



NÖRODEJANERATİF HASTALIKLARIN YÜKSEK SEÇİCİLİK VE HASSASİYETLE
TESPİTİ İÇİN H₂O₂'YE DUYARLI YENİ NANOSENSÖRLERİN GELİŞTİRİLMESİ VE
UYGULANABİLİRLİKLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Berna TOSUN

Yüksek Lisans Tezi

Malzeme Bilimi ve Mühendisliği Anabilim Dalı

Ağustos – 2017

NÖRODEJANERATİF HASTALIKLARIN YÜKSEK SEÇİCİLİK VE HASSASİYETLE
TESPİTİ İÇİN H₂O₂'YE DUYARLI YENİ NANOSENSÖRLERİN GELİŞTİRİLMESİ VE
UYGULANABİLİRLİKLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Berna TOSUN

Dumlupınar Üniversitesi

Lisansüstü Eğitim Öğretim ve Sınav Yönetmeliği Uyarınca

Fen Bilimleri Enstitüsü Malzeme Bilimi ve Mühendisliği Anabilim Dalında

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Olarak Hazırlanmıştır

Danışman: Yrd. Doç. Dr. Mehmet Faruk EBEOĞLUGİL

Ortak Danışman: Doç. Dr. Fatih ŞEN

Ağustos – 2017

KABUL VE ONAY SAYFASI

Berna TOSUN 'un YÜKSEK LİSANS tezi olarak hazırladığı nörodejeneratif hastalıkların yüksek seçicilik ve hassasiyetle tespiti için H₂O₂'ye duyarlı yeni nanosensörlerin geliştirilmesi ve uygulanabilirliklerinin araştırılması başlıklı bu çalışma, jürimizce Dumlupınar Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca değerlendirilerek kabul edilmiştir.

04/08/2017

Üye : Prof. Dr. Remzi GÖREN

Üye : Yrd. Doç. Dr. Mehmet Faruk EBEOĞLUGİL (Danışman)

Üye : Doç. Dr. Fatih ŞEN (Ortak Danışman)

Üye : Doç. Dr. Onur GÜNEŞER

Üye : Yrd. Doç. Dr. Süleyman AKPINAR

Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun/...../..... gün ve sayılı kararıyla onaylanmıştır.

Prof. Dr. Hasan GÖÇMEZ

Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANI

Bu tezin hazırlanmasında Akademik kurallara riayet ettiğimizi, özgün bir çalışma olduğunu ve yapılan tez çalışmasının bilimsel etik ilke ve kurallara uygun olduğunu, çalışma kapsamında teze ait olmayan veriler için kaynak gösterildiğini ve kaynaklar dizininde belirtildiğini, Yüksek Öğretim Kurulu tarafından kullanılmak üzere önerilen ve Dumlupınar Üniversitesi tarafından kullanılan İntihal Programı ile tarandığını ve benzerlik oranının % 6 çıktığını beyan ederiz. Aykırı bir durum ortaya çıktığı takdirde tüm hukuki sonuçlara razı olduğumuzu taahhüt ederiz.

Yrd. Doç. Dr. Mehmet Faruk EBEOĞLUGİL (Danışman)

Berna TOSUN

Doç. Dr. Fatih ŞEN (Ortak Danışman)

NÖRODEJANERATİF HASTALIKLARIN YÜKSEK SEÇİCİLİK VE HASSASİYETLE TESPİTİ İÇİN H₂O₂'YE DUYARLI YENİ NANOSENSÖRLERİN GELİŞTİRİLMESİ VE UYGULANABİLİRLİKLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Berna Tosun

Malzeme Bilimi ve Mühendisliği, Yüksek Lisans Tezi, 2017

Tez Danışmanı: Yrd. Doç. Dr. Mehmet Faruk EBEOĞLUGİL

Ortak Danışman: Doç. Dr. Fatih ŞEN

ÖZET

Bu çalışmada indirgenmiş grafen oksit (rGO) ile birlikte Paladyum (Pd) nanopartiküller (NP's) kullanılıp Tert-Nonyl Merkaptan (TNM) ile işlevselleştirilen yeni tip nanosensör geliştirilmiştir. Pd-TNM@rGO nanosensörü -0.6 V ile + 0.8 V potansiyel aralığında hidrojen peroksit (H₂O₂)'in elektrokimyasal tayininde kullanılmıştır. Pd-TNM@rGO sensörü H₂O₂'ye karşı çok yüksek bir aktivite, hassasiyet, tekrar kullanılabilirlik ve dayanıklılık göstermiştir. Hazırlanan Pd-TNM@rGO nanosensörünü karakterize etmek için (XRD) X-ışını fotoelektron spektroskopisi (XPS), transmisyon elektron mikroskopisi (TEM), elektron enerji kaybı spektroskopisi (EELS) ve raman spektroskopisi (RS) gibi çeşitli analitik teknikler kullanılmıştır. Yeni hazırlanan nanobiyosensörün elektrokimyasal özellikleri döngüsel voltametri (CV), kronoamperometri (CA) ve elektrokimyasal impedans spektroskopisi (EİS) gibi yöntemler kullanılarak belirlenmiştir. Hazırlanan H₂O₂ nanobiyosensörünün doğrusal aralığı 6×10^{-3} mM ile 1mM arasındadır. Pd-TNM@rGO nanosensörü 5×10^{-3} M'lık düşük bir algılama limitine sahiptir. Tepki süresi 10 sn'den daha kısadır. Hazırlanan bu nanosensör ile hidrojen peroksitin daha düşük hassasiyet ve seçicilikte algılanması için yeni bir çözüm öne sürülmüştür.

Anahtar kelimeler: Elektrokimya, Hidrojen Peroksit, Nanobiyosensör, Yüksek Seçicilik.

**THE DEVELOPMENT AND APPLICATION OF NOVEL HYDROGEN PEROXIDE
SENSITIVE NANOSENSORS FOR THE DETERMINATION OF
NEURODEGENERATIVE DISEASES WITH HIGH SELECTIVITY AND
SENSITIVITY**

Berna Tosun

Materials Science and Engineer, M. S. Thesis, 2017

Thesis Supervisor: Assoc Prof Mehmet Faruk EBEOĞLUGİL

Thesis Co-supervisor: Assoc. Prof. Fatih ŞEN

SUMMARY

In this work, a new type of nanosensor has been developed, which is functionalized with Tert-Nonyl Mercaptan (TNM) using a reduced-graphene oxide (rGO) and Palladium (Pd) nanoparticles (NP's). Pd-TNM@rGO nanosensor was used in the electrochemical determination of hydrogen peroxide (H₂O₂) at a potential range of -0.6 V to +0.8 V. The Pd-TNM@rGO sensor showed a very high activity, sensitivity, reusability and durability towards H₂O₂. Analytical techniques such as X-ray photoelectron spectroscopy (XPS), transmission electron microscopy (TEM), electron energy loss spectroscopy (EELS) and raman spectroscopy (RS) were used to characterize the Pd-TNM@rGO nanosensor. The electrochemical properties of the newly prepared nanobiosensor were determined using methods such as cyclic voltammetry (CV), chronoamperometry (CA) and electrochemical impedance spectroscopy (EIS). The linear range of the prepared H₂O₂ nanobiosensor is between 6×10^{-3} mM and 1 mM. The Pd-TNM@rGO nanosensor has a detection limit of 5×10^{-3} M. Response time is shorter than 10 seconds. With this sensor, a new solution for lower sensitivity and selective perception of hydrogen peroxide has been put forward.

Keywords: Electrochemistry, Hydrogen Peroxide, Nanobiosensor, High Selectivity.

TEŐEKKÜR

Lisans ve yüksek lisans hayatımda bana her konuda yardımcı olan danışman hocam sayın Yrd. Doç. Dr. Mehmet Faruk EBEOĞLUGİL'e, laboratuvarında bana çalışma ortamı sağlayan yardımcı danışman hocam sayın Doç. Dr. Fatih ŞEN'e, deneysel çalışmalarında kullandığım SEN araştırma grubu laboratuvarına, laboratuvarda birlikte çalıştığım ve yardımını benden esirgemeyen çalışma arkadaşım Sait BOZKURT'a,

Her şeyden önemlisi her zaman yanımda olan, maddi ve manevi hiçbir desteğini benden esirgemeyen aileme

Teőekkürü bir borç bilirim.

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖZET	v
SUMMARY	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	x
ÇİZELGELER DİZİNİ	xi
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	xii
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	2
2.1. Elektrokimya.....	3
2.1.1. Elektrokimyasal hücreler	3
2.1.2. Elektrokimyasal hücrelerde gözlenen süreçler.....	4
2.1.3. Elektrokimyada kullanılan elektrotlar.....	5
2.1.3.1. Referans elektrotlar	5
2.1.3.2. Yardımcı / Karşıt elektrotlar	6
2.1.3.3. Çalışma elektrodu.....	7
2.2. Biyosensörler	8
2.2.1. Temel sensör teknolojisi	9
2.2.2. Çeviriciler.....	10
2.2.3. Biyosensörlerin sınıflandırılması	10
2.2.3.1. Elektrokimyasal biyosensörler	11
2.2.3.2. Termal biyosensörler.....	12
2.2.3.3. Enzim sensörleri.....	12
2.2.3.4. Optik biyosensörler	12
2.2.3.5. Elektrokimyasal mikrobiyal biyosensörler.....	13
2.2.4. Biyosensörün çalışma prensibi.....	14
2.2.5. Biyosensörlerin yapımı	15
2.2.6. Biyosensörlerin avantaj ve dezavantajları.....	16
2.2.7. Nanomalzemeler	16
2.2.8. Nanoteknolojinin biyosensörler ile birleştirilmesi	16
2.2.9. Sensör teknolojisinde nanomalzemelerin seçimi, optimizasyonu ve çalışması	17
2.2.10. Hidrojen peroksit (H ₂ O ₂).....	17
2.2.11. Hidrojen peroksit (H ₂ O ₂) mekanizması	18
2.2.12. Hidrojen peroksitin (H ₂ O ₂) kullanım alanları	19
2.2.13. Günlük yaşamda hidrojen peroksit (H ₂ O ₂) kullanım alanları.....	19
2.2.14. Mühendislik alanında hidrojen peroksit (H ₂ O ₂) kullanım alanları.....	19

İÇİNDEKİLER (devam)

Sayfa

3. MATERYAL VE METOD	21
3.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler	21
3.2. Kullanılan Cihazlar	21
3.3. Voltametri	21
3.4. Kronoamperometri (CA).....	21
3.5. Dönüşümlü voltametri (CV)	22
3.6. Elektrokimyasal empedans spektroskopisi (EIS).....	22
3.7. PBS Hazırlanması	23
3.8. Çalışma Elektrodunun Temizlenmesi ve Kullanıma Hazırlanması	23
3.9. Pd-TNM@rGO Nps Elektrodunun Hazırlanması	24
3.10. Deney Düzeneginin Hazırlanması ve Ölçüm Yapılacak Numunenin Hazırlanması	24
3.11. Pd-TNM@rGO Solüsyonunun Hazırlanması	25
3.12. Taramalı elektron mikroskobu (SEM)	25
3.13. Geçirimli elektron mikroskobu (TEM)	26
3.14. X-ışınları kırınım cihazı (XRD).....	27
3.15. X-ışını fotoelektron spektroskopisi (XPS).....	28
4. SONUÇLAR VE TARTIŞMA	30
4.1. Pd-TNM@rGO Sensörünün TEM Analizi	30
4.2. Pd-TNM@rGO Sensörünün XRD Analizi	31
4.3. Pd-TNM@rGO Sensörünün XPS Analizi.....	31
4.4. Pd/TNM@rGO Sensörünün Raman Analizi.....	32
4.5. Pd-TNM@rGO Nanosensörüne İlişkin EIS Ölçümü	33
4.6. Hidrojen Peroksitin (H ₂ O ₂) Elektrokimyasal Tayini.....	33
4.7. H ₂ O ₂ Biyosensörünün Kararlılığı, Seçiciliği ve Tekrarlanabilirliği.....	35
4.8. Pd-TNM@rGO Sensörünün Diğer H ₂ O ₂ Sensörleri ile Karşılaştırılması.....	35
4.9. Biyosensörün Analitik Uygulamaları.....	36
5. SONUÇ	38
KAYNAKLAR	39

ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Şekil</u>	<u>Sayfa</u>
2.1. Basit bir elektrokimyasal hücre	4
2.2. Referans elektrotlar	6
2.3. Elektrokimyasal biyosensör olarak kullanılan ekranlı elektrot	7
2.4. Biyosensörün genel yapısı	10
2.5. Biyosensörlerin çeşitlendirilmesi	11
2.6. Optik biyosensör genel şeması	13
2.7. Genel sensör tasarımı.	16
2.8. Hidrojen peroksitin genel mekanizması.....	18
3.1. Deney düzeneği.....	24
3.2. Taramalı elektron mikroskopunun genel görüntüsü	26
3.3. Geçirimli elektron mikroskopunun genel görüntüsü.....	27
3.4. X-ışını Tüpü	28
3.5. XPS cihazının ana bileşenleri	29
4.1. Pd-TNM@rGO sensörünün TEM görüntüsü EELS elemental renk haritası Palladyum EELS çizgi profili	30
4.2. Pd-TNM@rGO sensörünün XRD görüntüsü.....	31
4.3. Pd-TNM@rGO sensörünün 2D ve 3D XPS görüntüsü.....	32
4.4. Pd-TNM@rGO sensörünün raman görüntüsü.	32
4.5. 5.0 mM H ₂ SO ₄ içinde CKE, rGO, TNM@rGO ve Pd-TNM@rGO'nun elektrokimyasal empedans spektrumları.	33
4.6. rGO ve Pd-TNM@rGO'nun, (a) 5 mM H ₂ O ₂ (b) 60, 70, 80, 90 ve 100 µM H ₂ O ₂ ilavesi ile döngüsel voltamogramları.	34
4.7. (a) 0.1 M PBS içinde Pd-TNM, Pd-TNM@GO ve Pd-TNM@rGO sensörlerinde elde edilen amperometrik yanıtlar. (b) Kalibrasyon grafiği.....	34
4.8. Pd-TNM@rGO sensörünün seçicilik, kararlık ve tekrarlanabilirlik testi.	35

ÇİZELGELER DİZİNİ

<u>Çizelge</u>	<u>Sayfa</u>
4.1. rGO tabanlı biyosensörlerin aktiviteleri ve H ₂ O ₂ değerlerinin karşılaştırması.	36
4.2. Alınan ölçümlere göre belirlenen H ₂ O ₂ miktarı.	37



SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

<u>Simgeler</u>	<u>Açıklama</u>
H ₂	Hidrojen
F ₂	Flor
HF	Hidrojen Florür
Zn	Çinko
Cu	Bakır
GO	Grafen Oksit
NADH	Nikotinamit Adenin Dinükleotit
H ₂ O ₂	Hidrojen Peroksit
rGO	İndirgenmiş Grafen Oksit
Np	Nanopartikül
CKE	Camsı Karbon Elektrot
TNM	Tert Nonyl Merkaptan
NO ₃ ⁻	Nitrat
KCl	Potasyum Klorür
Hg	Civa
Ag	Gümüş
Hg ₂ Cl ₂	Civa Klorür
SHE	Standart Hidrojen Elektrot
Cl	Klor
AgCl	Gümüş Klorür
PCR	Polimeraz Zincir Tepkimesi
Pt	Platin
C ₂ H ₅ OH	Etanol
Pd	Paladyum
TEM	Geçirimli Elektron Mikroskobu
XPS	X-ışını fotoelektron spektroskopisi
EELS	Elektron Enerji Kaybı Spektroskopisi
CV	Döngüsel Voltametri

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ (devam)

<u>Simgeler</u>	<u>Açıklama</u>
CA	Kronoamperometri
EIS	Elektrokimyasal Empedans Spektroskopisi
NEMS	Nano Elektromekanik Sistem
UV	Mor Ötesi Işın
AA	Askorbik Asit
ÜA	Ürik Asit



1. GİRİŞ

Son zamanlarda grafen ve karbon nanotüp gibi karbon bazlı malzemeler cazip bir destekleyici malzeme olarak dikkat çekmektedir. Bunun sebebi bu maddelerin benzersiz özelliklere ve farklı alanlarda uygulanabilme yeteneklerine sahip olmalarıdır (Wang vd., 2010; Huang vd., 2011; Kula vd., 2011). Özellikle grafen gibi karbon bazlı malzemeler elektrokimyasal uygulamalarda kullanılmaya uygundur (Wang vd., 2009; Shan vd., 2009; Zhou vd., 2009). Grafen, çeşitli uygulamalarda kullanılmak için farklı tekniklerle büyük miktarlarda imal edilebilir (Stankovich vd., 2006). Bununla birlikte, grafen oksit (GO) elektrokimyasal yöntemlerle yapısındaki oksijenli fonksiyonel grupların enerji bariyeri aşılarak basit ve hızlı olarak elde edilmiştir (Guo vd., 2009). Grafen oksitin elektrokimyasal indirgenmesi ile elde edilen indirgenmiş grafen oksit (rGO) elektrokimyasal sensörlerde NADH^+ , askorbik asit (AA), ürik asit (ÜA), hidrojen peroksit (H_2O_2), kafein, dopamin (DA) gibi biyomoleküllerin algılanması için uygulanmıştır (Ping vd., 2011; Palanisamy vd., 2012). H_2O_2 gıda güvenliği, ilaç sektörü, çevre koruma, yakıt hücreleri ve kâğıt endüstrisi gibi farklı alanlardaki geniş uygulama yelpazesi nedeniyle büyük ilgi görmektedir (You vd., 2011; Lu vd., 2008; Shu vd., 2007). H_2O_2 belirlenmesi için birçok yöntem kullanılmaktadır. Bu yöntemlerin içerisinde elektrokimyasal yöntemler daha avantajlı ve daha etkilidir.

