

T.C.
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
KİMYA ANABİLİM DALI



MOLEKÜLER BASKILANMIŞ SENSÖRLE DOPAMİN TAYİNİ ve HİDROJEL
KULLANILARAK DOPAMİNİN KONTROLLÜ SALIMININ İNCELENMESİ

DOKTORA TEZİ

Nihal ERMİŞ

**T.C.
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

DOKTORA TEZİ

**MOLEKÜLER BASKILANMIŞ SENSÖRLE DOPAMİN TAYİNİ ve HİDROJEL
KULLANILARAK DOPAMİNİN KONTROLLÜ SALIMININ İNCELENMESİ**

NİHAL ERMİŞ

**SAMSUN
2019**

Her hakkı saklıdır.

TEZ ONAYI

Nihal ERMİŞ tarafından hazırlanan “MOLEKÜLER BASKILANMIŞ SENSÖRLE DOPAMİN TAYİNİ ve HİDROJEL KULLANILARAK DOPAMİNİN KONTROLLÜ SALIMININ İNCELENMESİ” adlı tez çalışması 21/11/2019 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Ondokuz Mayıs Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı’nda **Doktora Tezi** olarak kabul edilmiştir.

Danışman Prof. Dr. Nihat TINKILIÇ
Kimya Anabilim Dalı

Jüri Üyeleri

Başkan Prof. Dr.
..... Üniversitesi
..... Anabilim Dalı

Üye Prof. Dr.
..... Üniversitesi
..... Anabilim Dalı

Üye Prof. Dr.
..... Üniversitesi
..... Anabilim Dalı

Üye Dr.
.. Üniversitesi
..... Anabilim Dalı

Üye Dr.
..... Üniversitesi
.... Anabilim Dalı

Yukarıdaki sonucu onaylarım. 21/11/2019

Prof. Dr. Bahtiyar ÖZTÜRK
Enstitü Müdürü

ETİK BEYAN

Ondokuz Mayıs Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü tez yazım kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez içindeki bütün bilgilerin doğru ve tam olduğunu, bilgilerin üretilmesi aşamasında bilimsel etiğe uygun davrandığımı, yararlandığım bütün kaynakları atıf yaparak belirttiğimi beyan ederim.

21/11/2019

Nihal ERMİŞ

ÖZET

Doktora Tezi

MOLEKÜLER BASKILANMIŞ SENSÖRLE DOPAMİN TAYİNİ ve HİDROJEL KULLANILARAK DOPAMİNİN KONTROLLÜ SALIMININ İNCELENMESİ

Nihal ERMİŞ

Ondokuz Mayıs Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Kimya Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Nihat TINKILIÇ

Bu çalışmada dopamin tayini için moleküler baskılanmış elektrokimyasal sensör geliştirilmiş ve hidrojel sentezlenerek dopaminin kontrollü salımı incelenmiştir. Moleküler baskılanmış dopamin sensörü (MIP-DA), dopamin varlığında p-aminotiyofenolün (p-ATP) altın elektrot yüzeyinde dönüşümlü voltametri yöntemi ile polimerize edilmesiyle hazırlanmıştır. Aynı şartlar altında, dopamin olmadan polimerizasyon gerçekleştirilerek baskılanmamış sensör (NIP-DA) de elde edilmiş ve baskılama prosedürünün geçerliliğini kontrol etmek için kullanılmıştır. Moleküler baskılanmış ve baskılanmamış sensörlerin karakterizasyonu elektrokimyasal impedans spektroskopisi (EIS) ve dönüşümlü voltametri (CV) teknikleri ile yapılmıştır. Dopamin baskılanmış sensörün seçiciliğini göstermek için yapısı dopamine benzeyen yarışmacı analitlerle de analiz yapıp, sensörün dopamin için seçiciliğe sahip olduğu tespit edilmiştir. Kare dalga voltametrisi ile geliştirilen elektrokimyasal sensörün 50-200 nM dopamin aralığında doğrusal değiştiği bulunmuş ve algılama sınırı (LOD) 18.11 nM olarak bulunmuştur. Elde edilen sonuçlara göre geliştirilen baskılanmış sensör, farmasötik preparattan dopamin tayinine başarılı bir şekilde uygulanmıştır.

Kasım 2019, 80 sayfa

Anahtar Kelimeler: Elektrokimyasal sensör, Altın elektrot, Kare dalga voltametrisi, Moleküler baskılama, Hidrojel, Dopamin

ABSTRACT

Doctoral Dissertation

DEVELOPMENT OF MOLECULARLY IMPRINTED SENSOR FOR DETERMINATION OF DOPAMINE and INVESTIGATION OF CONTROLLED RELEASE OF DOPAMINE USING HYDROGEL

Nihal ERMİŞ

Ondokuz Mayıs University
Graduate School of Sciences
Department of Chemistry

Supervisor: Prof. Dr. Nihat TINKİLİÇ

In this study, a molecularly imprinted electrochemical sensor was developed for determination of dopamine and controlled release of dopamine was investigated using a synthesized hydrogel. The molecularly imprinted dopamine sensor (MIP-DA) was obtained via polymerization of p-aminothiophenol (p-ATP) in presence of dopamine on a gold electrode. Polymerization was also performed under same conditions in the absence of dopamine in order to get non-imprinted sensor (NIP-DA) to check the effectiveness of the imprinting procedure. The characterization of the molecularly imprinted and non-imprinted sensors was made via electrochemical impedance spectroscopy (EIS) and cyclic voltammetry (CV) techniques. In order to show the effectiveness of the dopamine imprinted electrochemical sensor, competitive detection between dopamine and dopamine like analoge molecules was evaluated. The results showed that the imprinted sensor has selectivity for dopamine. Using square wave voltammetry it was found that the imprinted sensor has a linear range between 50-200 nM of dopamine concentration and a limit of detection (LOD) of 18.11 nM. According to the results, it can be said that the developed MIP-DA sensor was applied successfully for the determination of dopamine in pharmaceutical samples.

November 2019, 80 pages

Key words: Electrochemical sensor, Gold electrode, Square wave voltammetry, Molecular imprinting, Hydrogel, Dopamine

ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR

Tez çalışmamın gerçekleşmesi için imkân verip, desteğini esirgemeyen değerli hocam sayın Prof. Dr. Nihat TINKILIÇ’a,

Tez izleme sürecinde değerli görüşlerini benimle paylaşan saygıdeğer hocalarım Prof. Dr. Tevfik ÖZEN ve Prof. Dr. Deniz EKİNCİ’ ye,

Bu tez çalışmasını, PYO. FEN 1904.15.019. nolu Bilimsel Araştırma Projesi ile destekleyen Ondokuz Mayıs Üniversitesi’ne,

Bu süreçte birlikte çalıştığımız Ondokuz Mayıs Üniversitesi Kimya Bölümü’nde ki asistan arkadaşlarıma; aynı yolda yürüdüğüm ve bana hep destek olan sevgili arkadaşlarıma,

Yine bu süreçte prosedürle ilgili her türlü durumda rahatça görüşebildiğim ve her zaman güler yüzle bana yardımcı olan başta Berrin YILMAZ SÖZEN ve Ahmet YARAN olmak üzere tüm Fen Bilimleri Enstitü çalışanlarına,

Hayatım boyunca sevgileri ve bana olan inançlarıyla tüm zorlu süreçlerde yanımda olan tüm aileme,

Kendisi ne kadar yoğun olursa olsun ihtiyacım olduğu her anda her şeyini bırakıp benimle ilgilenen, beni anlayıp her koşulda destek olan, benimle her daim yüreğinden konuşan can yarım, canım ablama,

Hayatın getirdiklerini tek başına göğüsleyen; sonsuz sevgisi ve sabrıyla beni olduğum kişi yapan, hayattaki vizyonumu borçlu olduğum idolüm ve süper kahramanım anneme,

Sonsuz teşekkürler...

Kasım 2019, Samsun

Nihal Ermiş

İÇİNDEKİLER DİZİNİ

ÖZET.....	i
ABSTRACT	ii
ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR	iii
SİMGELER ve KISALTMALAR	vii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	viii
ÇİZELGELER DİZİNİ	xi
1. GİRİŞ	1
1.1.Tezin Amacı ve Önemi.....	2
2. GENEL BİLGİLER	4
2.1. Nöronlar ve Uyarının İletimi	4
2.2. Nörotransmitterler	5
2.2.1. Dopamin.....	7
2.3. Moleküler Baskılama Tekniği	8
2.4. Elektrokimyasal Sensörler.....	10
2.4.1. Voltametri	12
2.4.1.1. dönüşümlü voltametri (CV)	13
2.4.1.2. kare dalga voltametrisi (SWV)	18
2.5. Elektrokimyasal İmpedans Spektroskopisi (EIS).....	20
2.6. Hidrojeller ve Kontrollü Salım.....	24
3. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR.....	27
3.1. Dopamin Tayini İçin Geliştirilen Elektrokimyasal Sensör Sistemleri	27
3.2. Kontrollü Salım Çalışmaları İçin Geliştirilen Bazı Hidrojeller.....	30
4. MATERYAL VE YÖNTEMLER.....	32
4.1. Kullanılan Kimyasallar.....	32
4.2. Kullanılan Cihazlar.....	32
4.3. Elektrokimyasal Sensörlerin Sentezi	32
4.3.1. Altın Elektrotların Yüzeylerinin Temizlenmesi	32
4.3.2. Altın Elektrotlar Yüzeyinde Dopamin Baskılanmış (DA-MIP) ve Baskılanmamış (DA-NIP) Polimerlerin Sentezi.....	32
4.3.3. Dopamin Baskılanmış Polimerik Yüzeyden Hedef Molekülün Uzaklaştırılması	33

4.3.4. Elektrokimyasal Sensörle Kinetik Analizler.....	33
4.4. Geliştirilen Sensörlerin Baskılama Seçiciliğinin Belirlenmesi	34
4.5. Dopamin Baskılanmış Sensörün Karakterizasyonu	35
4.5.1. Dönüşümlü voltametri (CV) analizi	35
4.5.2. Elektrokimyasal impedans spektroskopisi (EIS) analizi	35
4.6. Elektrokimyasal Sentezin Optimizasyonu.....	35
4.7. Geliştirilen Sensör Kullanılarak Farmasötik Preparattan Dopamin Tayini.....	35
4.8. Dopaminin UV Spektrofotometrisi ile Tayini.....	35
4.9. Hidrojel Sentezi	36
4.10. Hidrojelin Karakterizasyonu	37
4.10.1. FTIR-ATR spektrofotometre analizi	37
4.10.2. TGA analizi.....	37
4.10.3. SEM görüntüleme.....	36
4.10.4. Şişme testi	37
4.11. Dopamin Yükleme Çalışması.....	38
4.12. Dopamin Salımının İncelenmesi	38
5. BULGULAR VE TARTIŞMA	39
5.1. Baskılanmış Polimer Sentezi İçin Optimum Şartların Elde Edilmesi	39
5.1.1. Optimum pH' nın belirlenmesi	39
5.1.2. Optimum kalıp molekül - fonksiyonel monomer oranının belirlenmesi	41
5.1.3. Tarama hızının etkisi	42
5.1.4. Optimum inkübasyon zamanının belirlenmesi	45
5.2. Dopamin Baskılanmış (DA-MIP) ve Baskılanmamış (DA-NIP) Sensörlerin Sentezi	45
5.3. Sensörlerin Karakterizasyonu.....	46
5.3.1. Dönüşümlü voltametri (CV) analizi	46
5.3.2. Elektrokimyasal impedans spektroskopisi (EIS) analizi	48
5.4. Kare Dalga Voltametrisi ile Analitik Eğrinin Oluşturulması ve Özelliklerinin Belirlenmesi.....	50
5.5. Geliştirilen Elektrokimyasal Sensörün Baskılama Seçiciliğinin Belirlenmesi	51
5.6. Baskılanmış Sensörün Tekrar Edilebilirlik, Tekrar Üretilebilirlik ve Stabilitate Çalışmaları.....	55

5.7. Geliştirilen Elektrokimyasal Sensörle Dopaminin Farmasötik Preparattan Analizi	56
5.8. UV Spektroskopisi ile Analitik Eğrinin Oluşturulması ve Özelliklerinin Belirlenmesi.....	57
5.9. Dopaminin Farmasötik Preparattan UV Spektrofotometrisi ile Analizi	59
5.10. Geliştirilen Elektrokimyasal Sensör ve UV-Spektrofotometre Sonuçlarının Karşılaştırılması.....	60
5.11. Hidrojel Sentezi	61
5.12. Hidrojelin Karakterizasyonu	62
5.12.1. FTIR-ATR spektrofotometre analizi	62
5.12.2. TGA analizi.....	63
5.12.3. SEM görüntüleme.....	63
5.12.4. Şişme testi.....	66
5.13. Tersinir Şişme Çalışmaları	67
5.14. Dopamin Yükleme Çalışması.....	68
5.15. Dopaminin Hidrojelden Salımının İncelenmesi	68
6. SONUÇ ve ÖNERİLER.....	70
KAYNAKLAR	72
ÖZGEÇMİŞ	80

SİMGELER VE KISALTMALAR

SİMGELER

APS	Amonyum Persülfat
Au	Altın
°C	Santigrat derece
r	Korelasyon Katsayısı
mL	Mili Litre
μM	Mikro Molar
nm	Nanometre
H ₂ SO ₄	Sülfürik Asit

KISALTMALAR

APS	Amonyum Persülfat
BSS	Bağıl Standart Sapma
CV	Döngüsel Voltametri
DA	Dopamin
EIS	Elektrokimyasal İmpedans Spektroskopisi
EGDMA	Etilen glikol dimetakrilat
FTIR	Fourier Dönüşümlü Kızıl Ötesi
HEMA	Hidroksietil metakrilat
L-DOPA	Levodopa
LOD	Algılama Sınırı
LOQ	Alt tayin Sınırı
MIP	Moleküler Baskılanmış Polimer
NIP	Moleküler Baskılanmamış Polimer
nM	Nanomolar
pATP	para-aminotiyofenol
pHEMA	poli- hidroksietilmetakrilat
SEM	Taramalı Elektron Mikroskopi
SS	Standart Sapma
SWV	Kare Dalga Voltametrisi
TEMED	N, N, N', N'-Tetrametiletildiamin
UV	Mor Ötesi

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1. Bir nörotransmitterin (dopamin) nörondan salgılanması	5
Şekil 2.2. Dopaminin molekül yapısı	7
Şekil 2.3. Polimerizasyon basamakları	9
Şekil 2.4. Bir sensörün bileşenleri	10
Şekil 2.5. Doğrusal taramalı (solda) ve dönüşümlü voltametri tekniklerinde (sağda) potansiyel taramasının zamanla değişimi	13
Şekil 2.6. Tersinir bir reaksiyona ait CV voltamogramı	15
Şekil 2.7. Dönüşümlü voltametri ile E_{p_k} ve E_{p_a} nin tersinmez bir elektrot reaksiyonunda farklı tarama hızlarında birbirinden uzaklaşması	17
Şekil 2.8. Dönüşümlü voltametrde pik akımının tarama hızının karekökü ile değişimi	18
Şekil 2.9. Kare dalga voltametrise için potansiyel-zaman dalga şekli ve akım ölçümü...	19
Şekil 2.10. Kare dalga voltametrisinde tersinir bir reaksiyon için uyarma sinyaline akım cevabı	20
Şekil 2.11. İmpedans'ın potansiyel (zaman) ve akım (zaman) büyüklüklerine bağımlı matematiksel gösterimi	22
Şekil 2.12. Nyquist (a) ve Bode (b) Diyagramları	23
Şekil 2.13. Bir elektrolitle kontakt halindeki elektroda ilişkin Randles eşdeğer devre modeli	24
Şekil 4.1. Altın elektrot yüzeyinde DA baskılanmış polimer sentezi ve kalıp molekülün elüsyonu.....	33
Şekil 4.2. Seçicilik çalışmalarında kullanılan moleküller (pH 7.4 fosfat tampon ortamında, 10 mM konsantrasyonda)	34
Şekil 4.3. Hidrojellerin şişmiş ve kuru halleri	36
Şekil 5.1. Ortam pH' sının polimerizasyon pik akımına etkisi	39
Şekil 5.2. Farklı pH' larda pik potansiyelinin değişimi	40
Şekil 5.3. Dopaminin olası yükseltgenme mekanizması.....	41
Şekil 5.4. Farklı monomer miktarlarının baskılama prosedürüne etkisi	42

Şekil 5.5. 10 mM dopaminin DA-MIP/Au elektrot yüzeyinde (pH 7.0 fosfat tampon ortamında) farklı tarama hızlarında döngüsel voltamogramları	43
Şekil 5.6. Pik akımının tarama hızının kareköküyle değişimi	44
Şekil 5.7. Pik akımının inkübasyon zamanı ile değişimi	45
Şekil 5.8. p-ATP (60 mM) altın elektrot üzerinde dopamin varlığında (15 mM) elektropolimerizasyonu (tarama hızı, 100 mVs ⁻¹ ; tarama numarası, 20)	46
Şekil 5.9. Farklı durumlar altında MIP modifiye elektrota ait dönüşümlü voltamogramları.....	47
Şekil 5.10. Farklı durumlar altında NIP (1) ve MIP (2) modifiye elektrotlara ait dönüşümlü voltamogramlar: 2.a) yalın elektrot; b) dopamin uzaklaştırıldıktan sonra MIP elektrot c) MIP elektrot; d) dopamin ile tekrar etkileştirildikten sonra MIP elektrot	48
Şekil 5.11. Farklı durumlar altında MIP modifiye elektrota ait AC impedans eğrileri: a) yalın elektrot; b) MIP elektrot; c) dopamin uzaklaştırıldıktan sonra MIP elektrot; d) dopamin ile tekrar etkileştirildikten sonra MIP elektrot.	49
Şekil 5.12. Dopaminin moleküler baskılanmış sensör kullanılarak alınan kare dalga voltamogramları	50
Şekil 5.13. Dopaminin SWV yöntemi ile elde edilen kalibrasyon eğrisi (n = 6)	51
Şekil 5.14. Baskılanmış sensörün farklı moleküllerle çekilmiş kare dalga voltamogramları	52
Şekil 5.15. Baskılanmış ve baskılanmamış sensörlerle elde edilen pik akımlarıyla oluşturulmuş histogramlar.....	53
Şekil 5.16. Farmasötik preparattan elde edilen dopamin çözeltilerinin kare dalga voltamogramları ((a) 50, (b) 100, (c)150, (d) 200 nM)	57
Şekil 5.17. pH 7.4 fosfat tamponla hazırlanmış dopamin çözeltisinin UV spektrumu	58
Şekil 5.18. Farklı konsantrasyonlarda dopamin çözeltileriyle elde edilen UV-kalibrasyon eğrisi	59
Şekil 5.19. HEMA'nın EGDMA varlığında polimerizasyonu.....	62
Şekil 5.20. Sentezlenmiş pHEMA hidrojenlerin FTIR spektrumları.....	63
Şekil 5.21. Sentezlenen hidrojel numunelerinin TGA analiz sonuçları	64

Şekil 5.22. Sentezlenen hidrojellerin zamana karşı şişme profilleri	66
Şekil 5.23. pHEMA hidrojellerin farklı ölçeklerde SEM görüntüleri.....	67
Şekil 5.24. Farklı çapraz bağlayıcı içeren hidrojellerle dopamin salım profili	69



ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.1. İmpedans devre elemanları	23
Çizelge 3.1. Geliştirilmiş bazı elektrokimyasal sensör sistemleri.....	29
Çizelge 3.2. Geliştirilmiş bazı kontrollü salım sistemleri	31
Çizelge 4.1. Sentezlenen hidrojellerin içerikleri	36
Çizelge 5.1. SWV yöntemine ait kalibrasyon eğrisinin özellikleri (n=6)	51
Çizelge 5.2. Sentezlenmiş MIP ve NIP sensörlerin seçicilik analizi sonuçları.....	54
Çizelge 5.3. MIP/DA sensörün kare dalga voltametrisi ile tespit edilen tekrar edilebilirlik değerleri (n=6)	55
Çizelge 5.4. Üretilen MIP/DA sensörlerin kare dalga voltametrisi ile tespit edilen tekrar üretilebilirlik değerleri (n=6)	55
Çizelge 5.5. MIP/DA sensörün absorpsiyon/desorpsiyon sonrası dopamin çözeltilisine verdiği yanıt (n=6)	56
Çizelge 5.6. Kare dalga voltametrisi ile belirlenen farmasötik preparatın geri kazanım değerleri	57
Çizelge 5.7. UV-Kalibrasyon Eğrisinin Özellikleri	59
Çizelge 5.8. Farklı konsantrasyonlardaki dopamin numunelerinin UV ile tayin sonuçları	60
Çizelge 5.9. Geliştirilen sensörle elde edilen SWV sonuçlarının, UV-spektroskopi yöntemi ile karşılaştırılması	61
Çizelge 5.10. Sentezlenen hidrojel numunelerinin TGA analiz sonuçları	65
Çizelge 5.11. Tersinir şişme çalışması sonuçları	67

1. GİRİŞ

Nörotransmitterler, presinaptik membrandan sinaps aralığına salıverilen, postsinaptik membranda bir reseptöre bağlanıp burada aksiyon potansiyeli oluşturarak hücreler arası iletişimi sağlayan moleküllerdir. Monoamin sınıfında yer alan dopamin (DA), çok geniş bir listeyi kapsayan nörotransmitterlerin en önemlileri arasındadır. Dopamin, kardiyovasküler, hormonal, renal ve merkezi sinir sistemi için önemli rol oynar. Dikkat, problem çözme ve hafıza için önemlidir. Ayrıca dopamin, bireyin yemek ya da başka bir uyarıcı ile ödüllendirilmesi durumunda da salgılandığı için ‘ödül kimyasalı’ olarak da adlandırılır. Anormal dopamin seviyesi, uyku ve yeme bozuklukları, bağımlılık gelişmesi, şizofreni, dikkat eksikliği, hiperaktivite, sosyal anksiyete ile ilişkilendirilir. Yapılan çalışmalar sonucu dopamin eksikliğinin Parkinson ile bağlantısı olduğu tespit edilmiştir (Moona vd, 2018). Genel olarak biyolojik numunelerde nörotransmitterlerin derişimi 10^{-7} - 10^{-3} M aralığında değişmektedir. Örneğin, sağlıklı bireylerde dopamin 0.01- 1 μ M; serotonin ise 5-20 nM aralığında bulunur (Hong vd, 2013; Wu vd, 2013; Peeters vd, 2012).

Sensörler, analiti içeren bir örnek ortamında analitin doğrudan tespiti için kullanılan detektörlerdir. İlk kısım analit ile seçimli etkileşime girecek biyolojik duyargaç (reseptör), ikinci kısım ise bu etkileşimi anlamlı sinyale çevirecek dönüştürücüdür. Reseptör olarak moleküler baskılanmış polimerlerden faydalanılmaktadır. Bu polimerler bir kalıp molekül varlığında, monomerin çapraz bağlayıcı sayesinde polimerizasyonu ile hazırlanırlar ve sahip oldukları bazı avantajlar nedeniyle sıkça kullanılmaktadırlar. Bu avantajların başında bu polimerlerin belirli bir analite karşı sahip oldukları yüksek seçicilik ve özgünlük gelmektedir. Bunların yanı sıra bu polimerler performanslarında önemli bir değişiklik olmaksızın uzun süre saklanabilirler. Ayrıca pH, sıcaklık gibi çevre koşullarında oldukça dayanıklıdırlar. Tüm bu nedenlerden dolayı bu polimerler özellikle günümüzde en çok kullanılan sensörlerden biri haline gelen elektrokimyasal sensörlerde reseptör olarak kullanılmaktadırlar. Bu vasıta ile elektrokimyasal sensörler analit ve elektrot yüzeyindeki reseptörün etkileşimini kullanılabilir analitik sinyallere dönüştürmektedirler.

1.1. Tezin Amacı ve Önemi

Bu tezin amacı, ilk aşamada sağlık açısından önemli yer teşkil eden dopaminin seçimli, doğru, pratik ve ekonomik tayinine yönelik moleküler baskılanmış polimer temelli elektrokimyasal sensör geliştirilmesidir. İkinci aşamada ise hidrojel kullanılarak dopaminin kontrollü salımının incelenmesidir.

