ürün çözeltisinin gerçek ve UMED ölçümlerinin karşılaştırılması

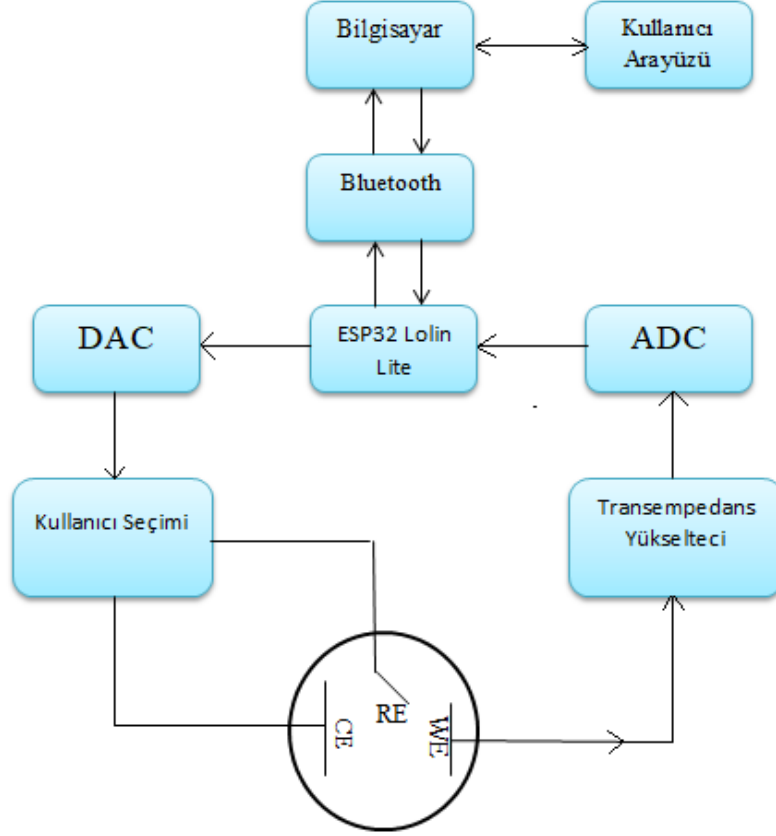
Şekil 2.15 de UMED üzerinden yapılan deney sayesinde sırasıyla yaklaşık olarak 80mM,125mM,140mM,160mM ve 190mM ürün miktarlarının, UMED verilerinden hesaplanan değerlerle karşılaştırılması verilmiştir. Buradaki R^2 değeri 0.998 olarak gözlemlenmektedir. Bu da UMED sonucunda elde edilen verilerin gerçek değerlere %99.8 ulaştığı söylenmektedir. (Nemiroski et al., 2014)



3. MATERYAL VE METOT

Potansiyostatın yapabilecekleri, kullanım amaçlarına bağlı olarak mevcut kapasite, voltaj aralığı, çözünürlük gibi nedenler açısından büyük ölçüde değişiklik göstermektedir. Tasarladığımız bu potansiyostatta hedeflediğimiz amaç, laboratuvarlarda sıklıkla yapılan amperometrik ve voltammetrik ölçümleri, kablosuz, taşınabilir ve doğru bir şekilde yapılabilmesini sağlamaktır. Bunun yanında, piyasada bulunan cihazlara ve aynı zamanda açık kaynaklı tasarımlara bakacak olursak, maliyet ve tasarım açısından bu cihazlar halen yüksek değerler taşımaktadırlar. (Arevalo-Ramirez et al., 2017) İşte bu nedenler yüzünden, bu potansiyostatu tasarlarken, hem kullanıcıdan verileri alarak doğru bir şekilde deneyleri gerçekleştirmesi hem de bunun maliyet açısından daha uygun bir konumda olmasını amaçladık.

Bu tasarımda kullanılan mikrokontrolcü sistemi, Espressif System'e ait ESP32 mikrokontrolcüsüdür. Bu mikrokontrolcünün seçilmesinin başlıca nedenlerinden birisi, üzerinde hem ADC hem de DAC sistemini beraber bulundurmasıdır. Aynı zamanda, kablosuz bir protokol olan, Bluetooth haberleşmesine imkân sağlamasıdır. ESP32 sisteminde de minimum boyutlara düşmek amacıyla ESP32 WEMOS Lolin Lite kullanıldı. Bu minimum boyuttaki sistemin bize kazandırdığı avantaj ise, devreyi besleyecek gerilimi bir batarya yardımıyla sağlayabilmesidir. Bunu yaparken, USB ile bataryayı tekrardan şarj ederek uzun süreli kullanım imkanı sağlayabilmektedir.

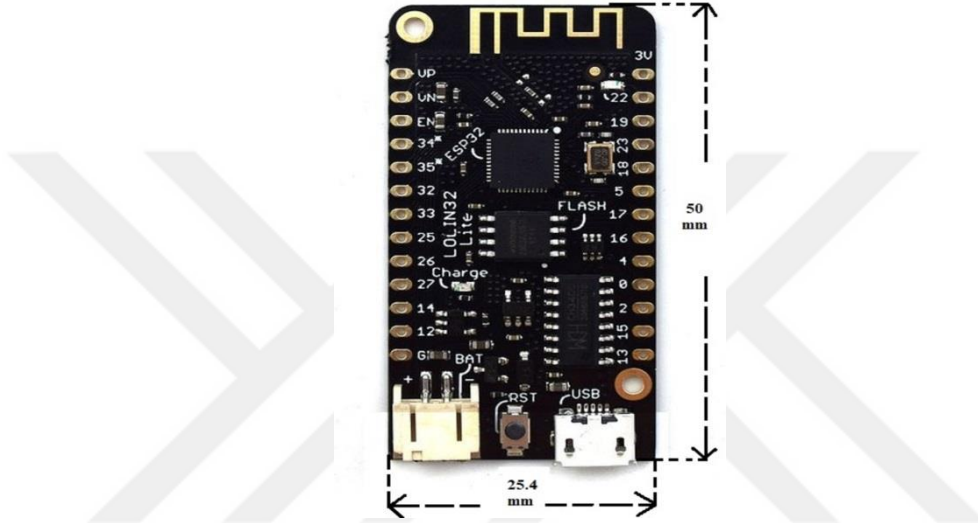


Şekil 3.1. AFUStat' ın genel şematik gösterimi

Şekil 3.1 de cihazın kullanacağı veriler ve devreden çıkan elektrik sinyali, bluetooth haberleşmesi sayesinde birbirlerine aktarılmaktadır.ESP32 üzerinden üretilen sinyal bir elektrokimyasal hücreden geçmekte ve bundan sonra bir ADC yardımıyla toplanıp tekrardan kullanıcı arayüzüne aktarılmaktadır.

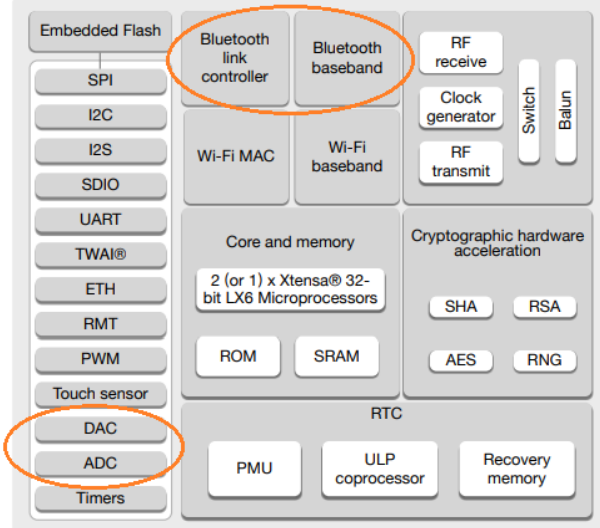
3.1. ESP32 WEMOS Lolin Lite Donanımı

ESP32 WEMOS Lolin Lite modülü içerisinde 2 adet 8 bit DAC ve 8 adet 12 bit ADC, Bluetooth protokolünü içerisinde bulundurması ve bir batarya yardımıyla beslenebilmesi dikkate alınarak seçilmiştir.



Şekil 3.2. ESP32 WEMOS Lolin Lite'in boyutları

Kullanıcı ara yüzüyle bağlantı kurmak, gereken sinyali oluşturmak ve oluşan sinyali potansiyostat devresinden geçirerek okuyabilmek için Espressif Systems 'e ait fakat AITEXM ROBOT 'un ürettiği ESP32 WEMOS Lolin Lite kullanılmıştır.



Şekil 3.3. ESP32 WEMOS Lolin Lite'in işlevsem blok diyagramı

Şekil 3.3 deki blok diyagramında ESP32 üzerinde bulunan tüm çevresel elemanlar bulunmaktadır. Lakin bu blok diyagramında turuncu ile işaretlenen kısımlar bizim kullanacağımız kısımları belirtmektedir.

Çizelge 3.1. ESP32 WEMOS Lolin Lite'in Genel Özellikleri

İşlemci	160 veya 240 MHz -Çift çekirdekli- 32 Bit, Ultra düşük güçlü (ULP) yardımcı işlemci
Kablosuz Bağlantı	Wi-Fi, Bluetooth (BLE), ESP-NOW
Çevresel Arayüzler (Peripheral Interfaces)	GPIO, ADC, DAC, SPI, I2C, I2S, UART, SDIO, CAN, Kızılötesi, Ethernet, PWM, Dokunma (touch) sensörü, sıcaklık sensörü, manyetik alan (hall) sensörü

ESP32, Çizelge 3.1 ve şekil 3.3 de gösterildiği gibi teknik bakımından çok fonksiyonel özelliklere sahiptir. Bu modül uygun maliyeti, düşük güç tüketimi, az gecikme süresi, üzerinde bulunan farklı seçenekler (Wi-Fi, Bluetooth vd.) gibi avantajlarının yanında, kolay programlanabilir (JavaScript, Python, Arduino, IDF) olması da işlevselliğini arttırmaktadır.