Elektrokimyasal sensör uygulamalarına ait son zamanlarda yapılan çalışmalarda nano yapılı malzemelerin sensör performansını arttırdığı belirlenmiştir. Ayrıca hazırlanacak olan sensörün mükemmel iletkenlik, hızlı elektron transferi, kuantum boyut etkisi, tekrar kullanılabilirlik ve yüksek stabilite özelliklerinin sağlanabilmesi için metal ve indirgenmiş grafen oksit etkileşimleri ile katalitik performanslarının artırılabilceği belirlenmiştir (Liv vd., 2010). Bu nedenle bu çalışmada indirgenmiş grafen oksitin Pd nanopartikülü ve tert-nonyl merkaptan ile sentezi yapılmıştır. Hazırlanan Pd-TNM@rGO nanobiyosensörü damlat kurut yöntemi ile camsı karbon elektrot (CKE) üzerinde kullanılarak elektrokimyasal ölçümleri yapılmıştır. Sensörün karakterizasyonu için X-Işını fotoelektron spektroskopisi (XPS), raman spektroskopisi, geçirimli elektron mikroskopisi (TEM), elektron enerji kaybı spektroskopisi (EELS) gibi çeşitli yöntemler kullanılmıştır. Yapılan karakterizasyonlar sonucunda oldukça düzgün dağılım göstermiş olduğu belirlenen Pd-TNM@rGO nanomalzemesi basit bir şekilde sentezlenerek H_2O_2 'in tayin edilmesi için uygun ve etkili bir sensör olarak kullanılmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

Hidrojen peroksit, renksiz ve kokusuz olan yoğun bir sıvıdır. Saf haldeki hidrojen peroksit yavaş bozunur. İçerisine metal gibi az bir safsızlık eklendiğinde ise bozunma hızı artar. Cam içerisinde alkali metal iyonları olduğu için saf haldeki hidrojen peroksit mumla kaplanmış ya da plastik şişeler içerisinde saklanır (Pignatello vd., 2006).

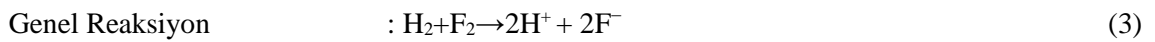
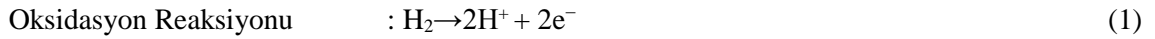
Demir, bakır, manganez, nikel ve krom gibi metal tuzları ile tepkimeye girdiğinde su ve hidrojene ayrışır. Dünyadaki hidrojen peroksit üretimi yılda bir buçuk milyon tonun üzerindedir, bu da onu önemli bir kimyasal hammadde haline getirmektedir. Hidrojen peroksit tekstil, kimyasal üretimi, kozmetik, tıbbi ürünlerin üretimi gibi birçok alanda kullanılmaktadır (Mehta vd., 1995). %8 oranından fazla hidrojen peroksit içeren solüsyonlar cilt üzerinde aşındırıcı etki gösterir. Hidrojen peroksit, su ve hidrojenden oluşan mikrop öldürücü bir ajandır. Hastalık organizmalarındaki mikropları oksitleyerek yok eder.

Nörodejenaratif terimi “nöro” sinir hücresi “dejenerasyon” ise dokuların bozunması anlamına gelen iki kelimenin birleşiminden gelir. Nörodejenaratif hastalık, beyindeki nöronların etkilenmesi durumunda kullanılan bir ifadedir. Bu hastalıklara sahip kişilerde hareketlerde kısıtlanma ve zihinsel işlevlerde problemler meydana gelir. Nörodejenaratif hastalıklara alzheimer, parkinson, huntington ve motor nöron hastalıkları örnek verilebilir (Mehta vd., 1995). Bu hastalıklarda farklı klinik özellikler ortaya çıkmasına rağmen, hücresel düzeyde bakıldığında süreçlerin benzer özellik gösterdiği görülmektedir. Örneğin; parkinson hastalığı bazal gangliyonları etkiler ve dopaminin tükenmesini sağlar. Alzheimer hastalığı, beynin farklı bölgelerine zarar verir ve hafıza kaybına yol açar. Huntington hastalığı, vücudun önemli kaslarını etkileyen genetik bir bozukluktur. Nörodejenaratif hastalıkların sadece çok küçük bir kısmı genetik mutasyondan kaynaklanır. Diğer sebepler beyinde zehirli proteinlerin birikmesi ve mitokondriyal fonksiyonların kaybıdır Nörodejenaratif hastalıkları hidrojen peroksitin vücutta bulunma miktarıyla ilişkilendirebiliriz. Hidrojen peroksit süperoksit dismutasyonun bir ürünü olarak oluşur. Monoaminooksidaz gibi enzimlerin substratlarından direkt olarak elde edilebilir. Fenton reaksiyonu ile Haber Weiss reaksiyonları Fe gibi geçiş metalleri katalizlenir. Oluşan bu reaksiyonla miyeloperoksidazın H_2O_2 'den hipokloröz asit üretmesiyle H_2O_2 kuvvetli hidroksil radikaline dönüşür. Bu radikaller protein, lipid ve nükleik asitlere etki ederek hücre gelişimini engeller ve bozunumu hızlandırır. Hücrede meydana gelen bu hasarlar nörodejenaratif hastalıklara sebep olmaktadır. Bahsedilen bu hastalıkların tespiti için birçok yöntem kullanılmaktadır. Bu yöntemlerin içerisinde elektrokimyasal yöntemler hem daha hızlı hem de daha güvenilir bilgiler sağlamaktadır (Mehta vd., 1995).

2.1. Elektrokimya

Elektrokimya; elektronların hareket etmesine neden olan kimyasal süreçlerin incelenmesidir. Elektrokimyasal bir tepkimenin meydana gelebilmesi için, analiz edilen maddeyi içeren bir çözeltiliye ihtiyaç vardır. Bunun yanında maddenin kimyasal dönüşüme uğrayabileceği bir elektrot sistemi ve bu elektrotları birbirine bağlayıp ölçümleri gerçekleştirmeye yarayan bir çevirim sistemine ihtiyaç vardır. Elektriksel iletkenliği elde etmek amacıyla elektrolitik çözelti kullanılması gereklidir. Çoğu elektrokimyasal analizde, çözeltiliye elektriksel sinyal gönderilerek çözeltinin farklı bir özelliğini ölçmek amaçlanır. Bazı metallerin saf olarak elde edilmesi ya da yüzeylerinin farklı bir metalle kaplanması da elektrokimyasal yöntemler kullanılarak yapılabilir. Elektrokimya geniş bir alana sahiptir. Bunlar pil, akümülatör gibi kimyasal enerjiyi elektrik enerjisine çeviren elektrokimyasal sistemler olup günlük yaşamımızda birçok alanda elektrik enerji kaynağı olarak kullanılmaktadır. Elektrokimyada redoks reaksiyonu sonucu ortaya çıkan enerji ölçülür. Redoks reaksiyonu bir veya daha fazla elementin oksidasyon durumunda gerçekleşen değişikliği içeren bir reaksiyondur. Bir madde bir elektron kaybederse oksidasyon durumu artar ve böylece oksitlenir. Bu madde bir elektron kazanırsa, oksidasyon durumu azalır ve böylece indirgenir. Bir maddenin redoks reaksiyonu aşağıdaki gibi yazılabilir (Atkins ve Paula., 2011).

$H_2 + F_2 \rightarrow 2HF$ Reaksiyonuna İlişkin;



Oksidasyon elektron kaybıdır. İndirgenme ise elektronların kazanılmasına olanak sağlar. Okside edilecek türler ayrıca “indirgeyici ajan” veya “indirgeyici” olarak bilinir. İndirgenen türlere “oksitleyici ajan” veya “oksidan” denir. Bu durumda, H_2 (oksitleyici ajan) indirgendiğinde H (indirgeyici ajan) oksitlenir. Tüm bu olaylar elektrokimyasal hücreler kullanılarak gerçekleştirilir (Atkins ve Paula., 2011).

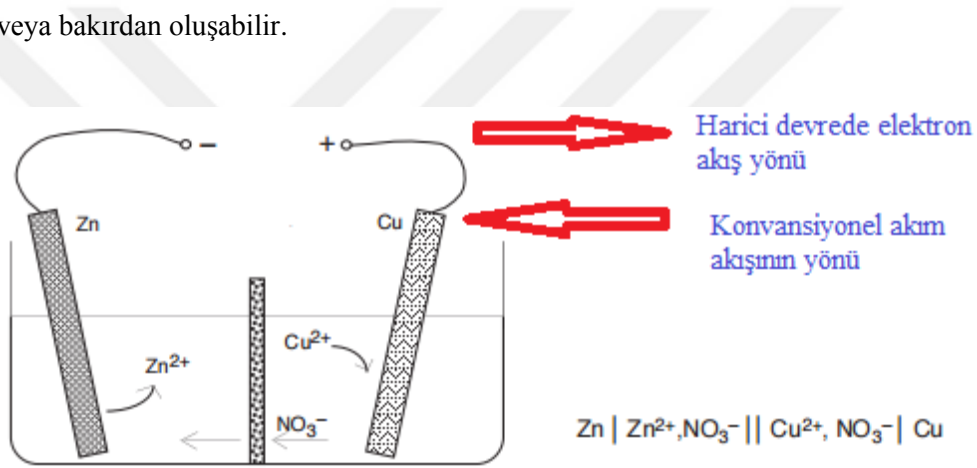
2.1.1. Elektrokimyasal hücreler

Basit bir elektrokimyasal hücre bakır ve çinko sülfatlarının solüsyonlarıyla hazırlanır. Elektrokimyasal reaksiyon esnasında elektronlar elektrik akımı yardımıyla çinkodan bakıra aktarılabilir. Elektrokimyasal hücre bir elektrolitin içine metalik elektrotlar yerleştirilerek oluşturulabilir. Bazı elektrokimyasal hücrelerde istenen reaksiyon kendiliğinden meydana gelmez ve istenen reaksiyonu başlatmak için hücre dışından bir elektrik akımı vermek gerekebilir. Bu

gibi hücelere “elektrolitik hüceler” denir. Elektrokimyasal hüceler genel olarak iki türdür. Bunlardan birincisi “galvanik hüceler” diğeri ise “elektrolitik hüceler” olarak adlandırılmaktadır (Ohno, 2001).

2.1.2. Elektrokimyasal hücelerde gözlenen süreçler

Bir çözeltiye batırılmış bir metalin yüzeyinde oluşan elektron transfer reaksiyonları elektrot yüzeyinin yakınında yer alır. Bu yüzden çözelti ile elektrot arasında geçen elektronların voltaj veya tepki oranının kontrol edilmesi çok zordur. Bununla birlikte bu iki metal çözelti ara yüzü varsa aralarındaki potansiyel farkı kolayca ölçebiliriz. Bu düzenlemeye galvanik hücre denir. Elektrokimyasal hücre içerisine daldırılmış iki metal parçası, Şekil 2.1’de görüldüğü gibi çinko veya bakırdan oluşabilir.

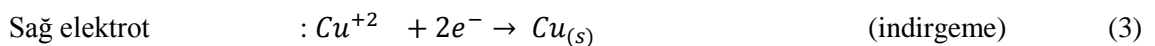
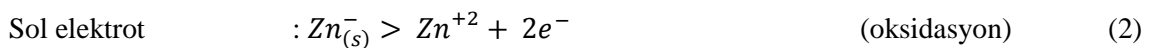


Şekil 2.1. Basit bir elektrokimyasal hücre (Lower, 1999).

Elektrokimyasal hücre içerisindeki iki çözeltinin birbirlerine hızlı bir şekilde karışmasını önlemek için bu düzenekte gözenekli bariyer içeren bir tüp kullanılır. Bu yöntemle iyonların hücre içerisine yayılması sağlanır. Sisteme dışarıdan bir müdahale olmazsa hücre içindeki metallerde önemli bir reaksiyon gerçekleşmez. Çinko ve bakır metalik bir iletken vasıtasıyla birbirlerine bağlanır. Sistemin sol tarafındaki Zn^{2+} iyonlarının çözünmesiyle kalan fazla elektronlar sağ elektroda akabilir. Bu olayların sonucunda bakır elektrot yüzeyinde Cu atomlarına dönüşen Cu^{+2} iyonlarına iletim sağlanır. Net reaksiyon aşağıdaki gibi olur (Lower, 1999).



Bu olay sonucunda oksidasyon ve indirgeme adımları farklı yerlerde gerçekleşir:



Elektrokimyasal hücredeki bu devre sayesinde hücredeki reaksiyonunun yüksek derecede kontrolü ve ölçümü sağlanır. Hücredeki bu bağlantı kaldırılırsa hücre içerisindeki reaksiyon durur. Ayrıca devre içerisine bir değişken direnç koyularak hücre reaksiyon hızı da kontrol edebilir. Bu iki elektrota başka bir kaynak akışı bağlanarak reaksiyonun olağan dışı veya ters yönde ilerlemesine neden olunabilir.

Bu elektrokimyasal devreye bir ampermetre yerleştirilerek elektrotlardan geçen elektrik yükünün miktarını ve böylece hücre tepkimesinde ürüne dönüşen reaktiflerin mol sayısını ölçebiliriz. Elektrik yükü (q) coulombs cinsinden ölçülür. Elektronların bir molünün taşıdığı yük miktarı faraday olarak bilinir.

$$1 F = 96467 c$$

Genellikle faraday değeri 96500 c olarak kullanılabilir. Bir devredeki elektrik akımı ölçüldüğünde elektrik yükünün devre üzerinden taşınma oranı ölçülür. 1 amperlik akım saniyede 1 coulomb değerine karşılık gelir (Lower, 1999).

Elektrokimyasal hücrelerde meydana gelen tüm bu olaylar elektrot adı verilen hücre elemanlarıyla gerçekleşir.

2.1.3. Elektrokimyada kullanılan elektrotlar

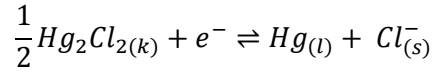
Elektrokimyada kullanılan elektrotlar 3 grupta incelenir. Bunlar çalışma elektrodu, referans elektrot ve karşıt elektrot olarak adlandırılır. Her bir elektrodun farklı işlevi vardır (Lower, 1999).

2.1.3.1. Referans elektrotlar

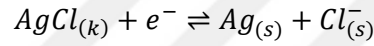
Birçok elektrokimyasal deneyde reaksiyon esnasındaki konsantrasyon sabit kalmaz. Elektrokimyasal bir hücrede tüm ölçümler çalışma ve karşıt elektrot arasında gerçekleşir. Bu ölçümlerdeki değişikliklerin rahat izlenebilmesi için hücrede bir referans elektrot kullanılması gerekir. Bir referans elektrodun hazırlanması ve bakımının kolay, potansiyelinin ise istikrarlı olması gerekir (Lower, 1999).

Referans elektrotların bir çeşidi olan kalomel elektrot referans elektrotlar arasında sık kullanılan bir elektrot çeşididir. Bu elektrot civa ve civa klorür moleküllerinden oluşur. Bu elektrodun standart hidrojen elektroduna (SHH) kıyasla yapımı ve bakımı daha kolaydır. Hg₂Cl₂ katı bir macundan ve doymuş bir KCl çözeltisine batırılmış bir çubuğa tutturulmuş sıvı cıvadan oluşur. Elde edilen çözelti doymuş olmalıdır. Bu durum aktivitenin potasyum klorür ile sabitlenmesine ve voltajın daha düşük olmasına yol açar. Bu doymuş çözelti, klor iyonlarının

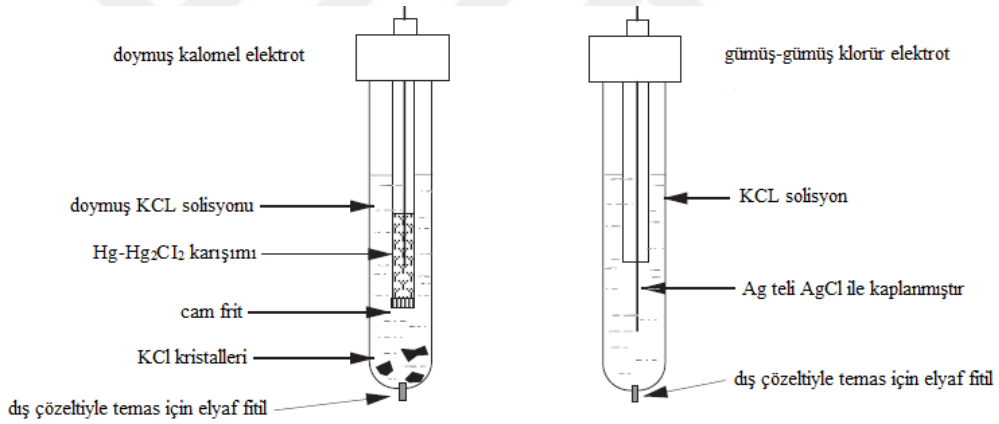
değişimini sağlar. Genel olarak bunları ele aldığımızda gözenekli bir tuz köprüsüne yerleştirilen çözeltideki elektronların geri akmasını ve devrenin tamamlamasını sağlar.