Dopamin, giriş bölümünde bahsedilen nedenlerden dolayı, sağlık açısından önem teşkil etmektedir. Bu nedenle tayini de son derece mühimdir. Literatürde dopamin tayini için kullanılmış farklı elektroanalitik yöntemler bulunmaktadır. Bu yöntemlerden çok azında moleküler baskılanmış polimerden faydalanılmıştır. Bunlarda da çoğunlukla birkaç ara basamakta gerçekleştirilen reaksiyonlarla polimer hazırlanmıştır. Bu çalışmada da dopaminin seçimli ve yüksek hassasiyetle tayini için daha pratik bir şekilde moleküler baskılama tekniğinden faydalanılmıştır. Bu amaçla para-aminotiyofenol (p-ATP), dopamin varlığında altın elektrot yüzeyinde elektropolimerizasyon ile polimerize edilerek tek basamakta dopamin baskılanmış sensör hazırlandı. Daha sonra dopamin ve polimer tabaka arasındaki bağ uygun elüsyon ajanı ile kırılarak, nörotransmitter madde ortamdan uzaklaştırılarak, molekül yapısına uygun kavimler oluşturuldu ve tayin edilecek kalıp molekülü içeren farklı derişimlerdeki çözeltilerle sensörün analitik özellikleri belirlendi. Bu yöntemle daha hassas, seçiciliği daha yüksek sensör elde edildi. Geliştirilmiş sensörün analitik özelliklerinin belirlenmesi, optimizasyonu ve mevcut standart yöntemlerle kıyaslanmak sureti ile performansının ortaya konulması tez çalışmasının amaçları arasındadır.

Kontrollü ilaç salımı ilaç ile yüklü bir polimerin kimyasal bir uyarıya cevap olarak ilacın serbest bırakıldığı sistemlerdir. Genel olarak kontrollü salım dozaj formları ilacın kanda, dokularda ya da hedef organda ilacın nispeten sabit konsantrasyonda kalmasını sağlar. Bu sistemde önce yüklenen doz salınır ardından belli bir süre ilacın sabit bir dozda salımı devam eder (Patel ve Patel, 2016). Dopamin konsantrasyonunun belli bir seviyede kalması sağlık açısından son derece önemlidir. Örneğin dopamin derişiminin az olması ile Parkinson hastalığı arasında anlamlı bir ilişki tespit edilmiştir. Bu nedenle bu çalışmada in vitro olarak dopaminin kontrollü salım özellikleri hidrojel kullanılarak incelendi. Bu bağlamda poli-hidroksietilmetakrilat (pHEMA) hidrojel

kullanıldı. Sentezlenen hidrojeller TGA, FTIR ile karakterize edildi. SEM ile yüzey görüntüleri alındı ve şişme testi yapıldı. Fizyolojik pH'da dopamin çözeltisi içerisinde dopamin hidrojele yüklendi. Daha sonra dopamin yüklü hidrojeller fizyolojik pH'da tampon çözeltisi içerisine alındı. Belli zaman aralıklarında çözeltiden nümüneler alınarak UV-spektrofotometri yardımıyla alınan nümüneler analiz edilerek, 72 saat boyunca salım profili incelenmiştir.



2. GENEL BİLGİLER

2.1. Nöronlar ve Uyarının İletimi

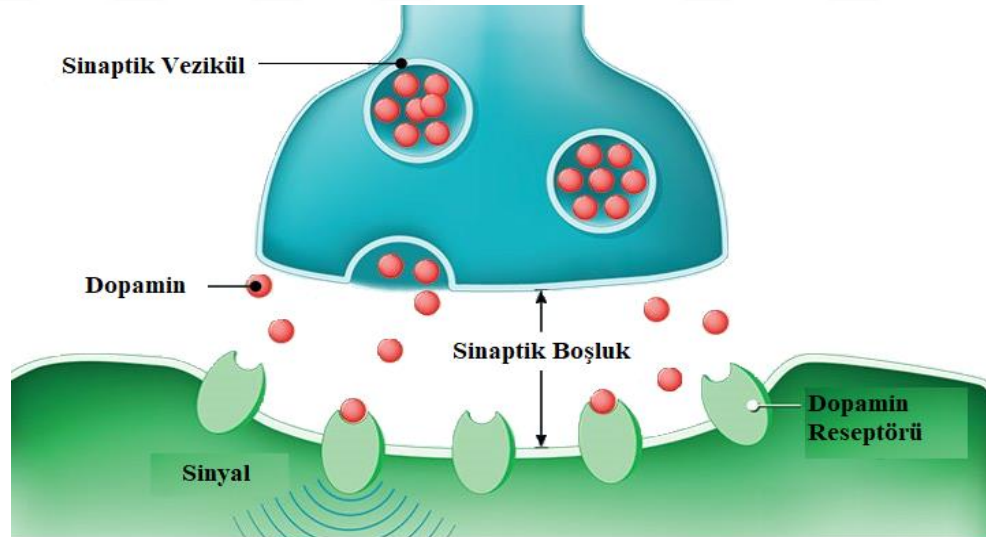
Nöronlar, sinir sisteminin yapı taşları olan sinir hücreleridir. Uyarıları alır, bilgiyi işler ve çıktı üretirler. Farklı görevlere sahip dört bölümden oluşurlar. Mesaj almayla daha çok ilintili yapıya dendrit, bilgiyi işlemeye alakalı olan kısma ise hücre gövdesi (soma) adı verilir. Çıktı üretmeye alakalı olan, hücrenin son kısmını oluşturan yapıya ise akson adı verilir. Hücrenin son kısmı yani akson bitimi kimyasal ileticileri içerir.

Hücre gövdesi, çekirdeği içerir ve nöronal proteinlerin ve membranların sentezlendiği yerdir (Ayano, 2016). Bazı proteinler dendritte sentezlenirler fakat hiçbir protein, ribozom içermeyen akson ya da akson terminallerinde sentezlenmez. Proteinler ve membranlar akson ve sinir terminallerinin yenilenmesi için somada sentezlenirler ve membranlı veziküllerde ya da multiprotein partikülleri olarak toplanırlar. Bu materyaller akson ucuna aktarılırlar ve plazma membrana ya da başka organellere eklenirler. Nerdeyse tüm nöronlar, uzunluğu 1 μm ile 1 mm (dev mürekkep balıklarında bu uzunluğa rastlanır) arasında değişebilen, tek aksone sahiptirler. Aksonlar elektriksel iletimin sağlanmasıyla özelleşmiş kısımlardır. Bu elektriksel iletim, somadan akson ucuna doğru bir ‘aksiyon potansiyeli’nin oluşmasına neden olur. Bir aksiyon potansiyeli plazma membranı boyunca elektriksel potansiyelde ya da voltajda meydana gelen ani değişimlere denir. Bir nöron dinlenme aşamasında (yani uyarılmamışken) iken, aksonal membran boyunca elektrik potansiyeli yaklaşık -60 mV’ tur (iç kısım dış kısma göre negatif) ve bu değer nöronal olmayan birçok hücrenin membran potansiyeline benzemektedir. Aksiyon potansiyeli pikiinde, membran potansiyeli +50 mV (membranın iç yüzeyi pozitif) kadar olabilir. Membranın bu depolarizasyonunu hızlı bir repolarizasyon takip eder ve membran dinlenme değerine geri döner. Plazma membranı boyunca bu potansiyel karakteristiği aksiyon potansiyelinin diğer değişim türlerinden ayırtedilmesini sağlar ve aksiyon potansiyelinin akson boyunca azalmadan ilerlemesine izin verir (Lodish vd, 2000).

2.2. Nörotransmitterler

Nörotransmitterler, presinaptik membrandan sinaps aralığına salıverilen, postsinaptik membranda bir reseptöre bağlanarak burada aksiyon potansiyeli oluşturan ve böylece hücreler arası iletişimi sağlayan moleküllerdir. Klasik nörotransmitterler, nöropeptidler, endokanabinoidler, nitrik oksit (NO) ve karbon monoksit (CO) olmak üzere birçok nörotransmitter grubu mevcuttur. Ayrıca nörotransmitterler kimyasal özelliklerine göre şu gruplara ayrılabilirler;

- Amino asitler (glutamat, glisin, serin ve gama aminobütirik asit (GABA))
- Peptitler (enkefalin, endorfin)
- Pürinler (adenozin trifosfat)
- Monoaminler ya da biyogenik aminler (asetilkolin, epinefrin, norepinefrin, dopamin ve serotonin)



Şekil 2.1. Bir nörotransmitterin (dopamin) nörondan salgılanması

Birçok özellikleri açısından büyük farklılıklar gösterebilirler de, nörotransmitterlerin birçoğu sinir hücrelerinin bitimindeki veziküllerde depolanırlar (endokanabinoidler, NO ve CO hariç) ve kalsiyuma ihtiyaç duyan bir süreç vasıtasıyla ekstraselüler bölgeye

bırakılırlar ve bir sonraki sinir hücresindeki reseptörle etkileşerek işlevlerini yerine getirirler (Şekil 2.1) (Opladen vd, 2016).

Bir birim gibi çalışan atom gruplarının ya da moleküllerin nörotransmitter olarak nitelendirilebilmesi için şu üç özelliğe sahip olmaları gerekir:

- 1) Molekül beyinde bulunmalıdır ya da nöronda sentezlenmiş olmalı ve düzensiz dağıtılmalıdır. Diğer bir deyişle, molekül farklı işlev türlerine sahip nöronların farklı bölgelerinde ve beyin farklı bölgelerinde yayılmalıdır.
- 2) Nörotransmitterin sentezinde görev alacak enzimler beyinde olmak zorundadır. Dahası bu enzimler nörotransmitterin olduğu yerde bulunmalıdır.
- 3) Taklit ve salgılanma özellikleri olmalıdır. Yani kimyasal, deneysel olarak hedefe yerleştirildiğinde bile aynı tepkiyi oluşturabilmelidir ve kimyasalın işi bittikten sonra etkisini sonlandıran bir mekanizma bulunmalıdır.

Genel olarak incelendiğinde nörotransmitterler şu ortak özelliklere sahiptir:

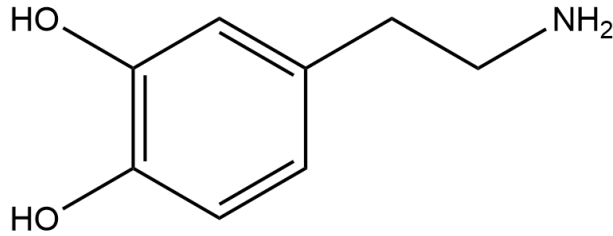
- Salgılanacakları yerde sentezlenir ya da depolanırlar. Nörotransmitter olarak etki eden nöroaktif peptitler ise hücre gövdesindeki granüllü endoplazmik retikulumda sentezlenip, biriktirildikleri veziküllerde akson boyunca taşınırlar.
- Presinaptik uyarı ile salgılanırlar ve bu uyarı iletilindiğinde sinapsın ilişkide olduğu ekstrasellüler sıvıda bulunurlar.
- Nörotransmitterlerin etkilerini engelleyen spesifik antagonistleri vardır. Bu antagonistler genellikle farmakolojik bileşiklerdir ve nörotransmitterle alıcı arasındaki iletimi engelleyerek uyarıya verilen yanıtı engellerler.
- Etkilerini sonlandıran bir mekanizma bulunur. Nörotransmitterlerin etkisi presinaptik terminalden ya da glia hücrelerinden geri alımla ya da ekstrasellüler bölgede (sinaptik boşlukta) ya da presinaptik terminalde katabolizmayla sonlanır.

Bir nörotransmitter trans-membran iyon akışını, temas ettiği hücrenin oluşturacağı aksiyon potansiyelini arttırarak (uyarıcı, stimülatör) ya da azaltarak (inhibe edici, inhibitör) etkiler. Bu nedenle, birçok farklı sinaps olmasına rağmen, hepsi sadece bu iki türe ait mesajları aktarır ve öyle etiketlenirler. Membran depolarizasyonuna neden olan nörotransmitterler uyarıcı, hiperpolarizasyon başlatan nörotransmitterler ise inhibitör etkilidirler. Uyarıcı nörotransmitterler beyni uyarırlar; beyni sakinleştiren ve dengeyi

sağlayan nörotransmitterler inhibe edici nörotransmitterlerdir. İnhibe edici nörotransmitterler denge modunu sağlarlar ve uyarıcı nörotransmitter aktivitesi fazla olduğunda kolayca tükenirler (Ayano G, 2016). Nörotransmitterlerden asetilkolin, noradrenalin, serotonin, histamin, glutamat ve aspartat stimülatör nörotransmitterlerdir. Dopamin, GABA ve glisin ise inhibitör nörotransmitterlerdir (Fisar vd, 2012).

2.2.1. Dopamin

Dopamin (DA), 1950’lerde Arvid Carlsson tarafından bulunmuş inhibitör etkili bir nörotransmitterdir (Carlsson vd, 1957). Yapısında bir katekol halkası ve buna bağlı amin yan zinciri içeren katekolamin sınıfında bir bileşiktir (Şekil 2.2). Katekolamin, monoaminler sınıfında yer alır ve monoaminler küçük, suda çözünebilen, amino asitlerin dekarboksilasyona uğramış türevleridir. Monoaminler yüksek konsantrasyonlarda salgılayıcı granüllerde depolanırlar. Bu granüller, yapıları metabolik enzimlerin parçalamasından korurlar ve salınımlarının kontrollü yapılmasını sağlarlar. Diğer nörotransmitterler gibi monoaminler çok hızlı tepki gösterirler (Jonathan, 2005). Dopamin; tirozinin, tirozin hidroksilaz enzimi varlığında hidroksilasyonu ve tirozinin dekarboksilasyonu sonucu oluşur. Öncelikle merkezi sinir sisteminde (MSS) sentezlenir, fakat sınırlı bir miktarda üretim adrenal medullada da söz konusudur.



Şekil 2.2. Dopaminin molekül yapısı

Dopamin ayrıca çok az da olsa pankreas gibi nöronal olmayan dokuda ve ön hipofiz bezinde de bulunur (Jonathan, 1985). Bir monoamin olan dopaminin aktivitesi iki şekilde sonlandırılır. İlki inaktif bileşiklere dönüştürülmesidir; ikincisi ise üretildiği hücreye tekrar alımıdır (Jonathan, 2005). Dopamin, kardiyovasküler, hormonal, renal ve merkezi sinir sistemi için önemli rol oynar. Frontal lobda, beynin diğer bölümlerinden

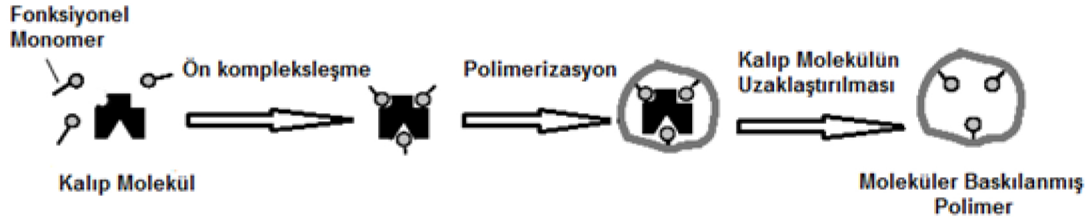
gelen bilgi akışını kontrol eder. Bu durum dikkat, problem çözme ve hafıza için önemlidir. Ayrıca dopamin, bireyin yemek ya da başka bir uyarıcı ile ödüllendirilmesi durumunda da salgılandığı için ‘ödül kimyasalı’ olarak da adlandırılır. Anormal dopamin seviyesi, uyku ve yeme bozuklukları, bağımlılık gelişmesi, şizofreni, dikkat eksikliği, hiperaktivite, sosyal anksiyete ile ilişkilendirilir. Yapılan çalışmalar sonucu dopamin eksikliğinin Parkinson ile bağlantısı olduğu tespit edilmiştir (Moona vd, 2018). Ayrıca dopaminerjik nöronların şizofreni ve psikozlarda etkili olduğu bilinmektedir. Bu dopaminerjik nöronlar nörotoksinlerden, psiko-uyarıcılardan ve yanlış ilaç kullanımından etkilenmektedir. Nöroendokrinel sistemde, hipotalamik dopaminin ya da ona ait hipofiz reseptörlerinin düzgün işlev yapmaması hiperprolaktinemi ve buna bağlı rahatsızlıklara da neden olmaktadır (Nagatsu, 1998).

2.3. Moleküler Baskılama Tekniği

Moleküler baskılama, içerisinde belli bir analite özgü seçici bölgeler olan sentetik polimerler oluşturma tekniğidir. Seçici bölgelere sahip bu polimerler, fonksiyonel monomerlerin analit molekül varlığında polimerize edilmesiyle oluşturulurlar. Yani bu teknik ile belirli bir hedef moleküle (analite) seçici ve özgül olan sentetik reseptörler sentezlenir (Mosbach, 1994; Vasapollo vd, 2011). Aynı zamanda bu teknik canlı yapıların sahip oldukları yapısal ayırım yapma yeteneğini polimerik yapılara aktarma yöntemi olarak da düşünülebilir. Bu nedenle moleküler baskılanmış polimerler analiti tanıma ve bağlanma özelliğine sahip yapay reseptörler olarak değerlendirilebilirler. Genel olarak moleküler baskılama, kalıp molekül (analit) ve bir fonksiyonel monomerle kompleks oluşturma suretiyle polimerizasyon yapma işlemidir (Şekil 2.3) (Kaniewska ve Trojanowicz, 2009).

Polimerizasyon işlemi için gerekli olan kalıp molekül (analit), fonksiyonel monomer, çapraz bağlayıcı ve başlatıcıların uygun çözücünde çözünmesiyle polimerizasyon başlar ve bu işlem üç adımda gerçekleşir. İlk adımda fonksiyonel monomerle analit arasında ön kompleksleşme gerçekleşir. Moleküler tanımanın başarıyla gerçekleşmesi için kararlı bir analit-monomer kompleksi çok önemlidir. Bu nedenle fonksiyonel monomer kalıp molekülle etkileşecek şekilde seçilir. Bu adımda

analit etrafında fonksiyonel monomerin bağlandığı bir iskelet yapı oluşur. İkinci adımda çapraz bağlayıcı varlığında polimerizasyon gerçekleşerek kalıp molekül fonksiyonel monomer üzerinden polimerleştirilerek sabit hale getirilir. Elde edilen yapıyla kalıp molekülün üç boyutlu yapısına eşlenik, özgül boşluklar içeren polimer matriks oluşur. Son aşamada ise kalıp molekül polimerik yapıdan uzaklaştırılır. Kalıp molekülün uygun çözücü ile yıkanarak polimerden uzaklaştırılmasıyla, polimerik yapı içerisinde kalıp molekülü tamamlayan ve kalıp molekülün şeklini ve yapısını tanıyarak seçici ve etkin olarak kalıp molekülü bağlayabilen boşluklar oluşur (Vassapollo vd, 2011).



Şekil 2.3. Polimerizasyon basamakları (Fuchiwaki ve Kubo, 2010)

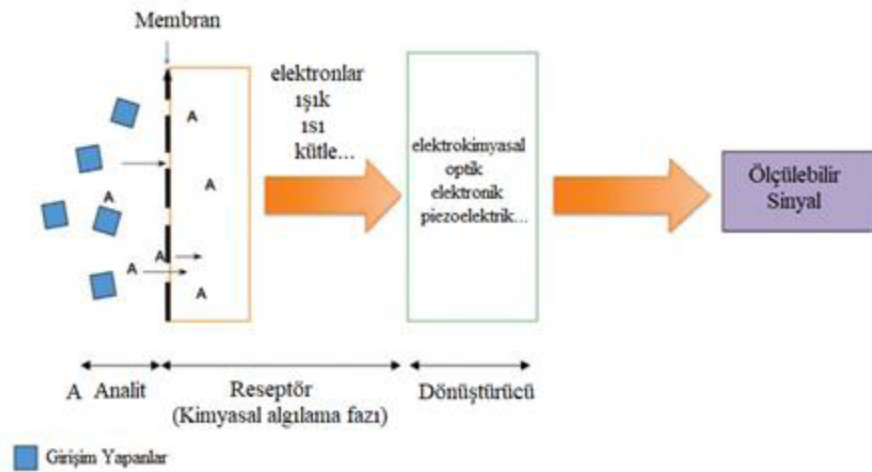
Sentezlenen bu yapay reseptörlerin, doğal sistemlerin tanıma özelliği ile karşılaştırılabilir derece tanıma özelliğine sahip olması nedeniyle moleküler baskılama son yıllarda önemli bir araştırma konusu haline gelmiştir. Kalıp molekül varlığında şekillenen özgül tanıma bölgeleriyle oluşturulan moleküler baskılanmış polimerler (MIP) hedef molekülü birçok bileşen içeren bir karışımdan ayırma özelliğine sahiptir (Ashyüce vd, 2012; Bilgen vd, 2013). Moleküler baskılanmış polimerlerin doğal kaynakla karşılaştırılabilir kadar hedef moleküle gösterdikleri yüksek afiniteleri ve seçicilikleri en önemli avantajlarıdır. Diğer önemli avantajları ise kolayca rejenere olmaları, çevresel faktörlere; yüksek sıcaklık, basınç, yüksek pH, organik çözücülere dayanıklı olmalarıdır (Bilgen vd, 2013; Kaniewska vd, 2009).

Moleküler baskılama teknolojisi ile birçok biyolojik ve kimyasal molekül analiz edilebilir. Bunların başında amino asitler (Scorrano vd, 2011; Sönmezler, 2011), proteinler (Bossi vd, 2007), ilaçlar (Yang vd, 2016) ve gıda (Ashley vd, 2018) gelmektedir. Küçük analitlere, bakterilere, virüslere, peptit ve proteinlere karşı sahip oldukları yüksek seçicilik sayesinde biyoayırma işlemlerinde yaygın kullanımı söz

konusudur. Ayrıca çalışmalar göstermiştir ki baskılanmış polimerler yüksek stereoseçiciliğe sahiptirler. Bu nedenle kiral ayırma işlemlerinde de kullanılmaktadırlar. Kolayca rejenere olabilmeleri ve analitin kantitatif tayini de yapılabildiğinden elektrokimyasal sensör olarak da kullanılmaktadırlar (Mosbach, 1994; Chen vd, 2012). Tüm bu nedenlerden dolayı moleküler baskılama teknolojisi ve bu teknoloji ile üretilen baskılanmış polimerler farmasötikten gıdaya kadar çok geniş bir sektör yelpazesinde tanıma ve ayırma amaçlı kullanılmasıyla gitgide daha cazip hale gelmektedir.

2.4. Elektrokimyasal Sensörler

Sensörler, analiti içeren bir örnek ortamında analitin doğrudan tespiti için kullanılan dedektörlerdir. Tipik bir kimyasal sensör, bir bileşimde bulunan spesifik bir analitin derişimine bağı olarak seçici ve dönüşümlü bir şekilde kimyasal bilgiyi analitik olarak kullanılabilen sinyale çeviren cihazdır (Power vd, 2013). Sensörün, analitle tersinir etkileşmesi, yapısını değıştirmemesi ve analitle etkileştiğinde sürekli yanıt verme özelliklerine sahip olması beklenir. Sensörler temelde iki kısımdan oluşurlar. Şekil 2.4’ te görüldüğü gibi ilk kısım analit ile seçimli etkileşime girecek biyolojik duyargaç (reseptör), ikinci kısım ise bu etkileşimi anlamlı sinyale çevirecek dönüştürücüdür (Coyle vd, 2014).