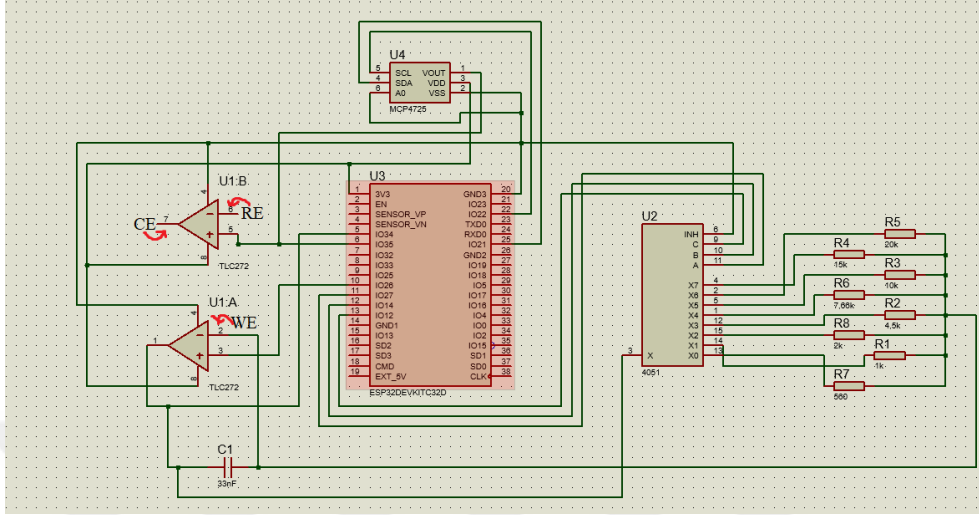
Şekil 3.4. Microchip firmasına ait harici bir DAC olan MCP4725 'e ait olan görsel

Şekil 3.4 de görülen harici DAC microchip firmasına ait harici bir dijitalden analog sinyale dönüştürücüdür. Seçilme nedenlerinden birisi ESP32 üzerinden beslenebilmekte ve daha önemlisi ESP32 üzerinde bulunan DAC'ın çözünürlüğü 8 bittir fakat MCP4725'in üzerindeki DAC yapısının çözünürlüğü ise 12 bittir. Bu da dolayısıyla ölçüm çözünürlüğünü ve buna bağlı olarak bir deney için alınan örnek sayısını arttırmaktadır. Bu daha detaylı bir şekilde açıklanacaktır.

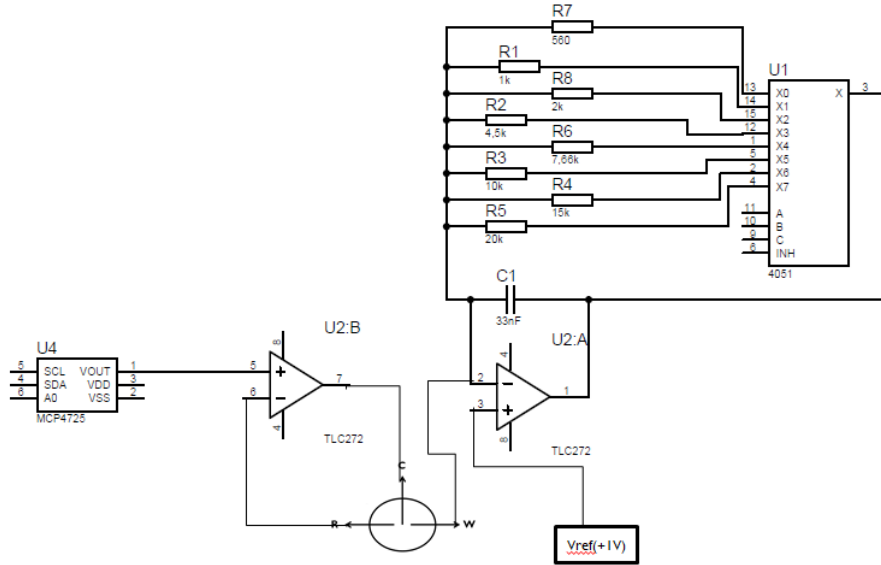
MCP425'in haberleşmesi ise I2C protokolü üzerinden gerçekleştirilmiştir. Bağlantılar ESP32 üzerindeki bacaklar (GPIO22(I2C-SCL), GPIO21(I2C-SDA)) MCP4725 üzerinde bulunan SCL ve SDA pinleri üzerine bağlanmıştır. Ayrıca kod üzerinde MCP4725 e ait kütüphane yüklenmiştir. Bununla beraber haberleşme kodları yazılmıştır.

3.2. Devre Tasarımı

Şekil 3.5 de görülen devrede kullanılan yükselteç, Texas Instruments marka TLC272 tek beslemelidir (single-supply). Yükseltecin besleme gerilimi olarak $V_{DD}=3.2V$ olarak ESP32 WEMOS Lolin Lite üzerinden, toprak bağlantısı da yine modül ile bağlanmıştır. 1 tane TLC272 yükseltecinde 2 adet aynı tip yükselteç bulunmaktadır.



Şekil 3.5. Devre Tasarımının Proteus Uygulamasında Gösterimi

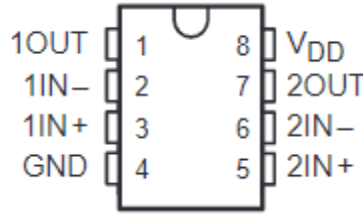


Şekil 3.6. Devre Şeması

Şekil 3.6 da Vref gerilimi ESP32 üzerinde bulunan DAC üzerinden sabit bir gerilim oluşturularak elde edilmiştir.

Çizelge 3.2. TLC272 Yükseltecinin Özellikleri

Gürültü	25nV/ $\sqrt{\text{Hz}}$ $f=1\text{kHz}$
Giriş Empedans Değeri	$10^{12} \Omega$
Çalışma Sıcaklığı	0 °C ile 70 °C arası
Besleme Gerilimi	min=3V, max=16V



Şekil 3.7. TLC272 yükseltecinin paket gösterimi

Şekil 3.7 de bir tane TLC272 yapısında 2 tane yükselteç bulunduğu gözlemlenmektedir. Yapılan devre bağlantıları yine bu gösterime uygun şekilde yapılmıştır.

DAC1 üzerinden devreye kullanıcının seçtiği metoda uygun bir şekilde üçgen, kare ya da testere dişi sinyali gönderilmektedir. Daha sonra bu sinyal kontrol yükselteci (elektrometre) üzerinden elektrokimyasal hücreye aktarılır. Burada oluşacak akım TIA devresi tarafından akımdan gerilime çevrilerek ADC üzerinden okunacaktır. ESP32 WEMOS Lolin Lite' da 2 adet 8 bitlik DAC bulunmaktadır. ADC olarak ise 12 bitlik bir analogdan dijitale dönüştürücü kullanılmıştır. DAC' dan eğer üçgen bir sinyal üreteceksek her bir adımı şu şekilde hesaplanabilmektedir:

$$VDD \text{ gerilimi} \div 2^{(DAC \text{ bit sayısı})} = 3,3V \div 255 = 0,01294V = 12,94mV$$

Bu gerilimin bizim için önemlerinden bir tanesi de kullanıcının seçeceği tarama hızıdır. Tarama hızlar arayüzde 50 mV/s, 100 mV/s, 200 mV/s olarak

tasarlanmıştır. 50 mV/s hız seçilirse ve her bir bitte 12.94 mV ilerlediğimize göre her 1 saniyede (1000 ms) de;

$$50 \text{ mV} \div 12,94 \text{ mV} = 3,8639 \text{ (1 saniyede ilerleyeceği adım sayısı)}$$

$$1000 \text{ ms} \div 3,8639 = 260 \text{ ms (her bir adımdan sonra verilmesi gereken gecikme)}$$

Bu hesaplamayı 100 mV/s ve 200 mV/s içinde hesaplırsak eğer şu sonuçları elde edeceğiz. 100 mV/s için 1 saniyede ilerleyeceği adım sayısı (7,7279) ve her bir adımdan sonra verilmesi gereken gecikme 130 ms'dir. 200 mV/s 1 saniyede ilerleyeceği adım sayısı (15,456) ve her bir adımdan sonra verilmesi gereken gecikme 65 ms'dir. Bu verilere uygun şekilde ESP32 WEMOS Lolin Lite üzerinde bulunan dijitalden analoğa dönüştürücü yardımıyla sinyal (üçgen dalga (döngüsel voltammetri için), kare dalga(kronoamperometri, kare dalga voltammetri), testere dişi dalga(doğrusal tarama voltammetri için) üretilebilmektedir. Sonrasında oluşan sinyal kontrol yükseltici ve transempedans yükselticiden geçtikten sonra 12 bitlik bir ADC üzerinden okunabilmektedir. Aynı zamanda verilen sinyalin doğruluğunu ölçmek amacıyla ikinci bir 12 bitlik ADC yardımıyla giriş sinyalini de ölçmek mümkündür. Bunun sağlayacağı yarar ise tepkimenin hangi aralıklarda değiştiğini gözlemleyerek o ayarı yapma yeteneğini kullanıcıya kazandırmaktır.

MCP5725 harici DAC'ı ise cihazın ölçüm çözünürlüğünü ve buna bağlı olarak ölçüm hızını arttırmak amacıyla seçilmiştir.

MCP4725'in avantajı, ESP32 de her bir bit 12,89 mV değere karşılık gelmektedir. Bunu da tarama hızlarına (50mV/s,100mV/s,200mV/s) göre hesaplırsak düşük frekans değerleri (sırasıyla 4,8,16 Hz) elde edilmektedir. Fakat MCP4725 üzerindeki DAC sayesinde bu değer 0,8 mV değerlere gelmektedir. Bunun sonucunda daha yüksek frekans değerleri (sırasıyla 60,120,240 Hz) elde edilmiştir. Tüm bu hesaplamalar Tablo 9 da belirtilmiştir.