Referans elektrotların diğer bir çeşidi ise gümüş-gümüş klorür elektrotudur. Bu elektrot katı gümüş ve çökmüş AgCl tuzundan oluşur. Yaygın olarak kullanılan bir referans elektrot türüdür. Gümüş-gümüş klorür elektrotu için önce katı gümüş bir tel alınarak AgCl içine yerleştirilir. Daha sonra bir kutu KCl ve AgCl çözeltisi içine yerleştirilir. Bu şekilde elektronların elektrot sistemine girip çıkmasıyla birlikte iyonların oluşması sağlanır (Lower, 1999).



Gümüş-gümüş klorür ve kalomel elektrotları şekil 2.2'de gösterildiği gibidir.



Şekil 2.2. Referans elektrotlar (Lower, 1999).

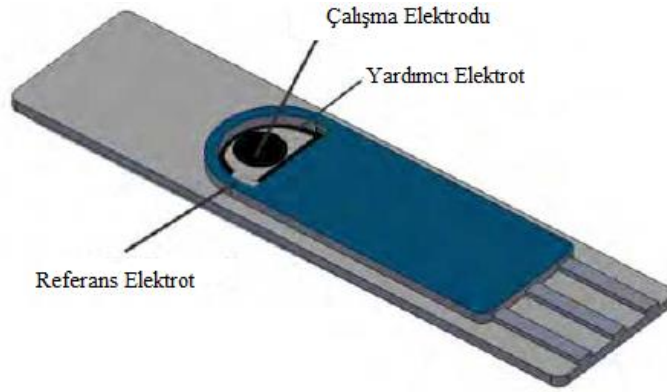
2.1.3.2. Yardımcı / Karşıt elektrotlar

İki elektrotlu elektrokimyasal sistemde çalışma elektrodu ve yardımcı elektrot arasına bir akım veya potansiyel uygulandığında hücrede meydana gelen diğer olaylar ölçülebilir. Yardımcı elektrot anot olarak çalıştığı zaman çalışma elektrodu katot olarak davranır. Bu durum tam tersi de olabilir. Yardımcı elektrot genellikle çalışma elektrotundan daha büyük bir yüzey alanına sahiptir. Yardımcı elektrotta meydana gelen yarı reaksiyon, çalışma elektrotundaki işlemi sınırlamayacak kadar hızlı olmalıdır. Yardımcı elektrotun potansiyeli referans elektroda karşı ölçülmez. Fakat çalışma elektrotunda meydana gelen reaksiyonu dengelemek için ayarlanır. Bu durum çalışma elektrotunun potansiyelinin bilinen bir referans elektrotuna göre ölçülmesini

sağlar. Yardımcı elektrot genellikle altın, platin veya karbon gibi malzemelerden üretilir (Koyun vd., 2012).

2.1.3.3. Çalışma elektrodu

Çalışma elektrodu elektrokimyasal sistemde reaksiyonun meydana geldiği elektrottur (Kissinger, 1996; Allen, 2000). Üç elektrotlu bir elektrokimyasal sistemde çalışma elektrotundaki reaksiyona bağlı olarak çalışma elektrotu katodik ve anodik olarak adlandırılabilir. Çok sayıda çalışma elektrodu vardır: Camsı karbon elektrot (CKE), ekranlı elektrot, platin elektrot, altın elektrot, gümüş elektrot, indiyum kalay oksit kaplı cam elektrot, karbon pasta elektrot, karbon nanotüp pasta elektrot vb. Ekran baskılı elektrotlar bir elektrot altlığı üzerine (cam, plastik, seramik) ince filmler halinde biriktirme mürekkepleri ile hazırlanır. Farklı mürekkepler biyosensörlerin farklı boyut ve şekillerini elde etmek için kullanılabilir. Ekranlı elektrokimyasal hücreler amperometrik biyosensörler geliştirmek için yaygın olarak kullanılmaktadır. Bunun sebebi bu biyosensörlerin maliyet olarak ucuz ve büyük ölçeklerde üretilebilmesidir. Bunlar potansiyel olarak kararsızlık durumunu azaltan ve hassasiyet kaybını önleyen tek kullanımlık sensörlerdir. Şekil 2.3'de ekran baskılı elektrot olarak bir elektrokimyasal biyosensör gösterilmektedir (Lower, 1999).



Şekil 2.3. Elektrokimyasal biyosensör olarak kullanılan ekranlı elektrot (Koyun vd., 2012).

Bir elektrokimyasal biyosensörün performans faktörleri sırasıyla seçicilik, tepki süresi, hassasiyet aralığı, doğruluk iyileştirme süresi, çözelti koşulları ve sensör ömrüdür (Koyun vd., 2012).

2.2. Biyosensörler

Biyosensörler bir analitin biyolojik reaksiyonunun ölçülerek elde edilen değerlerin fizikokimyasal sinyallere dönüşmesini sağlayan cihazlardır. Biyosensörler metabolitler, kirleticiler, mikrobiyal yükler, kontrol parametreleri gibi çeşitli maddelerin tespiti için kullanılırlar. Tipik bir biyosensör iki ana unsurdan oluşur. Bunlar biyolojik algılama elemanı ve analit konsantrasyonunun saptanması için gerekli olan bir dönüştürücüden meydana gelir. Hücre içerisine analit içermeyen ve küçük bir referans sinyali üreten aynı zamanda deneyin kontrolünü sağlayan iki element ile birlikte bir üçüncü element referansı eklenebilir. Böylelikle iki sinyal arasındaki fark analiz edilir. Biyosensör kullanmanın en büyük avantajı, numunenin önceden temizlenmemesi, tekrar kullanılabilirliğidir (Dunbar, 1992).

Biyosensörlerin üç nesli vardır: Reaksiyon ürününün direkt olarak elektrik tepkisine neden olduğu birinci nesil biyosensörler, reaksiyon ve dönüştürücü arasında reaksiyona giren tepki üretmek için özel "arabulucular" içeren ikinci nesil biyosensörler ve reaksiyonun kendisinin gerçekleştiği üçüncü nesil biyosensörler. Üçüncü nesil biyosensörlerde tepkime doğrudan gerçekleşir ve hiçbir ürün veya arabulucuya ihtiyaç duyulmaz (Socaciu, 2007).

Bir biyosensör iki bileşenli bir biyoreseptörden ve bir dönüştürücüden oluşur. Biyoreseptör, hedef analiti tanıyan bir biyomoleküldür ve dönüştürücü tanıma olayını ölçülebilir bir sinyal haline dönüştürür. Bir biyosensörün tekliği, iki bileşenin tek bir sensöre entegre olmasıdır. Bu kombinasyon reaktifleri kullanmadan hedef analitin ölçülmesini sağlar. Örneğin, bir kan örneğindeki glikoz konsantrasyonu doğrudan sensörün numuneye daldırılmasıyla glikoz ölçümü için özel olarak yapılmış bir biyosensör ile ölçülebilir. Bu, birçok numune hazırlama adımının gerekli olduğu yaygın olarak gerçekleştirilen testlere zıttır ve her aşamada numunenin hazırlanması için bir reaktif gerekebilir. Özel laboratuvar becerileri gerektirmeyen ölçümlerin basitliği ve hızı bir biyosensörün temel avantajlarıdır (Wilson, 2004).

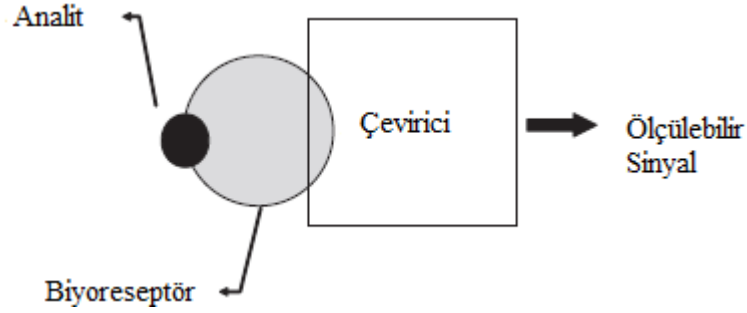
İlk biyolojik saptayıcı 15 Nisan 1956'da Prof. Leland C Clark Jr tarafından icat edilmiştir. Amerikan Yapay Organlar Derneğinin bir toplantısında tanıtılan sensör "Clark elektrot" olarak adlandırılmıştır. Bu biyosensör, oksijen elektrodu üzerinde ince bir glikoz oksidaz tabakasından yapılmıştır. Glikoz miktarı, çözünmüş oksijen konsantrasyonundaki azalma ile tahmin edilmiştir (Dunbar, 1992). Clark'ın fikirleri 1975 yılında glikoz analizörünün hidrojen peroksitin amperometrik tespiti temel alınarak başarılı bir şekilde yeniden başlatılmasıyla ticari gerçekliğe kavuşmuştur (Turner, 1996).

1973'te Racine ve W. Mindt, laktat elektrot geliştirmişlerdir. 1976'da ilk mikrop bazlı biyosensör geliştirildi ve 1977'de Karl Cammann tarafından "biyosensör" terimi tanıtılmıştır. Lubbers ve Opitz tarafından karbondioksit (CO₂) veya oksijen (O₂) ölçmek için immobilize göstergeli bir fiber optik sensörü tanımlamak amacıyla 1975 yılında bir biyosensör geliştirmişlerdir (Turner, 1996). Bir piezoelektrik veya potansiyometrik dönüştürücüye antikorlar tespit ederek direkt immünosensör oluşturma fikri 1970'li yılların başından itibaren keşfedildi (Turner, 1996). 1979'da J. Kulys'in suni redoks mediatörleri kullanarak yaptığı öncü çalışmalarda, 1984'te Cass ve arkadaşları yaptığı çalışmalarla, 1987'de Medisense Inc. tarafından evde kan-glikoz izlemesi için kalem boyutunda ve ticarileştirilen ilk ferrosen katkılı ampermetrik glikoz biyosensörünü piyasaya sundu. Canlı bir bitkiye implante edilen bir enzimatik glikoz içeren O₂ yakıt hücresi 2003 yılında Heller ve arkadaşları tarafından sunulmuştur. 2006 yılında havadaki düşük H₂ seviyelerinin oksidasyonuna dayanan ilk H₂O₂ biyoyakıt hücresi Armstrong ve arkadaşları tarafından sunulmuştur. Son zamanlarda nanobiyosensörler, implante biyosensörler ve entegre biyosensörler mevcut araştırma ve geliştirme aşamasındadır (Turner, 1996).

Son 40 yılda çeşitli biyosensörler araştırılmış ve geniş bir uygulama yelpazesini kapsayacak şekilde geliştirilmiştir. Buna rağmen piyasada bulunan biyosensörlerin sayısı sınırlı kalmıştır. Sonuç olarak biyosensör teknolojisi gelişmekte olan bir alandır ve devam eden ilerlemesiyle daha basit ve yaygın hale gelecektir (Dunbar, 1992).

2.2.1. Temel sensör teknolojisi

Sensörler fiziksel bir olayı elektrik sinyaline dönüştüren cihazlardır. Bu cihazlar, fiziksel dünya ile bilgisayarlar gibi teknolojik cihaz dünyası arasındaki bağlantının bir parçasını temsil eder. Bu ara yüzün bir diğer kısmı elektrik sinyallerinin fiziksel olgulara dönüştüğü aktüatörler tarafından temsil edilmektedir. Sensörler elektriksel bir sinyal olmasından dolayı elektronik cihazlarla aynı şekilde karakterize olma eğilimi gösterirler (Wilson, 2004). Sensörün temel çalışma prensibi şekil 2.4'de belirtildiği gibidir.



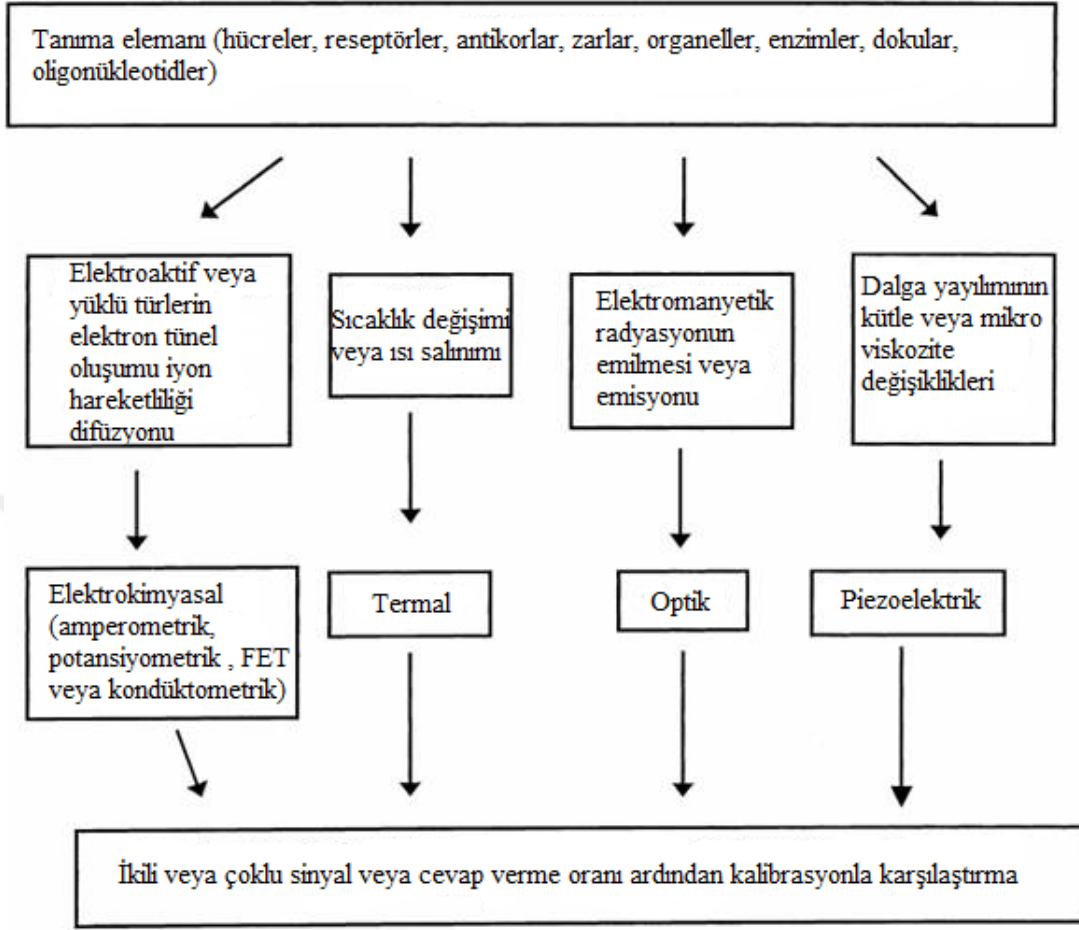
Şekil 2.4. Biyosensörün genel yapısı (Wilson, 2004).

2.2.2. Çeviriciler

Çeviriciler biyoreseptör ve analit etkileşimi sonucunda oluşan fizikokimyasal sinyallerin elektrik sinyaline dönüştüğü biyosensör kısmıdır. Oluşan sinyaller güçlendirilerek kayıt altına alınır. Çeviri seçimi yapılırken biyosensörün kullanılacağı ortam ve reaksiyon tipi dikkate alınmalıdır. Örneğin; vücuda implante edilecek olan sensörlerin nano boyutta, canlı organizmalara zarar vermeyen ve biyouyumluluk gösteren sensörler olması gerekir (Eggins, 1996).

2.2.3. Biyosensörlerin sınıflandırılması

Biyosensörler, biyoreseptör elemanının niteliğine veya transdüserin çalışma prensibine göre sınıflandırılabilir. Elektrokimyada kullanılan biyosensörler şekil 2.5’de gösterildiği gibi 4 farklı grupta incelenmektedir. Bunlar optik, elektrokimyasal, piezoelektrik ve termal olarak adlandırılır. Her bir grup analit-reseptör etkileşimlerini izlemek için farklı kategorilere ayrılmıştır.



Şekil 2.5. Biyosensörlerin çeşitlendirilmesi (Socaciu, 2007).

2.2.3.1. Elektrokimyasal biyosensörler

Elektrokimyasal biyosensörler ile yapılan biyoelektronik analiz, elektron analizinde hızlı gelişmekte olan yeni bir alandır. Elektrokimyasal biyosensör çalışmaları elektrokimyasal hücreler ile gerçekleştirilir. Biyosensör geliştirme çalışmalarında öncelikle uygun biyoreseptör molekülü, uygun immobilizasyon yöntemi ve dönüştürücü seçilmelidir. Biyoelektroanalitik sensörler, daha spesifik, çok hızlı, hassas, son derece seçici ve ucuz maliyetli prensipte analize izin verir. Biyosensörler ile fiziksel sensörler ve kimyasal sensörler arasındaki fark, tanıma elemanının biyolojik olmasıdır. Potansiyometrik, amperometrik ve iletkenlik ölçüm teknikleri elektrokimyasal biyosensör çeşitlerini oluşturmaktadır. Elektrokimyasal biyosensörlerin, sisteme zarar vermeden malzemeleri algılayabilecekleri avantajları vardır. Gıda üretim süreçlerinin kontrolü, gıda kalitesinin değerlendirilmesi, fermantasyon süreçlerinin kontrolü ve organik kirleticilerin izlenmesi biyosensörlerin bazı uygulamalarıdır (Koyun vd., 2012).