Şekil 2.4. Bir sensörün bileşenleri (Coyle vd, 2014)

Günümüzde en çok kullanılan sensörlerden biri haline gelen elektrokimyasal sensörler, analit ve elektrot yüzeyindeki reseptörün etkileşimini kullanılabilir analitik sinyallere dönüştüren araçlardır. Burada elde edilen sinyaller elektrokimyasal olarak ölçülebilir sinyallerdir. Bu sensörlerde bir etkileşim sürecinde, elektrokimyasal türler, bir elektrokimyasal dedektör tarafından ölçülebilen bir elektriksel sinyal oluşturarak, harcanır veya üretilir (Hulanicki vd, 1991; Erdem, 2010). Elektrokimyasal sensörler çok geniş uygulama alanlarına sahip olduklarından git gide daha fazla araştırmada kullanılmaktadırlar. Ayrıca birçok analiti hızlı, basit ve ekonomik bir şekilde tayin edebildikleri için daha çok tercih edilmektedirler (Holford vd, 2012; Perfezou vd, 2012). Mevcut algılama teknolojilerinin geliştirilmesinin yanı sıra nano ve biyolojik materyalleri içeren yenilikçi fonksiyonel sensör malzemelerinin geliştirilmesi (Lei vd, 2012; Silvester, 2011) ve sensörlerin minyatürleştirilmesiyle (Scampicchio vd, 2012; Ganjali vd, 2011) gelişmiş performansa sahip elektrokimyasal sensörler yapılmaktadır. Bu şekilde gitgide artan spesifikliği ile elektrokimyasal sensörler eşzamanlı ve çoklu analiz yapabilir hale gelmişlerdir. Her iki analiz durumunda sensörün karmaşık biyolojik numunelerle çalışma zorunluluğu araştırmacıları biyoyumluluk ve stabilite problemlerini çözmeye zorlamaktadır. Bununla beraber sensör geliştirirken analitik ve fiziksel özelliklerinin yanı sıra maliyeti, minyatürize edilebilmesi, hassasiyeti, tekrar üretilebilirliği, seçiciliği ve stabilitesi dikkat edilmesi gereken hususlar arasındadır. Elektrokimyasal sensörlerde farklı elektroanalitik teknikler kullanılabilir. Bu teknikler ölçülen elektrokimyasal sinyallere göre sınıflandırılırlar. Buna göre voltametri tekniğinde potansiyelin bir fonksiyonu olarak akım ölçülür. Amperometri tekniğinde sabit bir potansiyelde akım ölçülür. Potansiyometri tekniğinde sıfır akımda potansiyel ölçülür, kondüktometri tekniğinde ise zamana bağlı değişen iletkenlik ölçülürken; impedans spektroskopisinde alternatif akımın geçtiği ortamda (örneğin bir polimer membranında), bu akıma karşı uygulanan direnç ölçülür (Ahmad vd, 2019). Kullanılan bu tekniklerden klinik, çevresel ve endüstriyel analizler olmak üzere birçok farklı uygulamada yararlanıldığından moleküler baskılanmış polimerlerin sensör üretiminde elektrokimyasal dönüştürücüler olarak kullanılması önemli hale gelmiştir.

Elektrosentezin MIP teknolojisine uygulanmasından ilk defa 1995 yılında nitrat seçici potansiyometrik sensör yapımında faydalanılmıştır. Bu çalışmada pirol, NaNO_3

varlığında polimerize edilip, nitrat iyonlarına özgül boşluklar içeren polimer film sentezlenmiştir. Elde edilen bu moleküler baskılanmış elektrokimyasal sensörün nitrata; perklorat ve iyodüre göre dört kat daha fazla seçici olduğu tespit edilmiştir (Hutchins ve Bachas, 1995).

Elektrokimyasal sensörlerin diğer sensörlere göre birçok avantajı bulunmaktadır. Sahip oldukları düşük duyarlılık nedeniyle bulanık ortamda bile kullanılabilirler, minyatürize edilebilir ve ucuzdurlar. Özellikle elektroaktif özellik gösteren çeşitli kimyasal ve biyolojik maddelerin kullanımıyla daha çok maddenin daha hızlı ve duyarlı tayini mümkün hale gelmiştir. Ancak elektrokimyasal sensörde reseptör olarak enzim, hormon gibi protein yapılı makromoleküllerin, hücre ya da doku gibi biyomateryalin kullanımı; biyomateryalin pH, sıcaklık, iyon şiddeti gibi ortam koşullarından etkilenmesi nedeniyle sensörün kullanım ömrünü kısalttığından bir dezavantajdır.

2.4.1. Voltametri

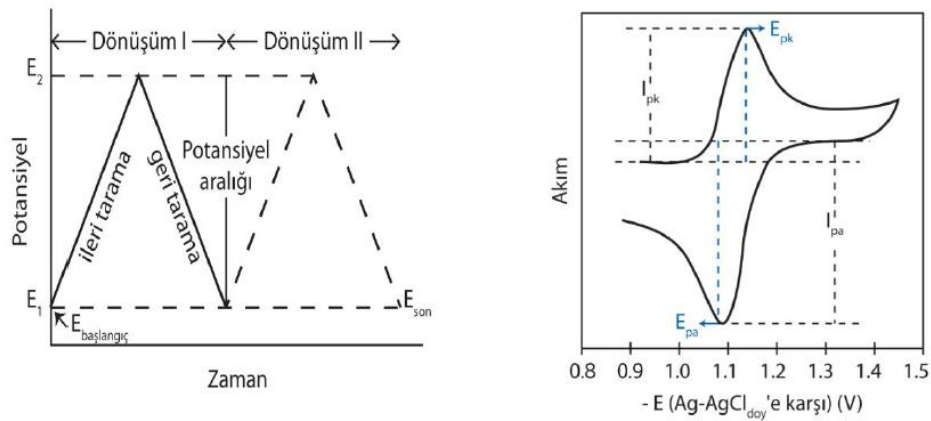
Voltametri, 1920' lerin başında Çekoslovak kimyacı Jaroslav Heyrovsky tarafından ve polarografi tekniğine dayanılarak geliştirilmiştir. Elektroanalitik yöntemlerde, elektrot ve çözeltiden oluşan sisteme yapılan elektriksel etkiye sistemin verdiği cevap ölçülür. Genel olarak bu yöntemler ikiye ayrılır. Birincisi denge durumunun olduğu ve net akımın sıfır olduğu durağan yöntemlerdir; diğeri ise denge durumunun olmadığı ve net bir akımın gözlemlendiği dinamik yöntemlerdir. Bu yöntemler potansiyel kontrollü, akım kontrollü ya da yük kontrollü yöntemlerdir. Potansiyel kontrollü yöntemlerden biri olan voltametri, indikatör (çalışma) elektrotunun polarize olduğu şartlar altında, uygulanan potansiyelin bir fonksiyonu olarak akımın ölçülmesinden faydalanarak analit ile ilgili bilgi veren bir grup elektroanalitik yöntemdir. Elektrot çözelti sistemine uygulanan gerilimin ölçülen akım değerlerine karşı çizilen grafiğine voltamogram denir. Voltametrizde üçlü elektrot sisteminden faydalanılır. Bunlardan referans elektrodun potansiyeli analiz boyunca sabittir. Referans elektrot olarak genellikle Ag/AgCl veya doymuş kalomel elektrotlar kullanılır. Bir diğer elektrot olan çalışma (indikatör) elektrodu ise polarize edilebilen, zamanla potansiyeli değiştirilen elektrotlardır. Civa, platin, altın, paladyum, karbon elektrot (grafit, karbon pasta elektrot, elmas, altın elektrot) gibi elektrotlar sıklıkla kullanılmaktadır. Son elektrot olan karşıt (yardımcı)

elektrot ise elektriğin güç kaynağından çözeltinin içinden geçerek çalışma elektrotuna aktarılmasını sağlayan elektrotlardır. Karşıt elektrot olarak genellikle Pt tel kullanılır (Skoog vd, 2004). Voltametrde uygulanan potansiyel, çalışma elektrodu ile referans elektrot arasına uygulanır. Çalışma elektrodu üzerinde maddelerin indirgenmesi veya yükseltgenmesi ile oluşan akım ölçülür. Bu akım indirgenmeden kaynaklı katodik akım ya da yükseltgenmeden kaynaklı anodik akım olabilir.

Voltametri analit miktar tayininin yanı sıra çeşitli ortamlarda oluşan yükseltgenme ve indirgenme işlemlerinin incelenmesinde, elektrot yüzeyindeki adsorpsiyon işlemlerinin incelenmesinde ve elektron transfer mekanizmalarının aydınlatılmasında kullanılabilir.

2.4.1.1. dönüşümlü voltametri (CV)

Bu teknikte hücreden küçük bir akım geçer ve çalışma elektroduna uygulanan potansiyel kontrol edilir. Bu nedenle dönüşümlü voltametri, potansiyel kontrollü bir voltametri yöntemidir. Ep ile gösterilen pik potansiyeli akımın maksimum olduğu noktadaki pik potansiyelidir. Bu teknikte tarama hızı (v) olarak kullanılan birim, potansiyelin zamanla doğrusal değişimidir. Belirlenen potansiyel aralığında yapılan tarama, ilk tarama yönüne doğru tekrar yapılır. Örnek olarak Şekil 2.5’ te uygulanan potansiyelin zamanla değişim grafiği görülmektedir.



Şekil 2.5. Doğrusal taramalı (solda) ve dönüşümlü voltametri tekniklerinde (sağda) potansiyel taramasının zamanla değişimi (Greef vd, 1990)

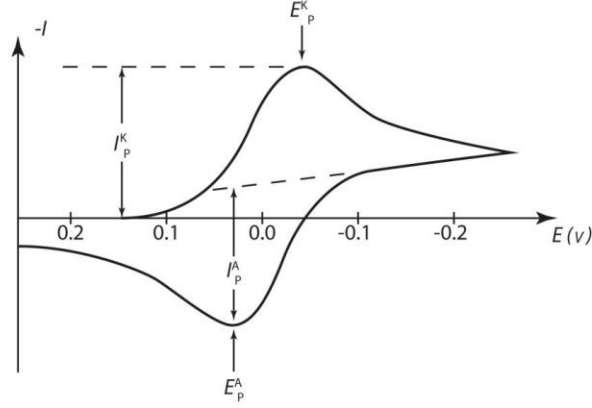
Bu teknikte eğer potansiyel taraması, bir E_1 başlangıç potansiyeli ve E_2 potansiyeli arasında yapılırsa yöntem doğrusal taramalı voltametri adını alır (LSV). Doğrusal taramalı voltametri E_2 potansiyeline ulaşıldıktan sonra taramanın yönü tersine çevrilerek aynı hızla E_1 değerine ulaşırsa yöntemin adı dönüşümlü voltametri olur. Burada hız, difüzyon hızı tarafından belirlenir. Analitin yükseltgenmesi ve indirgenmesi bir voltamogramda gözlenebilir.

Şekil 2.5’ te sağdaki grafikte görüldüğü gibi akımın artmaya başladığı kısımda standart indirgenme potansiyeli değerine yaklaşılmaktadır ve madde indirgenmeye başlar. Potansiyel azaldıkça elektrot yüzeyindeki maddenin indirgenme hızı artar. Maddenin daha hızlı indirgenmeye başlanmasıyla akım da artar. Bu noktada elektrot yüzeyine difüzyonla gelen madde miktarı akımı kontrol eder. Elektrot yüzeyine madde geldikçe difüzyon tabakası kalınlaşır. Bu da difüzyon hızını azaltır ve buna bağlı olarak da akım azalmaya başlar. Difüzyon hızının yanı sıra; elektroaktif maddenin derişimi, aktarılan elektron sayısı ve elektrot yüzey alanı da pik akımının büyüklüğünü etkiler. Dönüşümlü voltamogramlardan faydalanılarak bir sistemin hangi gerilimlerde ve kaç adımda indirgenip yükseltgendiği, elektrokimyasal açıdan tersinir olup olmadığını, elektrot tepkimesinin bir kimyasal tepkime ile birlikte ilerleyip ilerlemediği, indirgenme ya da yükseltgenme ürünlerinin kararlı olup olmadığı tespit edilebilir. Ayrıca elektrot tepkimesinde rol alan maddelerin elektrot yüzeyine adsorbe olup olmadığı ve analit miktar tayinleri yapılabilir (Çekirdek, 2005; Erdem, 2010).

Dönüşümlü voltamogramlar elektrot yüzeyinde gerçekleşen reaksiyonun tersinir, yarı tersinir ve tersinmez oluşuna göre değişmektedir.

a) Tersinir Reaksiyonların Dönüşümlü Voltamogramı

$O + ne^- \rightleftharpoons R$ şeklinde bir elektrot reaksiyonu olduğu durumda başlangıçta çözeltide yalnızca O maddesi bulunur. Reaksiyon başladıktan sonra elektrot yüzeyinde bir adsorpsiyon olayı gerçekleşmeden sadece elektron aktarımı şeklinde kimyasal reaksiyon oluyorsa voltamogram pik şeklinde gözlenir (Şekil 2.6). Tarama hızı (v) arttıkça pik yüksekliği artar.



Şekil 2.6. Tersinir bir reaksiyona ait CV voltamogramı (Çekirdek, 2005)

Potansiyel taraması geriye doğru yapıldığında tarama hızlı ise elektrot yüzeyinde yeteri kadar R bulunduğundan, E^0 değerinden itibaren daha pozitif potansiyellerde R yükseltgenmeye başlayacaktır. R yükseltgenmeye başlayınca ters taramada anodik pik oluşur. Bu sırada E^0 değerine kadar O indirgenip R oluşmaya devam eder. Ters taramada potansiyel pozitifleştikçe Nernst eşitliğine göre R yüzey derişimi azalır ve yeteri kadar pozitif değerlerde sıfıra gider. Deney sırasında yüzeyde oluşan R, çözeltiye doğru difüze olur. Bundan dolayı anodik pik akımı katodik akımdan biraz daha düşük olur.

Tersinir sistemlerde bütün potansiyellerde elektron aktarım hızı kütle aktarım hızından büyük olduğu için elektrot yüzeyinde Nernst eşitliği geçerlidir (2.1).

$$E = E^0 - \frac{RT}{nF} \ln \frac{[R]}{[O]} \quad (2.1)$$

Tersinir bir elektrot reaksiyonunun pik akımı ise 25°C sıcaklıkta aşağıdaki Randles – Sevcik eşitliği ile gösterilir.

$$i_p = (2.69 \times 10^5) n^{\frac{3}{2}} A C_0 D^{1/2} V^{1/2} \quad (2.2)$$

i_p : Pik akımı, Amper

n : Aktarılan elektron sayısı

A : elektrot yüzey alanı, cm^2

C_0 : O türünün ana çözelti derişimi, mol / cm³

D: O türünün difüzyon katsayısı, cm² / s

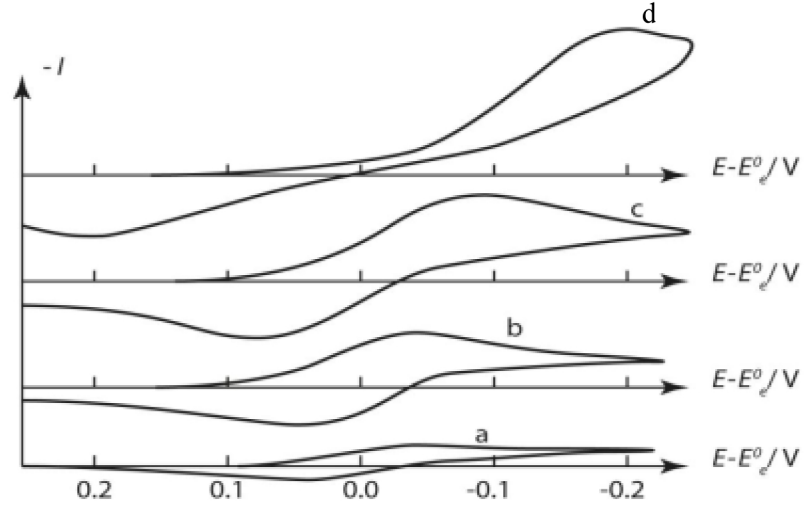
v: Tarama hızı, V / s

Elektrot yüzeyinde gerçekleşen bir reaksiyonun tersinir olup olmadığı da dönüşümlü voltametri ile tespit edilebilir. Eğer $i_p - v^{1/2}$ grafiğı doğrusal ise ve orjinden geçerse sistem tersinirdir. Ayrıca bir sistem aşağıdaki özelliklere sahipse sistemin tersinirliğinden bahsedilebilir.

1. $E_p - E_{p_a} = 59/n$ mV veya $E_p - E_p/2 = 57/n$ mV olmalıdır.
2. ΔE_p , tarama hızı ile değişmemelidir.
3. $i_{p_a} / i_{p_k} = 1$ olmalıdır.
4. E_p 'den daha negatif potansiyellerde i^2 , t ile orantılı olmalıdır (Brooksby, 2004).

b) Tersinmez Reaksiyonların Dönüşümlü Voltamogramı

Nernst eşitliğı, tersinmez sistemlerde elektrot yüzeyinde elektron aktarım hızı yeteri kadar büyük olmadığından geçerli değildir. Tersinmez sistemlerde genellikle anodik pik gözlenmez. Ancak anodik pikin gözlenmeyişi mutlaka elektron aktarım basamağının tersinmez olduğunu göstermez. Eğer oluşan ürün, elektron basamağını takip eden hızlı bir reaksiyonla başka maddeye dönüşüyorsa bu durumda da anodik pik gözlenmez. Tersinmez durumlarda tarama hızı arttıkça kütle aktarım hızı elektron aktarım hızı ile aynı seviyeye gelir. Bu da Şekil 2.7' de görüldüğü gibi tarama hızının artması anodik ve katodik pik potansiyellerinin birbirinden uzaklaşmasına neden olur. Yani tersinir durumun aksine tersinmez durumda E_p^k , tarama hızı ile değişir. Tersinmez elektron aktarım reaksiyonlarında standart hız sabiti, tersinir reaksiyonlardakine göre daha küçüktür.



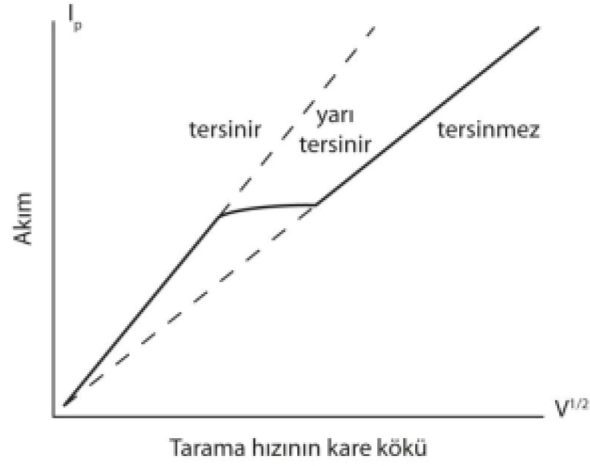
Şekil 2.7. Dönüşümlü voltametri ile E_{p_k} ve E_{p_a} nin tersinmez bir elektrot reaksiyonunda farklı tarama hızlarında birbirinden uzaklaşması. v; a) 0.13 V/s b) 1.3 V/s c) 4 V/s d) 13 V/s (Çekirdek, 2005)

Tersinmez bir sistemde aşağıdaki özellikler görülür.

1. Anodik pik gözlenmez.
2. I_{p_k} , tarama hızının karekökü ile doğru orantılı olarak değişir.
3. E_{p_k} kayması tarama hızındaki 10 kat artmada $30/\alpha_c n_\alpha$ kadardır.
4. $|E_p - E_{p/2}| = 48/(\alpha_c n_\alpha)$ mV

c) Yarı Tersinir Reaksiyonların Dönüşümlü Voltamogramı

Böyle reaksiyonlarda akım hem elektron aktarım hızı hem de difüzyon hızı ile birlikte kontrol edilir. Tüm reaksiyon türleri için akım, tarama hızının kareköküne karşı grafiğe geçirildiğinde Şekil 2.8' deki gibi bir grafik elde edilir.



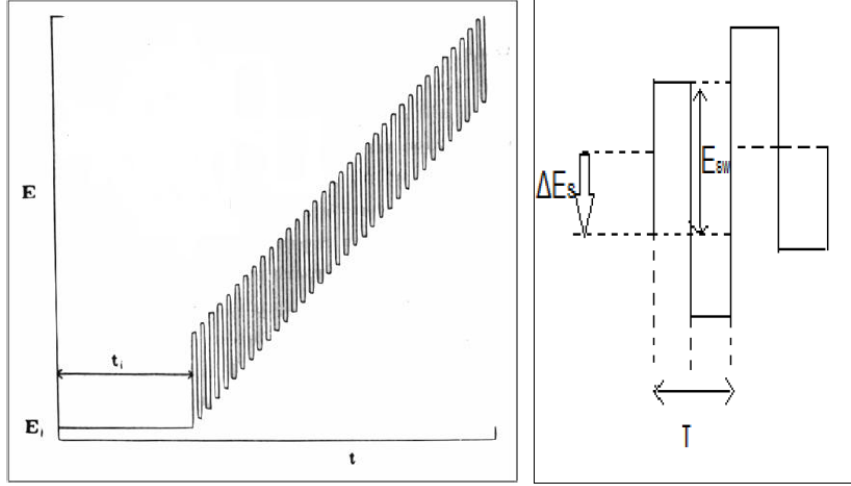
Şekil 2.8. Dönüşümlü voltametri de pik akımının tarama hızının karekökü ile değişimi (Çekirdek, 2005)

Şekil 2.8’de görüldüğü gibi tarama hızı arttıkça sistem tersinir durumdan tersinmez duruma geçmektedir. Dönüşümlü voltametri ile incelenen bir sistem aşağıdaki özelliklere sahipse sistem yari tersinir özelliğe sahiptir denilebilir.

1. I_p , $v^{1/2}$ ile artar ancak doğrusal değildir.
2. E_p , tarama hızı ile değişir bu değişim genellikle tarama hızının artması ile negatif değerlere kayma yönündedir.
3. $I_{pa} / I_{pk} = 1$ olmalıdır. ($\alpha = 0.5$ ise)
4. $E_p - E_{pa}$ farkı düşük tarama hızlarında $59/n$ ’e yaklaşmalıdır.

2.4.1.2. kare dalga voltametrisi (SWV)

Kare dalga voltametrisi çok hızlı ve yüksek hassasiyet avantajları sağlayan bir voltametri tekniğidir. Tüm voltamogram 10 ms gibi kısa bir sürede tamamlanmaktadır. Ayrıca yöntemin tayin sınırları 10^{-7} ile 10^{-9} M arasındadır. Şekil 2.9’ da kare dalga voltametrisinin uyarma sinyalinin zamanla potansiyel değişimi dalga şeklinde görülmektedir (Barker, 1952).



Şekil 2.9. Kare dalga voltametrisi için potansiyel-zaman dalga şekli ve akım ölçümü; ΔE_s : adım yüksekliği, E_{sw} : puls genliği, τ : periyot (Barker, 1952)

Merdiven basamakları şeklindeki dalgada her basamağın uzunluğu ve uyarımların, bir kare dalganın tamamlanma süresi olan T periyodu aynıdır ve genellikle yaklaşık 5 ms'dir. ΔE_s ile gösterilen basamaklı adım yüksekliği (sinyalin potansiyel basamağı) dir ve bu da birbirini takip eden kare dalgalar arasındaki yükseklik farkıdır. ΔE_s genellikle 10 mV'dur. Herbir dalganın alt ve üst noktaları arasındaki farkın yarısı kare dalga genliğidir ve E_{sw} ile gösterilir.

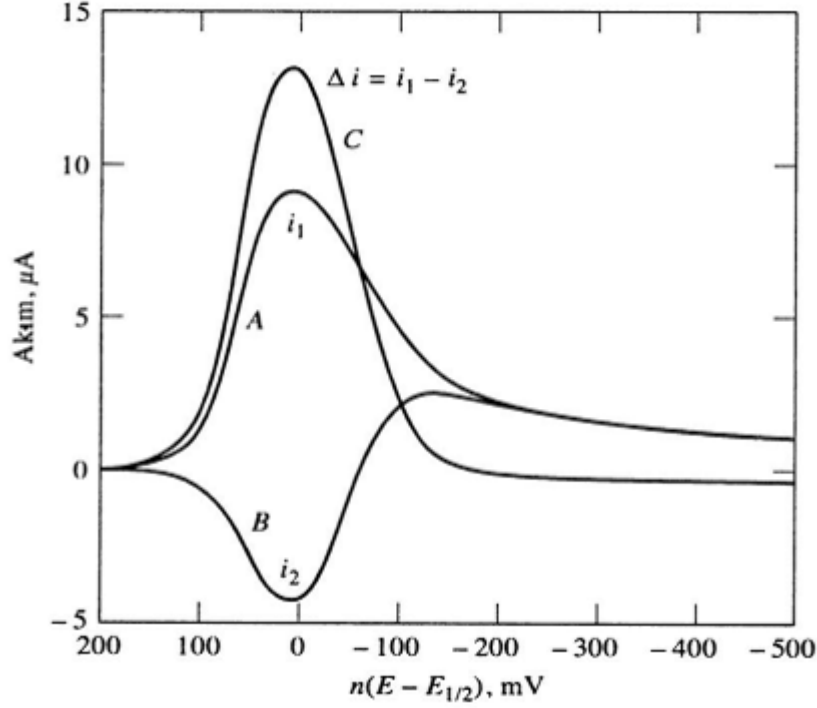
Basamaklı adım yüksekliği ise aktarılan elektron sayısına (n) bağlı olarak $\Delta E_s = 10/n$ mV eşitliğinden bulunarak kullanılır. E_{sw} ise genelde $50/n$ mV'dur. $2E_{sw}$ değerinin puls büyüklüğü 50 mV'dur. Puls genişliği (t_p) ise $\tau/2$ 'ye eşittir. Genellikle periyod yerine $1/\tau$ 'a eşit olan frekans (f) kullanılır. Kare dalga voltametrisinde etkin tarama hızı (ETH), frekans ve periyod ile adım yüksekliğine bağlı olarak aşağıdaki gibi belirlenir.

$$ETH = f \times \Delta E_s = 1/\tau \times \Delta E_s \quad (2.3)$$

Bu şartlar altında örneğin 200 Hz'lik bir puls frekansı ile ($\tau = 1/200$) 1 V'luk (ΔE_s) bir potansiyel taramasında ETH 2 V/s olur ve tarama için sadece 0.5 saniye gerekir. Yani uygun frekans seçimi ile deney süresi minimuma düşürülebilir. Deney süresinin çok kısa olması birkaç taramanın ortalamasının alınarak analizin kesinliğinin artırılmasını sağlar.