Çizelge 3.3. ESP32 ve MCP4725 için frekans hesaplamaları ve mikrodenetleyiciye uygulanacak gecikme hesaplamaları

	1 bitteki gerilim	1 saniyedeki adım	Gecikme
ESP32 için hesaplamalar	12,89 mV	3,8789	257,8050 ms
		7,7579	128,9 ms
		15,5159	64,45 ms
MCP4725 için hesaplamalar	0,8056 mV	62,06	16,1134 ms
		124,13	8,0560 ms
		248,26	4,0280 ms

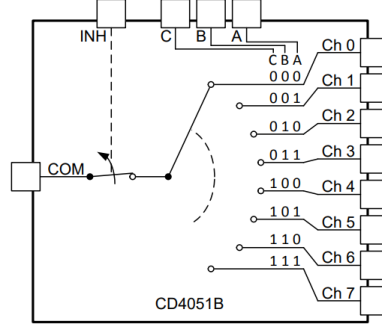
3.2.1. Akım-Voltaj Dönüştürücü devresi (Transimpedans Amplifier)

Elektrokimyasal yöntemlerde potansiyostat üzerinden geçen akım önemlidir. Ancak akımı, bir ADC'den okumak mümkün değildir. Devreden geçen akımı okumamız için bu akımı transimpedans yükseltecinden geçirerek voltaj elde edilir. Bu voltaj ADC'den okunarak dijital sinyal elde edilir.

Devreden geçen akımı $53\mu\text{A}$ - $1785\mu\text{A}$ sınır değerleri arasında ölçmek amacıyla 8 farklı direnci seçmek için bir analog çoklayıcı (multiplexer) kullanılmıştır. Şekil 3.4 in sağ tarafında görülen bu çoklayıcı, Texas Instruments'a ait CD4051'dir. Bu çoklayıcının teknik özelliklerine bakarsak;

- Düşük Besleme Gerilimi: ESP32 üzerinden direk besleme imkânı
- Açık haldeki direnci düşükken, kapalı haldeki direnci oldukça yüksek olması
- 8 farklı seçim imkânı sağlaması

Functional Diagrams of CD405xB



Şekil 3.8. CD4051 in fonksiyon diyagramı

Şekil 3.8 deki diyagrama bakılarak çoklayıcı üzerindeki kanal sayısı ve bu kanalların seçimi için A,B,C bacaklarının aktiflik ve pasiflik durumları belirtilmiştir. Yapılan devrede kullanılan direnç çeşitleri (560 Ω , 1k Ω , 2k Ω , 4.5k Ω , 7.66k Ω , 10k Ω , 15k Ω , 20k Ω) Ch0 dan başlayarak Ch7 ye kadar sırasıyla bağlanmıştır. Bu bağlama yapıldıktan sonra, COM ucu kontrol yükseltecinin bir bacağına bağlanmıştır.

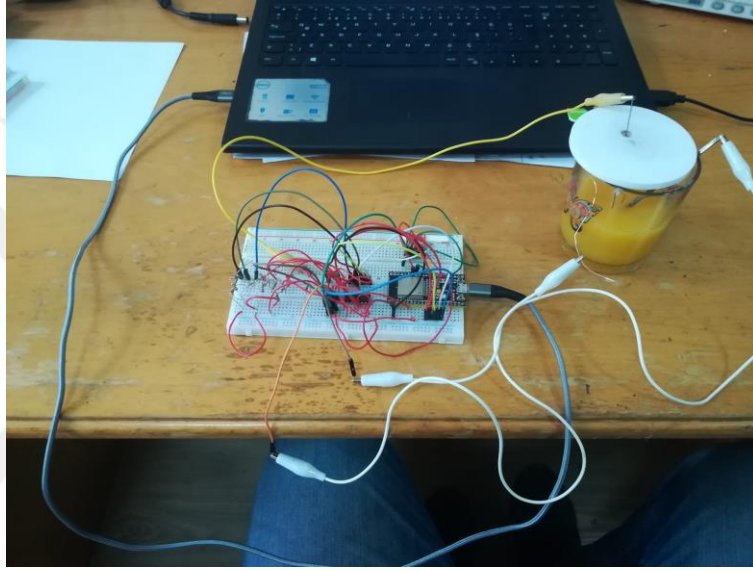
Çizelge 3.4. CD4051 Doğruluk Tablosu

Table 1. Truth Table⁽¹⁾

INPUT STATES				ON CHANNEL(S)
INHIBIT	C	B	A	
CD4051B				
0	0	0	0	0
0	0	0	1	1
0	0	1	0	2
0	0	1	1	3
0	1	0	0	4
0	1	0	1	5
0	1	1	0	6
0	1	1	1	7
1	X	X	X	None

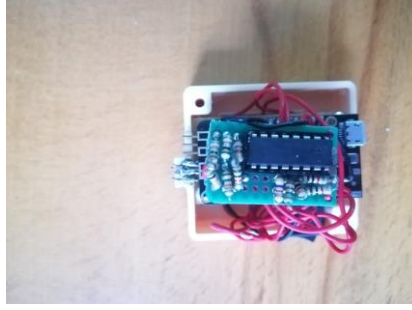
Çizelge 3.4 de, CD4051 in Inhibit ucunu toprağa bağladığımızda çoklayıcı aktif hale geçmektedir. Aksi halde, çoklayıcı seçim yapamamaktadır.

Bu bilgilere ek olarak, kullanıcı bu direnç değerleri sayesinde yapacağı deneye uygun bir şekilde transempedans devresindeki direnç seçimini yapabilmektedir. Bunun avantajı, her analitin farklı gerilim değerlerinde yükseltgenme ve indirgenme tepkimesini gerçekleştirmesidir. Buna uygun olarak sınır değerlerinin seçilmesi gerekmektedir.



Şekil 3.9. Devrenin öncelikle breadboard üzerinde tasarlanarak deneylerinin yapılmasının gösterimi

Şekil 3.9 de de görüldüğü gibi devre öncelikle breadboard üzerinde tasarlanmıştır. Daha sonra deney ölçümleri yapılarak cihazın doğru çalışıp çalışmadığı test edilmiştir.

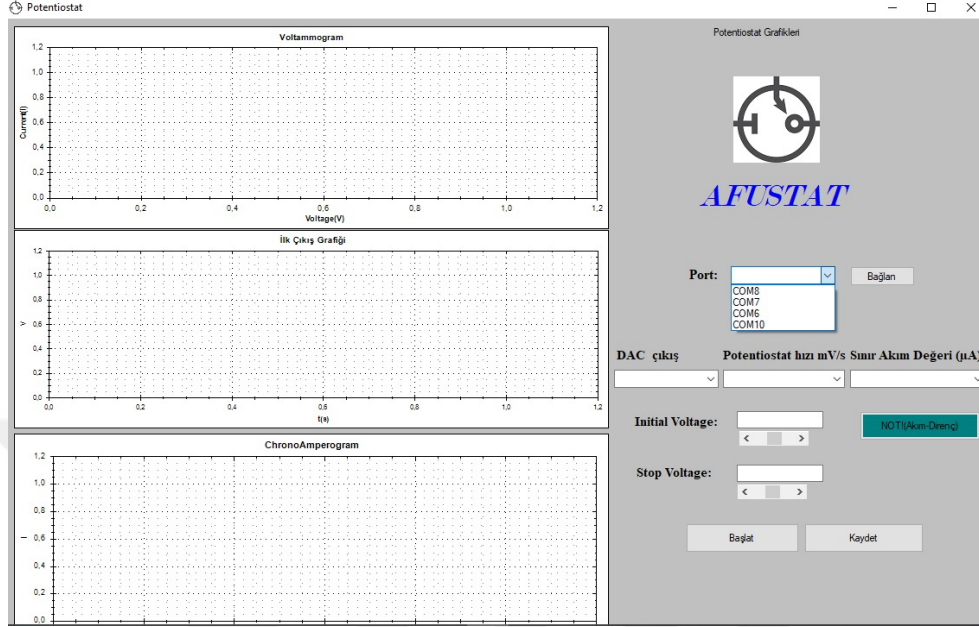


Şekil 3.10. Devrenin kapalı kutu içerisindeki görünümü

Şekil 3.10 daki devrede daha sonra eklenen MCP4725 harici DAC bulunmamaktadır. Devreye MCP4725 parçası geliştirme olarak konulmuştur ve harici DAC ın boyutu küçük olduğundan cihazın boyutuna ve taşınabilirliğine bir etkisi bulunmamaktadır.

3.3. Arayüz Tasarımı ve Program Yapısı

Şekil 3.11 de gösterilen arayüz ekranından öncelikle, bilgisayarı Bluetooth üzerinden cihaza bağlamamız gerekmektedir.



Şekil 3.11. Arayüzden port seçim ekranı

Bağlantı hangi COM üzerinden gerçekleştiriliyorsa, bu ekranda ona uygun port seçilerek bağlantı sağlanmış olur. Bu da arayüzden “Bağlantı sağlanmıştır.” yazısını görerek teyit edilebilmektedir. Bağlantı kurulmadığında ya da bağlantı yanlış kurulduğunda bilgisayar bir hata mesajı yayınlamaktadır.

```

void setup() {
    Serial.begin(9600);
    SerialBT.begin("AFUSTAT_P"); // Bluetooth cihaz ismi
    analogReadResolution(12); // ADC çözünürlük ayarı
    dac_output_enable(DAC_CHANNEL_1);
    dac_output_enable(DAC_CHANNEL_2);
    pinMode(cikis_A, OUTPUT);
    pinMode(cikis_B, OUTPUT);
    pinMode(cikis_C, OUTPUT);
}

void loop() {

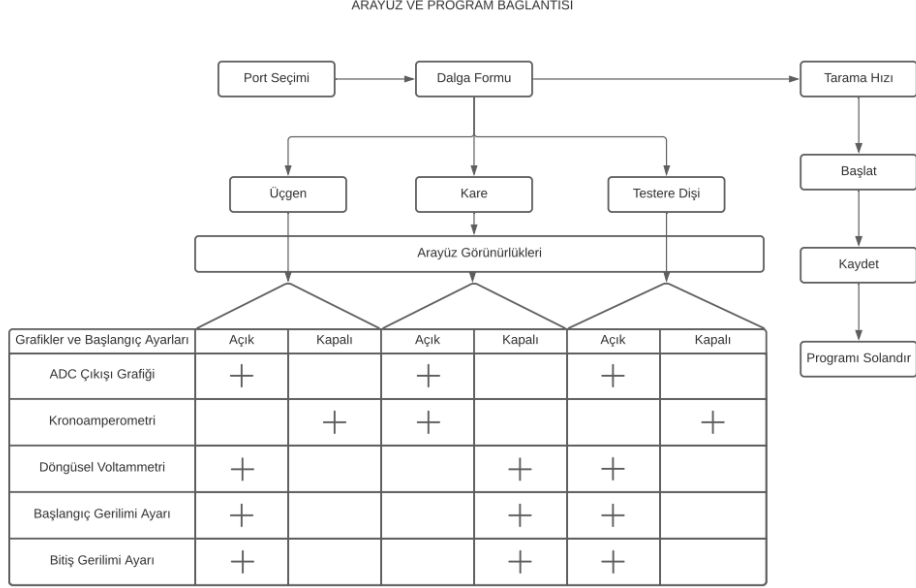
    if (SerialBT.available())
    {
        dalga = SerialBT.readStringUntil('.'); //Arayüzden seçilen dalga formatı alınıyor
        if (dalga == "ucgen\n50 mV/s\n") //Uygun dalga formatı koşuluna gidiliyor.
        {

            String dalga2 = SerialBT.readStringUntil('*'); //Başlangıç gerilimi değeri alınıyor
            double iv=dalga2.toDouble();
            String dalga3=SerialBT.readStringUntil('/'); //Bitiş gerilimin değeri alınıyor
            double sv=dalga3.toDouble();
            String dalga4=SerialBT.readStringUntil(':'); //Sınır akım değeri belirleniyor
            noc=dalga4.toInt();
            if(noc == 1785)
            {
                digitalWrite(cikis_C,LOW); //Seçilen akım değerine göre multiplexer ayarı yapılıyor
                digitalWrite(cikis_B,LOW);
                digitalWrite(cikis_A,LOW);
            }
        }
    }
}