2.2.3.2. Termal biyosensörler

Termal biyosensörler bir biyoalgılama materyalinin (enzim, bitki veya hayvan hücresi doku, mikroorganizma) termometre veya termistör gibi bir transdüserle birleştirilmesiyle geliştirilen bir sensör türüdür (Jenkins ve Delwiche, 2002). Termal biyosensörler üç grupta geliştirilmiştir. En yaygın olanı ise termistör tabanlı termal sensörlerdir. Bu sensörler belirli enzimlerin dahil olduğu biyokimyasal reaksiyonlar sırasında açığa çıkan ısı ölçümü tabanlıdır. Termal biyosensörleri diğer sensörlerden ayıran iki faktör vardır. Bunun nedeni çok hassas ve küçültülmüş termistör ile çok kolay akış enjeksiyon analizine sahip olmasıdır. Termal biyosensörler, 0.001°C'de ısı değişikliklerini tespit edebilecek çok hassas termistöre ihtiyaç duyarlar (Ramanathan ve Danielsson, 2001).

2.2.3.3. Enzim sensörleri

Enzimler biyolojik sistemlerin katalizörleridir ve kimyasal dönüşümü sağlayan moleküller olarak adlandırılırlar. Aynı zamanda enerjinin farklı türlerine dönüşümüne de öncülük ederler. Enzimler biyosensörlerde yaygın olarak kullanılan biyoalgılayıcılarıdır. Biyosensörlerde kullanılan 20 farklı enzimden en fazla kullanılan üç tanesi; alkalen fosfataz (ALP), karaturp peroksidazı (HRP) ve E. coli β - D-galaktosidaz (BG)'dir. Enzim biyosensörlerinde kullanılan immobilizasyon metotları iki gruba ayrılır. Bunlardan biri enzimlerin Van-der Waals kuvvetleri, iyonik bağlama veya difüzyon bariyerleriyle adsorbsiyon veya fiziksel olarak tutulmasıdır. Diğeri ise enzimlerin, fonksiyonel protein gruplarının ve destek materyallerinin arasında gerçekleşen reaksiyon yoluyla transdüserle kovalent bağlama ile bağlanmasıdır (Bilitewski vd, 1993). Fakat enzimler transdüserin yüzeyinde sabitlendiği zaman genellikle aktivite kaybı meydana gelir. Enzim sensörlerinde enzimlerin genel olarak kullanıldığı transdüserler amperometrik, potansiyometrik, kimyasal ışımaya ve termal olarak adlandırılmaktadır (Jenkins ve Delwiche, 2012).

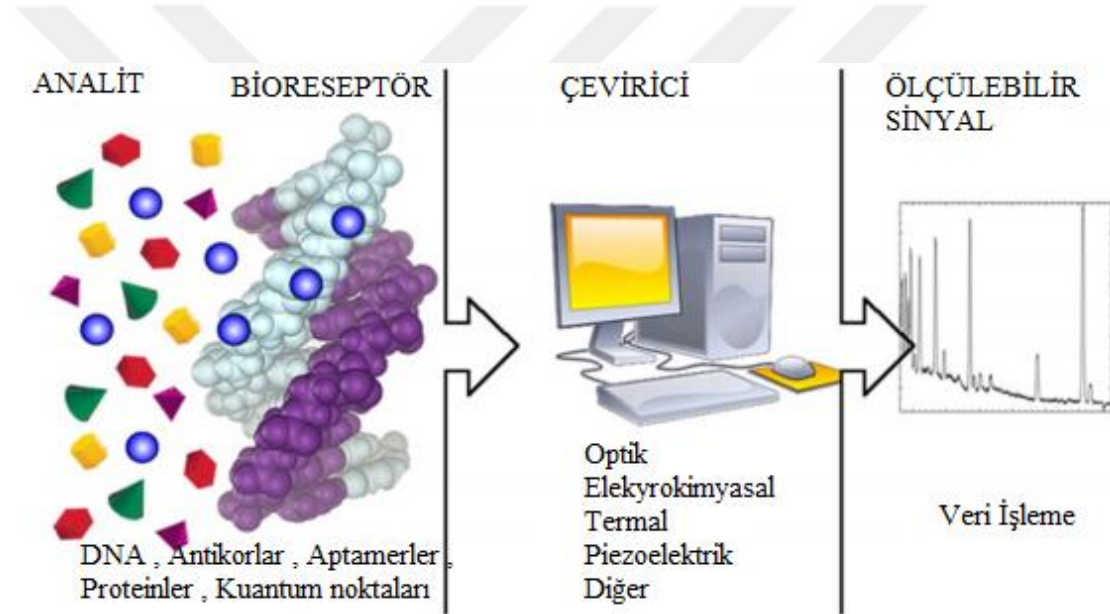
2.2.3.4. Optik biyosensörler

Optik biyosensörler biyolojik moleküllerin varlığını tespit etmek için kullanılan dönüştürücülerdir. Protein tarafından adsorbe edilen ve bir dalga boyuna ayarlanmış olan geleneksel spektrofotometre, optik biyosensörlere bir örnektir. Optik biyosensörleri avantaj ve dezavantajlarına göre ele aldığımızda;

- Algılanan moleküllerin etiketlenmesine gerek olmaması,
- Sinyal / gürültü oranlarının daha iyi dolayısıyla doğruluğun daha yüksek olması,
- Yerinde gerçek zamanlı olarak tanıma süreçlerini izlemek için kullanılabilmesi,

- Birçok önemli biyolojik tanıma işleminin yüzeyde gerçekleşmesi, avantaj olarak gösterilirken
 - Narin ve pahalı olması,
 - Bağlanma reaksiyonlarının heterojen yapısı nedeniyle afinite sabitleri,
 - Homojen reaksiyonlardan elde edilenlerle hemen karşılaştırılamaması,
- dezavantajları arasında gösterilebilir.

Optik biyosensörler düzgün bir şekilde kullanıldığında eşsiz doğrulukta yüzeylerdeki molekülleri tanıma yeteneğine sahiptir (Ramsden, 1997). Optik bir biyosensörün genel şeması şekil 2.6'da gösterildiği gibidir.



Şekil 2.6. Optik biyosensör genel şeması (Martins vd., 2013).

2.2.3.5. Elektrokimyasal mikrobiyal biyosensörler

Elektrokimyasal mikrobiyal biyosensörler üç gruba ayrılır. Bunlar; amperometrik, potansiyometrik ve kondüktometrik olarak adlandırılmaktadır.

• **Amperometrik mikrobiyal biyosensör**

Amperometri genellikle elektrokimyasal bir hücreye uygulanan sabit potansiyel değerini veya yoğunluğu ölçmeye dayanır. Akım yoğunluğu, elektrokimyasal olarak aktif parçacıkların solüsyonundaki varlığın bir fonksiyonudur. Oksidasyonu veya indirgemesi bir konsantrasyonuyla orantılı olarak bir çalışma elektrodu yüzeyinde gerçekleşir. Elektroliz sırasında çalışma elektrodu, ölçülen maddenin doğasına bağlı olarak anot veya katot görevi görebilir. Amperometrik

mikrobiyal biyosensörler bir referans elektroda göre sabit potansiyelde çalışır ve elektron yüzeyindeki türün oksidasyonu ve indirgenmesi sonucu oluşan akımı tespit eder. Amperometrik mikrobiyal biyosensörler, sulu örneklerde biyolojik olarak bozunabilir. Amperometrik biyosensörlerde kendi aralarında doğal substratların ve enzim reaksiyonu ürünlerinin konsantrasyonunun ölçülmesine dayanan sensörler (mediyatörsüz amperometrik biyosensörler), aktif enzim merkezinden elektrota elektron taşıyıcıları olarak araçlar (mediatör amperometrik biyosensörler) kullanılan sensörler, enzim ve elektrot arasında doğrudan elektron transferi kullanılan amperometrik biyosensörler olarak üç gruba ayrılır (Dzyadevych vd., 2008).

- **Potansiyometrik mikrobiyal biyosensör**

Konvansiyonel potansiyometrik mikrobiyal biyosensörler, iyon seçici bir elektrot (pH, amonyum, klorür vb.) veya bir hareketsizleştirilmiş mikrop tabakası ile kaplanmış gaz algılayan elektrottan (pCO_2 ve pNH_3) oluşur. Mikrop tüketen analit, iyon birikimi veya tükenmesinden kaynaklanan bir potansiyel değişikliği üretir. Potansiyometrik transdüserler bir çalışma elektrodu ile bir referans elektrot arasındaki farkı ölçer ve sinyal analit konsantrasyonu ile ilişkilendirilir (Mulchandani, 1998, 2006). Potansiyel üretilen ve analit konsantrasyonu arasındaki logaritmik bir ilişki nedeniyle geniş bir algılama aralığı mümkündür.

- **Kondüktometrik mikrobiyal biyosensörler**

Birçok mikropla katalize edilen reaksiyonlar, iyonik türlerde birçok değişiklik içerir. Bu değişikliklerle bağlantılı olarak reaksiyon çözeltisinin iletkenliğinde net bir değişim meydana gelir. Çözelti iletkenliğinin saptanması spesifik olmamasına rağmen iletkenlik ölçümleri son derece hassastır (Munchandani ve Rogers, 2010). Son zamanlarda hem türlerin hem de anyonların konsantrasyon / osmolaritesinin E. coli'nin metabolik aktivitesi üzerindeki etkisini araştırmak için tek kullanımlık bir iletkenlik ve mikrobiyal sensör geliştirilmiştir. Bu hibrit algılama sistemi, fiziko-kimyasal ve biyolojik algılama özelliklerini bir araya getirir ve verilerin karşılaştırılmasını kolaylaştırır (Polyak vd., 2000).

2.2.4. Biyosensörün çalışma prensibi

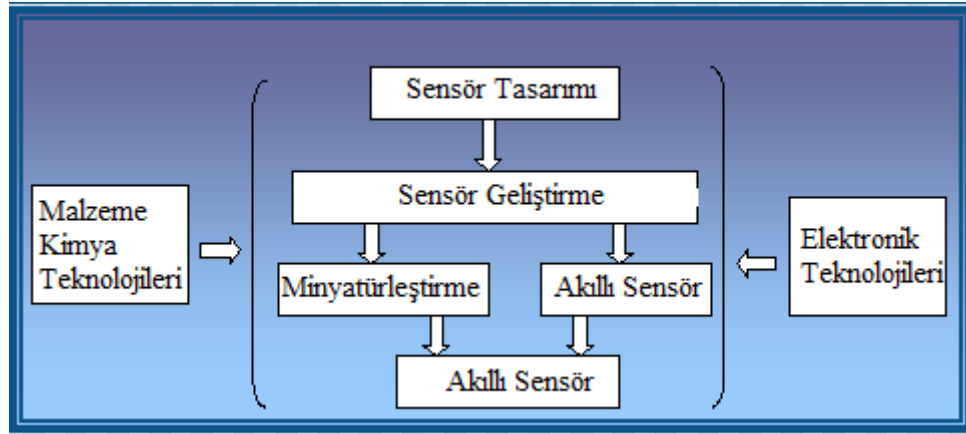
Bir biyosensörün temel ilkesi enzim, enzim substratı, tamamlayıcı DNA, antijen gibi analitleri tanıyan antikor gibi immobilize edilmiş hassas bir biyolojik element olan bir biyoreseptörü içerir. Bunlara ayrıca mikrobiyal bitki ve hayvan hücreleri hücre altı organelleri, doku dilimleri, lektinler ve paralel sentez baskı polimerleri yoluyla elde edilenlere yakınlık veya katalitik özelliklere sahip çok sayıda sentetik molekül içeren antikorlar, tüm hücreler dahildir.

Antikorlar ve oligonükleotitler yaygın olmasına rağmen biyosensörlerde enzimler en çok kullanılan biyo algılama elemanıdır (Khandpur, 1992).

Bir dönüştürücü analitin biyoreseptör ile elektronik bir etkileşimden sonuçlanan biyokimyasal sinyali dönüştürmesi için kullanılır. Oluşturulan sinyalin yoğunluğu, analit konsantrasyonuyla doğrudan doğruya veya ters orantılıdır. Elektrokimyasal transdüserler çoğunlukla biyosensör geliştirmek için kullanılır. Bu sistemler düşük maliyet, basit tasarım veya küçük boyutlar gibi bazı avantajlar sunmaktadır. Biyosensörlerde sinyal iletimi ve biyoreseptörün temel prensiplerine göre kategorize edilirler. Dönüştürücü elemanlara göre biyosensörler elektrokimyasal, optik, piezoelektrik ve termal sensörler olarak sınıflandırılabilir. Elektrokimyasal biyosensörler ise potansiyometrik, amperometrik ve kondüktometrik sensörler olarak ayrılır (Newman ve Setford, 2006).

2.2.5. Biyosensörlerin yapımı

Başarılı bir biyolojik sensörü oluşturmak için, biyokatalizörün analiz amacına yönelik olarak çok spesifik olması, normal saklama koşullarında stabil olması ve analizler arasında düşük bir varyasyon göstermesi gibi belirli koşulların sağlanması gerekir. Tepkime, karıştırma, pH ve sıcaklık gibi fiziksel parametrelerin yönetilebileceği kadar bağımsız olmalıdır. Bu, minimum ön- muamele ile numunelerin analiz edilmesini sağlayacaktır. Reaksiyon, kofaktörler veya koenzimler içeriyorsa, bunlar tercihen enzimle birlikte hareketsiz hale getirilmelidir. Yanıt, seyreltme veya konsantrasyon olmaksızın, ilgi yoğunluğu aralığında doğru, hassas, tekrarlanabilir ve doğrusal olmalıdır. Biyosensör, klinik durumlarda invaziv monitorizasyon için kullanılacaksa, probun toksik ve antijenik etkileri olmayan, biyolojik olarak uyumlu olması gerekir. Dahası, biyosensör inaktivasyona veya proteolize meyilli olmamalıdır. İnsan numunelerindeki analitlerin hızlı ölçümleri için, biyosensörün gerçek zamanlı analiz sağlayabilmesi arzu edilir. Komple biyolojik sensör ucuz, küçük, taşınabilir ve yarı vasıflı operatörler tarafından kullanılabilir (Shruthi vd., 2014).



Şekil 2.7. Genel sensör tasarımı (Shruthi vd., 2014).

2.2.6. Biyosensörlerin avantaj ve dezavantajları

Biyosensörlerin genel olarak sağladığı avantajlara bakacak olursak hızlı ve sürekli ölçüm yapabilmesi, yüksek özgünlüğe sahip olması, kalibrasyon olarak gerekli reaktiflerin çok daha az kullanılması, hızlı tepki süresi ve diğer klasik cihazlar tarafından tahmin edilemeyen molekülleri ölçebilme özeliğine sahip olması olarak sıralandırılabilir (Koyun vd., 2012). Biyosensörler nanoboyutta üretildiğinde aktif yüzey alanı artar ve nano boyutta bir malzeme elde edilir.

Biyosensörleri dezavantajlarına göre sıralandırdığımızda ise; biyolojik materyalin bozunması nedeniyle ısı sterilizasyonu mümkün olmaması, biyolojik materyalin (enzim, hücre, antikor, doku vb.) stabilitesi, molekülün çevresel koşullar altında (pH, sıcaklık veya iyonlar) denatürize edilebilen doğal özelliklerine bağlı olması, biyosensördeki hücrelerin zardan geçebilen diğer moleküller tarafından zehirlenmesi gibi maddeleri sıralayabiliriz (Koyun vd., 2012).

2.2.7. Nanomalzemeler

Yaklaşık olarak 1 ile 100 nm arasındaki boyutlar nano ölçek olarak adlandırılır. Nanomalzemeler 100 nm ya da daha düşük boyutlara sahip olan eşsiz optik, elektronik ve mekanik özelliklere sahip ürünlerdir (Kreyling vd., 2010).

2.2.8. Nanoteknolojinin biyosensörler ile birleştirilmesi

Biyo-algılama kavramı nano biyosensörlerin incelenmesi ve geliştirilmesi için temel oluşturur. Nano biyosensörler nanomalzemelerden oluşan sensörlerdir. Nanomalzemeler elektrik sistemleri ve entegre cihazların elektrik iletim sistemlerinde nano elektromekanik sistemlerin (NEMS) üretiminde kullanılır. Biyolojik alanlarda ve iletim mekanizmalarında kullanılmak üzere geliştirilen nanomalzemeler elektronik ve mekanik özellikleri incelenerek üretilmiştir. Bu

malzemeler nanotüpler, nanorodlar, nanopartiküller ve nanokristallerden oluşan ince filmlerdir (Jianrong vd., 2004).

Dünya çapında nanopartiküller veya nano yapılar kullanılarak çeşitli biyo-algılama elemanları üzerinde çalışmalar yapılmaktadır. Glikozun enzimatik tespiti için amperometrik cihazlar, kuantum noktaları arasındaki bağların algılanması için ise floresan tabanlı cihazlar kullanılmaktadır. Metal bazlı nanoparçacıklar elektronik ve optik uygulamalar için mükemmel malzemelerdir. Optoelektronik özelliklerinden dolayı nükleik asitlerin tespiti için de kullanılabilir. Çinko ve çinko oksit esaslı nano yapıların biyokimyasal olgusu daha hassas algılama sağlamak için kullanılmıştır. Bunlar kolesterolün ve diğer metabolik ara maddelerin tespitinin yapılmasını sağlar. Karbon nanotüp tabanlı biyosensörler glikoz ve insülin tespiti için aktif olarak kullanılmaktadır (Chen vd., 2008).