Bir tersinir indirgenme reaksiyonu için, pulsun büyüklüğü, ileri pulsta oluşan ürünün geri puls esnasında yükseltgenmesine yetecek kadar büyüktür. Bu nedenle Şekil

2.10 'da görüldüğü gibi ileri puls bir i_1 katodik akımı ve geri puls da bir i_2 anodik akımı oluşturur. Bu akımların farkı olan net akım (Δi) ileri fark akımı olarak adlandırılır ve Δi farkı potansiyele karşı grafiğe geçirildiğinde voltamogram tek pik şeklinde elde edilir.



Şekil 2.10. Kare dalga voltametrisinde tersinir bir reaksiyon için uyarma sinyaline akım cevabı, A, (i_1) ileri akım; B, (i_2) geri akım; C, ($i_1 - i_2$) net akım

Bu teknik en hassas ayrıca hızlı elektroanalitik teknikler arasındadır. Bundan dolayı kare dalga voltametrisi inorganik ve organik türlerin rutin analizlerinde ayrıca sıvı kromatografide detektör olarak kullanılmaktadır (Skoog, 2004).

2.5. Elektrokimyasal İmpedans Spektroskopisi (EIS)

Bu yöntemde impedansın tek bir frekanstan ziyade farklı frekansları tayin edebilme gerçeğinden faydalandığı için yöntem 'impedans spektroskopisi' adını almıştır. Bu sayede bir impedans spektrumu kullanılarak yüzeylerin, tabakaların veya membranların difüzyon prosesleri ya da karakterizasyonu hakkında bilgi elde edilir. Bu özellikleri analiz etmek için, impedans spektrumu, genellikle direnç ve kapasitanstan oluşan eşdeğer devre kullanılarak analiz edilir. Bu devre incelenen sistemin yukarıda bahsedilen farklı fizikokimyasal özelliklerini açıklar (Yeşiller, 2014).

Genel olarak impedans, bir akım içerisinde elektriksel akıma karşı uygulanan güçtür ve birimi aynı zamanda direncin birimi olan Ω 'dur. Elektrokimyasal impedans spektroskopisi (EIS) ise temelinde elektriksel devre bileşenlerinin olduğu duyarlı bir elektrokimyasal tekniktir ve korozyon analizi, moleküllerin adsorpsiyon özellikleri, pillerin ve akaryakıtların özelliklerinin araştırılması gibi birçok uygulamada yaklaşık bir yüzyıldır kullanılmaktadır. Aslında, bir sistemin iletkenliğini değiştiren hemen hemen her işlem EIS tarafından tanınabilir, dolayısıyla teknik kullanılarak maddelerin çok sayıda özellikleri açıklanabilir.

Teknik, zamana bağlı alanda gerçek empedans değerlerini elde etmek için ilk olarak 19. yüzyılın sonlarında Oliver Heaviside tarafından açıklanan karmaşık matematiksel dönüşümlere dayanmaktadır. Saygın bir matematikçi olarak Heaviside, empedans, giriş ve iletkenlik gibi terminolojilerin icadı ile de tanınmaktadır. 'Operasyonel empedansı' bir AC devresindeki gerilim ve akımın karmaşık oranı olarak tanımlamıştır ve günümüzde de empedans şu şekilde ifade edilmektedir;

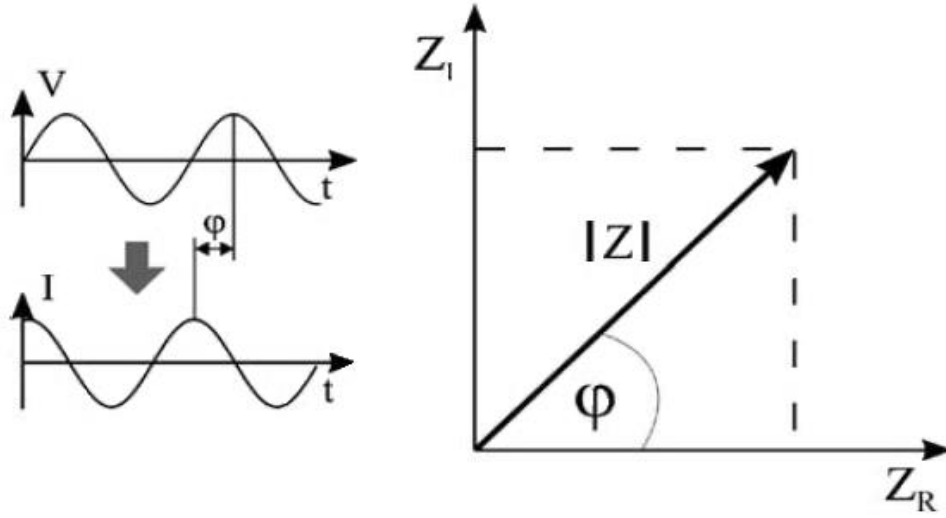
$$Z(j\omega) = \frac{V(j\omega)}{I(j\omega)} \quad (2.4)$$

burada Z impedans, V potansiyel, I akım, j farazi bileşen ve ω frekansı göstermektedir (Randviir ve Banks, 2013).

Elektrokimyasal sistemlerde işin içine elektrokimyasal çift tabakanın girmesiyle eşitliğe bir kapasitif devre elemanı eklenmektedir. Diğer elektrot prosesi ise zamana bağlı difüzyondur. Bu yüzden impedans, direnç yerine kullanılmaktadır. Sistemde zamanla değişen alternatif akım kullanıldığından frekans ölçümü sistemin ana teması olarak ele alınır. Bunun sonucunda elde edilen impedans aşağıdaki eşitlikle tanımlanır.

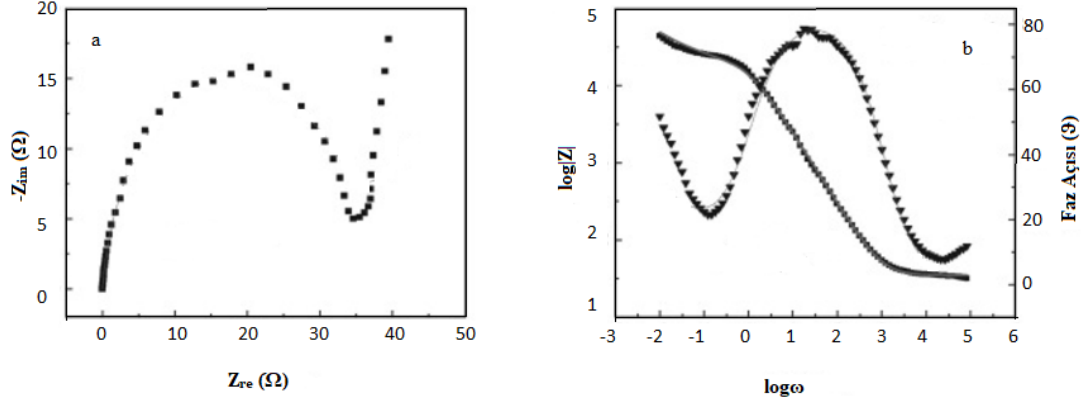
$$Z = \frac{E_t}{I_t} = \frac{E_0 \sin(\omega t)}{I_0 \sin(\omega t + \theta)} = \frac{Z_0 \sin(\omega t)}{\sin(\omega t + \theta)} \quad (2.5)$$

Z impedansı, E potansiyeli, I akımı; t zamanının fonksiyonu olarak ele almaktadır. Ayrıca burada akım (I) sadece genlik açısından farklılık göstermekle kalmaz, potansiyel-zaman fonksiyonuyla kıyaslandığında faz kayması da gösterir. Bu yüzden değer ya $|Z|$ ve faz kayması ϕ ya da reel Z_R ve imgesel Z_I olarak tanımlanabilir.



Şekil 2.11. İmpedans'ın potansiyel (zaman) ve akım (zaman) büyüklüklerine bağlı matematiksel gösterimi (Bard ve Faulkner, 1944)

AC akım sinüzoidal bir karakter gösterir ve akım ile potansiyel arasındaki zamana bağlı fark sinüs fonksiyonu ile açıklanır. Buna göre sistem AC impedansını ölçer. Bu durum, Şekil 2.11' de gösterilmiştir. Bu sistemin ölçülmesinde Nyquist (Z_R ve Z_I 'nin olduğu) ve Bode ($\log f$ 'nin fonksiyonu olarak $\log Z$ ve ϕ) diyagramları impedans spektrumları olarak kullanılır. Nyquist ve Bode diyagramlarına ait örnek şekiller Şekil 2.12' de verilmiştir. Her iki diyagram da impedansı frekansın fonksiyonu olarak sunar. Nyquist diyagramında frekans eğrisi, alınan farklı frekanslardaki ölçümün her noktasında sanal (Z_{im}) ve gerçel (Z_{re}) değerlere karşı frekans eğrisi oluşturulur. Bode diyagramı ise modül ve fazın $\log[Z]$ ile tanımlanması ile çizilir yani $\log \omega$ 'nin fonksiyonu olarak $\log Z$ ve ϕ çizilir. Bode diyagramı frekansın logaritmik karşılığı olduğundan her onlu ölçümde aynı numaralar gösterilir. Bu iki diyagramdan Nyquist diyagramı analizlerin değerlendirilmesinde daha sık kullanılır.



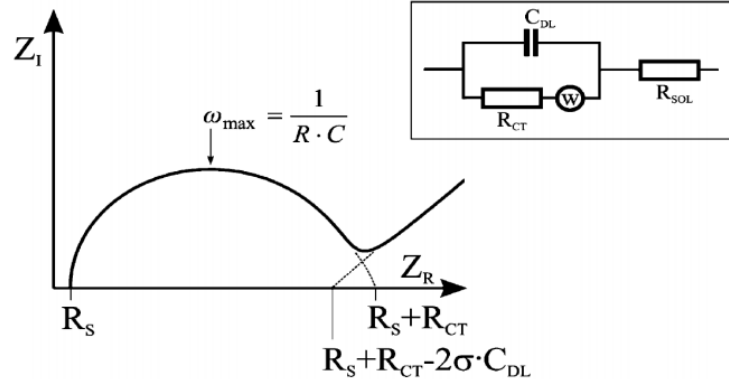
Şekil 2.12. Nyquist (a) ve Bode (b) Diyagramları (Chen vd, 2015)

EIS’de, elektrolit çözeltisi sistemin tek bileşeni olarak incelendiğinde, impedans davranışını açıklamak için şu unsurlar kullanılır: ohmik direnç, kapasitans, sabit faz ögesi ve Warburg impedansı. Bu unsurlar ve tanımlamalarının özeti Çizelge 2.1’ de verilmiştir (Yuan vd, 2010).

Çizelge 2.1. İmpedans devre elemanları

Devre Elemanları	Tanımı
R	Direnç
C	Kapasitans
L	İndüktans
W	Sınırsız Warburg
BW	Sınırlı Warburg (Bağlı Warburg)
CPE	Sabit Faz Elementi
BCPE	Bağlı Sabit Faz Elementi

DeneySEL impedans verilerini seri ve/veya paralel düzenlenmiş ideal impedans unsurlarla yaklaşık olarak belirlemek için eşdeğer devreler kullanılır. Çoğu elektrokimyasal sistem bu prosedüre göre analiz edilir.



Şekil 2.13. Bir elektrolitle kontakt halindeki elektroda ilişkin Randles eşdeğer devre modeli (Bard ve Faulkner,1944)

Bir elektrolitle bir elektrodun temasta olduğu bir sistemde, elektrot yüzeyine uygulanan potansiyele bağlı olarak, elektrot yüzeyinde bir elektriksel çift tabaka meydana gelir. Bu çift tabaka elektrot yüzeyinde bir yük dengesi ve bunun üzerinde toplanmış iyonlardan meydana gelir. Bu çift tabaka bir elektriksel akım meydana getirmektedir. Buna kapasitans denir. Böyle bir sistemde yani Randles devresinde, çözelti direnci, R_s , yük transfer direnci R_{ct} , çift tabaka kapasitansı C_{dl} ve Warburg impedansı (W) kullanılır. Şekil 2.13' te gösterilen Nyquist grafiğinden R_s ve R_{ct} değerleri kolaylıkla belirlenebilir. Çift tabaka kapasitansı ise yarım dairenin maksimum yaptığı noktadaki frekanstan hesaplanabilir. Warburg impedansı ise üzerinde direnç ve kapasitansı bulunduran, kütle transferine bağlı oluşan bir dirençtir (Bard ve Faulkner,1944).

2.6. Hidrojeller ve Kontrollü Salım

Hidrojeller, yapılarına fazla miktarda su alabilen, fiziksel ya da kimyasal olarak çapraz bağlanmış polimerlerdir. Polimerik ağda, bir hidrojel yapısı oluşturmak için sulu ortamda hidratlanan hidrofilik gruplar mevcuttur. Ağ terimi, polimerlerin çözünmesini engelleyen çapraz bağlanmış polimer yapısını ifade eder. Yumuşak yapıları, su tutma kapasiteleri ve biyouyumlu özellikleri nedeniyle hidrojeller gitgide daha fazla dikkat çekmektedir (Ulaşan vd, 2013).

Hidrojellerin üç boyutlu yapısı kimyasal bağlar ya da iyonik etkileşim, hidrojen bağı, fiziksel etkileşimler, Van der Waals kuvvetleri ve hidrofobik etkileşimler gibi kohezyon kuvvetleri aracılığıyla gerçekleşir (Özgündüz, 2006).

Polimerik iskeletteki hidrofilik fonksiyonel gruplar nedeniyle su absorplama yeteneğine sahipken, ana zincirler arasındaki hidrojen bağları ya da Van der Waals etkileşimleri gibi kuvvetler nedeniyle suda çözünmezler. Çapraz bağlı yapıları hidrojellere mekanik dayanıklılık vererek, hidrojellerin bütünlükleri bozulmadan ağırlıklarının yaklaşık 20 katı kadar suyu absorplayabilmelerini sağlar. Hidrojeller orijinal şekilleri bozulmadan belli bir denge hacmine kadar su absorplama kapasitesine sahiptirler. Hidrojellerin su tutma kapasiteleri yapılarındaki hidrofilik grupların miktarına ve çapraz bağlanma yoğunluğuna bağlıdır. Yapılarındaki hidrofilik gruplar arttıkça su tutma kapasitesi artarken, çapraz bağlayıcı miktarının artmasıyla, çapraz bağlanmış hidrojeller daha sıkı bir örgüye sahip olacaklarından, su tutma kapasiteleri azalır. Çünkü çapraz bağlanma, polimer zincirinin hareket yeteneğini engelleyip, jelin şişme miktarının azalmasına neden olur (Tanrıverdi, 2007). Hidrojeller biyoyumlu özelliğe sahip olmaları ve oksijen geçirgenlikleri nedeniyle medikal uygulamalarda sıkça kullanılmaktadır (Peppas vd, 2000).

Hidrojeller yüksek su içerikleri, doğal dokulara benzeyen lastiksi özellikleri ve biyoyumlu olmalarından dolayı biyomedikal uygulamalar için uygundur. Bu nedenle kontrollü ilaç salım sistemleri olarak kullanılabilirler. Hidrojellerin medikal uygulamaları 1960 yılında çapraz bağlı poli(hidroksietil metakrilat) hidrojelinin (pHEMA) geliştirilip yumuşak kontakt lens olarak patentlenmesine kadar uzanmaktadır (Sannino vd, 2009).

İlaç etkinliğinin sağlanması ve ilacın hedefle etkileşiminin optimum olması için farmasötik ajanların spesifik hedeflere uygun bir şekilde taşınmaları önem arz etmektedir. Kontrollü ilaç salımı ilaç ile yüklü bir polimerin kimyasal bir uyarıya cevap olarak ilacın serbest bırakıldığı sistemlerdir. Genel olarak kontrollü salım dozaj formları ilacın kanda, dokularda ya da hedef organda ilacın nispeten sabit konsantrasyonda kalmasını sağlar. Bu sistemde önce yüklenen doz salınır ardından belli bir süre ilacın sabit bir dozda salımı devam eder (Patel ve Patel, 2016).

Kontrollü ilaç salımının temel amacı, yeni ilaç dağıtım sistemi kullanılarak veya moleküler yapı ve / veya fizyolojik parametreleri değiştirerek farmakolojik olarak aktif grupların farmakokinetiğini ve farmakodinamiğini değiştirmektir. Bunun amacı tedavi edici orandaki ilaç düzeyinin olabildiğince uzun süre korunması, ilacın yan etkilerinin ve hatta ihtiyaç duyulan ilaç miktarının azaltılabilmesidir (Ayhan ve Ayhan, 2014).

Kontrollü ilaç salımı sahip olduğu birçok özellik sebebiyle avantajlı bir yöntemdir. Bunların başında ilaç konsantrasyonunun istenilen aralıkta tutulması gelir. Suda çözünen ilaçların salımı daha yavaş ve kontrollü yapılırken; düşük çözünürlüğe sahip ilaçların ise hızlı salımı sağlanabilir. İlacın gereğinden fazla ya da düşük dozda değil gerekli miktarda kullanılmasını sağlar. Bu da ilacın yan etkilerini minimuma indirir ve uygulanan tedavinin verimini artırır (Nidhi vd, 2016).

3. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

3.1. Dopamin Tayini İçin Geliştirilen Elektrokimyasal Sensör Sistemleri

Çizelge 3.1’ de belirtildiği gibi, Song ve arkadaşları yaptığı bir çalışmada dopamin varlığında o-fenilendiamini fonksiyonel monomer olarak kullanıp altın elektrot yüzeyinde elektropolimerizasyon yapmışlardır. Diferansiyel puls voltametrisi yöntemini kullanarak 5.0×10^{-7} - 4.0×10^{-5} mol/L tayin aralığında, 1.3×10^{-7} mol/L tayin limiti ile sensörün dopamini analiz ettiğini tespit etmişlerdir (Song vd, 2010).

Bir diğer çalışmada ise pirol altın elektrot yüzeyinde 0.7 V potansiyel değerinde polimerize edilmiştir. 3 mM DA ve 0.25 M pirol varlığında yapılan polimerizasyonla moleküler baskılanmış polimer elde edilmiş ve kalibrasyon eğrisi kare dalga voltametrisi ile elde edilmiştir. Bu şartlar altında sensörün 5 – 50 μ M aralığında doğrusal yanıt verdiği ve tayin limitinin 1.04 μ M olduğu tespit edilmiştir (Diaz vd, 2018).

Hong ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada altın elektrot yüzeyinde dopamin varlığında monomer olarak kullanılan 3-akrilamidofenilboronik asit (AABA) ve akrilamit (AA) elektropolimerizasyon ile polimerize edilerek baskılanmış sensör elde edilmiştir. Polimerizasyonda çapraz bağlayıcı olarak kullanılan N,N'-metilenbisakrilamit ve diğer kimyasallar suda çözülerek polimerizasyon çözeltisi hazırlanmış ve polimerizasyon yapılmıştır. Bu çalışmada dopaminin analitik tayini, p-AABA ile modifiye edilmiş altın elektrotla döngüsel voltametri, elektrokimyasal kuvars kristal balans ve diferansiyel puls voltametrisi ile yapılmıştır. Moleküler baskılanmış elektrotun hassasiyeti elektropolimerizasyondan önce altın elektrot yüzeyine karbon nanotüpler biriktirilerek sağlanmıştır. Buna göre elde edilen bu sensörle diferansiyel puls voltametrisi tekniği ile 50 nM - 2 μ M aralığında doğrusal yanıt elde edildiği ve tayin limitinin 20 nM olduğu tespit edilmiştir (Hong vd, 2013).

Kim ve arkadaşları dopamin tayini için aktifleştirilmiş grafen- nafyon modifiye edilmiş elektrot kullanarak dopamini tayin etmişlerdir. Bunun için grafen oksiti (GO) termal aktivasyonla aktifleştirip nafyonla modifiye edilmiş glasiyel karbon elektrot (AG-NA/GCE) kullanmışlardır. AG-NA/GCE’ un elektrokimyasal karakterizasyonu için potasyum ferrisiyanür varlığında döngüsel voltametri kullanılmıştır. Modifiye edilmiş

elektrotun dopaminin oksidasyonuna karşı gösterdiği elektroanalitik performans döngüsel voltametri ve diferansiyel puls voltametrisi ile analiz edilmiştir. Sonuç olarak sensörün 0.5-35 μM aralığında, 0.33 μM deteksiyon limiti ile dopamini tayin edebildiği tespit edilmiştir (Kim vd, 2017). Başka bir çalışmada ise yüzeyine polimerizasyon öncesi indirgenmiş grafen oksit biriktirilmiş glasiyel karbon elektrot yüzeyinde poli(3,4-etilendioksitiyofen), elektropolimerizasyon ile sentezlenmiştir. Glasiyel karbon elektrot-indirgenmiş grafen oksit- poli(3,4-etilendioksitiyofen) elektrot dopamin tayininde kullanılırken diferansiyel puls voltametrisi tekniğinden faydalanılmıştır. Elde edilen sonuçlara göre sensörün 19.6 – 122.8 μM tayin aralığında ve 1.92 μM tayin limiti ile dopamini tayin edebildiği tespit edilmiştir (Cogal, 2018).

Bu tez çalışmasında altın elektrot yüzeyinde para-aminotiyofenol, dopamin varlığında tek basamakta polimerize edilerek dopamin sensör elde edilmiştir. Literatürde incelenen çalışmalar da göz önüne alındığında geliştirilen sensörün hem daha pratik elde edilmesi hem de daha düşük tayin limiti ile dopamin tayininde daha avantajlı olduğu görülmektedir.

Çizelge 3.1. Geliştirilmiş bazı elektrokimyasal sensör sistemleri

Yöntem ve Ölçüm Tekniği	Modifikasyon	LOD	Kalibrasyon Aralığı	Referans
Diferansiyel puls voltametrisi (DPV)	DA baskılanmış o-fenilendiamin/Au elektrot	0.13 μM	0.5- 40 μM	(Song vd, 2010)
Kare dalga voltametrisi (SWV)	DA baskılanmış poli-pirol/Au elektrot	1.04 μM	5-50 μM	(Diaz vd, 2018)
Diferansiyel puls voltametrisi (DPV)	DA baskılanmış-poli-(3-akrilamidofenil boronik asit (AABA))/Au elektrot	0.02 μM	0.05- 2 μM	(Hong vd, 2013)
Diferansiyel puls voltametrisi (DPV)	Aktive edilmiş grafen-modifiye glasiyel karbon elektrot (AG-NA/GCE)	0.33 μM	0.5-35 μM	(Kim vd, 2017)
Diferansiyel puls voltametrisi (DPV)	İndirgenmiş Grafen Oksit-poli(3,4-etilendioksitiyofen) modifiye edilmiş glasiyel karbon elektrot (rGO-poli(Cu-AMT)/GCE)	1.92 μM	19.6- 122.8 μM	(Cogal, 2018)

3.2. Kontrollü Salım Çalışmaları İçin Geliştirilen Bazı Hidrojeller

Çizelge 3.2’ de görüldüğü gibi Yan ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada selüloz iskelete yapısına bağlı poli-dopamin dendritik yapısı sentezlenmiştir. Siprofloksasin isimli hidrofobik ilaç hidrojel sisteme yüklenmiştir. Şişme ve kontrollü salım özellikleri ortaya konuldu. Buna göre sistemin 20 saat süreyle ilaç salımı gerçekleştirdiği bundan sonra salım profilinin sabit bir değere ulaştığı gözlenmiştir (Yan vd, 2019).