```

Şekil 3.12. Kodun kurulum ve döngü kısmının ana yapısı

Şekil 3.12 de kodun ana yapısı görülmektedir. Bilgisayarın Bluetooth ayarlarından bu isimle eşleştirilerek bir sanal COM port oluşturulur. Bu port arayüz üzerinden eşleştirilerek iki cihazın birbiriyle bağlantısı yapılır. Daha sonra yine Şekil 3.11 de kullanıcının arayüzden tüm ayarlamaları sırasıyla bilgisayar önce dalga formu, başlangıç gerilimi, bitiş gerilimi ve sınır akım değeri olarak algılamaktadır. Tüm bu yapıları arayüzden dizi formatında almaktadır ve program içerisinde istenilen formatlara dönüştürmektedir. En sonunda ise kullanıcı tarafından girilen sınır akım değerine göre ise çoklayıcı'nın hangi bacaklarının aktif olup olmayacağı belirlenmektedir.



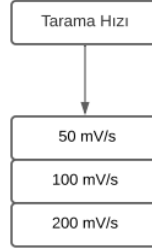
Şekil 3.13. Arayüz Seçim Diyagramı

Şekil 3.13 de, arayüz programından kullanıcının hangi sıralamayla ilerleyeceği ve seçeceği dalga formuna göre hangi grafiklerin ve ayarlamaların görünürlükleri gösterilmiştir. Ayrıca kullanıcı hangi dalganın hangi tekniğe geldiğini de bu diyagramdan anlayabilmektedir. Bunlar sırasıyla;

- Üçgen: Döngüsel Voltammetri
- Sawtooth: Doğrusal Voltammetri
- Kare: Kronoamperometri

Üçgen dalga ve testere dişi dalganın başlangıç ve bitiş noktası Şekil 3.11 üzerinden de görüleceği gibi ayarlanabilmektedir. Fakat kare dalga formatının başlangıç ve bitiş gerilimleri sabit bir değerde belirlenmiştir. Oluşturulacak kare dalga formatının sadece tarama hızı ayarı yapılabilmektedir ve kare dalganın genliği ise devrenin çıkışında 500 mV gerilim değerine sahiptir.

Yapılacak olan deneye uygun formatta bir dalga formunun seçtikten sonra arayüzden 3 farklı değerde tarama hızı seçebilmektedir.



Şekil 3.14. Tarama Hızı değerleri

Kullanıcı Şekil 3.14 de belirtilen tarama hızlarından herhangi birisini, ki bu değer yapacağı deneye uygun olmalı, seçer. Bu komut sayesinde mikroişlemcinin timer'ını “ timerAlarmWrite (timer, x, true);” ile aktifleştirilir. Bu komuttaki “x” değeri seçilen tarama hızına göre değişmektedir. Bu x değerleri 50 mV/s için 260000, 100 mV/s için 130000 ve 200 mV/s içinse 65000 olarak belirlenmiştir. Bu değerlerin belirlenmesinde ise, ESP32 nin osilasyon frekans sinyalini “timer1 = timerBegin(0, 80, true);” ile ölçekleyerek mikro saniyelerde sinyal oluşacağı belirlenmiştir. ESP32 80MHz frekansa sahip bir sinyal oluşturur, ki bu saniyede 80 000 000 kez sinyali tekrarlandığını gösterir. Biz bu komutla beraber bu sinyali 80 parçaya bölerek frekansın 1 000 000 olmasını sağladık. Bunun sonucunda, oluşacak kesme sinyalini bu ayarla beraber mikro saniyelerde olacağını biliyoruz. Daha önceki kısımlarda sinyalin 65 ms/130ms/260 ms olacağını söylemiştik. Fakat burada mikrosaniye üzerinden işlem yaptığımız için bu sayılar 65000/130000/260000 olarak ayarlanmıştır. Daha sonrasında bu frekanslar MCP4725 ile değiştiğinden bu komutlar da o verilere uygun bir şekilde değiştirilmiştir.

```

void IRAM_ATTR onTimer() { //Üçgen Dalga
    portENTER_CRITICAL_ISR(&timerMux);
    interruptCounter++;
    b++;
    if(b>25)
    {
        if(a>=iv && a<=d)
        {
            a++;
            dacWrite(25,a);
            dacWrite(26,78);
        }

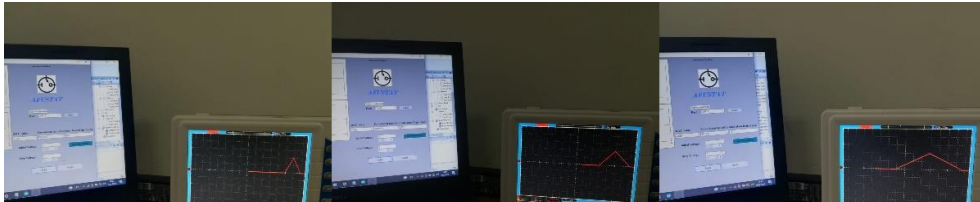
        if(a>=d && d>=e)
        {
            d--;
            dacWrite(25,d);
            dacWrite(26,78);
        }

        if(d<=e)
        {
            dacWrite(25,0);
            dacWrite(26,0);
        }
    }
    portEXIT_CRITICAL_ISR(&timerMux);
}

```

Şekil 3.15. Üçgen dalganın oluşturulması

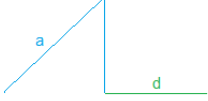
Şekil 3.15 dan da anlaşılacağı gibi, üçgen dalganın öncelikle yükselen kısmı daha sonra düşen kısmı daha sonra da o değerin sıfırlanması işlemi gerçekleşmektedir. Buradaki b değeri ise programın başlamadan önce verdiği ufak bir gecikmedir.



Şekil 3.16. Oluşturulan üçgen dalgaların aynı V/DIV ve t/DIV üzerinden gösterimi

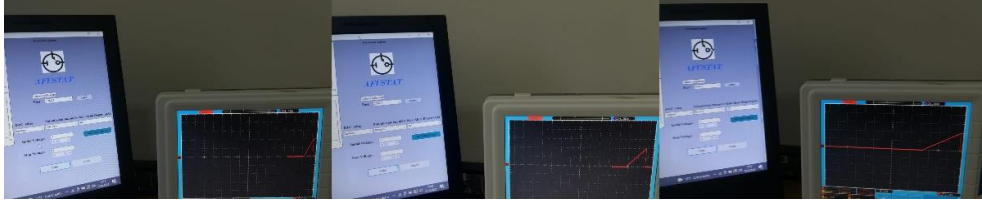
Şekil 3.16 da ilk dalga formu olarak 200mV/s daha sonra sırasıyla 100mV/s ve 50mV/s gösterilmektedir.

```
void IRAM_ATTR onTimer1() { //Testere Dişi Dalga
    portENTER_CRITICAL_ISR(&timerMux);
    interruptCounter++;
    b++;
    if (b>25)
    {
        if (a>=iv && a<=d)
        {
            a++;
            dacWrite(25,a);
            dacWrite(26,78);
        }
        if (a>d)
        {
            dacWrite(25,0);
            dacWrite(26,0);
        }
    }
    portEXIT_CRITICAL_ISR(&timerMux);
}
```



Şekil 3.17. Testere dişi dalganın oluşturulması

Şekil 3.17 de görüldüğü gibi, testere dişi dalganın yükselen kısmı daha sonra ise sıfırlanan kısmıyla oluşturulmaktadır.



Şekil 3.18. Oluşturulan testere dişi dalgaların aynı V/DIV ve t/DIV üzerinden gösterimi

Şekil 3.18 de dalga formları sırasıyla 200mV/s,100mV/s ve 50mV/s olarak gösterilmektedir.

```

void IRAM_ATTR onTimer2() { //Kare Dalga
  portENTER_CRITICAL_ISR(&timerMux);
  interruptCounter++;
  b++;

  if(a>=iv && a<=70)
  {
    a++;
    dacWrite(25,0);
    dacWrite(26,78);
  }
  if(a>30)
  {
    dacWrite(25,116);
    dacWrite(26,78);
  }

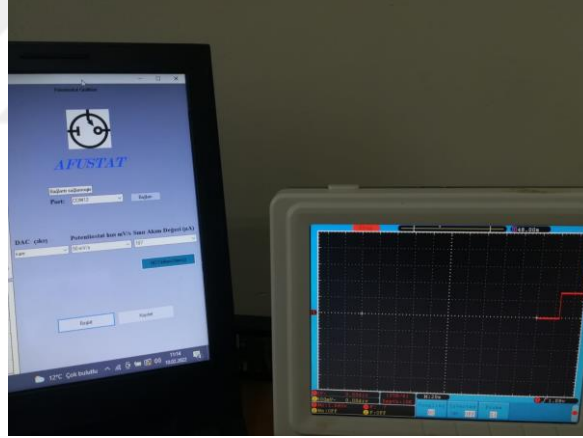
  portEXIT_CRITICAL_ISR(&timerMux);
}

```



Şekil 3.19. Kare dalganın oluşturulması

Şekil 3.19 da kare dalganın yukarıda da açıkladığım gibi sabit bir değerde oluşturulmuştur.