2.2.9. Sensör teknolojisinde nanomalzemelerin seçimi, optimizasyonu ve çalışması

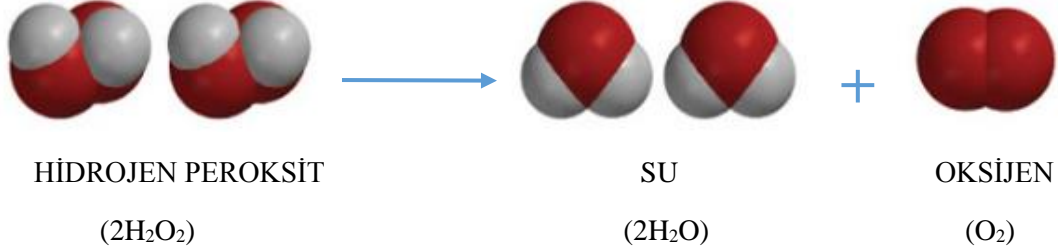
Biyo-algılama uygulamalarında nanomalzeme seçimi yapılırken çok sayıda faktör dikkate alınır. Bu faktörlerin başında fiziksel ve kimyasal özellikler gelir. Diğer faktörler ise; duyarlılık, hassasiyet, seçicilik ve tepki süresidir. Nanomateryali seçmeden önce ‘nanofabrikasyon’ tekniği olarak bilinen deneysel tasarımın parçası olan üretim şekli planlanır. Nanofabrikasyon tekniği entegre devrelerin tasarımı ve nano ölçekli yüzeylerin imalatı ile yoluyla nanomateryal yüzeylerin mühendisliğini yapar. Biyolojik algılama için geliştirilen bu teknik fotolitografi, ince film ve yüzey aşındırma aşındırma teknikleri kimyasal bağlanma parametreleri kullanır. Litografi tekniğinin sonucu olarak ortaya çıkan nanokristal elektrotlar daha fazla yüzey alanı sağlayarak biyo-algılamayı artırır ve immobilizasyonun daha hassas şekilde gerçekleşmesini sağlar (Malik vd., 2013).

2.2.10. Hidrojen Peroksit (H₂O₂)

Hidrojen peroksit soluk mavi renkte, sulandırıldığı zaman ise renksiz hale geçen bir bileşiktir. Hidrojen peroksitin viskozitesi sudan daha yüksektir (Pignatello vd., 2006). Oda sıcaklığında renksiz olan bu biyomolekül acı bir tada sahiptir. Hidrojen peroksit zayıf bir asittir. Genel olarak kararsız bir yapıya sahiptir.

Hidrojen peroksit tepkime sırasında oksijen ve suyun kolayca ayrışmasıyla ısı açığa çıkarır. Yanmaz olmasına rağmen organik materyalle temas ettiğinde kendiliğinden yanmaya neden olabilecek güçlü bir oksitleyici maddedir. Hidrojen peroksit kolayca oksitlenebilen maddeler veya ağır materyal içeren alkalın maddeler ile şiddetli tepki verebilir.

2.2.11. Hidrojen peroksit (H₂O₂) mekanizması



Şekil 2.8. Hidrojen peroksitin genel mekanizması (Pignatello vd., 2006).

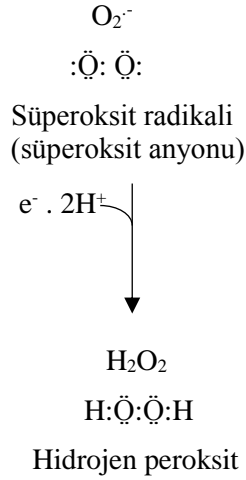
Hidrojen peroksit kararsız bir yapıya sahip olup oda sıcaklığında yavaş bozunum gösteren bir bileşiktir. Peroksit yapıdaki oksijen atomlarının her birinin yükseltgenme sayısı -1 olarak ifade edilir. Peroksit (- O – O -) bağı oldukça düşük bir bağ enerjisine sahiptir ve çok kuvvetli bir yükseltgenme gösterirken yükseltgeyiciler karşısında ise indirgen özellik gösterir. Hidrojen peroksit enzimler, bazı metaller, alkali, mikroorganizmalar, UV radyasyon ile hızlı bir şekilde tepkimeye girer. Bu hızlı ve kontrolsüz tepkimeler parçalanmanın tamamlanmasıyla biter.

Hidrojen peroksit süperoksitin çevresindeki moleküllerden bir elektron alınması ya da moleküler halde bulunan oksijenin çevresindeki moleküllerden iki elektron alınmasıyla meydana gelen peroksit yapının iki proton (H⁺) ile birleşmesi ile oluşur (Pignatello vd., 2006).



Biyolojik sistemlerde H₂O₂ üretimi süperoksidin dismutasyonu ile gerçekleşmektedir. İki süper oksit molekülü, süperoksidin dismutasyon reaksiyonu ile iki proton olarak H₂O₂ ve moleküler oksijeni oluştururlar (Pignatello vd., 2006).





2.2.12. Hidrojen peroksitin (H₂O₂) kullanım alanları

Hidrojen peroksit geniş bir kullanım alanına sahip bir bileşiktir. Genel olarak hidrojen peroksitin kullanıldığı sektörleri sıralarsak maden, metalürji, kozmetik, ilaç, gıda, tekstil, kâğıt üretimi, atık su arıtma gibi birçok sektörde varlığını görmekteyiz (Zhou vd., 1997).

2.2.13. Günlük yaşamda hidrojen peroksit (H₂O₂) kullanım alanları

Hidrojen peroksit günlük yaşamda sık kullandığımız bir maddedir. Hidrojen peroksitin günlük hayatta en çok dezenfektan ve mikrop öldürücü özelliğinden faydalanılır. Bu özelliğinden dolayı hijyenik ürünlerde çok tercih edilen bir kimyasaldır. Hidrojen peroksit; mutfak eşyalarının temizliğinde, mürekkep ve kan lekelerinin temizliğinde, sebzelerin dezenfekte edilmesinde, küf lekelerini ve balık akvaryumlarındaki mantarları yok etmede, evdeki kötü kokuyu ortadan kaldırmada, bulaşık deterjanına ekleyerek deterjanın yağ çözme gücünü arttırmada, kısacası birçok alanda kullanılmaktadır (Zhou vd., 1997).

2.2.14. Mühendislik alanında hidrojen peroksit (H₂O₂) kullanım alanları

Hidrojen peroksitin mühendislik alanında birçok kullanım alanı vardır. Gıda, maden, ziraat, tekstil, çevre, kimya ve metalürji mühendisliğinde çeşitli amaçlara yönelik olarak kullanılmaktadır. Maden mühendisliğinde çeşitli madenlerin zehirleyici etkisini yok etmede, metalürji mühendisliğinde metalik yüzey oluşturmada, tekstil mühendisliğinde kumaş ve ham bez renginin ağartılmasında, çevre mühendisliğinde atık su arıtımı ve suyun zehirleyici etkisini ortadan kaldırmada kullanılmaktadır. Gıda mühendisliğinde; içecek kutularının sterilizasyonunda, hazır içme sularında koruyucu madde ve kayısı kükürtleme işleminde katkı maddesi olarak kullanılmaktadır. Kimya mühendisliğinde; ağız bakım suyu üretiminde, deterjan üretiminde, renk açma ve kalıcılığı sağlaması amacıyla saç boyalarında, oksidasyon ve

hidroksilasyon reaksiyonlarında, organik ve inorganik reaksiyonların üretiminde ve kâğıt üretiminde sıklıkla kullanılan bir maddedir. Ziraat mühendisliğinde; bitkilerin büyümesi ve tohumların daha hızlı çimlendirilmesinde kullanılmaktadır (Zhou vd., 1997).



3. MATERYAL VE METOD

3.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler

Laboratuvarımızda Hummers yöntemi kullanılarak GO'dan rGO elde ettik. Sensör çalışmalarımız için kullandığımız Pd ve TNM Sigma Aldrich firmasından satın alındı. PBS hazırlarken kullandığımız $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ve $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ maddeleri Sigma Aldrich firmasından satın alındı. Sensörümüz için kullandığımız AA, ÜA, DA Sigma Aldrich firmasından temin edildi. Deneysel süreçlerde kullandığımız çift damıtılmış saf su SEN araştırma grubu laboratuvarında üretilmiştir.

3.2. Kullanılan Cihazlar

Kendi laboratuvarımızda bulunan Direct-Q UV marka cihazla deneylerimizde kullanmak üzere çift damıtılmış saf su elde ettik. Gamry 3000 Reference Potensiyostat /Galvanostat cihazı ile sensör çalışması sırasındaki ölçümlerimizi yaptık. Nano boyutta maddeler elde etmek için yüksek frekansta Kudos marka ultrasonik cihaz kullandık. Santrifüj olarak ise 3000 devir Sigma 3-30 KS Marka cihaz kullanıldı. Maddelerin karakterizasyon analizi için ODTÜ Merkezi laboratuvarındaki QUANTA 400F Field Emission SEM marka cihaz TEM görüntüleri için ise FEI 120kV HCTEM marka cihaz kullanıldı. XRD Ölçümleri için Dumlupınar Üniversitesi İleri Teknolojiler Araştırma Merkezi'nde (İLTEM) bulunan PANalytical - Empyrean markalı cihaz kullanıldı.

3.3. Voltametri

Voltametri; bir elektrokimyasal hücreye zamana bağlı olarak bir potansiyel uygulanır ve elde edilen akım bu potansiyelin bir fonksiyonu olarak ölçülür. Akıma karşı uygulanan bu potansiyel bir voltamogram olarak adlandırılır ve oksidasyon veya indirgeme reaksiyonunda yer alan türler hakkında nicel ve nitel bilgi sağlayan bir spektrumun elektrokimyasal eşdeğerini verir. Elektrokimyasal bir hücre içerisinde çalışma elektroduna zamana bağlı bir potansiyel uyarılma sinyali uygulanır. Referans elektrodun sabit potansiyeline göre potansiyeli değişir. Çalışma ve yardımcı elektrotlar arasında akan elektrik akımı ölçülür. Yardımcı elektrot genellikle platin teldir ve referans elektrot genellikle bir SCE veya bir Ag/AgCl elektrotudur.

3.4. Kronoamperometri (CA)

Çalışma elektroduna bir potansiyel uygulanır ve kararlı durum akımı kronoamperometrik ölçüm için zamanın bir fonksiyonu olarak ölçülür. Çözelti ortamı ile elektrot yüzeyi arasında bir difüzyon tabakası vardır. Bu difüzyon kavramı Nernst tarafından tanımlanmıştır (Amatore, 2001).

Difüzyon, analitin yüksek konsantrasyonda çözeltilerden elektrotta transferini kontrol etmektedir. Böylece çözelti ortamından elektrot yüzeyine bir konsantrasyon farkı oluşur. Cottrell denklemi bu durumu en net şekilde göstermektedir. Bu denklem bir elektrotta doğrusal difüzyon kontrolünün zamana bağımlılığını tanımlar (Koyun vd., 2012).

$$I = \eta \cdot F \cdot A \cdot C_0 \sqrt{\frac{D}{\pi} \cdot \frac{1}{t}}$$

I: Akım

F: Faraday sabiti,

η : Her bir molekül için aktarılan elektronların sayısı,

A: Elektrot alanı,

C_0 : Analit konsantrasyonu,

D: Difüzyon katsayısı ve zamanı

t: Zaman

3.5. Dönüşümlü Voltametri (CV)

Dönüşümlü voltametri potansiyodinamik elektrokimyasal ölçümün bir türü olarak adlandırılır. Dönüşümlü voltametri deneyi belirlenmiş olan potansiyel değerine ulaştığında sonlanır. Voltametrik döngüler ayarlanan potansiyele ulaştığında çalışma elektrotunun potansiyel yönü ters çevrilir. Bu ters çevirme belirlenen döngü sayısı elde edilinceye kadar tek bir deneyde birden fazla kez gerçekleştirilebilir. Çalışma elektrotundaki akımın uygulanan gerilime göre çizilmesi reaksiyonun sıklık voltamogramını verir. Dönüşümlü voltametri bir analitin bir çözeltideki elektrokimyasal özelliklerini incelemek için genel bir yoldur (Bord vd., 1980; Nicholson vd., 1964; Heinze, 1984).

3.6. Elektrokimyasal Empedans Spektroskopisi (EIS)

Elektrokimyasal empedans spektroskopisi (EIS) elektrokimyasal reaksiyonların mekanizmalarını araştırmak, malzemenin dielektrik ve taşıma özelliklerini ölçmek, gözenekli elektrotların özelliklerini keşfetmek ve aktif olmayan yüzeyleri araştırmak için güçlü bir yöntemdir (Macdonald, 2006). Geleneksel şekli ile EIS, fiziko-elektrokimyasal sistemlerin elektriksel olarak bozulmasıyla sınırlanır. Elektrokimyasal empedans bir elektrokimyasal sisteme (hücre) uygulanan potansiyelin tepkisidir. Bu empedansın frekans bağımlılığı, altında yatan

kimyasal süreçleri açığa çıkarabilir. Elektrokimyasal sistemlerin tepkileri çok doğrusal değildir. Sistemin karmaşık tepkisi genellikle reaktans ters çevrilmiş Nyquist formatında gösterilir. Bunun nedeni bu sistemlerin kapasitif olmasıdır.

EIS birçok malzeme sistemleri ve uygulamaları (korozyon, kaplama, piller, yakıt hücreleri) için standart bir karakterizasyon tekniği olarak yaygın olarak kullanılmaktadır (Karkra, 2016).

3.7. PBS Hazırlanması

Sensör çalışmalarında laboratuvar ortamında ölçüm alabilmek için ölçüm yapılacak hücrelere tampon çözeltiler eklenir. Çalışmalar sırasında kullanılan birkaç farklı tampon çözelti vardır. Bunlar fosfat tampon çözeltisi, sitrat tampon konsantrasyon çözeltisi, glisin tampon çözeltisi, bis-trins propan çözeltisidir. Bu çalışmada fosfat tampon çözeltisi (PBS) kullanılmasının amacı yukarıda bahsedilen tampon çözeltilerden farklı olarak hem sensörün daha aktif olarak çalışması hem de daha kararlı sonuçlar alınmasına olanak sağlamasından dolayıdır. PBS hazırlamak için 178 g/mol $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 156 g/mol $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ kullanılmıştır. Deney ölçümleri sırasında çok sayıda ölçüm alındığı için 1 L PBS hazırlanmıştır. Manyetik karıştırıcı üzerine koyulan 1 L'lik balon joje içerisinde karışması için manyetik balık adı verilen karıştırıcı atıldıktan sonra ölçümü yapılan tuzlar çözelti içerisine yavaş bir şekilde eklenir. Daha sonra saf su ilavesi yapılarak 600 rpm'de çözeltinin karışmasını sağlar. Yaklaşık olarak 5 dk. süren bu işlem sonucunda deneylerde kullanılmak üzere fosfat tampon çözeltisi hazırlanmıştır.

3.8. Çalışma Elektrodunun Temizlenmesi ve Kullanıma Hazırlanması

Hazırladığımız Pd-TNM@rGO elektrot ile sensör çalışması yapmak üzere çalışma elektrotu olarak Camsı Karbon Elektrot kullanırız. Ölçümlerimize başlamadan önce kullanacağımız elektrotun yüzeyinin temiz olması oldukça önemlidir. Temizlik işlemi için öncelikle polisaj bezi üzerine spatül yardımıyla az miktarda Alümina Parlatma Solüsyonu alınır. Daha sonra Camsı Karbon elektrot Alümina sıvısı üzerinde 8 çizecek şekilde birkaç dakika boyunca cilalanır. Bu işlemden sonra elektrotların üzerindeki partiküllerin uzaklaştırılması için 25 ml saf su bulunan bir behere alınır ve yaklaşık 2 dakika boyunca ultrasonik temizleme banyosunda bekletilir. Bu işlemin ardından saf su içerisinden çıkarılan elektrotların ucu metil alkol ile temizlenir. Bu işlemler sonucunda elektrot yüzeyi tamamen temizlenir ve ölçüm almak için hazır hale gelir.

3.9. Pd-TNM@rGO Nps Elektrodunun Hazırlanması

Hazırladığımız rGO sulu çözeltisinden 60 µL alınarak Camı Karbon Elektrot üzerine damlatılır. 60 °C ' de 30 dk. boyunca etüvde kurutulur. Kuruyan elektrot etüvden alındıktan sonra tekrar üzerine 60 µL Pd-TNM damlatılarak 60°C 'de 30 dk. boyunca kurutulur. Etüvden alındıktan sonra camı karbon elektrottun ölçüm yapılan yerinde boşluk kalmamış olmasına dikkat edilir. Üzerinde oluşabilecek en ufak bir boşluk ölçümümüz esnasında gürültü dediğimiz bozuk piklere neden olur. Bu durumda sonuçları analiz etmemizde hataya sebep olur.

3.10. Deney Düzenine Hazırlanması ve Ölçüm Yapılacak Numunenin Hazırlanması

Deneysel ölçümlerimiz için 5 boyunlu cam hücre kullanıldı. Cam malzemeden yapılmış hücre kullanılarak tampon maddenin cam ile reaksiyona girmemesi sağlandı. 5 boyunlu hücrenin içerisine hesaplamalar sonucunda elde edilen 15 mL PBS eklendi. Daha sonra sırayla çalışma elektrotu olan rGO/Pd-CKE, Pt telden oluşan karşıt elektrot ve Ag /AgCl'den oluşan referans elektrot yerleştirildi. Bu sıralamanın kullanılmasının amacı; potansiyostat cihazında ölçüm alınırken elde edilecek akımın çalışma elektrotuyla karşıt elektrot arasında oluşması ve referans elektrot ile ölçüm kararlılığının sağlanmasıdır. Hazırlanan sistem bilgisayar kontrollü potansiyostat cihazına bağlanarak ölçüm işlemine geçildi. Hazırlanan sistemin görüntüsü Şekil 3.1'de gösterildiği gibidir.



Şekil 3.1. Deney düzeneği.