Ren ve arkadaşlarının gerçekleştirdiği çalışmada ise kitosan ve jelatin, dopamin varlığında çapraz bağlı yapı oluşturularak enjekte edilebilir hidrojel yapı sentezlenmiştir. Parkinson hastalığının tedavisi için dopamin ve bir antienflamatuar ilaç olan metronidazol bu hidrojel sistem vasıtasıyla salımının incelenmesi üzere hidrojele yüklenmiştir. Salım profili incelendiğinde sentezlenen bu hidrojel sisteminden metronidazol ve dopaminin uzun süreli salımda yüksek bir kapasiteye sahip olduğu gözlenmiştir (Ren vd, 2017).

Bir diğer çalışmada dopamin (DA), aljinat (ALG) hidrojinin daha iyi jel formu oluşturup kontrollü salımda daha iyi performans sergilemesi için hidrojel yapının modifikasyonunda kullanılmıştır. Poli-dopamin (p-DA) partikülleri yerleştirilmiş hidrojeller farklı başlatıcılar kullanılarak iki tip aljinat hidrojel sentezlenmiştir. Bunlardan biri başlatıcı olarak amonyak çözeltisi (AS) kullanılarak sentezlenmiş ALG-DA-AS hidrojel sistemi, diğeri ise başlatıcı olarak sodyum periyodat (SP) kullanılmış ALG-DA-SP hidrojel sistemidir. Yapılan çalışmalar sonucunda her iki aljinat hidrojinin de saf aljinat hidrojele göre daha iyi gatifloksasin (GFLX) adsorpladığı ve in vitro salım çalışmalarında daha stabil oldukları tespit edilmiştir. Elde edilen hidrojel sistemlerle 2 saate kadar salım yapılabildiği tespit edilmiştir (Gao vd, 2018).

Bir diğer çalışmada ise β -siklodekstrin polimer (β -CDP), hidrofobik bir ilaç olan ibuprofen (IBU) salımı için kullanılmak üzere sentezlenmiştir. Bu salım sistemi polisakkarit polimer sodyum aljinat (SA), sodyum karboksimetilselüloz (CMC) ve hidroksietil selülozun (HEC) çapraz bağlanmasıyla oluşturulmuştur. Elde edilen sonuçlara göre CMC ve HEC karışımıyla salım sürelerinin değiştiği ancak elde edilen tüm polimerlerle ortalama 15 ila 18 saat aralığında salımın sabit bir değere ulaştığı;

CMC: HEC karışım oranının artırılmasıyla da sürdürülebilir salımın 24 saate kadar uzatılabildiği tespit edilmiştir (Chen vd, 2018).

Literatür çalışmalarına bakıldığında özellikle kontrollü salım çalışmalarında farklı etken maddelerle çalışıldığı ancak dopamini içeren çalışmaların nispeten daha az olduğu tespit edilmiştir. Dopamin içeren çalışmalar ve yapılan bu tez çalışması karşılaştırıldığında ise bu çalışmada sentezlenen hidrojel vasıtasıyla gerçekleştirilen salım süresinin daha uzun olduğu tespit edilmiştir.

Çizelge 3.2. Geliştirilmiş bazı kontrollü salım Sistemleri

Hidrojel	Modifikasyon	Salım süresi	Referans
CMC-PDA-CIP	karboksi metil selüloz iskelet yapısına, poli-dopamin ve ciprofloksacinin yüklenmesiyle oluşturulmuş hidrojel yapısı	20 saat	(Yan vd, 2019)
CS/GT/DA	metronidazol salımı için hazırlanmış Kitosan/Gelatin/Dopamin hidroجلي	5 saat	(Ren vd, 2017)
ALG-PDA	yapısına poli-dopamin (p-DA) partikül yerleştirilmiş alginat hidrojel, gatifloksasin (GFLX) salımı için kullanılmış	2 saat	(Gao vd, 2018)
β-CDP	ibuprofen salımı için hazırlanmış sodyum aljinat (SA), sodyum karboksimetilselüloz (CMC) ve hidroksietil selüloz (HEC) çapraz bağlanarak oluşturulmuş β-siklodekstrin polimer yapısı	15 saat	(Chen vd, 2018)

4. MATERYAL VE YÖNTEMLER

4.1. Kullanılan Kimyasallar

Elektrokimyasal çalışmalarda kullanılan p-ATP, H₂SO₄, etanol, dopamin, L-DOPA, tirozin, fenilalanin ve serin Sigma-Aldrich (ABD) firmasında dopamin ampüller ise Fresenius (Almanya) firmasından temin edilmiştir. Hidrojellerin sentezinde kullanılan 2-hidroksietil metakrilat (HEMA), Etilen glikol dimetakrilat (EGDMA), amonyum persülfat (APS) Sigma-Aldrich (ABD) firmasından temin edilmiştir. Diğer kullanılan tüm kimyasallar Merck (Darmstadt, Almanya) firmasından temin edilmiştir. Deneylerde kullanılan kimyasallar analitik saflıktadır.

4.2. Kullanılan Cihazlar

Elektrokimyasal çalışmalar VersaStat 3 marka, üç elektrotlu bir potansiyostatla gerçekleştirildi. Çalışma elektrodu olarak yalın ya da modifiye altın elektrot, referans elektrot olarak Ag/AgCl elektrot ve karşıt elektrot olarak Pt tel kullanıldı.

4.3. Elektrokimyasal Sensörlerin Sentezi

4.3.1. Altın Elektrotların Yüzeylerinin Temizlenmesi

Kullanılan elektrotların altın yüzeyleri sırasıyla ince petler üzerine dökülen 0.1 µm and 0.05 µm alümina çözeltileri kullanılarak yüzeyleri temizlenmiştir. Alümina çözeltileriyle muamele edilmiş elektrotlar önce saf su ile iki kez sonra da etil alkol/saf su 50: 50 (h/h) karışımıyla iki kez sonike edilmiştir. Yüzeyde kalmış alümina kalıntıları saf su ile yıkanarak uzaklaştırıldıktan sonra elektrotlar azot gazı ile kurutulmuştur.

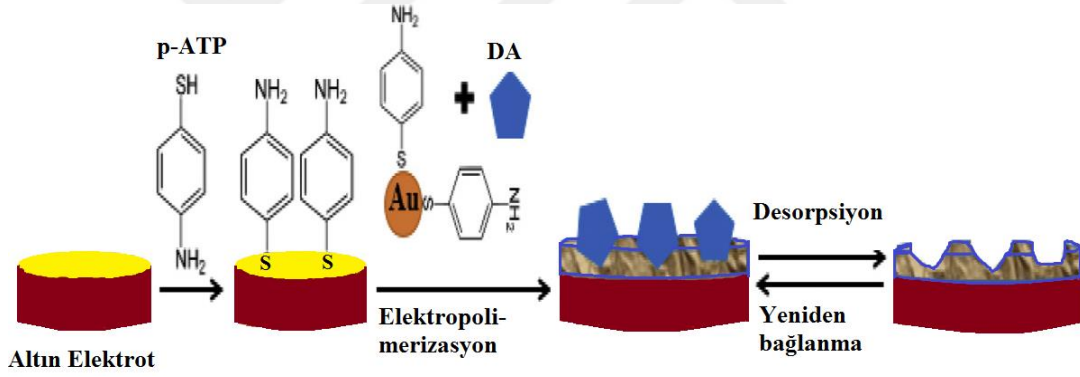
4.3.2. Altın Elektrotlar Yüzeyinde Dopamin Baskılanmış (DA-MIP) ve Baskılanmamış (DA-NIP) Polimerlerin Sentezi

Yüzeyi temizlenen altın elektrot 10 mM p-ATP çözeltisine daldırılarak 24 saat bekletildi. 0.5 M H₂SO₄/etanol çözeltisi içinde 10 mM p-ATP; 1 mM DA ve 0.1 M LiClO₄ sırasıyla monomer, kalıp molekül ve dopant olarak kullanılarak polimerizasyon çözeltisi hazırlandı. Elektrot p-ATP çözeltisinden çıkarıldıktan sonra polimerizasyon çözeltisine daldırıldı. (0)- (1.7) V aralığında 20 mV/s tarama hızında 20 döngü halinde

döngüsel voltametri uygulanarak dopamin baskılanmış polimer (DA-MIP) sentezlendi. Aynı prosedür ortama dopamin ilave edilmeksizin birebir uygulanarak dopamin baskılanmamış polimer (DA-NIP) sentezlendi.

4.3.3. Dopamin Baskılanmış Polimerik Yüzeyden Hedef Molekülün Uzaklaştırılması

Moleküler baskılama işleminin ikinci basamağı kalıp molekülün uygun elüsyon ajanı ile polimerik sistemden uzaklaştırılmasıdır. Bu çalışmada elüsyon ajanı olarak 1 M HCl kullanılmıştır. Baskılanmış polimerik yüzeye sahip elektrot 1 M HCl çözeltisine daldırılarak belirlenen süre boyunca bekletilir daha sonra saf su ile yıkanır. Böylece Şekil 4.1’ de görüldüğü gibi kalıp molekül ile fonksiyonel monomer arasında ikincil etkileşimlerden kaynaklı kurulan bağlar geri dönüşümlü bir şekilde kırılır.



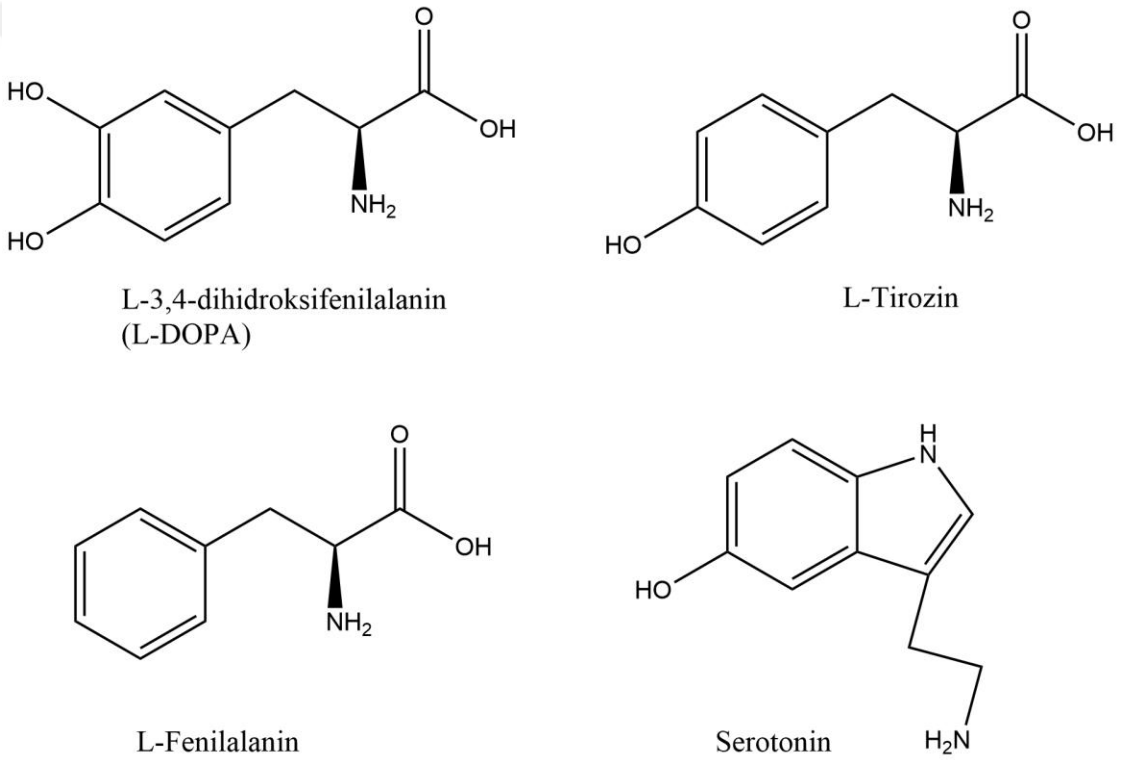
Şekil 4.1. Altın elektrot yüzeyinde DA baskılanmış polimer sentezi ve kalıp molekülün elüsyonu

4.3.4. Elektrokimyasal Sensörle Kinetik Analizler

Dopamin baskılanmış elektrokimyasal sensör hazırlandıktan sonra kinetik analizlere başlanmıştır. Bunun için 50 - 200 nM arasında pH 7.4 fosfat tamponu ile hazırlanmış dopamin çözeltileri ile elektrokimyasal sensör etkileştirilerek kare dalga voltametrisi ile voltamogramlar kaydedilerek kalibrasyon grafiği elde edilmiştir. Elektrotlar farklı derişimlerdeki dopamin çözeltileri etkileştirilirken adsorpsiyon-elüsyon-temizleme basamakları tekrarlanmıştır.

4.4. Geliştirilen Sensörlerin Baskılama Seçiciliğinin Belirlenmesi

Geliştirilen sensörün baskılama seçiciliğinin belirlenmesi için baskılanmış (MIP/DA) sensörün yanı sıra baskılanmamış (NIP/DA) sensör de hazırlanarak kimyasal yapısı kalıp molekül olan dopamin ile benzer bir yapıya sahip Şekil 4.2’ de gösterilen analog moleküllerle seçicilik çalışması yapıldı. Bunun için her iki sensörde her biri pH 7.4 fosfat tampon ortamında, 10 mM konsantrasyonda hazırlanmış dopamin, fenilalanin, tirozin, L-DOPA ve serotonin içeren çözeltilerle etkileştirilerek kare dalga voltamogramları alınmış ve veriler değerlendirilmiştir.



Şekil 4.2. Seçicilik çalışmalarında kullanılan moleküller (pH 7.4 fosfat tampon ortamında, 10 mM konsantrasyonda)

4.5. Dopamin Baskılanmış Sensörün Karakterizasyonu

4.5.1. Dönüşümlü Voltametri (CV) Analizi

Dönüşümlü voltamogramlar 0.1 M KCl çözeltisinde hazırlanmış 1.0 mM $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}/[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$ redoks çifti kullanılarak (0) – (0.6) V aralığında 100 mV/s tarama hızında alındı.

4.5.2. Elektrokimyasal İmpedans Spektroskopisi (EIS) Analizi

Elektrokimyasal impedans spektroskopisi (EIS), modifiye elektrot yüzeyindeki değişimleri gözlemlemek adına çok etkili bir analiz tekniğidir. EIS ölçümleri 0.1 M KCl çözeltisinde hazırlanmış 1.0 mM $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}/[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$ redoks çifti kullanılarak 100 kHz dalga genliği ve 0.02 V elektrot potansiyelinde alındı.

4.6. Elektrokimyasal Sentezin Optimizasyonu

Geliştirilecek elektrokimyasal sensör moleküler baskılama temelli gerçekleştirileceğinden; baskılama prosedürünün düzgün gerçekleşmesi için uygun şartların belirlenmesi önemlidir. Bu nedenle polimerizasyonun gerçekleştiği pH, optimum kalıp molekül- fonksiyonel monomer oranı, polimerizasyon döngü sayısı ve optimum elüsyon zamanının belirlenmesi döngüsel voltametri analizlerinden elde edilen sonuçlar doğrultusunda yapıldı.

4.7. Geliştirilen Sensör Kullanılarak Farmasötik Preparattan Dopamin Tayini

Dopamin ampül (Fresenius, Almanya) kare dalga voltametrisi ile elde edilen doğrusal aralığa girecek şekilde pH 7.4 fosfat tampon ile seyreltildi ve baskılanmış sensörle etkileştirilerek kare dalga voltamogramları alındı.

4.8. Dopaminin UV Spektrofotometrisi ile Tayini

Uygun konsantrasyonlarda hazırlanan dopamin çözeltileri ile maksimum absorbansın gözlemlendiği 280 nm’de spektrumlar alınmış ve bu verilerle bir kalibrasyon grafiği oluşturularak kontrollü salım çalışmasında elde edilen nünuneler de bu verilere dayanarak analiz edildi.

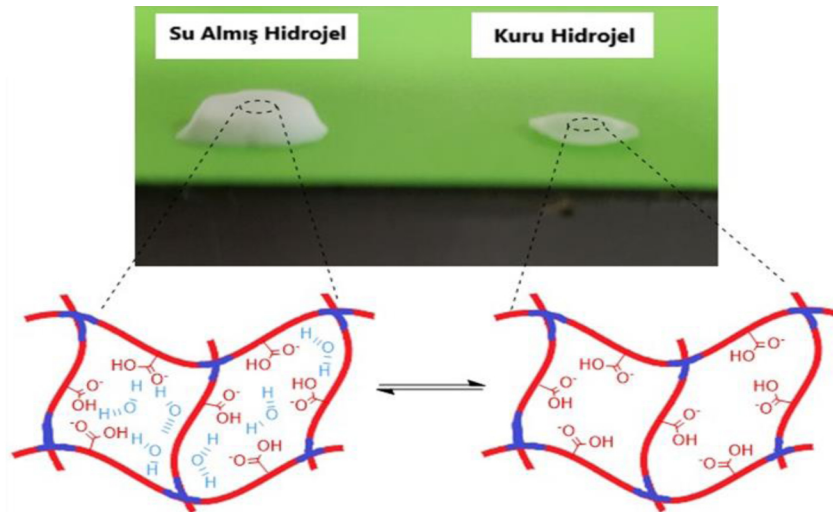
4.9. Hidrojel Sentezi

Hidrojel sentezinde monomer olarak hidroksietilmetakrilat (HEMA), çapraz bağlayıcı olarak etilen glikol dimetakrilat (EGDMA), başlatıcı olarak amonyum persülfat (APS), başlatıcı katalizörü olarak tetrametiletilendiamin (TEMED) kullanılmıştır. Çizelge 4.1’ de verilen miktarlarda HEMA ve EGDMA su içerisinde çözülmüş daha sonra reaksiyon karışımına TEMED ve APS eklenip 1.5 mm çapında, 3 cm yüksekliğindeki vida kapaklı cam tüplere aktarılmış ve iyice karıştırıldıktan sonra oda sıcaklığında 24 saat polimerizasyonun tamamlanması için bekletilmiştir.

Çizelge 4.1. Sentezlenen hidrojellerin içerikleri

Polimer Kodu	Monomer HEMA (μL)	Çapraz Bağlayıcı EGDMA (μL)	Başlatıcı APS (mg)	Başlatıcı Katalizörü TEMED(μL)
H1	500	5	10	20
H2	500	10	10	20
H3	500	25	10	20

Polimerizasyon tamamlandıktan sonra cam tüp kırılarak polimer alınmış, elde edilen hidrojel disklere ayrılmış ve reaksiyona girmeyen kimyasalların temizlenmesi için distile su içerisinde ve bu suyun günde 3 kez değiştirilmesiyle üç gün boyunca yıkanmıştır.



Şekil 4.3. Hidrojellerin şişmiş ve kuru halleri

Hidrojeller sabit tartıma gelene kadar kurutma işlemi etüvde 37 °C’de devam ettirilmiştir. Şekil 4.3’ de hidrojellerin sabit tartıma getirilmiş ve şişmiş halleri gösterilmiştir.

4.10. Hidrojelin Karakterizasyonu

4.10.1. FTIR-ATR Spektrofotometre Analizi

Hidrojellerin karakterizasyonu için FTIR-ATR spektrofotometresi (Thermo Fisher Scientific, Nicolet iS10, Waltham, MA, ABD) kullanılmıştır. Ölçüm yapılan örnek haznesinden 10 dk azot gazı geçirilerek havadan kaynaklanan nem ve karbondioksit uzaklaştırılmıştır. Elektrokimyasal sensör, cihazın örnek yuvasına yerleştirilmiş ve 400-4000 cm⁻¹ dalga sayısı aralığında yüzeyde gerçekleşen toplam yansıma miktarı ölçülerek spektrumlar alınmıştır.

4.10.2. TGA Analizi

Çalışmada kullanılan farklı miktarda çapraz bağlayıcı içeren pHEMA hidrojellerin termal davranışları termogravimetrik analiz cihazı (TGA/DTA 6300, SII EXSTAR 6000, Seiko Instruments Inc., ABD) kullanılarak 25-600 °C sıcaklık aralığında, N₂ atmosferinde 10 °C/dk ısıtma hızı ile incelendi.

4.10.3. SEM Görüntüleme

SEM analizinden önce numune altın ve paladyum ile kaplandı. SEM görüntüleri JEOL JSM-7001F marka cihazla, elektronların 15 kV ile hızlandırılmasıyla alındı.

4.10.4. Şişme Testi

Sabit tartıma getirilmiş hidrojel disk oda sıcaklığında 20 mL distile su içerisinde bekletilip, belirli zaman aralıklarında tartımları gerçekleştirilmiştir. Hidrojelin şişme oranları eşitlik 4.1 kullanılarak hesaplandı.

$$\text{Şişme oranı (\%)} = \frac{W_s - W_0}{W_0} \times 100 \quad (4.1)$$

Eşitlikte W_s şişmiş polimerin ağırlığı; W₀ kuru polimerin ağırlığını ifade etmektedir.

4.11. Dopamin Yükleme Çalışması

Hidrojel numuneleri pH 7.4 fosfat tamponla hazırlanmış 20 mL 10 μ M dopamin çözeltisi içerisinde oda sıcaklığında ve ışıktan korunarak 24 saat boyunca hafif hızda karıştırılarak dopaminle yüklenmişlerdir.

4.12. Dopamin Salımının İncelenmesi

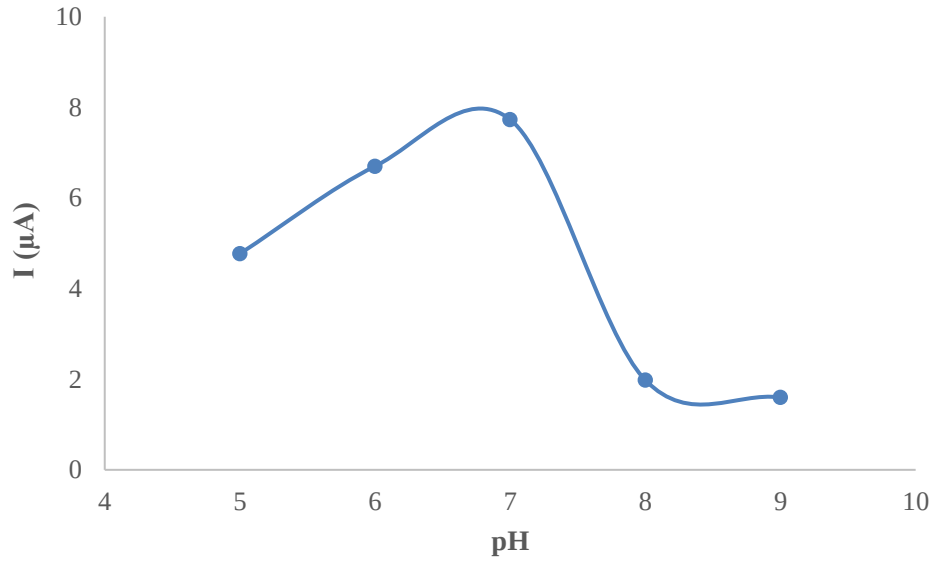
Dopamin yüklemesinden sonra polimer disk çıkarılıp saf su ile 3 defa yıkandıktan sonra pH 7.4 fosfat tampona (20 mL) bırakılarak belli zaman aralıklarında 2 mL numune alındı. Alınan her 2 mL numune yerine 2 mL fosfat tampon konuldu. Alınan numuneler daha sonra UV spektrofotometrisi ile analiz edildi.