Şekil 3.20. 50mV/s de oluşturulan bir kare dalganın gösterimi

Şekil 3.20 sadece 50mV/s gösterilmektedir. Diğer tarama hızlarında görüntüler ile tek farkı ilk dürtüyü oluşturduğu zamandır.

ESP32 de oluşturabilecek 4 farklı timer fonksiyonun 3 tanesi bu dalga formatlarını oluşturmak için kullanılmıştır. “void IRAM_ATTR onTimer()” üçgen

dalgayı, “void IRAM_ATTR onTimer1()” testere dişi dalgayı, “void IRAM_ATTR onTimer2()” kare dalgayı temsil etmektedir.

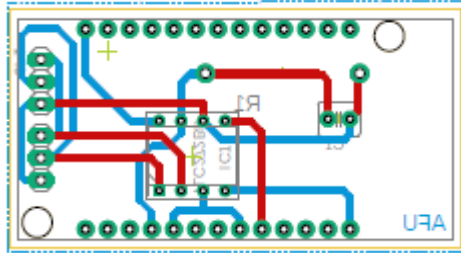
```
adc_value = analogRead(34);
adc_value2= analogRead(35);
delay(30);
deger += ' ';
deger += adc_value2;
deger += ' ';
deger += adc_value;
deger += ' ';
Serial.println(deger);
SerialBT.println(deger);
deger = " ";
```

Şekil 3.21. Değerlerin okunduğu kod kısmı

Değerler Şekil 3.21 de de belirtildiği üzere 30 milisaniye bir gecikme verildi. MCP4725 ile kurulduktan sonra bu gecikme kaldırıldı.

3.4. PCB tasarımı

PCB tasarımını tasarımı en düşük boyutlarda tutmak amacıyla ESP32 WEMOS Lolin Lite ile aynı boyutlarda katman şeklinde bir PCB oluşturulmuştur. Z-eksenindeki boyutu da en az düşürmek amacıyla diğer devre elemanlarını ESP32 WEMOS Lolin Lite ile PCB arasına yerleştirilmiştir.



Şekil 3.22. PCB tasarımı

Şekil 3.22 deki tasarıma ek olarak, CD4051 için bir şematik tasarım yapılmamış olup, delikli bir pertinaks üzerinden bağlantıları sağlanmıştır.

3.5. Filtre Tasarımı

Bu cihazda oluşan sinyali daha iyi görüntülemek ve analiz etmek amacıyla bir filtreye ihtiyaç duyulmuştur. Cihazda belirli bir frekansın üzerindeki sinyallerin gürültü oluşturduğu gözlenip bir alçak geçiren filtre tasarlanmıştır. Analog filtre tasarımı cihazın boyutlarını etkileyeceği için cihazda dijital bir filtre tasarımı yapılmıştır. FIR filtre yapısı üç ana kısımdan oluşur ki bunlar sırasıyla birim geciktirme elemanı, çarpıcı ve toplayıcıdır. FIR filtre denklemi ise şu şekildedir:

$$y[n] = \sum_{k=0}^{N-1} a[k]x[n-k]$$

Burada $y(n)$ çıkış $x(n)$ ise giriş sinyalini temsil etmektedir. Bu filtre tasarlanırken katsayılar Matlab programı üzerindeki “lowpass” komutu kullanılarak hesaplanmıştır. Fakat sinyal filtrelemesi arayüzde gerçekleşmektedir. Daha sonra bu sinyal sayesinde arayüzdeki voltamogram ve çıkış grafiği oluşturulur.

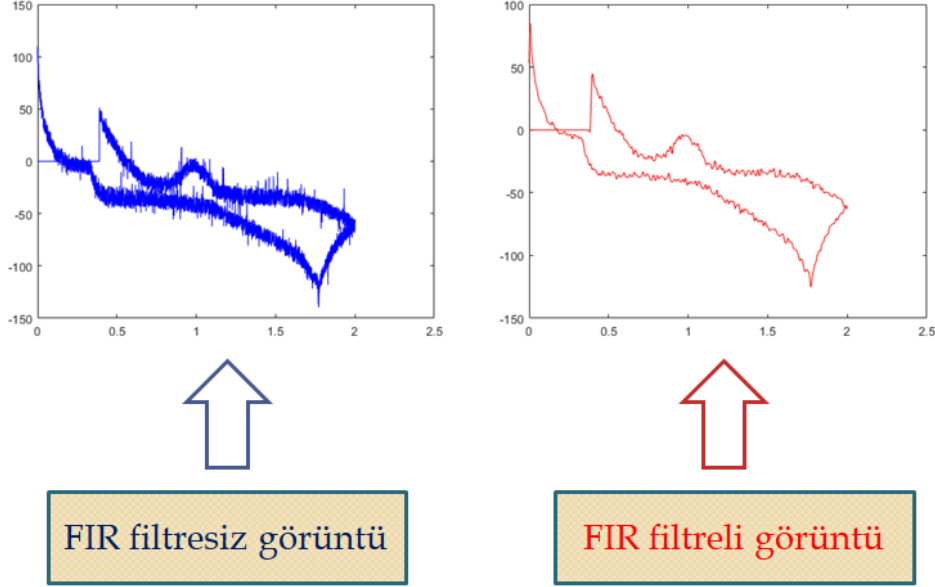
Komut kullanırken 3 farklı parametre girilmiştir. Bunlar filtrelenecek sinyal, kesim frekans ve örnekleme frekansıdır. Tablo 9 da belirtilen MCP4725 için 1 saniyede ilerlenecek adım sayısına göre filtrelenecek istenilen frekans seçilmiştir. 200mV/s tarama hızı olan bir sinyalin için bu frekans değeri 250 Hz, 100mV/s tarama hızı olan bir sinyalin için bu frekans değeri 125 Hz, 50mV/s tarama hızı olan bir sinyalin için bu frekans değeri 62 Hz’dir. Örnek sayısı da DAC’ın adım sayısına göre belirlenmiştir. Örneğin 200 mV/s bir sinyal için, 1 Hz kesim frekansına sahip alçak geçiren bir filtre oluşturmak için bu komut, lowpass(filtresiz_sinyal,1,250) olarak kullanılmıştır. Sonuç olarak 62 Hz, 125 Hz ve 250 Hz örnekleme frekansları için 3 ayrı filtre tasarlanmış ve filtre uzunlukları sırasıyla 49, 51, 55 olarak bulunmuştur.

```
private static double[] FIR(double[] b, double[,] x)
{
    int M = b.Length;
    int n = x.Length/2;
    //y[n]=b0x[n]+b1x[n-1]+....bm x[n-M]
    var y = new double[n];
    for (int yi = 0; yi < n; yi++)
    {
        double t = 0.0;
        for (int bi = M - 1; bi >= 0; bi--)
        {
            if (yi - bi < 0) continue;

            t += b[bi] * x[yi - bi, 1];
        }
        y[yi] = t;
    }
    return y;
}
```

Şekil 3.23. FIR Filtre yazılımı

Şekil 3.23 deki FIR filtre katsayıları kodun global kısmında tanımlandıktan sonra, aynı kodda bir FIR filtre fonksiyonu oluşturulmuştur. Burada her gelen veri filtreden geçirilerek çıkış sinyali elde edilmiş ve grafik oluşturulmuştur.



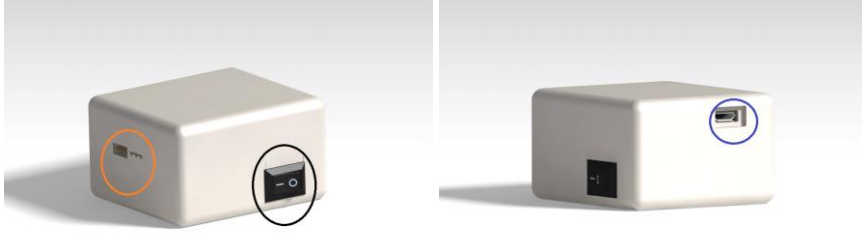
Şekil 3.24. Filtresiz görüntü(mavi) ve filtreli görüntü(kırmızı) karşılaştırması

Şekil 3.24 deki mavi renk ile çizilen voltamogram 200 mV/s ve 500 μ A akım sınırı değerinde herhangi bir dijital filtreden geçmeden elde edilmiştir. Fakat kırmızı ile elde edilen görüntü ise FIR filtreden geçirilerek elde edilen voltamogramdır. Filtresiz bir şekilde elde edilen voltammogram, Şekil 3.23 de mavi renk ile belirtilen grafikteki gibi çok gürültülüdür. Filtre uygulandıktan sonra görüntüde gürültünün azaldığı görülmektedir.

3.6. Cihaz Kabı Tasarımı

Cihaz kabı için tasarımı, KATIA ve SOLIDWORKS programları üzerinden, cihazı elektrotlara ve elektrokimyasal hücrenin bağlanabileceği şekilde tasarlanmıştır. Cihaz aynı zamanda micro-USB üzerinden bataryayı şarj edilebilmesi için micro-USB boşluğu bırakılmıştır.

Ayrıca cihazın sürekli çalışmaması için bir aç/kapa anahtarıyla beraber, açılıp kapatılacak şekilde tasarlanmıştır.



Şekil 3.25. Cihazın tasarımının 3 boyutlu şekilde gösterimi(Turuncu: Elektrot bağlanma kısmı, Siyah: Aç/Kapa Anahtarı, Mavi: micro-USB girişi)

Şekil 3.25 de turuncu ile gösterilen kısım hem SPE'yi bağlayabileceğimiz hem de kablolar yardımıyla hücre elektrotlarını bağlayacağımız kısımdır. Siyah ile belirtilen kısım ise cihazın açma kapama butonunu gösterir. Mavi çember ile işaretlenen bölüm ise micro-USB sayesinde cihazın hem çalıştırılabileceği hem de şarj edilebileceği kısımdır.