3.11. Pd-TNM@rGO Solüsyonunun Hazırlanması

0.25 mmol PdCl₂ tartımı yapıldı. 5 ml Tetra Hidro Furan (THF) içerisinde çözüldü. 5 boyunlu reaksiyon şişesi içerisine koyuldu. Bu 5 boyunlu reaksiyon şişesinin boyunlarının bir ucundan N_(g) girişi yapılırken diğer ucundan ise N_(g) çıkışı yapılarak 60 dk. boyunca reaksiyon manyetik üzerinde 600 rpm'de karıştırma işlemi yapıldı. Bunun ardından TNM eklenerek 60 dk. daha karıştırma işlemine devam edildi. İndirgenme işlemi için 60 dk. sonunda NaBH_{4(s)} eklendi ve gaz çıkışı sonunda santrifüj işlemine geçildi. Santrifüjden sonra bir petri kabına aktarılan solüsyon vakumlu etüvde 80°C'de yaklaşık olarak 5 saat boyunca içerisindeki sıvıdan uzaklaştırılarak kurutulması yapıldı.

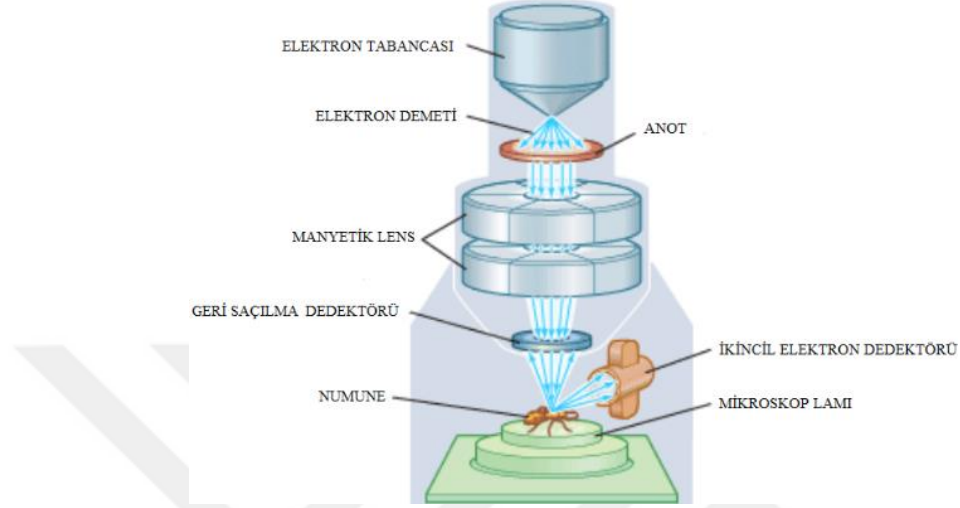
3.12. Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM)

Taramalı elektron mikroskobu odaklanmış olan bir elektron demeti ile numunenin yüzeyini tarayarak görüntü elde eden bir elektron mikroskobu çeşididir. Numunedeki atomlar ve elektronların etkileşimi ile numune yüzeyindeki topografi ve kompozisyon hakkında bilgi almamızı sağlar. Elektron demeti yüzeyde düzenli tarama sağlar, elektron demetinin konumuyla algılanan sinyal yapılarak görüntü elde edilir. Taramalı elektron mikroskobu ile 1 nanometreden daha yüksek çözünürlüklere ulaşılabilir (Reichelt, 2007).

SEM cihazlarının enerjileri genellikle 200 - 300 eV'dan 100 keV'a kadar değişim gösterebilir. Taramalı elektron mikroskobunda görüntü oluşumu temel olarak; elektron demetinin örneğin yüzeyi ile yaptığı etkileşim sonucu ortaya çıkan sinyallerin toplanıp incelenme prensibine dayanmaktadır.

Gelen elektron demetinde bulunan elektronların malzemedeki atomlarla yapmış olduğu esnek olmayan çarpışma ile elektronlara enerjilerini aktararak oluşan ikincil elektronlar yüzeyin topografyası hakkında bilgi verir. İkincil elektronlar numune yüzeyinin 10 nm'lik yüzeyinde ortaya çıkarlar ve enerjileri en fazla 50 eV'dır. Bu elektronların toplanması foto çoğaltıcı tüp yardımıyla olup, numunenin tarama sinyali yardımı ile yüzey görüntüsü elde edilir. Bir diğer elektron grubu ise incelenen numune yüzeyi ile elektron demeti arasındaki etkileşim ile oluşan geri saçılma elektronlarıdır. Bu elektronlar yaklaşık 1800 derece açı yapacak şekilde saçılmaktadır. Geri saçılma elektronları yaklaşık olarak 300 nm'ye kadar numunenin derin bölgelerinden gelen daha yüksek enerjiye sahip olan elektronlardır. Bu enerjiye sahip elektronlar genellikle katı hal detektörü ile tespit edilmektedir. Gelen elektron demetinin yapmış olduğu bir başka etkileşim ise 1000 nm derinlikteki karakteristik x ışınlarının çıktığı durumdur. Numuneye çarpan elektron numune içerisindeki atomdan bir elektron koparır ve bir üst düzeydeki atom enerjisiyi dengelemek için onun yerine geçerek x ışını yayar. Ortaya çıkan bu x ışını SEM'de

incelenen malzemenin element bakımından içeriğini nicel ve nitel olarak tespit edilmesine olanak sağlar (Reichelt, 2007). Taramalı elektron mikroskobunun yapısı şekil 3.2’de gösterildiği gibidir.

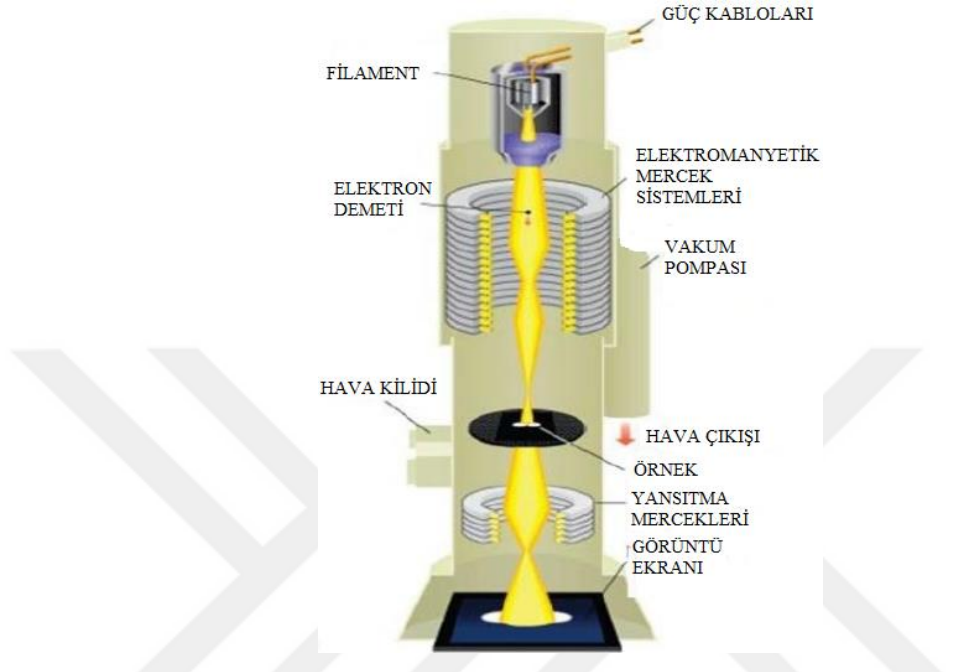


Şekil 3.2. Taramalı elektron mikroskobunun genel görüntüsü (Mehta vd., 1995).

3.13. Geçirimli Elektron Mikroskobu (TEM)

Geçirimli elektron mikroskobu odaklanmış elektronlardan oluşan bir ışının inceltilmiş bir numuneye doğru yönlendirilmesiyle (200nm) inceleme yapılan bir mikroskop tekniğidir. Cismin içinden geçirilen yüksek enerjili elektronların görüntülenmesi prensibine dayanır. Taramalı elektron mikroskobuna kıyasla daha yüksek çözünürlükte numuneyi incelememize olanak sağlar. Bu yüksek enerjili elektronlar numunedeki radyasyon üreten atomlarla etkileşime girerek malzeme karakterizasyonu hakkında bilgi almamızı sağlar. Bilgiler yansıtılan ve yansıtılmadan iletilen elektronlardan, geri saçılmış, ikincil elektronlardan ve yayılan fotonlardan elde edilir. TEM 0,2 nm kadar küçük ve yüksek çözünürlüklü olarak kristal kafesin doğrudan görüntülenmesine olanak sağlar. Numune içindeki kusurları tanımlama, elektron kırınım tekniği ile faz tanımlama, bozukluk ve kusur tanımlama, yapı ve simetri tayini gibi faktörlerde avantaj sağlar. Geçirimli elektron mikroskobunun dezavantajı ise elektron yoğunluğunun iletkenliği ve numunenin kalınlığı nedeniyle toplu ve saydam numune hazırlamanın zor olmasıdır (Ayache vd., 2010). TEM çalışma prensibi olarak optik mikroskoba benzemektedir. Aralarındaki tek fark ise optik mikroskopta ışık ışını kullanılırken geçirimli elektron mikroskobunda elektron ışını kullanılmasıdır. Görüntü bir ekranda ya da fotografik levhada elde edilebilir. Elektronların sapmasını engellemek için bu işlemlerin vakum ortamında yapılması sağlanır. TEM’i çalışma prensibi olarak SEM ’den ayıran özellik SEM ’de görüntü yansıyan elektron ışınlarından

faydalanarak elde edilirken TEM’de ise cisimden geçen ışınların görüntüyü meydana getirmesidir (Ayache vd., 2010). Geçirimli elektron mikroskobunun yapısı şekil 3.3’de gösterildiği gibidir.

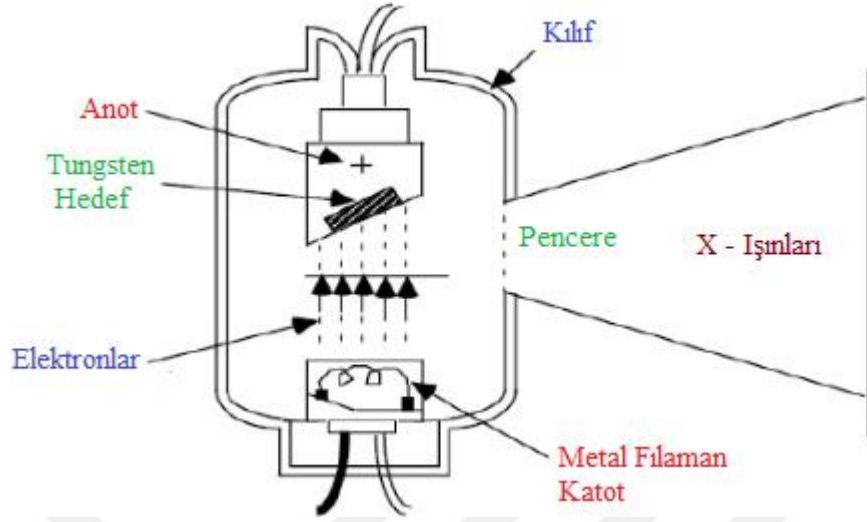


Şekil 3.3. Geçirimli elektron mikroskobunun genel görüntüsü (William, 2007).

3.14. X-ışınları Kırınım Cihazı (XRD)

X-ışınları 1895'de bir Alman fizikçi olan Wilhelm Rontgen tarafından keşfedildi. X ışınları üretmek için üç ana unsura ihtiyaç vardır. Bunlar; bir elektron kaynağı, elektronları yüksek hızlarda hızlandıran bir araç ve elektronların etkisini alıp onlarla etkileşimde bulunmak için bir hedef malzemeden oluşmaktadır (Olivier, 1995).

Çalışma prensibi olarak x-ışınlarının karakteristik düzen içerisinde kırılması esasına dayanır. Kristallerin her birinin faz için kendine özgü olan kırınım profili, o kristali tanımlamaktadır. X-ışını kırınım cihazı numune analizi yaparken numuneyi tahrip etmez ve analizin yapılması için az miktarda numune örneği alınması yeterlidir (Olivier, 1995).

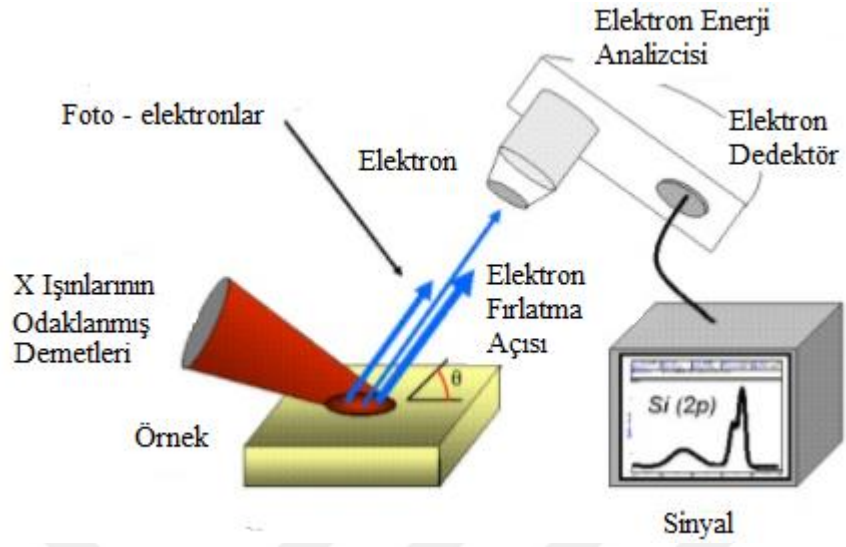


Şekil 3.4. X-ışını Tüpü (Olivier, 1995).

3.15. X-ışını Fotoelektron Spektroskopisi (XPS)

X-ışını fotoelektron spektroskopisi (XPS), bir maddenin yüzey kimyasını analiz etmek için kullanılan bir yüzey analiz tekniğidir. XPS, bir materyal içindeki elementlerin kompozisyonunu, yüzeydeki dağılım yüzdesini, atomik bileşimdeki değişim oranını ve yüzeye kaplamanın kalınlığını ölçer. Yüzeyden saçılan elektronların kinetik enerjisi ölçerek numune analizi yapılır. XPS ile hidrojen (H) ve helyum (He) dışındaki tüm elementlerin nitel analizi yapılabilir. Malzemenin yüzeyi, dış ortam ve diğer malzemelerle etkileşime girebilir. Bu nedenle, yüzey modifikasyonu, malzemenin performansını iyileştirmek için farklı uygulamalarda kullanılabilir. XPS, kırılma, kesme veya yüzeyden sıyırma uygulandıktan sonra malzemenin yüzey kimyasının analizini yapar. XPS Tencere yüzeylerinde yapışmayı önleyen kaplamalardan ince film kaplı yüzeylerde ve biyoaktif yüzeylerde malzemenin yüzey karakterizasyonunun analizini yapar (Zhang ve Zhao, 2009).

Bu nedenle, yüzey modifikasyonu, malzemenin performansını iyileştirmek için farklı uygulamalarda kullanılabilir. XPS, kırılma, kesme veya yüzeyden sıyırma uygulandıktan sonra malzemenin yüzey kimyasının analizini yapar. XPS Tencere yüzeylerinde yapışmayı önleyen kaplamalardan ince film kaplı yüzeylerde ve biyoaktif yüzeylerde malzemenin yüzey karakterizasyonunun analizini yapar (Zhang ve Zhao, 2009).



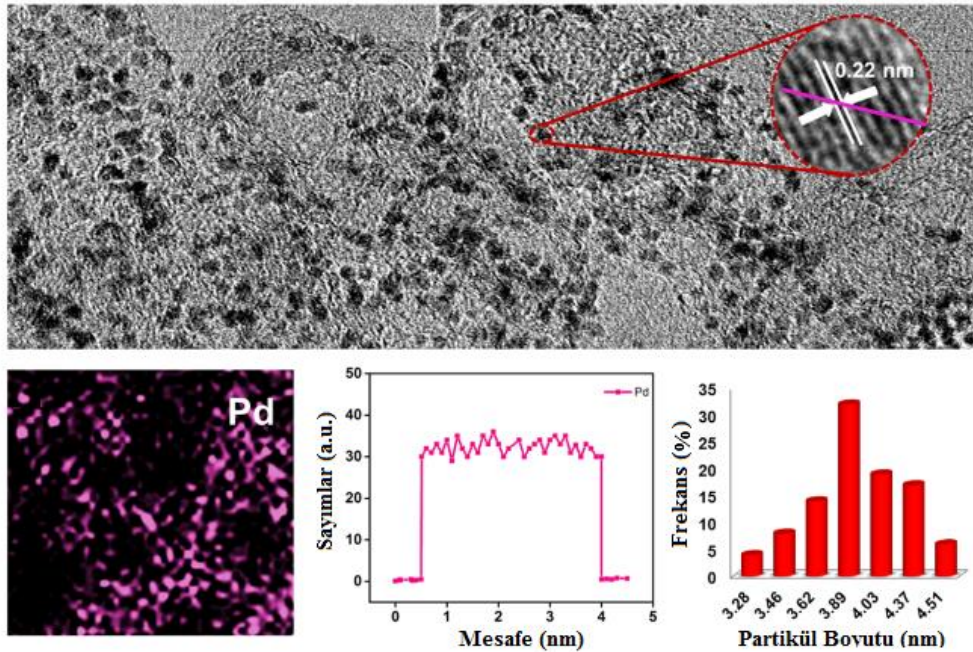
Şekil 3.5. XPS cihazının ana bileşenleri (Zhang ve Zhao, 2009).