5. BULGULAR VE TARTIŞMA

5.1. Baskılanmış Polimer Sentezi İçin Optimum Şartların Elde Edilmesi

5.1.1. Optimum pH' nın belirlenmesi

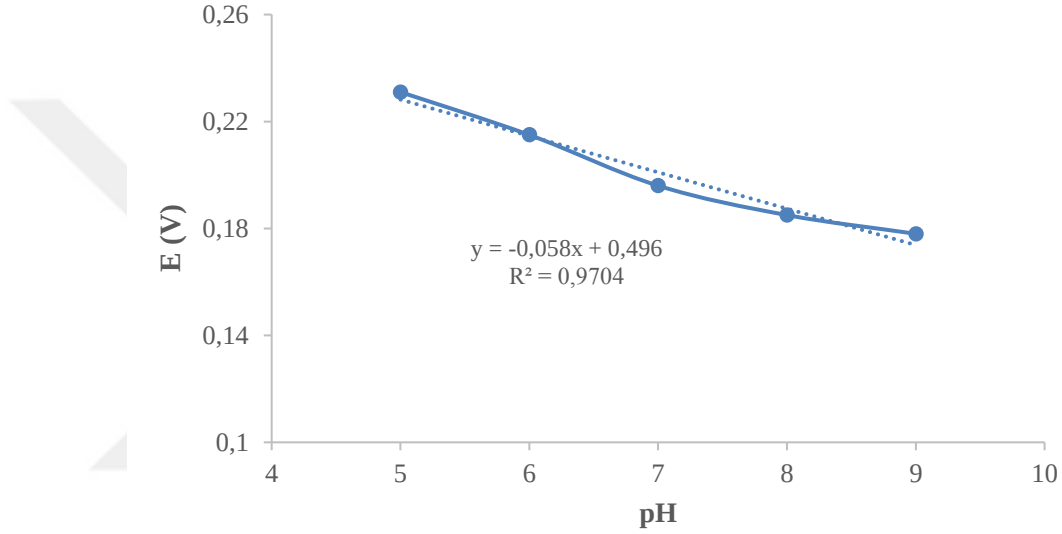
Moleküler baskılama, kalıp molekül etrafında uygun şartlar altında fonksiyonel monomerin polimerizasyon sürecidir. Buna bağlı olarak polimerizasyonun gerçekleşeceği şartlar önemlidir ve bunların başında ortamın pH'sı gelir. Optimum pH'nın belirlenebilmesi için çalışma elektrotu olarak kullanılan altın elektrot üzerinde sentezlenecek polimerin farklı pH ortamlarındaki sinyal yanıtı dönüşümlü voltametri (CV) ile incelendi ve akım değişimleri ölçüldü. Bu şekilde optimum pH'nın yanısıra dopaminin olası oksidasyon reaksiyonundaki aktarılan proton ve elektron sayıları da tespit edilmiştir. Şekil 5.1' de görüldüğü gibi polimerizasyon fizyolojik pH 7.4'da gerçekleştirilmiştir.



Şekil 5.1. Ortam pH' sının polimerizasyon pik akımına etkisi

Şekil 5.1, anodik pik akımının pH 7.4'e kadar arttığını ve pH 7.4'den sonra azaldığını göstermektedir. Dopamin çözeltisinde (1.0 mM, fosfat tampon) en yüksek akım pikinin elde edildiği değer pH 7.4 olduğundan, diğer tüm elektrokimyasal taramalarda pH 7.4 olarak kullanılmıştır.

Pik potansiyeli de elektrokimyasal reaksiyonun gerçekleştiği ortamın pH'sına bağlıdır. Bu nedenle farklı pH'larda ölçülen döngüsel voltamogramlarda (CV) gözlenen pik potansiyelleri ortam pH'sına karşı grafiğe geçirildi ve Şekil 5.2' deki grafik elde edildi. Buradan görüldüğü gibi dopaminin yükseltgenme pik potansiyeli (E_{pa}) artan pH ile daha katodik değerlere kaymaktadır ve bu elektrot yüzeyindeki redoks reaksiyonunda protonların aktif bir şekilde yer aldığını göstermektedir (Li vd, 2017).



Şekil 5.2. Farklı pH' larda pik potansiyelinin değişimi

Tersinir sistemlere ait pik potansiyelinin pH ile değişimini gösteren eşitlik (5.1) göz önünde bulundurularak Şekil 5.2' deki pik potansiyeli-pH ilişkisini gösteren grafiğin doğru denkleminin eğimi $2.303pRT/nF$ değerine eşitlendiğinde p/n değeri 1 olarak bulunur.

$$E_p = E^0 - 2.303 \frac{pRT}{nF} \times pH \quad (5.1)$$

E_p : pik potansiyeli (V)

E^0 : standart hücre potansiyeli (V)

R: ideal gaz sabiti ($J \cdot mol^{-1} \cdot K^{-1}$)

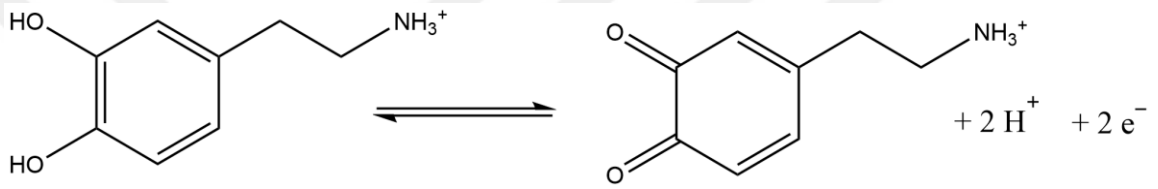
T: sıcaklık (K)

n: elektrokimyasal değişimde transfer edilen elektron sayısı

F: Faraday sabiti ($C \cdot mol^{-1}$)

p: mekanizmaya eşlik eden proton sayısı

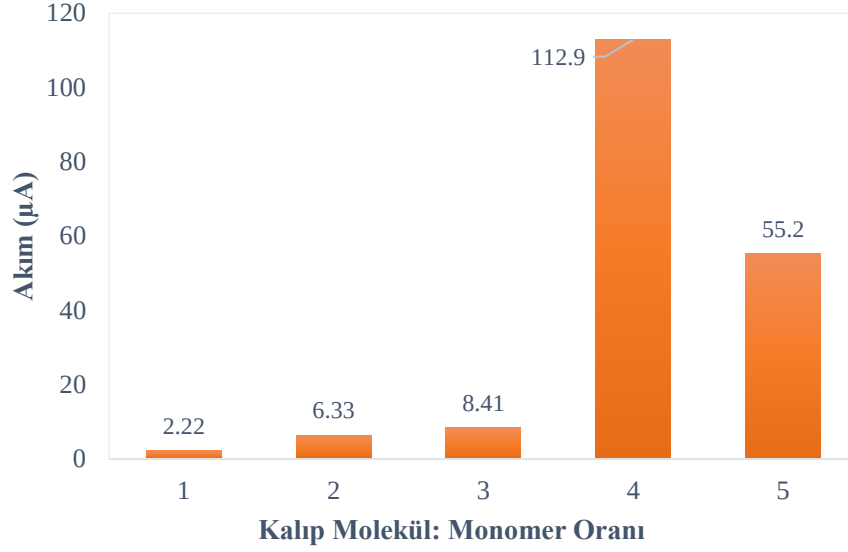
Dopaminin yükseltgenme tepkimesi ve bulunan p/n oranı göz önüne alındığında yükseltgenme mekanizmasında 2 proton yer aldığı ve 2 elektron aktarıldığı söylenebilir (Şekil 5.3). Ayrıca pik potansiyeline karşılık pH grafiği (Şekil 5.2), 58 mV pH⁻¹ eğimle doğrusaldır. Bu değer eşit sayıda proton ve elektron içeren bir elektrot tepkimesi için beklenen 59 mV pH⁻¹ değerine yakındır. Bu da iki protonlu ve iki elektronlu bir elektrot tepkimesinin olduğunu ve p/n oranından yapılan çıkarımın da doğru olduğunu göstermektedir (Duran, 2010; Nassar vd, 1997; Li vd, 2017; Filip ve Tkac, 2014).



Şekil 5.3. Dopaminin olası yükseltgenme mekanizması

5.1.2. Optimum kalıp molekül - fonksiyonel monomer oranının belirlenmesi

Farklı miktarlarda fonksiyonel monomer - kalıp molekül oranlarının, altın elektrot yüzeyinde moleküler baskılanmış polimer sentezine etkisi CV ile analiz edildi. Sabit dopamin derişim (10 mM) ve artan p-ATP (10 - 50 mM) konsantrasyonlarında 5 farklı polimerizasyon yapıldı ve her sentezlenen polimer ile 10 mM Fe(CN)₆^{-3/4} çözeltisi içinde CV ölçümleri alındı. Alınan bu voltamogramlardan elde edilen değerler ile Şekil 5.4' teki grafik oluşturuldu. Grafiğin x ekseninde 1-5 arasında gösterilen değerler sırasıyla 1:1, 1:2, 1:3, 1:4 ve 1:5, kalıp molekül: monomer oranlarında hazırlanmış polimerlerle elde edilmiş sonuçları göstermektedir.

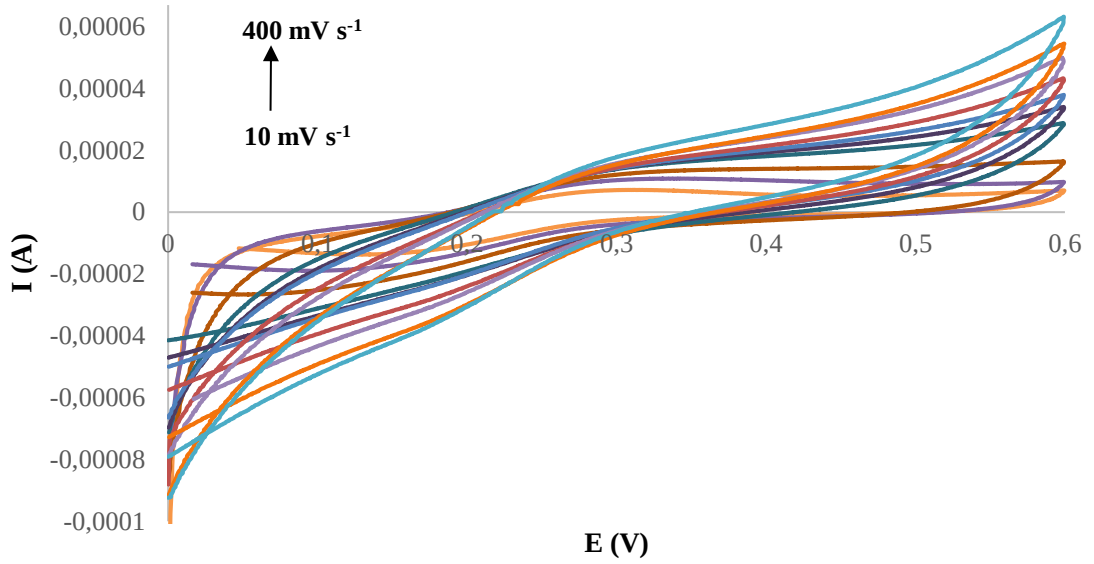


Şekil 5.4. Farklı monomer miktarlarının baskılama prosedürüne etkisi

Bu grafikten de görüldüğü gibi p-ATP konsantrasyonu arttıkça pik akımı artmaktadır ve kalıp molekül: fonksiyonel monomer oranı 1:4 olduğunda maksimum pik akımı elde edilmiştir. Bu nedenle optimum kalıp molekül ve fonksiyonel monomer oranı 1:4 olacak şekilde seçilmiş ve bundan sonraki elektrokimyasal polimer sentezi bu şekilde gerçekleştirilmiştir.

5.1.3. Tarama hızının etkisi

Potansiyel tarama hızının, dopaminin (10 mM, pH 7.4 fosfat tampon) döngüsel voltametrik yanıtına etkisi 10 - 400 mV s⁻¹ tarama hızı aralığında döngüsel voltametri ile incelendi (Şekil 5.5). Buna bağlı olarak tarama hızının kareköküyle akım arasındaki ilişki ise Şekil 5.6' da yer alan grafikte ortaya konuldu.



Şekil 5.5. 10 mM dopaminin DA-MIP/Au elektrot yüzeyinde (pH 7.0 fosfat tampon ortamında) farklı tarama hızlarında döngüsel voltamogramları (10, 20, 40, 80, 100, 120, 150, 200, 250, 300, 400 mV s^{-1})

Dopaminin pik akımlarının, tarama hızının karesi ile lineer ilişkisi Şekil 5.6’ da görülmektedir. $I_{pa} (\mu\text{A}) = 0.7904 v^{1/2} (\text{mV s}^{-1})^{1/2} + 8.4665$ ($R^2=0.9914$) lineer regresyon eşitliği elektrot yüzeyindeki reaksiyonun difüzyon kontrollü olduğunu göstermektedir (Li vd, 2017).

Difüzyon kontrollü elektrot reaksiyonlarında maddenin elektrot yüzeyine aktarım yolu, derişim farkından kaynaklanan kimyasal kuvvetin oluşturduğu kütle aktarım yoludur. Elektrot yüzeyinde bir tabaka oluşur ve bu tabakaya Nernst difüzyon tabakası adı verilir. Bu tabaka elektroda en yakın olan tabaka olup, karışmayan ve difüzyonla taşımının gerçekleştiği bu katmanda oluşan reaksiyonlar Nernst yasasına uygun bir şekilde gerçekleşirler (Tural vd. 2006).

25 °C’ de, yüzey alanı A olan bir elektrot için, C_0 konsantrasyonunda elektrokimyasal redoks çifti difüzyon katsayısı D olan bir çözelti için, v tarama hızıyla CV ile tarama yapıldığında, elde edilen i_p (pik akımı) aşağıdaki Randles-Sevcik eşitliği ile hesaplanır.

$$i_p = (2.69 \times 10^5) n^{\frac{3}{2}} A C_0 D^{1/2} V^{1/2} \quad (5.2)$$

i_p : pik akımı, μA

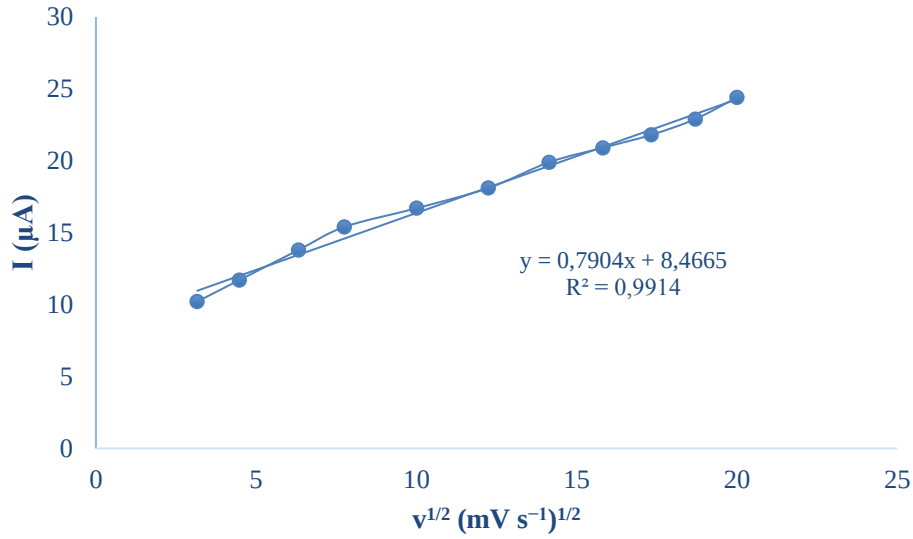
A: elektrot yüzeyi alanı, cm^2

D: difüzyon katsayısı, $cm^2 s^{-1}$

n: elektron stokiyometrisi

v : tarama hızı, mV/s

C_0 ($mol\ cm^{-3}$) : DA konsantrasyonu

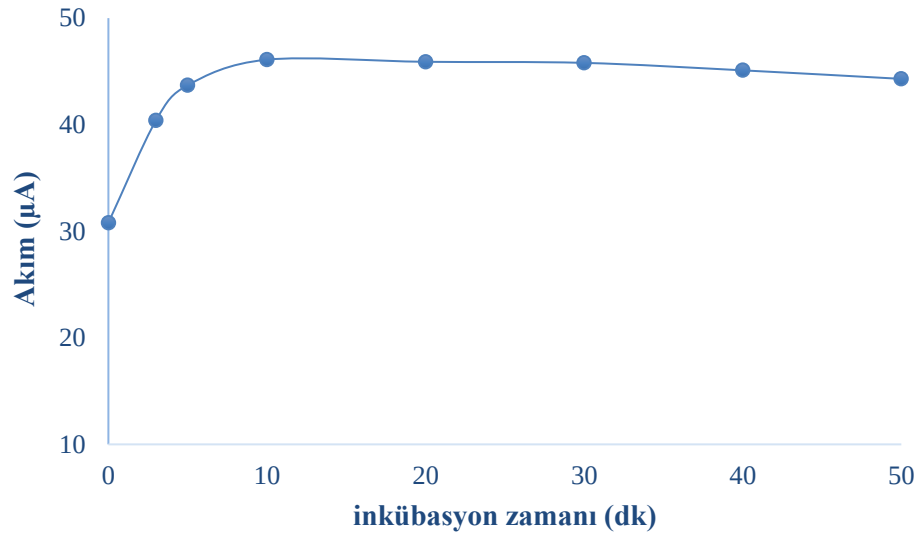


Şekil 5.6. Pik akımının tarama hızının kareköküyle değişimi

Şekil 5.6’ daki grafiğin eğimi ve diğer gerekli verileri kullanarak, difüzyon katsayısı $4.452 \times 10^{-5} cm^2 s^{-1}$ olarak bulunmuş ve bu veri literatürdeki diğer dopamin çalışmaları ile desteklenmiştir (Kiss vd, 2016).

5.1.4. Optimum inkübasyon zamanının belirlenmesi

İnkübasyon zamanı, moleküler baskılanmış elektrot yüzeyine dopaminin adsorpsiyonunu pik akımının bir fonksiyonu olarak etkileyen önemli faktörlerden biridir. Dopaminin elüsyon basamağından sonra, MIP elektrot 0 ila 50 dakika arasında değişen sürelerde, 50 μM DA içeren 0.1 M fosfat tampon (pH 7.4) çözeltisine daldırıldı. SWV ile pik akımları ölçülerek Şekil 5.7’de görülen pik akımı ve inkübasyon zamanı arasındaki ilişkiyi ortaya koyan grafik elde edildi. Pik akımı, on dakikalık inkübasyon zamanı oluncaya kadar hızla artmıştır. Bu süreden sonra inkübasyon zamanı stabilize olmuş ve ardından dengeye gelmiştir. On dakikalık inkübasyon zamanında stabilize olması adsorpsiyon dengesinin kurulduğunu gösterdiğinden bu süre optimum zaman olarak belirlenmiş ve sonraki çalışmalarda bu süre kullanılmıştır.

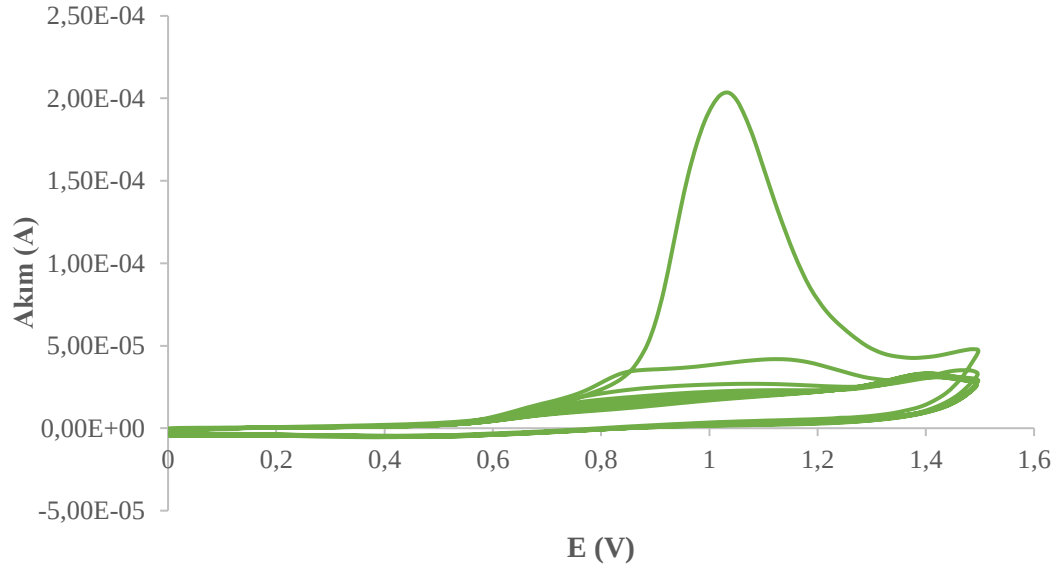


Şekil 5.7. Pik akımının inkübasyon zamanı ile değişimi

5.2. Dopamin Baskılanmış (DA-MIP) ve Baskılanmamış (DA-NIP) Sensörlerin Sentezi

Yüzeyi temizlenen elektrot 10 mM p-ATP çözeltisine daldırılarak 24 saat bekletildi. 0.5 M H_2SO_4 /etanol çözeltisi içinde 60 mM p-ATP; 15 mM DA ve 0.1 M LiClO_4 sırasıyla monomer, kalıp molekül ve dopant olarak kullanılarak polimerizasyon çözeltisi hazırlandı. Elektrot p-ATP çözeltisinden çıkarıldıktan sonra polimerizasyon çözeltisine

daldırıldı. Döngüsel voltametri uygulanarak (0) - (1.5) V aralığında 20 mV/s tarama hızında 20 döngü halinde dopamin baskılanmış polimer (DA-MIP) sentezlendi. Ortama dopamin ilave edilmeksizin yukarıdaki prosedür birebir uygulanarak dopamin baskılanmamış polimer (DA-NIP) sentezlendi. Şekil 5.8’ de görüldüğü gibi 1 V civarında tersinmez bir oksidasyon piki gözlenmiştir. Sonuç olarak, döngüler gerçekleşirken, anodik pikte görülen tersinmez bir düşüş, elektrot yüzeyi üzerinde polimer filmin oluştuğunu göstermektedir (Hutchins vd, 1995).