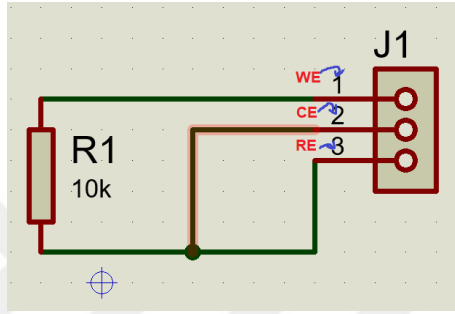
Şekil 3.26. Cihazın Görünümü (Boyutlar:59mmx51mmx56mm)

Şekil 3.26 de cihazın boyutları en olarak 59mm, boy olarak 51mm ve yükseklik olarak ise 56 mm'dir.

4. SONUÇLAR

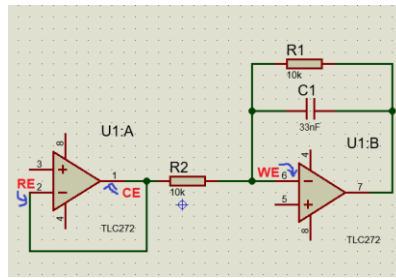
4.1 Cihaz Dummy-Cell ile Kalibrasyonu

Cihazın doğru çalışıp çalışmadığını test etmek amacıyla dummy-cell devresiyle kalibrasyon yapılmıştır.

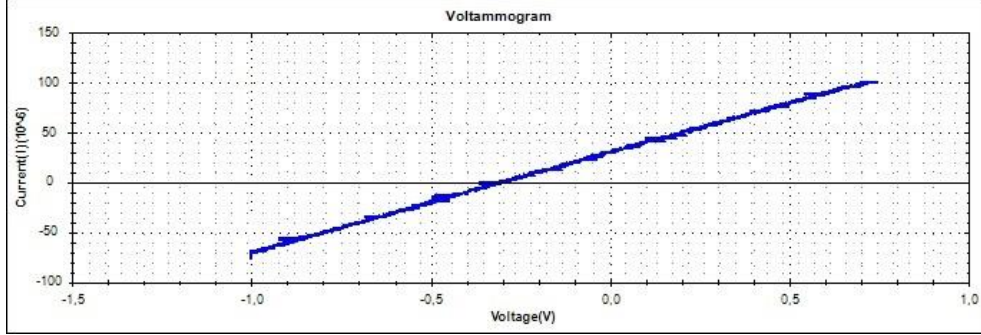


Şekil 4.1. Dummy Cell Devresi

Şekil 4.1 deki Dummy-Cell devresindeki amaç, iki elektrotlu potansiyostat konfigürasyonuna eşdeğer bir yapıda fakat burada aradaki direnç bilindiğinden dolayı üzerinden geçen akımın değeri de hesaplanabilmektedir. Buna uygun olarak 10k ile hazırlanmış bir devrenin tasarlanmış ve trans empedans devresindeki direnç değeri ise 10k olarak seçilmiştir. (Chatti et al., 2019)



Şekil 4.2. Dummy Cell Yardımıyla Oluşan Devre



Şekil 4.3. Dummy Cell Sonucu oluşan Grafik

Şekil 4.3 de gözlemlenen dummy-Cell grafiği üzerinden de görüleceği gibi $\pm 1V$ arası değişen grafikte voltajın değişme durumuna paralel bir şekilde akım değişim göstermektedir. Burada oluşan akım değeri dummy-cell in tüm devresi üzerinden geçen akım transempedans devresi üzerinden geçen akımı göstermektedir. Zira potansiyostat devrelerinde önemli olan değer transempedans üzerinden geçen akımdır (Glasscott et al., n.d.).

4.2 Glikoz Değerlerinin Ölçülmesi

Glikoz değerlerini ölçme amacıyla bir dizi çözelti hazırlanmıştır. Çözeltiler 100 mL saf su ve 1X fosfat tampon çözeltisiyle hazırlanmıştır. Bu çözeltilerin üzerine sırasıyla 90 mg, 180mg, 240mg, 360mg, 480mg ölçülerinde glikoz eklenmiştir. Glikoz değerlerindeki tepkimeleri ölçmek amacıyla On Call Plus glukometre cihazının test çubukları kullanılmıştır.(Şavk, 2019)



Şekil 4.4. Glikoz miktarını tespit etmek amacıyla deneyde kullanılan kimyasallar (en solda:D-Glikoz, ortada: ph 7.01 tampon çözeltisi, en sağda:destile su)

Şekil 4.4 deki malzemeler belirtilen miktarlarda katılarak çözelti oluşturulmuştur.



Şekil 4.5. Glikoz çözeltisinin görünümü

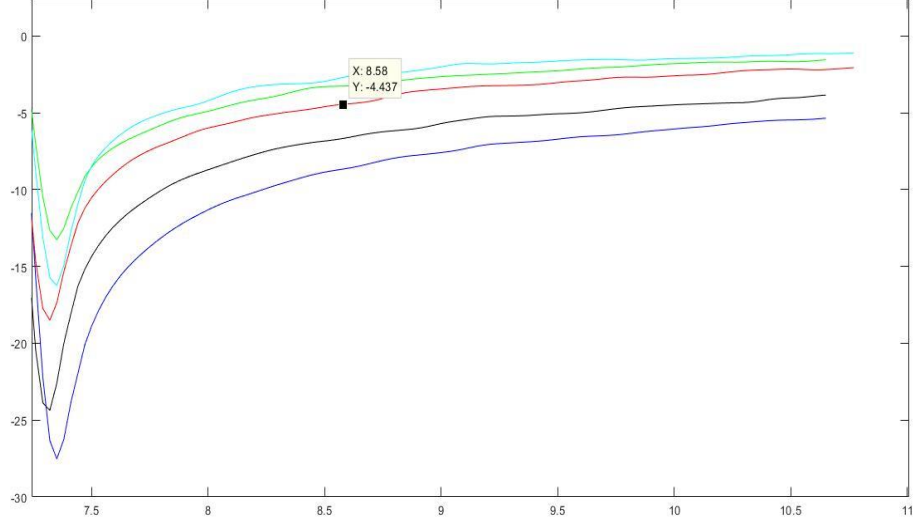
Şekil 4.5 de görüldüğü gibi çözeltiler bir bardak üzerine belirtilen miktarlarda eklenerek hazırlanmıştır.



Şekil 4.6. Deneyde kullanılan On-Call plus adındaki elektrotlar

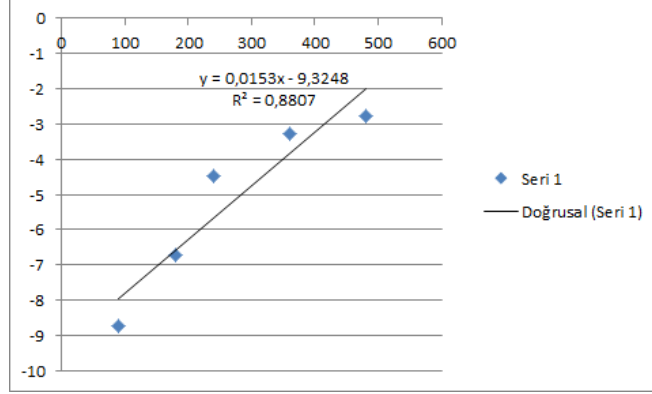
Şekil 4.6 deki elektrot kandaki glikoz miktarını ölçmek amacıyla tasarlanmıştır. Elektrotun kan veya glikoz çözeltisinin tam tersinde oklar ile hangi elektrot kısmının nereye bağlanacağı gösterilmektedir.

Bu bilgiden faydalanılarak deneyler yapılmıştır. Glikoz değerlerini ölçmek amacıyla arayüzden kare dalga, 100 mV/s ve 107 μ A kısımları seçilmiştir. Bunun sonucunda Şekil 4.7 deki grafik elde edilmiştir;



Şekil 4.7. Kronoamperometri Değerleri Dalga formatı başladıktan 1.5 sn sonraki ölçümler (Mavi-90, Siyah-180, Kırmızı-240, Yeşil-360, Cyan-480 mg)

Şekil 4.7 de gözlemlenen grafikte mavi renkle belirtilen eğride kullanılan glikoz miktarı 90 mg iken, siyahta 180mg,kırmızıda 240 mg, yeşilde 360 mg ve son olarak cyan renkli eğride ise bu değer 480 mg dır. Bu miktarlar hem doğrusal hem de ara değerler olarak belirlenmiştir. Bunun nedenleri cihazın hem doğrusal değerlere olan yanıtını gözlemlemek hem de çalışma verilerini arttırmaktır. Bu grafiğin cihaz başladıktan 8.58 saniye sonrasında oluşan akımlar karşılaştırılarak elde edilmiştir. Bu verilerin doğrusal olup olmadığı karşılaştırmak için bir regresyon grafiği elde edilmiştir.



Şekil 4.8. Glikoz Değerlerinin Regresyonu

Şekil 4.8 den de anlaşılacağı gibi oluşan akım değerleri $R^2=88$ gibi bir oranla doğrusal bir regresyon eğrisi oluşturmaktadır.