4. SONUÇLAR VE TARTIŞMA

Pd-TNM@rGO nanopartiküllerin karakterizasyonları , XRD, TEM , HR-TEM ve XPS, Raman cihazları kullanılarak yapılmıştır.

4.1. Pd-TNM@rGO Sensörünün TEM Analizi

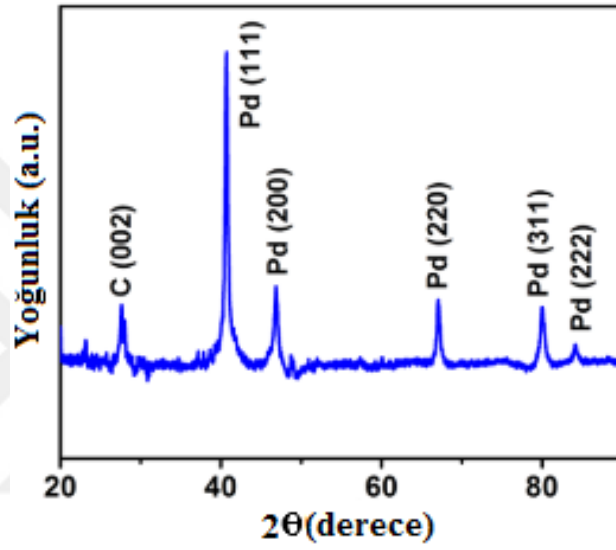
Pd-TNM@rGO'nun yüksek çözünürlüklü elektron mikroskopisi (HR-TEM) Şekil 4.1 a'da gösterilmiştir. HR-TEM sonuçlarına bakılarak parçacıkların küresel şekilli olduğu ve nanosensörde homojen bir yapıya sahip olduğu söylenebilir. EELS elementel renk haritası Şekil 4.1 b'de gösterilmiştir. Pd-TNM@rGO nanopartiküllerin parçacık boyutu histogramında gösterilen ve ok üzerinde taranan EELS çizgi profili Şekil 4.1 c'de gösterilmiştir. Şekil 4.3 d'de Pd-TNM@rGO'nun ortalama parçacık boyutları 3.89 ± 0.43 nm olarak bulunmuş ve rGO üzerinde nanoparçacıkların düzgün dağılımı tespit edilmiştir. Pd nanopartiküllerinin metal parçacıklarının kafes parametresi (α Pd) değerini belirlemek için hazırlanan Pd-TNM@rGO'nun yapısındaki Pd'ler Pd (220) piki kullanılarak belirlenmiştir. Homojen dağılım göstermiş Pd-TNM@rGO nanopartiküllerin kafes sabit değerleri saf Pd için 3.890 \AA olarak belirlenmiştir. Elde edilen sonuçlar yapılan sensörün son derece monodispers morfolojide olduğunu göstermektedir.



Şekil 4.1. Pd-TNM@rGO sensörünün TEM görüntüsü EELS elementel renk haritası Palladyum EELS çizgi profili.

4.2. Pd-TNM@rGO Sensörünün XRD Analizi

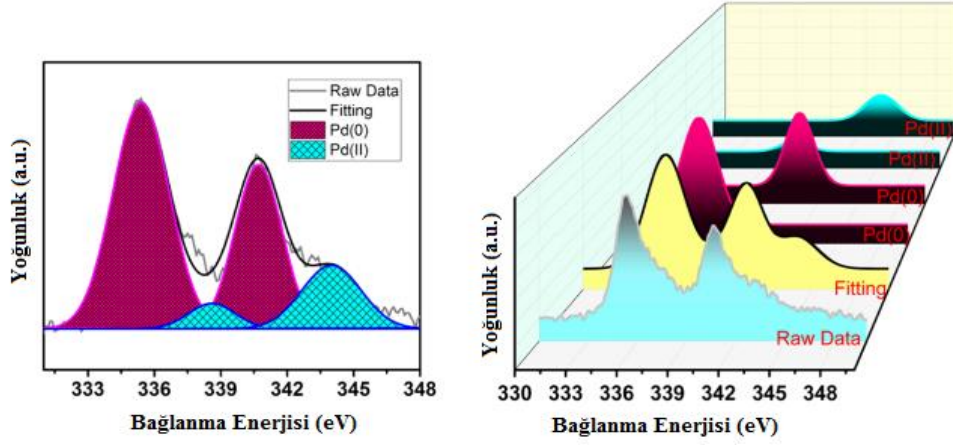
X-ışını kırınımı spektrumu (XRD) yüksek monodispers Pd-TNM@rGO'nun kristal yapısını ve ortalama kristal boyutunu belirlemek için yapılmıştır. Şekil 4.2'de verilen XRD analizine göre yaklaşık olarak 24.8° de pik noktasında rGO'daki karbon (002) düzleminde. Paladyumun YMK yapıda olduğu ve bu yapıların Pd (111), (200), (220), (311) ve (222) kristal düzleminde YMK yapıda olduğu görülmüştür.



Şekil 4.2. Pd-TNM@rGO sensörünün XRD görüntüsü.

4.3. Pd-TNM@rGO Sensörünün XPS Analizi

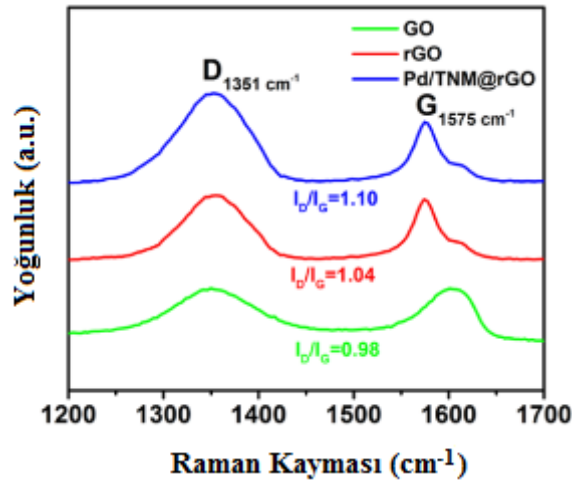
X-ışını fotoelektron spektroskopisi (XPS) yapıya katılan nanoyapının yüzey element bileşimlerini ve Pd-TNM@rGO nanopartiküllerinin kimyasal oksidasyon durumlarını değerlendirmek için kullanılmıştır. Şekil 4.3'de Pd 3d^{5/2}'nin 335.3 eV'de olduğunu ve bize Pd atomlarının çoğunun metalik durumda olduğunu göstermiştir (Sen vd., 2012). Bu sonuçlar doğrultusunda Pd-TNM@rGO yapısında bulunan Pd'nin element halinde bulunduğunu söyleyebiliriz. Elde edilen grafik incelendiğinde 335.3 eV'de ortaya çıkan Pd (II) pikinin hazırlama işlemi sırasında çevresel oksijenin yüzey oksidasyonu ve kimyasal absorpsiyondan kaynaklandığını söyleyebiliriz.



Şekil 4.3. Pd-TNM@rGO sensörünün 2D ve 3D XPS görüntüsü.

4.4. Pd-TNM@rGO Sensörünün Raman Analizi

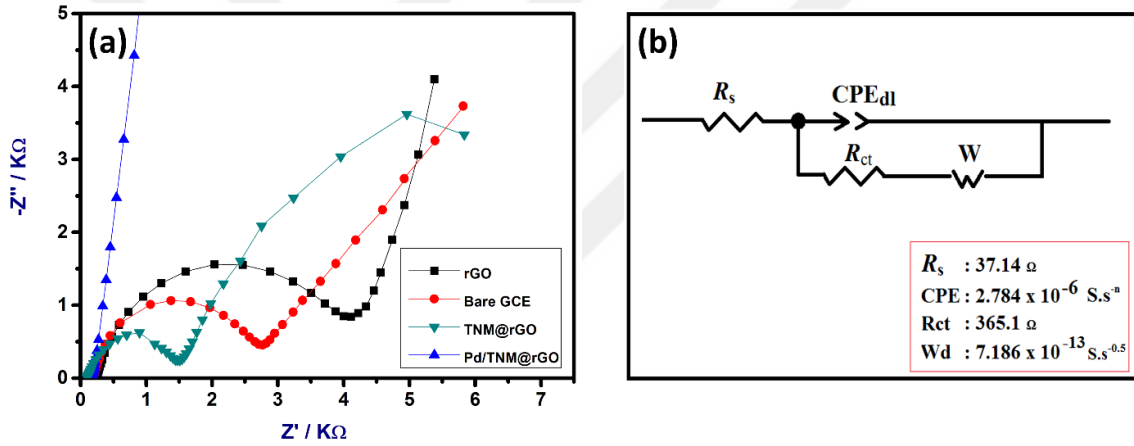
Raman spektroskopisi karbonlu malzemelerdeki karbonların düzensiz ve bozunmuş yapısını tanımaya yönelik olan etkili ve başarılı bir tekniktir. Raman spektroskopi analizi GO, rGO, Pd-TNM@rGO için şekil 4.4'de gösterilmiştir. 1351 ve 1575 cm^{-1} de bulunan 2 tane belirgin saçılma piki sırasıyla D bandına ve G bandına atanabilir. Genel olarak GO'nun ve rGO'nun modifikasyon veya kusur derecelerini değerlendirmek için D bandının yoğunluğunun G bandının yoğunluğunun oranına bakılmaktadır. (I_D/I_G). Bu çalışmada GO, rGO ve Pd-TNM@rGO'nun I_D/I_G değerleri sırasıyla 0.98, 1.04 ve 1.10'dur. Bu durum Pd'nin rGO ile işlevselliğini göstermektedir.



Şekil 4.4. Pd-TNM@rGO sensörünün raman görüntüsü.

4.5. Pd-TNM@rGO Nanosensörüne İlişkin EIS Ölçümü

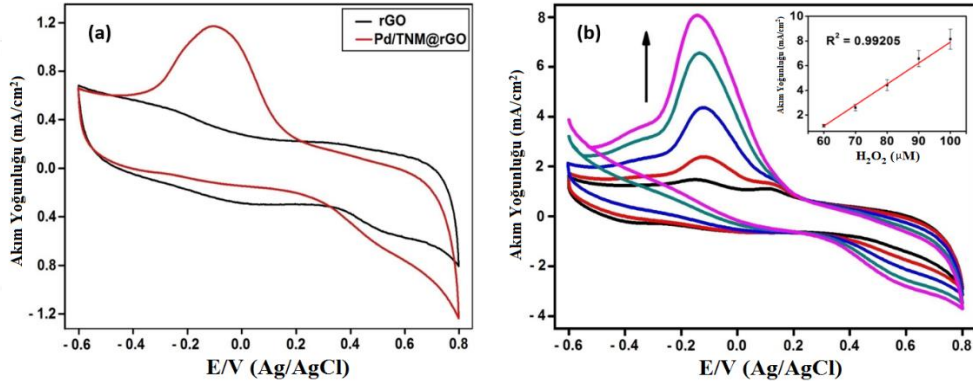
Şekil 4.5’de 10^5 Hz – 10^{-2} Hz arasında 5.0 mM H_2SO_4 içerisinde Nyquist ölçümleri gerçekleştirilmiştir. CKE, rGO-CKE, TNM@rGO-CKE ve Pd-TNM@rGO-CKE kullanılarak dört farklı ölçüm gerçekleştirilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre hazırlanan nanosensörde 2.8 k Ω çapa kadar bir yarım daire elde edilmiştir. CKE yüzeylerine rGO ilave edildikten sonra elektron transfer direnci önemli ölçüde artmıştır. rGO’nun sp^2 bağlanma düzeyi nedeniyle ara-yüzey elektron transferinin önleniği söylenebilir. Şekil 4.5’de Pd-TNM ilavesi yapıldıktan sonra Pd nanopartiküllerin direncinde bir kırılma olduğu görülmektedir. Ayrıca Pd-TNM@rGO nanoyapısı artan bir iletkenliğe sahiptir. Elektron transferinin ise diğer nanosensörlere oranla daha fazla elektron transferine izin verdiği sonucuna ulaşılabilir.



Şekil 4.5. 5.0 mM H_2SO_4 içinde CKE, rGO, TNM@rGO ve Pd-TNM@rGO’nun elektrokimyasal empedans spektrumları.

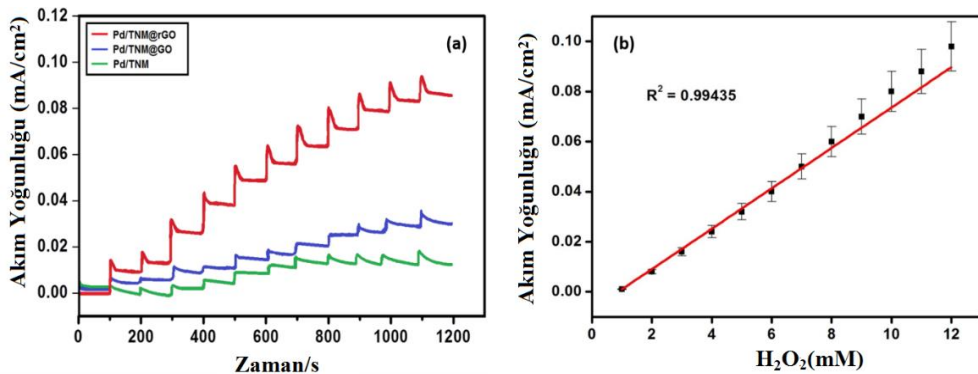
4.6. Hidrojen Peroksitin (H_2O_2) Elektrokimyasal Tayini

rGO/CKE ve Pd-TNM@rGO/CKE nanosensörlerinin elektrokimyasal performansları şekil 4.6’da gösterilmiştir. Sensörlerin H_2O_2 ’ye karşı davranışları 0.1 M PBS’de (pH:7.4) 5mM H_2O_2 için incelenmiştir. rGO/CKE oldukça düşük bir akım yoğunluğu gösterirken, Pd-TNM@rGO/CKE ise yüksek bir akım yoğunluğu göstermiştir. Elektrokimyasal reaksiyon mekanizması şekil 4.6’da gösterildiği gibidir. (Fang vd., 2007; Cao vd., 2008; Bo vd., 2010; Bain vd., 2012).



Şekil.4.6. rGO ve Pd-TNM@rGO'nun, (a) 5 mM H₂O₂ (b) 60, 70, 80, 90 ve 100 μM H₂O₂ ilavesi ile döngüsel voltamogramları.

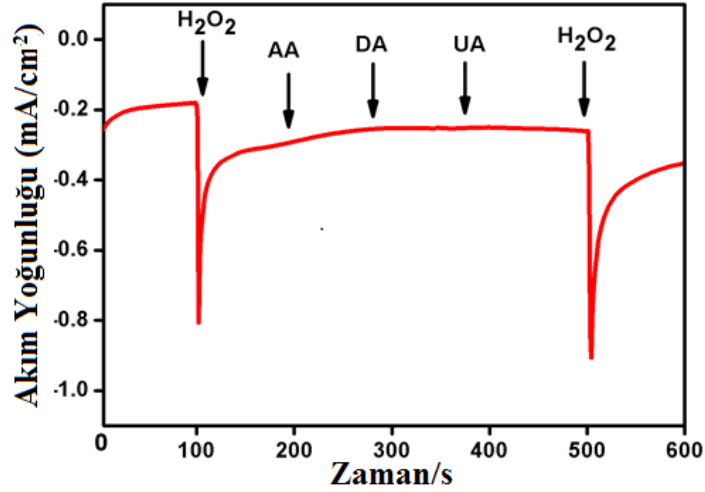
Pd-TNM@rGO nanosensörü, Pd-TNM@rGO/CKE'lerin elektron transferinin daha kolay olması nedeniyle rGO/CKE'ye kıyasla daha yüksek iletkenlik ve elektrokatalitik etkinlik göstermiştir. Şekil 4.7 b'de -0.1 V'lik bir potansiyelde 10 μM H₂O₂'nin kademeli olarak artışının rGO/CKE ve Pd-TNM@rGO/CKE'lerin amperometrik akım-zaman eğrileri gösterilmektedir. H₂O₂ konsantrasyonuna karşı verdiği tepkinin akım yoğunluğu 100 mM'a kadar mükemmel bir doğrusal aralık göstermiştir. Kararlı olarak devam eden sinyaller çok kısa sürede elde edilmiştir. Pd-TNM@rGO/CKE'nin hassaslığının yapılan diğer çalışmalardan daha yüksek olması Pd-TNM@rGO'da ekstra katalitik etki sağlamıştır. 1 mM ile 11 mM H₂O₂ kullanarak hazırlanan sensörlerin algılama sınırları Şekil 4.7'de gösterildiği gibi kronoamperometri ile belirlenmiştir. 1 mM - 11 mM konsantrasyonlardaki Pd-TNM@rGO/CKE'nin doğrusal akım yoğunlukları belirlenmiştir.



Şekil 4.7. (a) 0.1 M PBS içinde Pd-TNM, Pd-TNM@GO ve Pd-TNM@rGO sensörlerinde elde edilen amperometrik yanıtlar. (b) Kalibrasyon grafiği.

4.7. H₂O₂ Biyosensörünün Kararlılığı, Seçiciliği ve Tekrarlanabilirliği

Hazırlanan biyosensörün seçiciliğini test etmek için H₂O₂ ile birlikte askorbik asit, dopamin ve ürik asit gibi bazı elektro aktif maddeler kullanılmıştır. Şekil 4.8’de -0.1 V’de sırasıyla 1,0 mM H₂O₂, 0,15 mM AA, 0,2 mM dopamin, 0,5 mM ÜA ve 1,0 mM H₂O₂ ilave edilmesi ile sensörün verdiği tepki ölçülmüştür. Şekil 4.8 incelendiğinde H₂O₂ sensörünün AA, DA, ÜA gibi önemli biyomoleküllerin varlığında H₂O₂ tepkimelerinde ihmal edilebilecek kadar az bir etkileşime sahip olduğu görülmüştür. Bu durum Pd-TNM@rGO nanoyapısının H₂O₂’nin algılanması için büyük bir seçicilik, kararlık ve tekrarlanabilirlik sergilediğini gösterir. Hazırlanan nanosensör ile beş farklı biyomolekül denenmiş ve en iyi sonuç H₂O₂’de görülmüştür.