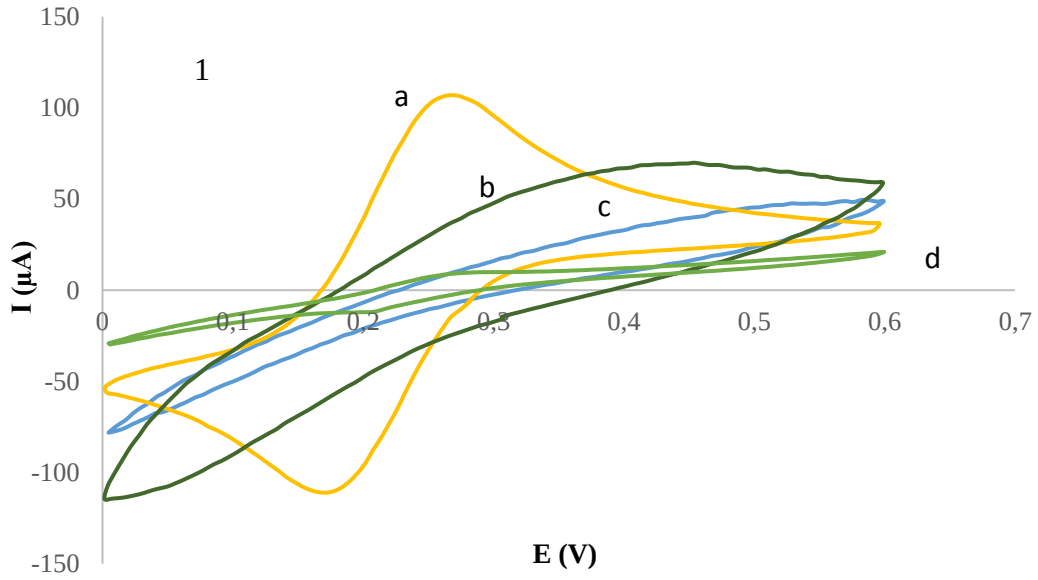
Şekil 5.8. p-ATP (60 mM) altın elektrot üzerinde dopamin varlığında (15 mM) elektropolimerizasyonu (tarama hızı, 100 mVs⁻¹; tarama numarası, 20)

5.3. Sensörlerin Karakterizasyonu

5.3.1. Dönüşümlü Voltametri (CV) Analizi

NIP ve MIP elektrotların elektrokimyasal karakterizasyonu için dönüşümlü voltametri kullanıldı. Dönüşümlü voltamogramlar 0.1 M KCl içinde [Fe(CN)₆]³⁻/[Fe(CN)₆]⁴⁻ çözeltisi ile alındı. Şekil 5.9’ daki a, yalın elektrotu; b, baskılanmış elektrottan dopamin uzaklaştırıldıktan sonraki durumu; c, elektropolimerizasyondan sonraki durumu ve d ise kalıp molekül uzaklaştırıldıktan sonra (b) tekrar baskılanmış elektrotun dopamin ile etkileştirilmiş halini göstermektedir. Elektropolimerizasyon sonrasında, polimer film

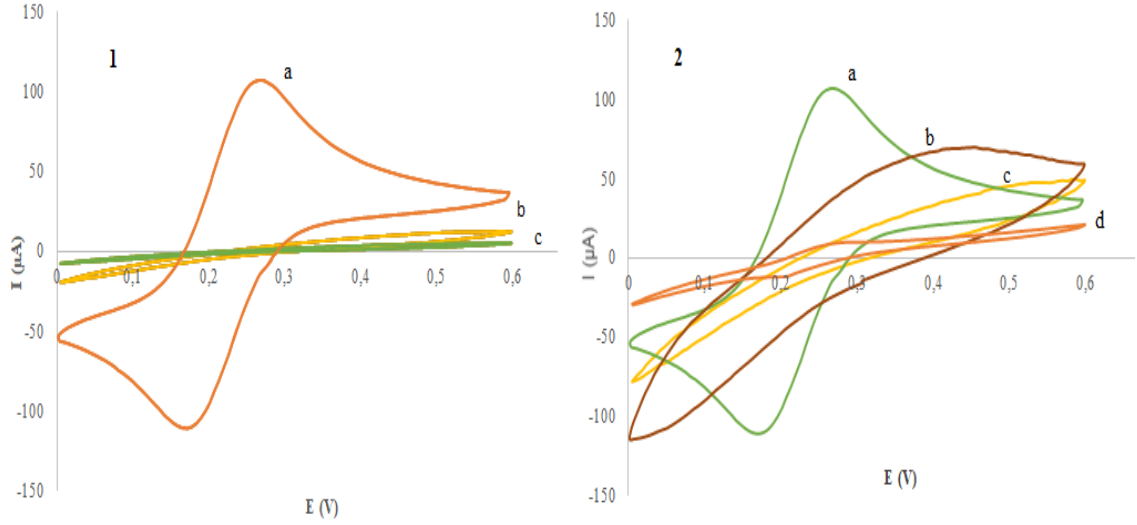
elektron transferini engeller ve bu Şekil 5.9’ da görülen a’dan c’ye görülen akım düşüşüne neden olmaktadır. Aynı şekilde görülen c’den b’ye geçiş kalıp molekülün uzaklaştırılmasını gösterir. Kalıp molekül uzaklaştırıldıktan sonra, oluşan spesifik boşluklar $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}/[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$ arasında redoks reaksiyonu olmasına izin verir ve bu akım artışına neden olur. Bu b’deki pik akımın c’ye nazaran neden daha fazla olduğunu açıklar. Dopamin uzaklaştırılmış polimer (c) tekrar dopaminle etkileştirilip, kaviteler dopamin ile tekrar dolunca bu durum, elektron transferinin engellenmesine bağlı olarak d’de görüldüğü gibi akım düşüşüne neden olmuştur.



Şekil 5.9. Farklı durumlar altında MIP modifiye elektrotta ait dönüşümlü voltamogramlar: a) yalın elektrot; b) dopamin uzaklaştırıldıktan sonra MIP elektrot c) MIP elektrot; d) dopamin ile tekrar etkileştirildikten sonra MIP elektrot

Baskılanmamış ve baskılanmış sensörlerin dönüşümlü voltamogramlarına baktığımızda moleküler baskılama işleminin analiti tanımda ne denli önemli olduğu daha net görülmektedir. Şekil 5.10’ da bu fark açıkça ortaya konulmuştur. Şekil 5.10, 1.c’de NIP sensörün pik akımı yaklaşık 5 μA iken analit ile etkileştirildikten sonra 8 μA olmuştur (Şekil 5.10, 1.b). Baskılanmış sensöre baktığımızda ise Şekil 5.10, 2.b’de analit uzaklaştırıldıktan sonra elektrotun akımı 65 μA iken dopamin ile etkileştirildiğinde 10 μA ’e (Şekil 5.10, 2.d) kadar düşmüştür. Bu düşüşün sebebi

baskılanmış sensörün, analite özgü kavitelerinin analit molekülleri yani dopamin molekülleri tarafından doldurulup elektron transferine direnç göstermesidir. Görüldüğü gibi baskılanmamış sensörün analitle etkileştirilmesiyle yaklaşık 3 μA 'lık değişim olurken, baskılanmış sensörde analit ile elektrotun etkileşimi sonucu akım yaklaşık altı kat azalmıştır.

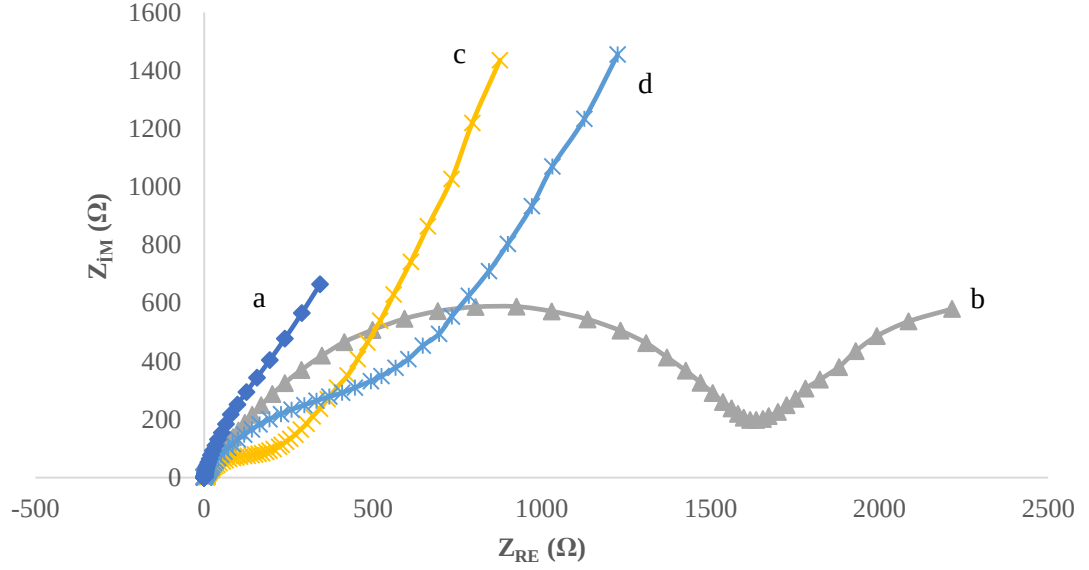


Şekil 5.10. Farklı durumlar altında NIP (1) ve MIP (2) modifiye elektrotlara ait dönüşümlü voltamogramlar: 1.a) yalın elektrot; 1.b) dopamin uzaklaştırıldıktan sonra NIP elektrot; 1.c) dopamin ile tekrar etkileştirildikten sonra NIP elektrot 2.a) yalın elektrot; b) dopamin uzaklaştırıldıktan sonra MIP elektrot c) MIP elektrot; d) dopamin ile tekrar etkileştirildikten sonra MIP elektrot

5.3.2. Elektrokimyasal İmpedans Spektroskopisi (EIS) Analizi

Baskılanmış elektrot yüzeyindeki değişimleri gözlemlemek için farklı koşullar altında altın elektrot yüzeyi elektrokimyasal impedans spektroskopisi ile incelenip Şekil 5.11'de ki grafik elde edilmiştir. Şekil 5.11'de yer alan a yalın elektrot, b MIP elektrot, c dopamin uzaklaştırıldıktan sonra MIP elektrot; d ise dopamin ile tekrar etkileştirildikten sonra MIP elektrot yüzeyindeki direnç değişimlerini göstermektedir. Buna göre MIP filmin oluşumuyla, altın elektrot yüzeyi polimerik film tabakası ile kaplandığından bu dirençte artmaya neden olmuştur. Bu artış Şekil 5.11' de ki a'dan b'ye olan artıştan da görülmektedir. Hazırlanan baskılanmış polimerik film tabakası

yalıtkan bir tabaka gibi davranıp, elektrolit ve elektrot arasındaki elektron transferini engeller.

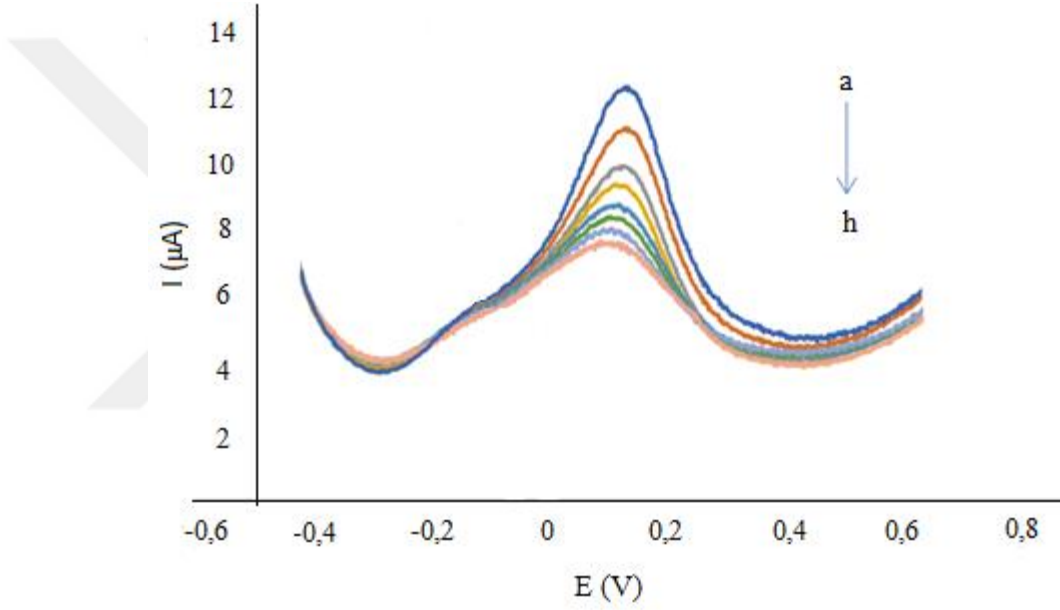


Şekil 5.11. Farklı durumlar altında MIP modifiye elektrota ait AC impedans eğrileri: a) yalın elektrot; b) MIP elektrot; c) dopamin uzaklaştırıldıktan sonra MIP elektrot; d) dopamin ile tekrar etkileştirildikten sonra MIP elektrot

Bundan sonra kalıp molekülün uzaklaştırılmasıyla dirençte bir azalma söz konusu olur ve bu da eğrinin b'den c'ye değişimini açıklar. Bu dopaminin başarılı bir şekilde ekstraksiyonundan kaynaklanır. Dopaminin uzaklaştırılmasıyla oluşan boşluklar elektrolit ve elektrot arasında analiz boyunca elektron transferini mümkün kılar. Bu da direncin azalmasına neden olur. Kalıp molekülün uzaklaştırılmasının ardından elektrot tekrar dopamin ile etkileştirildiğinde direnç artmıştır; c'den d'ye olan değişim bunu göstermektedir. Bu artış dopaminin kavileri doldurmasıyla elektrolit ve elektrot arasındaki elektron transferini engelleyerek direnç artışına neden olur. Bu artış polimer filmin dopamin için tanıma bölgeleri içerdiğini ve MIP filmin düzgün hazırlandığını göstermektedir.

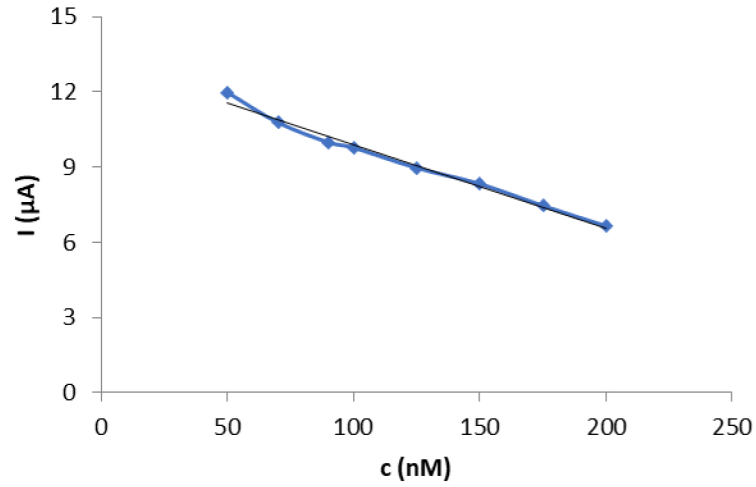
5.4. Kare Dalga Voltametrisi ile Analitik Eğrinin Oluşturulması ve Özelliklerinin Belirlenmesi

Belirlenen optimum koşullarda, 0.1 M, pH 7.4 fosfat tampon çözeltisinde hazırlanmış farklı konsantrasyonlardaki dopamin (50 - 200 nM) elektrokimyasal sensör sistemi ile etkileştirilerek kare dalga voltamogramları alınmıştır (Şek. 5.12). Dopamin derişimine karşı alınan voltamogramlar grafiğe geçirilerek kalibrasyon eğrisi elde edildi (Şek. 5.12).



Şekil 5.12. Dopaminin moleküler baskılanmış sensör kullanılarak alınan kare dalga voltamogramları (a) 50; (b) 70; (c) 90; (d) 100; (e) 125; (f) 150; (g) 175; (h) 200 nM DA

Şekil 5.12’ de görüldüğü gibi, optimize edilmiş şartlar altında dopaminin artan konsantrasyonlarda ilavesiyle DA/MIP/Au elektrot ile kare dalga voltamogramlar kaydedilmiştir. Bu şartlar altında artan konsantrasyon ile baskılanmış polimerdeki kavitelerin dolmasına bağlı olarak yaklaşık 0.12 V civarındaki dopamin oksidasyon pikinin, azaldığı ortaya çıkmıştır. Pik akımı ve DA konsantrasyonu arasında 50-200 nM aralığında lineer bir ilişki mevcuttur (Şekil 5.13) ve Çizelge 5.1’ den de görüldüğü gibi tayin limiti sinyal/gürültü oranı 3 alınarak 18.11 nM olarak hesaplandı (Li vd, 2009).



Şekil 5.13. Dopaminin SWV yöntemi ile elde edilen kalibrasyon eğrisi (n = 6)

Bu değerler literatürde dopamin tayini için hazırlanmış bazı sensörlerle karşılaştırıldığında, hazırlanan sensörün oldukça başarılı olduğu görülmektedir (Gholivand ve Amiri, 2012; Mao ve Bao, 2011).

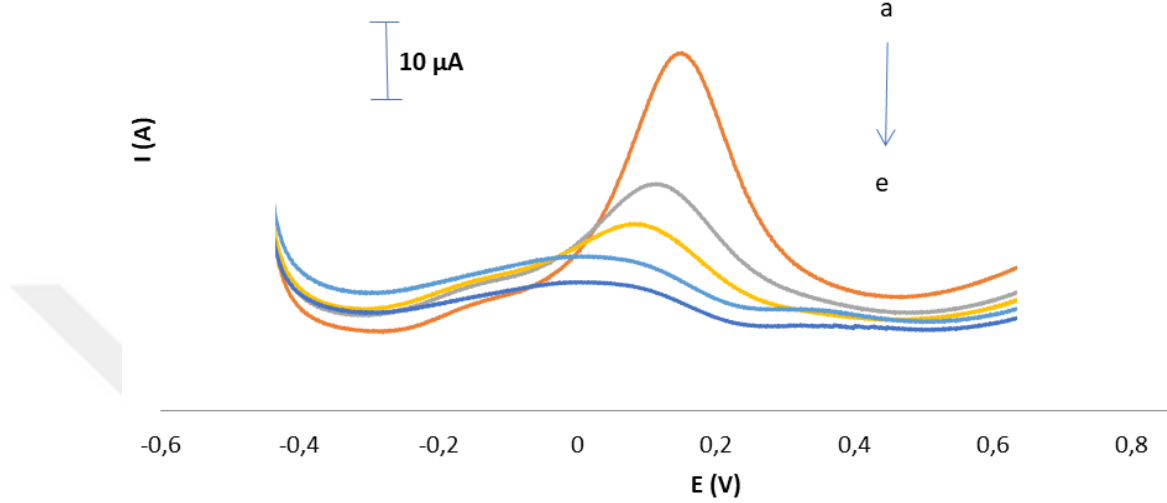
Çizelge 5.1. SWV yöntemine ait kalibrasyon eğrisinin özellikleri (n=6)

Regresyon Denklemi	$y = -0,0334x + 13,245$
Korelasyon katsayısı (r)	0,9865
Kalibrasyon aralığı (nM)	50-200
LOD (nM)	18,11
LOQ (nM)	54,33

5.5. Geliştirilen Elektrokimyasal Sensörün Baskılama Seçiciliğinin Belirlenmesi

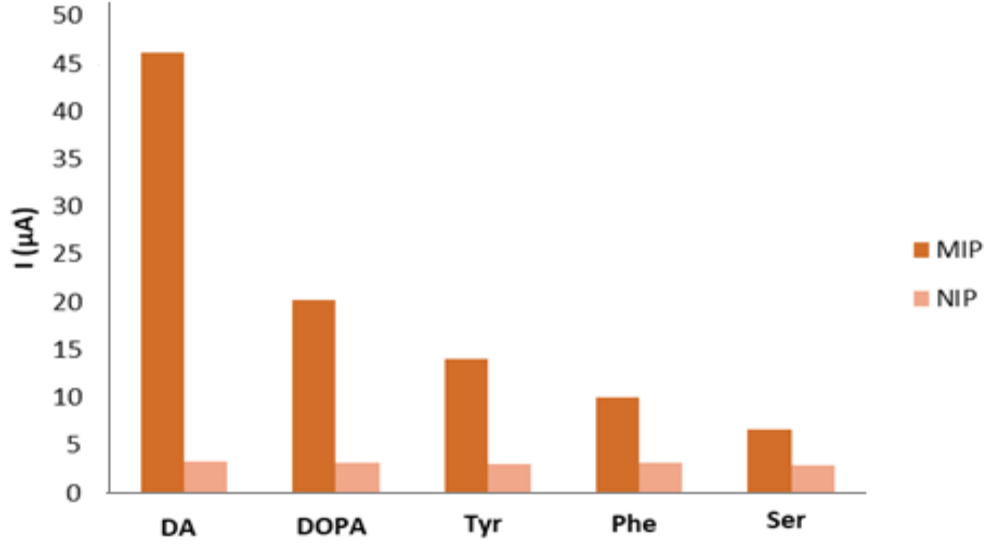
Baskılanmış sensörün seçiciliğinin belirlenmesi için belirlenmiş optimum şartlar gözetilerek, baskılanmış (MIP/DA) ve baskılanmamış (NIP/DA) sensörler hazırlandı. Hazırlanan bu sensörler, her biri pH 7.4 fosfat tampon ortamında, 10 mM konsantrasyonda hazırlanmış, molekül yapıları Bölüm 4.4'te belirtilen dopamin, fenilalanin, tirozin, L-DOPA ve serotonin içeren çözeltilerle optimum şartlarda etkileştirilerek kare dalga voltamogramları alınmış ve veriler değerlendirilmiştir.

MIP/DA sensörle alınmış voltamogram ve her iki sensörle elde edilmiş histogramlar, sırasıyla Şekil 5.14 ve Şekil 5.15' de görülmektedir.



Şekil 5.14. Baskılanmış sensörün farklı moleküllerle çekilmiş kare dalga voltamogramları a) dopamin b) L-DOPA c) tirozin d) fenilalanin e) serotonin (tüm çözeltiler pH 7.4 fosfat tamponda 10 µM konsantrasyonda)

Hem voltamogramlardan hem de histogramdan MIP'nin baskı molekülü olan dopamine yüksek seçicilikte bağlandığı, seçilen benzer moleküllerden yapısı dopamine en çok benzeyen L-DOPA ile etkileşimde bile baskılanmış sensörün kalıp molekül olan dopamine nazaran çok düşük pik akımı verdiği Şekil 5.15'de belirtilen histogramda açıkça görülmektedir. Seçiciliğin belirlenmesi sensörün dopaminin kendisine yapıcı benzer analog moleküllerine verdiği yanıt ile ölçülür. Elde edilen sonuçlar, dopaminin diğer analog moleküllere göre moleküler baskılanmış polimerdeki kavitelere çok daha fazla uyum sağladığını göstermektedir.



Şekil 5.15. Baskılanmış ve baskılanmamış sensörlerle elde edilen pik akımlarıyla oluşturulmuş histogramlar

Seçicilik performansının daha iyi tespit edilebilmesi için seçicilik faktörü (α) ve baskılama faktörü (β) aşağıdaki eşitliklere göre hesaplandı:

$$\alpha (\text{seçicilik faktörü}) = \Delta I_{\text{sensörün kalıp moleküle yanıt}} / \Delta I_{\text{sensörün girişimci moleküle yanıt}} \quad (5.3)$$

$$\beta (\text{baskılama faktörü}) = \alpha_{\text{baskılanmış (MIP)}} / \alpha_{\text{kontrol (NIP)}} \quad (5.4)$$

Genel olarak α 'nın 1.0 civarındaki değeri göz ardı edilebilir bir seçiciliğin göstergesi iken, yüksek β değeri daha iyi baskılamanın göstergesidir (Liu, 2015).

Dopamin baskılanmış sensörün dopamine karşı seçiciliğinin belirlenmesi için seçicilik deneyleri optimum şartlar altında yukarıda belirtilen analog moleküllerin çözeltileri kullanılarak gerçekleştirildikten sonra Çizelge 5.2'de elde edilen verilerle sensörün diğer analog moleküllere karşı seçicilik katsayıları ve baskılama katsayıları hesaplanmıştır.

Çizelge 5.2. Sentezlenmiş MIP ve NIP Sensörlerin seçicilik analizi sonuçları

	MIP		NIP		β
	Akım (μ A)	α	Akım (μ A)	α	
DA	46.11	-	3.25	-	
DOPA	20.25	2.3	3.15	1.03	2.2
Tyr	14.06	3.2	3.07	1.06	3.0
Phe	9.97	4.6	3.21	1.01	4.5
Ser	6.65	6.9	2.9	1.1	6.3

Buna göre, özellikle DOPA ve tirozinin molekül yapıları dopamine oldukça benzemektedir. Şekil 5.14'den de görüldüğü gibi baskılanmış sensör dopamine, kullanılan tüm analog moleküllere verdiği tepkiden daha fazla tepki vermiştir. Dopamin için elde edilen sinyal değeri 46,11 μ A iken DOPA için 20,25 μ A, tirozin için 14,06 μ A, fenilalanin için 9,97 μ A ve serotonin için de 6,65 μ A sinyal değerleri elde edilmiştir.

Bu değerlerden seçicilik faktörü (α) değerleri, Dopamin/DOPA çifti için 2.3; Dopamin/Tyr çifti için 3.2; Dopamin/Phe çifti için 4.6; Dopamin/Ser çifti için ise 6.9 olarak bulunmuştur. Baskılanmamış sensörün ise aynı derişimdeki çözeltilere karşı verdiği sinyalin oldukça benzer olduğu Çizelge 5.2' de görülmektedir. Baskılanmamış sensörün seçicilik faktörü (α) değerleri, Dopamin/DOPA çifti için 1.03; Dopamin/Tyr çifti için 1.06; Dopamin/Phe çifti için 1.01; Dopamin/Ser çifti için ise 1.1 olarak bulunmuştur. Elde edilen verilere göre baskılanmamış (DA/NIP) sensör, dopamin baskılanmış sensöre (DA/MIP) göre, dopamine karşı çok az seçicilik göstermiştir. Bunun sebebi NIP/DA sensörde dopamine özgü kaviteilerin bulunmamasıdır.

Tespit edilen baskılama faktörlerine göre (β), DA/MIP sensörün dopamine; DOPA'ya göre 2.2 kat, tirozine göre 3.0 kat, fenilalanine göre 4.5 kat, serotonine göre 6.3 kat daha seçici olduğu tespit edilmiştir. Elde edilen veriler aracılığıyla da tespit edildiği gibi DA baskılanmış sensör yapısındaki DA'e özgü kaviteeler nedeniyle

aralarında dopaminin de bulunduğu analitlerden en fazla dopamin ile etkileşmiştir. Bu da baskılama prosedürünün polimere daha yüksek seçicilik kattığını ortaya koymuştur.