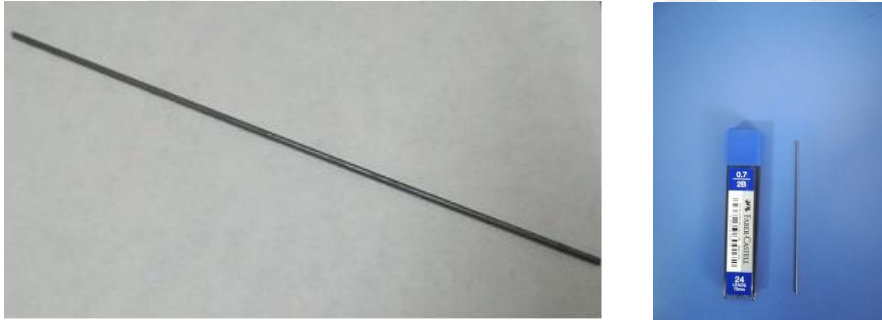
4.2.1 Askorbik Asit Değerlerinin Ölçülmesi

C vitamini ya da Askorbik asit, potansiyostatlarda sıklıkla kullanılan analitlerden biridir. Bunun başlıca nedeni Askorbik asit in 0,2V değerlerinde tepkimeye girmesidir. Bu özellik askorbik asitin sadece belirli bir voltaj yardımıyla tepkimeye başlamasıdır. Bu cihazda, yerel bir marketten alınan bir portakal suyu içerisine, 3M KCl tampon çözeltisi eklendikten sonra, 0,2 mg değerinde askorbik asit eklenerek askorbik asit ölçümü sağlanmıştır.(Musara, 2019)



Şekil 4.9. Askorbik asit ölçümünde kullanılan kimyasallar (en solda: taze sıkılmış portakal suyu, ortada: 3M KCl çözeltisi, en sağda: askorbik asit)

Şekil 4.9 da görülen çözelti ve çözünen karıştırılarak deney çözeltisi elde edilmiştir.



Şekil 4.10. Çalışma Elektrotu

Şekil 4.10 daki gibi bir Faber Castell marka 0,7 mm çapında karbon bir kalem ucu çalışma elektrotu olarak kullanılmıştır. Çalışma elektrotu olarak karbon seçilmesinin nedenleri ise;

- Hem yükseltgenme hem de indirgenme bölgesinde geniş bir çalışma aralığı sağlaması ($\pm 1.8V$ (sulu ortamda))
- Düşük artık akım üretmeleri

- Zengin yüzey kimyasına sahip olmaları
- Ucuz olmaları
- Kimyasal olarak inert (aktif olmayan) olmaları (Yılmaz, 2016)



Şekil 4.11. Karşıt Elektrot

Bu deneyde Şekil 4.11 deki gibi bir karşıt elektrot kullanılmıştır. Bu elektrot %99,9 oranlı 0,4 mm çapında gümüştür.

Bu deneyde Ag/AgCl kullanılmasının nedeni ise düşük akım değerlerinde metal-metal iyonu elektrotların kutuplaşmamasıdır.(Yılmaz, 2016)



Şekil 4.12. Referans Elektrot

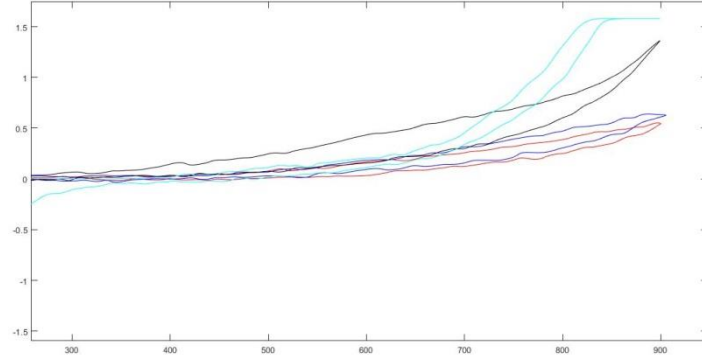
Referans elektrot için aynı işlem yerel bir gümüşçüden alınan gümüş bir levha üzerine de uygulanmıştır. Fakat Şekil 4.14 deki gibi Referans elektrotunun yüzey alanı karşıt elektroda göre çok daha yüksektir. Bunun nedeni ise oluşan akım değerinin yüzey alanı artırılarak elektrotun yüzeyin etkilenmemesini sağlamaktır.



Şekil 4.13. Askorbik asit deney düzeneği

Şekil 4.13 de elektrotların düzeni ve yerleşimi görülmektedir.

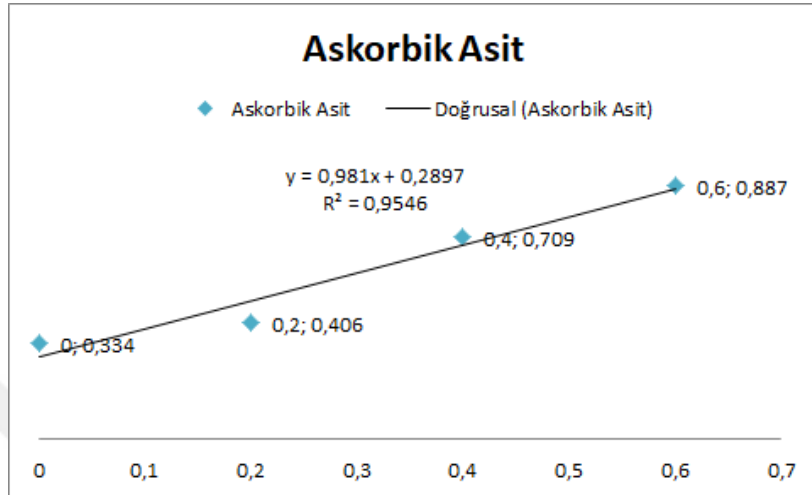
Askorbik asit değerlerini ölçmek amacıyla arayüzden üçgen dalga formunda, 100 mV/s tarama hızı ve 1785 μ A sınır akım değeri seçilmiştir. Bunun sonucunda aşağıdaki grafik elde edilmiştir.



Şekil 4.14. Döngüsel Voltammetri Değerleri(Kırmızı-Turunc Suyu, Mavi-0.2, Siyah-0.4, Cyan-0.6 mg)

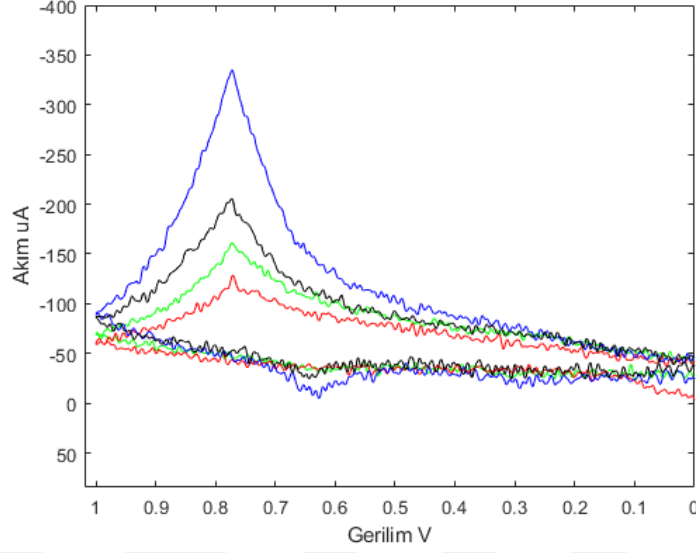
Şekil 4.14 de gözlemlenen voltammetri grafiğinde kırmızı ile belirtilen sadece turunc suyunun elektrokimyasal hücreden geçirildiğinde üzerinde oluşan akım-gerilim grafiğidir. Mavi ile belirtilen grafik ise turunc suyunun üzerine 0.2 mg askorbik asit eklenerek, siyah ile belirtilen grafik ve daha sonra cyan ile belirtilen ise oluşan elektrokimyasal hücreye 2.2 mg eklenerek elde edilmiş grafiklerdir. Daha sonrasında bu miktarları bir regresyon eğrisinde bakıldığında aşağıdaki sonuç elde edilmiştir:

Bunun sonucunda elde edilen regresyon eğrisi ise;



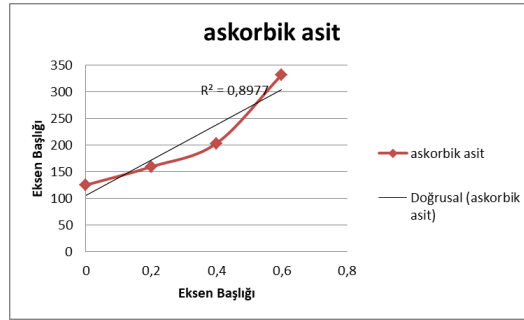
Şekil 4.15. Askorbik Asit Değerlerinin +758 mV da Regresyonu

Şekil 4.15 deki regresyon eğrisinden de anlaşılacağı üzere grafik, yükseltgenme reaksiyonundayken, +758 mV geriliminde oluşan akım temel alınarak hesaplanmıştır. Bu eğride R^2 değeri 0,9546 olarak çıkmıştır. Bu deneyin regresyon eğrisi verilerine bakarak askorbik asit miktarı arttıkça akım oranı da doğrusal bir şekilde artmaktadır.



Şekil 4.16. Döngüsel Voltammetri Değerleri(Kırmızı-Turunc Suyu, Yeşil-0.2, Siyah-0.4, Mavi-0.6 mg)

Şekil 4.16 da belirtilen veriler MCP4725 harici DAC ında sonra oluşan devre üzerinde yapılan deneyler sonucu elde edilen döngüsel voltammetriyi göstermektedir.



Şekil 4.17. Askorbik Asit Değerlerinin +776 mV da Regresyonu (MCP4725 kullanılarak)

MCP4725 kullanılarak Şekil 4.17 deki regresyon grafiği elde edilmiştir. Bu grafikteki regresyon oranı yüzde 89.77 oranındadır.

5. TARTIŞMA

Yeni bir cihaz tasarlanırken diğer cihazlarla sonuçlarının ve özelliklerinin karşılaştırılması o cihazın bulunan cihazlara olan benzerliğini ve farkını ortaya koymaktadır. Bunu daha iyi göstermek amacıyla aşağıdaki Çizelge 5.1. oluşturuldu.

Çizelge 5.1. Tüm Cihazların Karşılaştırılması

Cihazlar Özellikler	PSoC	CheapStat	DStat	UWED	UMED	Bu Cihaz
Voltaj Aralığı	±2V	±1V	±1,5V	±1,5V	±2V	±1V
Akım Sınırı	0,1 mA	0,05mA	10mA	180µA	156µA	0,053mA
ADC Çözünürlüğü	12 bit	12 bit	24 bit	16 bit	16 bit	12 bit
Maliyet	~25\$	80-135\$	~120\$	~60\$	~25\$	~17\$
DAC Çözünürlüğü	12 bit	12 bit	12 bit	16 bit	16 bit	12 bit
Besleme	USB	USB	USB	Batarya	Batarya	Batarya
Taşınabilirlik	x	x	x	√	√	√
Kablosuz Bağlantı	x	x	x	√	x	√

Çizelge 5.1. deki diğer cihazlar ile tasarlanan bu cihaz karşılaştırılırsa, bu cihazın avantajlarını maliyet, taşınabilirlik ve kablosuz bağlantı olarak sıralayabiliriz.