Şekil 4.8. Pd-TNM@rGO sensörünün seçicilik, kararlık ve tekrarlanabilirlik testi.

4.8. Pd-TNM@rGO Sensörünün Diğer H₂O₂ Sensörleri ile Karşılaştırılması

Sensör nano malzemesinin yapımında iyi elektrik iletkenlik ve kararlılığı sayesinde seçilen C tabanlı rGO yapısı ile hazırlanan Pd-TNM@rGO sensörünün mevcut en iyi dört sensör ile karşılaştırılması yapılmıştır. Potansiyel, hassasiyet, lineer aralık ve algılama limitleri verilen sensörler kıyaslandığında en iyi değerlerin Pd-TNM@rGO nanosensöründe elde edildiği görülmüştür. Bu sonuçlara göre Pd-TNM@rGO sensörünün ileride yapılacak H₂O₂ sensörlerine öncü olması hedeflenmektedir.

Çizelge 4.1. rGO tabanlı biyosensörlerin aktiviteleri ve H₂O₂ değerlerinin karşılaştırması.

Elektrot	Potansiyel (V)	Hassasiyet ($\mu\text{A mM}^{-1}\text{cm}^{-2}$)	Lineer Aralık (mM)	Algılama Limiti (μM)	Referans
<i>ER-GNO/IL-SPE</i>	-0,2	78,13	$0,1 \times 10^{-3} - 2,0$	0,05	Ping vd., 2011
<i>rGO/ZnO/CKE</i>	-0,38	$1,34 \times 10^{-2}$	$1,0 \times 10^{-3}$ $2,25 \times 10^{-2}$	0,02	Palanisamy vd., 2012
<i>NF/CAT/rGO/CKE</i>	-0,45	7,76	$5 \times 10^{-2} - 1,91$	-----	Ting vd., 2011
<i>PDA/rGO-ATP-Pd/CKE</i>	-0,2	492,09	$1 \times 10^{-2} - 10$	0,016	Jung-Min, 2013
<i>Pd-TNM@rGO</i>	-0,1	714,8	$6 \times 10^{-3} - 1$	0,0052	Bu Çalışma

Yukarıdaki tabloda hazırlanan nanosensörle literatürdeki diğer nanosensörlerin karşılaştırması görülmektedir. Tabloda da görüldüğü gibi Pd-TNM@rGO nanosensörünün daha düşük potansiyel aralığa ve daha düşük hassasiyette sahip olduğu, lineer aralığının ise daha fazla olduğu, ayrıca algılama limitinin çok daha düşük olduğu görülmektedir.

4.9. Biyosensörün Analitik Uygulamaları

Biyosensörün doğruluğu, bir dezenfektan içerisindeki hidrojen peroksitin standart bir ilave yöntemi kullanılarak belirlenmiştir. Deneyler titrasyon yöntemi ile gerçekleştirilip her iki yöntemde tutarlı ve hassas olduğu sonucuna varılmıştır. Tablo 4.2'de görüldüğü gibi biyosensör ile elde edilen değerler sonucunda iyileşme oranının % 99.1 ile % 101.1 arasında değiştiği görülmüştür.

Çizelge 4.2. Alınan ölçümlere göre belirlenen H₂O₂ miktarı.

Numune Numarası	Eklenen H₂O₂ (mM)	Belirlenen H₂O₂ (mM)	Kazanım (%)	Titrasyon Yöntemiyle Belirlenen H₂O₂ (mM)
1	0.2	0.821	101.1	0.812
2	0.6	1.264	100.6	1.256
3	1.2	1.814	99.1	1.830



5. SONUÇ

Literatürdeki mevcut yayınlar incelendiğinde hazırlanan diğer biyosensörlerden farklı olarak daha yüksek algılama sınırı ve hassasiyete sahip yeni nesil H₂O₂ sensörü üretilmiştir. Monodispers yapıda olan Pd-TNM@rGO nanobiyosensörü basit bir yöntemle hazırlanmıştır. TEM, XPS, XRD, HR-TEM ve EELS gibi çeşitli analitik yöntemlerle karakterizasyonu yapılmıştır. Pd-TNM@rGO nanobiyosensöründe ise algılama sınırının 714,8 ($\mu\text{A mM}^{-1} \text{cm}^{-2}$) olduğu görülmüştür. Ayrıca seçicilik testlerine bakıldığında diğer hazırlanan sensörlerden farklı olarak daha yüksek bir seçiciliğe ulaşmıştır.

Hassasiyet testleri için döngüsel voltametri tekniği kullanılmıştır. Tarama hızı testleri yapılarak sensörün farklı tarama hızlarındaki performansları belirlenmiştir. Bu ölçümler sonucunda kalibrasyon grafikleri çizilerek R² doğruluk değerleri hesaplanmıştır. Bu değerlerin 1'e yakın olan değerler bulunması bizim sensörümüz için olumlu bir yaklaşım olmuştur. Seçicilik testleri için kronoamperometri ölçümleri alınmış, sensörün diğer biyo-maddeler üzerindeki etkileri incelenmiştir. H₂O₂'ye karşı yüksek seçicilik elde etmemiz bizim çalışmamız için olumlu bir sonuç olmuştur. Sensörümüz için elektrokimyasal empedans spektroskopisi ölçümleri alınmış olup elektrot üzerine hazırlanan nanomalzemenin elektriksel iletkenliği ölçülmüştür. Diğer nanomalzemelerden oluşturulmuş sensörlerden farklı olarak bizim hazırladığımız nanomalzemelerden oluşan sensörün iyi dayanıklılık, yüksek hassasiyet, mükemmel tekrarlanabilirlik, iyi seçicilik ve düşük algılama limiti göstermesi Pd-TNM@rGO sensörünün başarılı bir şekilde oluştuğunu göstermektedir.

KAYNAKLAR DİZİNİ

Amatore, C., Szunerits, S., Thouin, L., Warkocz, J.S., (2001), The real meaning of Nernst's steady diffusion layer concept under non-forced hydrodynamic conditions. A simple model based on Levich's seminal view of convection, *Journal of electroanalytical chemistry*. 500(1), s.62-70.

Atkins, P., De Paula, J., (2011), Physical chemistry for the life sciences. Oxford University Press, USA.

Bain, X., Guo, K., Liao, L., Xiao, J., Kong, J., Ji, C., Liu, B., (2012), Nanocomposites of palladium nanoparticle-loaded mesoporous carbon nanospheres for the electrochemical determination of hydrogen peroxide, *Talanta*. 99 s.256–261.

Bard, A.J., Faulkner, L.R., Leddy, J., Zoski, C.G., (1980), Electrochemical methods: fundamentals and applications, Wiley, New York.

Biegler, T., Woods, R., (1973), The standard hydrogen electrode. A misrepresented concept, *J. Chem. Educ.* 50(9), s.604.

Bilitewski, U., Drewes, W., Neermann, J., Schrader, J., Surkow, R., Schmid, R.D., Bradley, J., (1993), Comparison of different biosensor systems suitable for bioprocess monitoring, *J. Biotechnol.* 31, s.257-266.

Bo, X., Bai, J., Ju, J., Guo, L.A., (2010), Sensitive amperometric sensor for hydrazine and hydrogen peroxide based on palladium nanoparticles/onion-like mesoporous carbon vesicle, *Analytica Chimica Acta*. 675 s.29–35.

Cao, D., Sun, L., Wang, G., Lv, Y., Zhang, M., (2008), Kinetics of hydrogen peroxide electroreduction on Pd nanoparticles in acidic medium, *Journal of Electroanalytical Chemistry*. 621 s.31–37.

Dunbar, R.I., (1992), Neocortex size as a constraint on group size in primates. *J. Hum. Evol.* 22, s.469–493.

Eggins, B.R., (1996), An Introduction to Biosensors, John Wiley.

Fang, C., Fan, Y., Kong, J.M., Zhang, G.J., Linn, L., Rafeah, S., (2007), DNA-templated preparation of palladium nanoparticles and their application, *Sensors and Actuators B: Chemical*. 126(2), s.684-690.

Guo, H.L., Wang, W.F., Qian, Q.Y., Wang, F.B., Xia, X.H., (2009), A green approach to the synthesis of graphene nanosheets, *ACS Nano*. 3, s.2653–2659.

Heinze, J., (1984), Cyclic voltammetry “electrochemical spectroscopy”. *New analytical methods*, *Angewandte Chemie International Edition*. 23, s.831-847.

Huang, Y., Dong, X., Liu, Y., Li, L.J., Chen, P., (2011), Graphene-based biosensors for detection of bacteria and their metabolic activities, *Journal of Materials Chemistry*. 21, s.12358–12362.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

Jenkins, D. M., M.j. Delwiche., (2002), Manometric biosensor for on-line measurement of milk urea. *Biosens Bioelectron.* 17, s.557-563.

Jung-Min, You., (2013), Novel determination of hydrogen peroxide by electrochemically reduced graphene oxide grafted with aminothiophenol–Pd nanoparticles, *Sensors and actuators b: chemical.* 178, s.450-457.

Karkra, R., Kumar, P., Bansod, B. K., Krishna, C.R., (2016), Analysis of heavy metal ions in potable water using soft computing technique. *Procedia Computer Science*, 93, s.988-994.

Khandpur, R.S., (1992), Handbook of biomedical instrumentation, Tata McGraw-Hill Education.

Kissinger, P., Heineman, W.R., (1996), Laboratory Techniques in Electroanalytical Chemistry, revised and expanded. CRC press.

Koyun, A., Ahlatcıoğlu, E., İpek, Y.K., (2012), Biosensors and their principles. In A Roadmap of Biomedical Engineers and Milestones, InTech.

Kress-Rogers, E., (1996), Handbook of biosensors and electronic noses: medicine, food, and the environment. CRC Press.

Kuila, T., Bose, S., Khanra, P., Mishra, A.K., Kim, N.H., Lee, J.H., (2011), Recent advances in graphene-based biosensors, *Biosensors and Bioelectronics.* 26, s.4637-4648.

Li, Y., Gao, W., Ci, L., Wang, C., Ajayan, P.M., (2010), Catalytic performance of Pt nanoparticles on reduced graphene oxide for methanol electro-oxidation, *Carbon.* 48(4), s.1124-1130.

Liu, G., Lin, Y., (2005), Electrochemical sensor for organophosphate pesticides and nerve agents using zirconia nanoparticles as selective sorbents, *Analytical Chemistry.* 77, s.5894-5901.

Lower, S., (1999), Chem1 virtual textbook, Simon Fraser University.

Lu, X., Zhou, J., Lu, W., Liu, Q., Li, J., (2008), Carbon nanofiber-based composites for the construction of mediator-free biosensors, *Biosensors and Bioelectronics.* 23, s.1236–1243.

Luo, J., Zhang, H., Jiang, S., Jiang, J., Liu, X., (2012), Facile one-step electrochemical fabrication of a non-enzymatic glucose-selective glassy carbon electrode modified with copper nanoparticles and graphene, *Microchimica Acta.* 177, s.485–490.

Macdonald, D.D., (2006), Reflections on the history of electrochemical impedance spectroscopy, *Electrochimica Acta.* 51, s.1376-1388.

Malik, P., Katyal, V., Malik, V., Asatkar, A., Inwati, G., Mukherjee, T.K., (2013), Nanobiosensors: concepts and variations, ISRN Nanomaterials.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

Mehta, R.G., Liu, J., Constantinou, A., Thomas, C.F., Hawthorne, M., You, M., Moriarty, R.M., (1995), Cancer chemopreventive activity of brassinin, a phytoalexin from cabbage. *Carcinogenesis*, 16(2), s.399-404.

Newman, J.D., Setford, S.J., (2006), Enzymatic biosensors, *Molecular biotechnology*. 32, s.249-268.

Nicholson, R.S., Shain, I., (1964), Theory of stationary electrode polarography. Single scan and cyclic methods applied to reversible, irreversible, and kinetic systems, *Analytical Chemistry*. 36, s.706-723.

Ohno, H., (2001), Toward functional spintronics, *Science*. 291(5505), s840-841.

Olivier, J.P., (1995), Modeling physical adsorption on porous and nonporous solids using density functional theory, *Journal of porous materials*. 2(1), s.9-17.

Palanisamy, S., Chen, S.M., Sarawathi, R., (2012), A novel nonenzymatic hydrogen peroxide sensor based on reduced graphene oxide/ZnO composite modified electrode, *Sensors and Actuators B: Chemical*. 166, s.372-377.

Pignatello, J. J., Oliveros, E., MacKay, A., (2006), Advanced oxidation processes for organic contaminant destruction based on the Fenton reaction and related chemistry. *Critical reviews in environmental science and technology*, 36(1), s.1-84.

Ping, J., Wang, Y., Fan, K., Wu, J., Ying, Y., (2011), Direct electrochemical reduction of graphene oxide on ionic liquid doped screen-printed electrode and its electrochemical biosensing application, *Biosensors and Bioelectronics*. 28, s.204-209.

Ramanathan, K., Danielsson B., (2001), Principles and applications of thermal biosensors, *Biosens Bioelectron*. 16, s.417-423.

Ramsden, J.J., (1997), Optical biosensors, *Journal of Molecular Recognition*. 10, s.109-120.

Reichelt, R., (2007), Scanning electron microscopy. In *Science of microscopy* 133-272, Springer New York.

Sen, F., Boghossian, A. A., Sen, S., Ulissi, Z. W., Zhang, J., Strano, M.S., (2012), Observation of oscillatory surface reactions of riboflavin, trolox, and singlet oxygen using single carbon nanotube fluorescence spectroscopy, *ACS nano*. 6(12), s.10632-10645.

Shan, C., Yang, H., Song, J., Han, D., Ivaska, A., Niu, L., (2009), Direct electrochemistry of glucose oxidase and biosensing for glucose based on graphene, *Analytical Chemistry*. 81, s.2378–2382.

Shruthi, G.S., Amitha, C.V., Mathew, B.B., (2014), Biosensors: A modern day achievement, *Journal of Instrumentation Technology*. 2(1), s.26-39.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

Shu, X., Chen, Y., Yuan, H., Gao, S., Xiao, D., (2007), H₂O₂ sensor based on the room-temperature phosphorescence of nano TiO₂/SiO₂ composite, *Analytical Chemistry*. 79, s.3695–3702.

Si, P., Chen, H., Kannan, P., Kim, D.H., (2011), Selective and sensitive determination of dopamine by composites of polypyrrole and graphene modified electrodes, *Analyst*. 136(24), s.5134-5138.

Socaciu, C., (2007), Food colorants: chemical and functional properties. CRC Press.

Stankovich, S., Piner, R.D., Chen, X., Wu, N., Nguyen, S.T., Ruoff, R.S., (2006), Stable aqueous dispersions of graphitic nanoplatelets via the reduction of exfoliated graphite oxide in the presence of poly(sodium 4-styrenesulfonate), *Journal of Materials Chemistry*. 16, s.155–158.

Ting, S.W., Periasamy, A.P., Chen, S.M., Saraswathi, R., (2011), Direct electrochemistry of catalase immobilized at electrochemically reduced graphene oxide modified electrode for amperometric H₂O₂ biosensor, *International Journal of Electrochemical Science*. 6, s.4438-4453.

Wang, J., Yang, S., Guo, D., Yu, P., Li, D., Ye, J., Mao, L., (2009), Comparative studies on electrochemical activity of graphene nanosheets and carbon nanotubes, *Electrochemistry Communications*. 11, s.1892–1895.

William, D., (2007), Callister Jr. Materials Science and Engineering an Introduction, John Wiley and Sons.

Wilson, J.S., (2004), Sensor technology handbook, Elsevier.

Xiong, H., Jin, B., (2011), The electrochemical behavior of AA and DA on graphene oxide modified electrodes containing various content of oxygen functional group, *Journal of electroanalytical chemistry*. 661(1), s.77-83.

Yang, J., Deng, S., Lei, J., Ju, H., Gunasekaran, S., (2011), Electrochemical synthesis of reduced graphene sheet–AuPd alloy nanoparticle composites for enzymatic biosensing, *Biosensors and Bioelectronics*. 29, s.159–166.

You, J.M., Jeong, Y.N., Ahmed, M.S., Kim, S.K., Choi, H.C., Jeon, S., (2011), Reductive determination of hydrogen peroxide with MWCNTs-Pd nanoparticles on a modified glassy carbon electrode, *Biosensors and Bioelectronics*. 26, s.2287–2291.

Zhang, L.L., Zhao, X.S., (2009), Carbon-based materials as supercapacitor electrodes. *Chemical Society Reviews*, 38(9), s.2520-2531.

Zhou, M., Diwu, Z., Panchuk-Voloshina, N., Haugland, R.P., (1997), A stable nonfluorescent derivative of resorufin for the fluorometric determination of trace hydrogen peroxide: applications in detecting the activity of phagocyte NADPH oxidase and other oxidases, *Analytical biochemistry*. 253(2), s.162-168.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

Zhou, M., Zhai, Y., Dong, S., (2009), Electrochemical sensing and biosensing platform based on chemically reduced graphene oxide, Analytical Chemistry. 81, s.5603–5613.