Bu cihazın maliyeti hesaplanırken, cihazdaki kullanılan donanımların birim maliyetleri baz alınarak hesaplanmıştır.

Bu avantajlardan maliyeti inceleyecek olursak, tabloda yer alan cihazlara oranla çok daha düşük bir maliyetle yakın özellikleri sağlamaktadır.

Ayrıca cihazın bataryası USB aracılığıyla şarj edilebilir olup, sürekli kullanıma imkan sunmaktadır. Cihazda kullanılan 3.7V 300 mAh Li-Polymer batarya ile mikroişlemci kendi üzerinden beslenmesi sağlanabilmektedir.

Cihazın önemli özelliklerinden bir diğeri ise Bluetooth özelliğı sayesinde bilgisayarla kablosuz bir şekilde haberleşmesidir. Bunun sayesinde cihaz kullanıldığı ortamda, Bluetooth un kapsama alanı olan yaklaşık 10 m sınırları içerisinde kullanılabilir. Bu da kullanıcıya rahatlık sağlamaktadır.

Cihazın boyutlarına da değinecek olursak 51x56 mm² bir zemin üzerinde 59 mm yüksekliğine sahip olması onu küçük ve taşınabilir yapmaktadır. Bir ticari potansiyostat ile karşılaştıracak olursak eğer, 1300 ₺ değerinde olan Ossila Potentiostat 125x175 mm² zemin üzerine 55 mm bir yüksekliğe sahiptir. Yani uygun bir ticari cihazdan dahi bu cihaz oldukça küçük boyutlara sahiptir.

KAYNAKLAR

- Abdullah, S., Tonello, S., Borghetti, M., Sardini, E., & Serpelloni, M. (2019). Potentiostats for protein biosensing: Design considerations and analysis on measurement characteristics. *Journal of Sensors*, 2019(March). <https://doi.org/10.1155/2019/6729329>
- Ainla, A., Mousavi, M. P. S., Tsaloglou, M. N., Redston, J., Bell, J. G., Fernández-Abedul, M. T., & Whitesides, G. M. (2018). Open-Source Potentiostat for Wireless Electrochemical Detection with Smartphones. *Analytical Chemistry*, 90(10), 6240–6246. <https://doi.org/10.1021/acs.analchem.8b00850>
- Akbayirli, P., & Akyilmaz, E. (2007). Activation-based catalase enzyme electrode and its usage for glucose determination. *Analytical Letters*, 40(18), 3360–3372. <https://doi.org/10.1080/00032710701689073>
- Andrienko, D. (2008). Cyclic voltammetry. *Encyclopedia of Interfacial Chemistry: Surface Science and Electrochemistry*. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-409547-2.10764-4>
- Arevalo-Ramirez, T., Torres, C. C., Rosero, A. C., & Espinoza-Montero, P. (2017). Low cost potentiostat: Criteria and considerations for its design and construction. *Proceedings of the 2016 IEEE ANDESCON, ANDESCON 2016, October*. <https://doi.org/10.1109/ANDESCON.2016.7836211>
- Aykut, U., & Temiz, H. (2006). Biyosensörler ve Gıdalarda Kullanımı. *Gıda Teknolojileri Elektronik Dergisi*, 3(3), 51–59.
- Bard, a, & Faulkner, L. (2002). Allen J. Bard and Larry R. Faulkner, *Electrochemical Methods: Fundamentals and Applications*, New York: Wiley, 2001. *Russian Journal of Electrochemistry*, 38(12), 1505–1506. <http://www.springerlink.com/index/xr337vn7v8468430.pdf%5Cnpapers3://publication/uuid/927EDC48-6570-44DC-9685-5A339F66C23D>

- Blum, J. Coulet, P. R. 1991. *Biosensor Principles and Applications*. Marcel Dekker, Springer New York
- Chandran, K., Bhargava, K., & Robson, B. (2015). *BIOSENSORS AND BIOELECTRONICS*. Elsevier Inc.
- Chatti, M., Gardiner, J. L., Fournier, M., Johannessen, B., Williams, T., Gengenbach, T. R., Pai, N., Nguyen, C., MacFarlane, D. R., Hocking, R. K., & Simonov, A. N. (2019). Intrinsically stable in situ generated electrocatalyst for long-term oxidation of acidic water at up to 80 °C. In *Nature Catalysis* (Vol. 2, Issue 5). <https://doi.org/10.1038/s41929-019-0277-8>
- Damiati, S., & Schuster, B. (2020). Electrochemical biosensors based on S-layer proteins. *Sensors (Switzerland)*, 20(6), 1–22. <https://doi.org/10.3390/s20061721>
- Dryden, M. D. M., & Wheeler, A. R. (2015). DStat: A versatile, open-source potentiostat for electroanalysis and integration. *PLoS ONE*, 10(10), 1–17. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0140349>
- Elgrishi, N., Rountree, K. J., McCarthy, B. D., Rountree, E. S., Eisenhart, T. T., & Dempsey, J. L. (2018). A Practical Beginner's Guide to Cyclic Voltammetry. *Journal of Chemical Education*, 95(2), 197–206. <https://doi.org/10.1021/acs.jchemed.7b00361>
- Francis, G. T. Gunter, H. 2001. *Introduction to Voltammetric Analysis Theory and Practice*
- Glasscott, M. W., Verber, M. D., Hall, J., Pendergast, A. D., & Collin, J. (n.d.). *SweepStat: A Build-it-Yourself, Two-Electrode Potentiostat for Macroelectrode and Ultramicroelectrode Studies*. 1–19.
- IUPAC(2021,25 Şubat). Erişim Adresi
https://tr.wikipedia.org/wiki/Uluslararası%C4%B1_Temel_ve_Uygulamalı_%C4%B1_Kimya_Birliği%C4%9Fi
- Kökbaş, U., Kayrın, L., & Tuli, A. (2013). Biyosensörler ve Tıpta Kullanım Alanları. *Arşiv Kaynak Tarama Dergisi*, 22(4), 499–513.

- Lewenstam, A., & Inzelt, G. (2013). *Handbook of Reference Electrodes*.
- Lopin, P., & Lopin, K. V. (2018). PSoC-Stat: A single chip open source potentiostat based on a Programmable System on a Chip. *PLoS ONE*, 13(7), 1–21. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0201353>
- Morrison, D. W. G., Dokmeci, M. R., Demirci, U., & Khademhosseini, A. (2007). Clinical Applications of Micro- and Nanoscale Biosensors. *Biomedical Nanostructures*, 1, 439–460. <https://doi.org/10.1002/9780470185834.ch17>
- Musara, A. (2019). *Determination of Ascorbic Acid in Some Citrus Fruits by Using Pencil Graphite Electrode*. <http://docs.neu.edu.tr/library/6828296440.pdf>
- Nemiroski, A., Christodouleas, D. C., Hennek, J. W., Kumar, A. A., Maxwell, E. J., Fernández-Abedul, M. T., & Whitesides, G. M. (2014). Universal mobile electrochemical detector designed for use in resource-limited applications. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 111(33), 11984–11989. <https://doi.org/10.1073/pnas.1405679111>
- Olson, N., & Bae, J. (2019). Biosensors—publication trends and knowledge domain visualization. *Sensors (Switzerland)*, 19(11). <https://doi.org/10.3390/s19112615>
- Rezaei, B., & Irannejad, N. (2019). Electrochemical detection techniques in biosensor applications. In *Electrochemical Biosensors*. Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-816491-4.00002-4>
- Rowe, A. A., Bonham, A. J., White, R. J., Zimmer, M. P., Yadgar, R. J., Hobza, T. M., Honea, J. W., Ben-Yaacov, I., & Plaxco, K. W. (2011). Cheapstat: An open-source, “do-it-yourself” potentiostat for analytical and educational applications. *PLoS ONE*, 6(9). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0023783>
- Sağbaş, B., & Durakbaşı, N. (2009). *Tıbbi Ölçüm ve Analizlerinde Kullanılan Biyosensörler*. Mühendis ve Makina.
- Şavk, A. (2019). *Şeker Hastalığının Erken Dönemde Tanısına Yönelik Yeni Nesil Sensörlerin Sentezi, Karakterizasyonu ve Uygulamaları* (Issue June).

Kütahya Dumlupınar Üniversitesi.

Thvenot, D. R., Toth, K., Durst, R. A., & Wilson, G. S. (1999). Electrochemical biosensors: Recommended definitions and classification (Technical Report). *Pure and Applied Chemistry*, 71(12), 2333–2348. <https://doi.org/10.1351/pac199971122333>

Tichy, J., Erhart, J., Kittinger, E., Privratska, J. 2010. Fundamentals of Piezoelectric Sensorics, Verlag Berlin Heidelberg, Springer New York

Turner, A. P. F. (2013). Biosensors: Sense and sensibility. *Chemical Society Reviews*, 42(8), 3184–3196. <https://doi.org/10.1039/c3cs35528d>

Wang, J. 2000. Analytical Electrochemistry, Canada

Yılmaz, S. 2016. Uygulama Örnekleriyle Elektroanalitik Kimya, Gazi Kitabevi, Ankara, 287s

ÖZGEÇMİŞ

2014 yılında Seyhan Rotary Anadolu Lisesi'ni tamamladıktan sonra, Çukurova Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Biyomedikal Mühendisliği lisans eğitimini almaya hak kazandı. 4 yıl lisans eğitimi aldıktan sonra 2018 yılında 2.72 ortalama ile mezun oldu. 2019 yılında Çukurova Üniversitesi Biyomedikal Mühendisliği Anabilim dalı alanında Yüksek Lisans eğitimine başladı. Yapay zekâ, medikal sinyal ve görüntü işleme, elektronik, gömülü sistemler ve haberleşme alanlarına ilgilidir.