5.6. Baskılanmış Sensörün Tekrar Edilebilirlik, Tekrar Üretilirlik ve Stabilité Çalışmaları

Tekrar edilebilirliği belirleyebilmek için 100 nM DA çözeltisi, optimum şartlar altında hazırlanmış MIP/DA sensör kullanılarak kare dalga voltametrisi ile başarılı bir şekilde 6 defa analiz edildi. Çizelge 5.3’ de görüldüğü gibi ölçülen pik akımlarının bağıl standart sapması 3.55 değeriyle sensörün iyi bir tekrar edilebilirliğe sahip olduğunu göstermektedir.

Çizelge 5.3. MIP/DA sensörün kare dalga voltametrisi ile tespit edilen tekrar edilebilirlik değerleri (n=6)

Ölçüm Sayısı	Sensör Yanıtı (μA)	Ölçüm Sayısı	Sensör Yanıtı (μA)	Std. Sapma	BSS (%)
1	9.82	4	9.87	0.345	3.55
2	9.99	5	8.98		
3	9.76	6	9.97		

Tekrar üretilebilirliğin tespiti için aynı koşullar altında 5 ayrı MIP/DA sensör sentezlenmiş ve bu sensörler 100 nM DA analizi için kullanılmıştır. Her bir sensörle altı defa analiz yapılarak Çizelge 5.4’ te görülen sonuçlar elde edilmiştir. Buna göre elde edilen 5 farklı sonucun birbirine yakın değerlerde olması sensörün tekrar üretilebilirliğinin yüksek olduğunu göstermektedir.

Çizelge 5.4. Üretilen MIP/DA sensörlerin kare dalga voltametrisi ile tespit edilen tekrar üretilebilirlik değerleri (n=6)

Üretilen MIP/DA Sensör	1	2	3	4	5
Sensör Yanıtı (μA)	9.98±1.8	9.87±1.7	9.96±2.2	9.67±1.2	9.75±2.3

Baskılanmış sensörün kararlılığını tespit edebilmek için dopaminin polimerik yapıdan ekstraksiyon sonrası tekrar bağlanma ve tekrar ekstraksiyonu ile akım yanıtının değişimi kaydedilmiştir. Optimum şartlar altında ekstrakte edilmiş MIP/DA sensör

Çizelge 5.5’de belirtilen farklı zaman dilimlerinde bekletildikten sonra optimum şartlar altında 100 nM DA (pH 7.4 fosfat tampon ortamında) çözeltisi ile etkileştirilip kare dalga voltamogram alınarak sensörün yanıtı incelenmiştir. Her bir ölçüm 6 kez tekrarlanarak ortalama değer yazıldı. Sensör kullanılmadığı zamanlarda +4 °C, pH 7.4 fosfat tampon çözeltisinde bekletilmiştir.

Çizelge 5.5. MIP/DA sensörün absorpsiyon/desorpsiyon sonrası dopamin çözeltisine verdiği Yanıt (n=6)

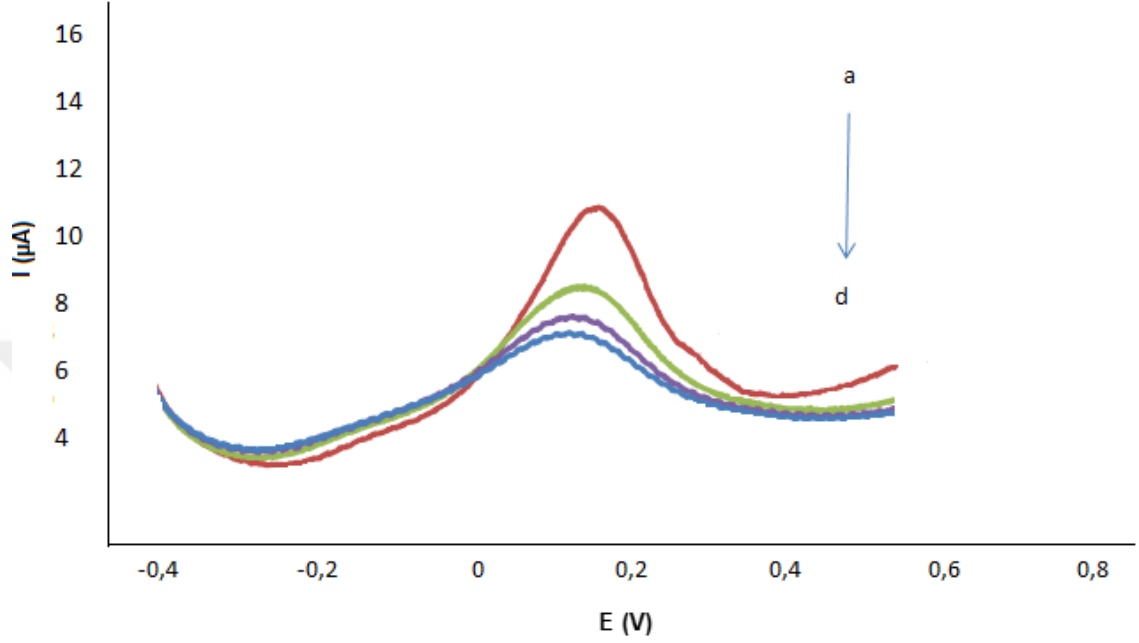
Süre (saat)	MIP/DA Sensör yanıtı (µA)	Bulunan DA Konsantrasyonu (nM)	Süre (gün)	MIP/DA Sensör yanıtı (µA)	Bulunan DA Konsantrasyonu (nM)
1	9.89	100.40	1	9.47	113.02
2	9.87	101.04	7	10.02	96.55
5	9.85	101.64	14	10.08	94.76
10	9.79	103.44	21	10.24	89.97

Çizelge 5.5’ den görüldüğü gibi DA/MIP sensör pH 7.4 fosfat tamponda 4 °C’ de bekletildiği takdirde en az üç hafta, önemli ölçüde sinyal kaybı olmadan kullanılabilmiştir (Pacheco vd, 2015).

5.7. Geliştirilen Elektrokimyasal Sensörle Dopaminin Farmasötik Preparattan Analizi

DA/MIP sensörün uygulanabilir olduğunu görmek için Fresenius (Almanya) marka dopamin ampülleri kullanılarak etkin madde miktar analizi gerçekleştirildi. Ampüller 50, 100, 150 ve 200 nM olacak şekilde pH 7.4 fosfat tamponla seyreltilmiş ve optimum şartlar altında MIP/DA sensörle etkileştirilerek kare dalga voltamogramları alınmıştır. Farmasötik örneklerle elde edilen kare dalga voltamogramlar Şekil 5.16’da görülmektedir. Bu voltamogramlardan elde edilen pik akımları daha önce belirlenmiş, Çizelge 5.1’deki kalibrasyon eşitliğine uygulandığında elde edilen sonuçlar Çizelge 5.6’da verilmiştir. Bu sonuçlara göre hazırlanan sensörle yapılan farmasötik preparattan dopamin tayininde

elde edilen geri kazanım değerleri yüksektir. Bu da MIP/DA sensörün farmasötik preparattan dopamin analizinde başarılı olduğunu göstermektedir.



Şekil 5.16. Farmasötik preparattan elde edilen dopamin çözeltilerinin kare dalga voltamogramları ((a) 50, (b) 100, (c)150, (d) 200 nM)

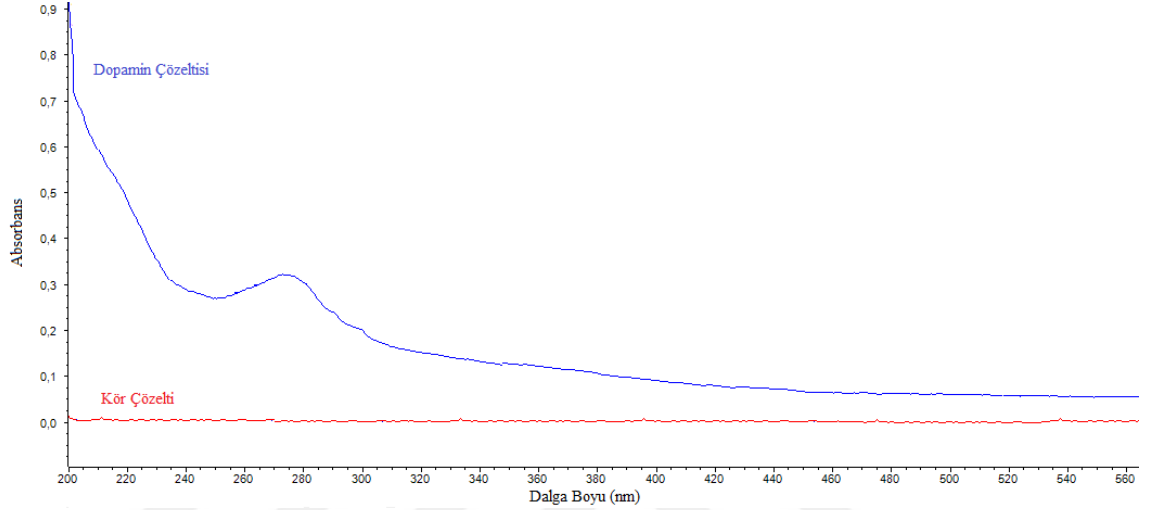
Çizelge 5.6. Kare dalga voltametri ile belirlenen farmasötik preparatın geri kazanım değerleri

Dopamin Konsantrasyonu (nM)	Bulunan Konsantrasyon (nM) $\pm$ Std. Sapma	Geri Kazanım (%)
50	50.1 $\pm$ 0.18	100.2
100	98.6 $\pm$ 0.28	104.6
150	153.6 $\pm$ 1.02	102.4
200	205.2 $\pm$ 1.67	102.6

5.8. UV Spektroskopisi ile Analitik Eğrinin Oluşturulması ve Özelliklerinin Belirlenmesi

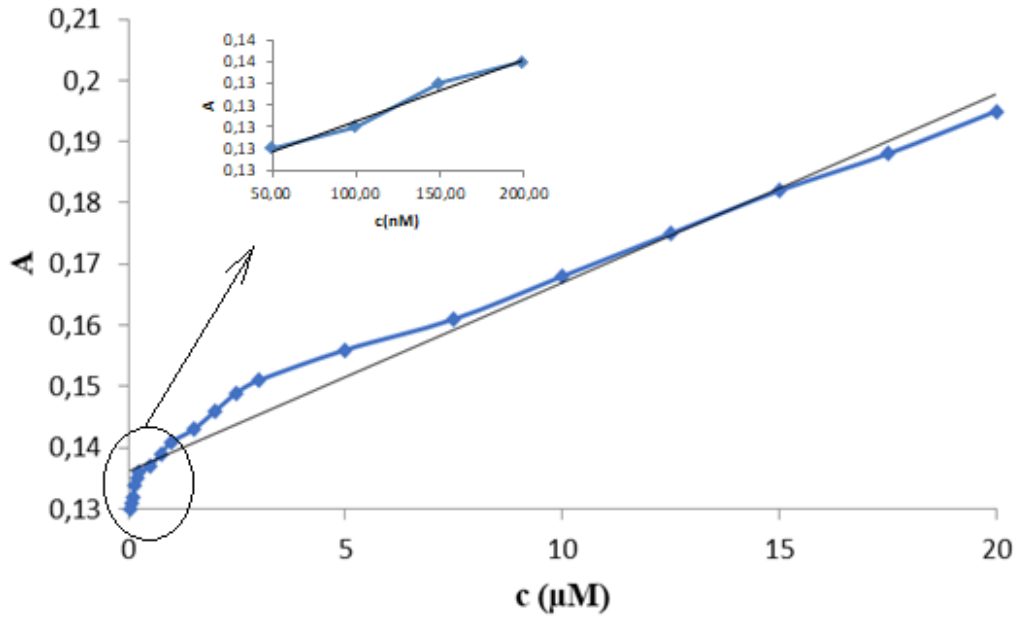
Elektrokimyasal sensörle elde edilen sonuçları valide etmek için Bölüm 4.6’ da anlatıldığı gibi aynı koşullar altında dopamin çözeltileri kullanılarak etkin madde miktar analizi gerçekleştirildi. Dopamin çözeltileri, pH 7.4 fosfat tampon ortamında

hazırlanmış 100 μ M stok dopamin çözeltisinden hazırlandı. Bu çözeltiden uygun hacimlerde çözeltiler alınıp tampon çözeltisi ile 10 mL son hacme tamamlanmış ve iyice karıştırılmıştır. Spektrum pH 7.4 fosfat tampona göre alınmış ve Şekil 5.17’de görüldüğü gibi analiz için uygun dalga boyu 280 nm ($\lambda_{maks.}$) olarak belirlenmiştir.



Şekil 5.17. pH 7.4 fosfat tamponla hazırlanmış dopamin çözeltisinin UV spektrumu

Dopaminin görünür bölgede bir miktar absorbansı olmasına rağmen, bu absorbans UV bölgedekine göre daha zayıftır (El-Zohry ve Hashem, 2013). Bu şartlar altında elde edilen kalibrasyon eğrisi ve kalibrasyon eğrisinin özellikleri Şekil 5.18’de ve Çizelge 5.7’de görülmektedir. Kontrollü salım çalışmalarında salım profilinin elde edilmesinde ve geliştirilen elektokimyasal sensörün sonuçlarının karşılaştırılmasında UV spektroskopisi kullanılacağı için UV kalibrasyon eğrisi geniş bir konsantrasyon aralığında elde edilmiştir.



Şekil 5.18. Farklı konsantrasyonlarda dopamin çözeltileriyle elde edilen UV- kalibrasyon eğrisi

Çizelge 5.7. UV-Kalibrasyon Eğrisinin Özellikleri

Lineer Aralık (µM)	0,05-20
λ max (nm)	280
ε (L/mol/cm)	3.21x10 ⁴
Kalibrasyon Denklemi	y = 0.028x + 0.1291
Eğim	0.028
Korelasyon Katsayısı	0.9905

5.9. Dopaminin Farmasötik Preparattan UV Spektrofotometrisi ile Analizi

Elektrokimyasal sensörle elde edilen sonuçları valide etmek için Bölüm 5.4’ de anlatıldığı gibi aynı koşullar altında dopamin ampülleri kullanılarak etkin madde miktar analizi gerçekleştirildi. Dopaminin dozaj formunda miktarının tespit edilmesi geliştirilen elektrokimyasal sensörün doğruluk ve duyarlılığını tespit etmek için kullanılmıştır. Dopamin ampullerinden elde edilen çözelti; 50, 100, 150 ve 200 nM olacak şekilde pH 7.4 olan fosfat tamponla seyreltilmiş ve Bölüm 5.8’ de belirlenen maksimum absorbans verdiği dalga boyunda absorbansları alınmıştır. Dopamin ampülünden elde edilen ilaçların konsantrasyonları Bölüm 5.8’ de düzenlenmiş

kalibrasyon grafiği ile tespit edilmiştir. Bu işlemden önce dozaj formundaki dopaminin de önceki bölümdeki gibi aynı şartlar altında absorpsiyon spektrumu alınıp, λ_{maks} da herhangi bir kayma olmadığı tespit edilmiştir. Çizelge 5.8’ de yukarıda belirtilen konsantrasyonlarda, dozaj formundaki dopaminle elde edilen sonuçlar verilmiştir.

Çizelge 5.8. Farklı konsantrasyonlardaki dopamin numunelerinin UV ile tayin sonuçları

Dopamin Konsantrasyonu (nM)	A	Bulunan Konsantrasyon (μM)	BSS (%)	Geri Kazanım (%)
50	0.131	60	3.53	80
100	0.132	103	1.46	103
150	0.134	175	1.42	116
200	0.135	210	1.72	105

5.10. Geliştirilen Elektrokimyasal Sensör ve UV-Spektrofotometre Sonuçlarının Karşılaştırılması

Geliştirilen elektrokimyasal sensörle elde edilen sonuçların doğruluğunu ispatlamak için farmasötik preparattan elde edilmiş 100 nM dopamin çözeltisi hem geliştirilen sensörle hem de UV spektroskopisi ile yedi kez ölçülmüştür. Hazırlanan dopamin çözeltisi pH 7.4 fosfat tampon ortamında kare dalga voltametrişi ve 280 nm’de UV spektrumu alınıp okunan sinyal değerlerine kalibrasyon grafiğinden karşı gelen derişimler bulunarak elde edilen dopamin miktarları izelge 5.9’ da verilmiştir.

Çizelge 5.9. Geliştirilen sensörle elde edilen SWV sonuçlarının, UV-spektroskopi yöntemi ile karşılaştırılması

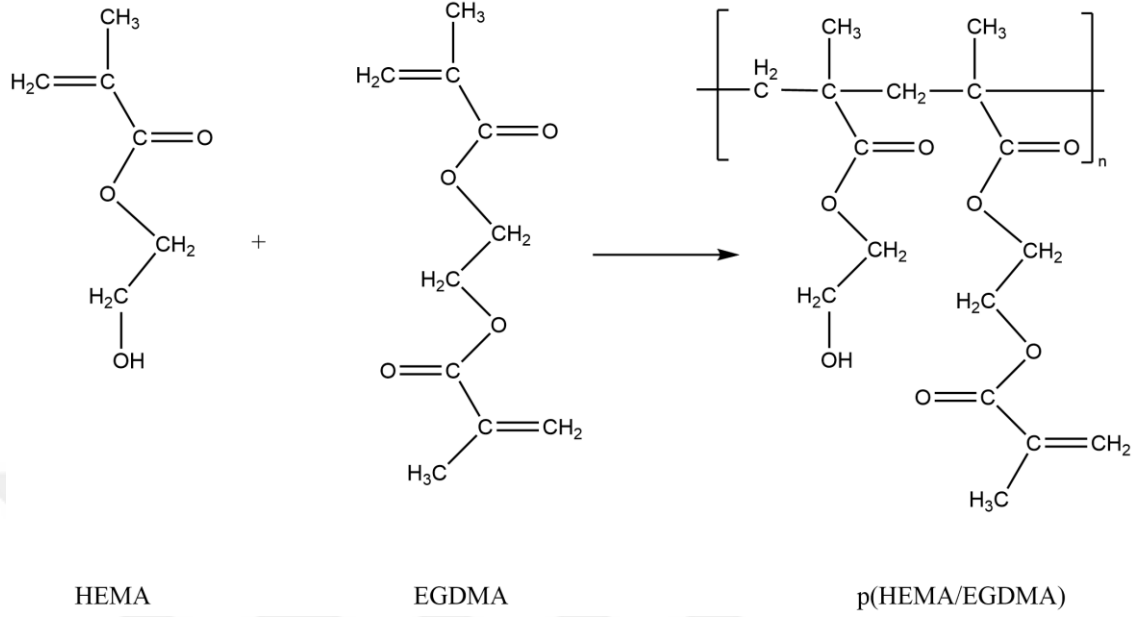
SWV Ölçümü Bulunan (nM)	UV Ölçümü Bulunan (nM)
103.83	104.01
104.96	105.14
104.02	103.93
102.97	103.05
104.89	105.11
102.94	103.16
103.18	103.01
X_{ort} : 103.83 SS: 0.86	X_{ort} : 103.92 SS: 0.96

Buna göre elde edilen sonuçlara istatistiksel t testi uygulandığında, hesaplanan p değeri $= 0.19 > 0.05$ olduğundan yokluk hipotezi kabul edilir ve iki cihazın ölçüm sonuçları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmadığı söylenebilir.

5.11. Hidrojel Sentezi

HEMA, hidroksil gruplarını içeren hidrofilik bir monomerdır. Mekanik dayanımları yüksek, vücut tarafından absorplanmayan, medikal alanda çok tercih edilen HEMA esaslı hidrojellerin bir diğer avantajı ise kolay sentezlenmeleridir. Etilen glikol dimetakrilat ise pHEMA hazırlanmasında sıklıkla çapraz bağlayıcı olarak kullanılan bir komonomerdir (Huang vd, 1997).

Hidrojel sentezi, Bölüm 4.9’ da anlatıldığı gibi, Çizelge 4.1’de belirtilen içeriklerle artan çapraz bağlayıcı miktarlarıyla yapıldı. Polimerizasyon sırasında APS serbest radikal başlatıcısı, HEMA monomerinin ve çapraz bağlayıcının yapısındaki çift bağlara etki ederek polimerizasyonu tetikler.



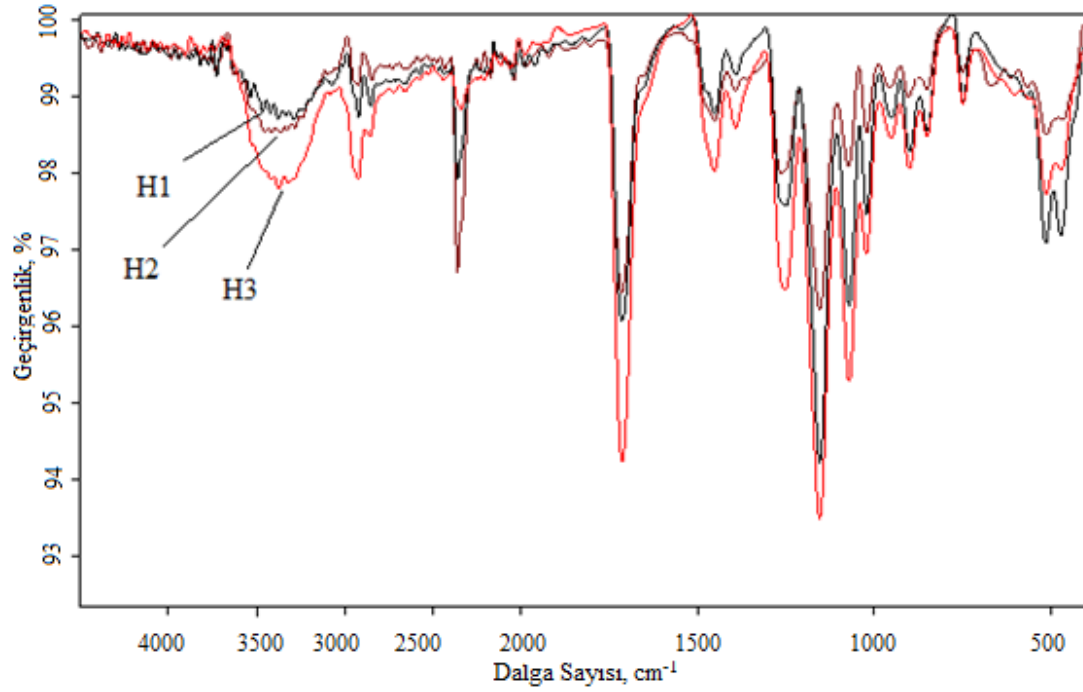
Şekil 5.19. HEMA'nın EGDMA varlığında polimerizasyonu

Açılan çift bağlarla, Şekil 5.19'da görüldüğü gibi monomerler alifatik bir zincir oluşturmak üzere kovalent olarak birbirlerine bağlanırlar. Alifatik zincir oluşturan HEMA birimleri çapraz bağlayıcı vasıtasıyla birbirlerine bağlanarak polimerik yapıyı oluştururlar. Bu noktada çapraz bağlayıcının yoğunluğu polimerik zincirlerin arasındaki bağlanma yoğunluğunu belirler. Polimer içerisindeki çapraz bağlayıcı miktarı arttıkça polimerik zincirler daha sıkı tutunur ve aralarındaki boşluklar ise azalır. Bu durum polimerin şişme oranını da etkiler yani polimerik yapıda çapraz bağlayıcı miktarı arttıkça polimerin şişme oranı azalır.

5.12. Hidrojelin Karakterizasyonu

5.12.1. FTIR-ATR spektrofotometre analizi

FTIR spektroskopik analizi ile Bölüm 4.9 (Çizelge 4.1)' da belirtilen içerik miktarlarıyla sentezlenmiş pHEMA hidrojellerin aydınlatılan yapıları Şekil 5.20'de belirtilmiştir. Şekil 5.20' deki spektrumlar artan çapraz bağlayıcı miktarları ile pHEMA hidrojellerin düzgün bir şekilde sentezlendiğini, artan miktarlardaki EGDMA'nın yapıya düzgün bir şekilde katıldığını göstermektedir.

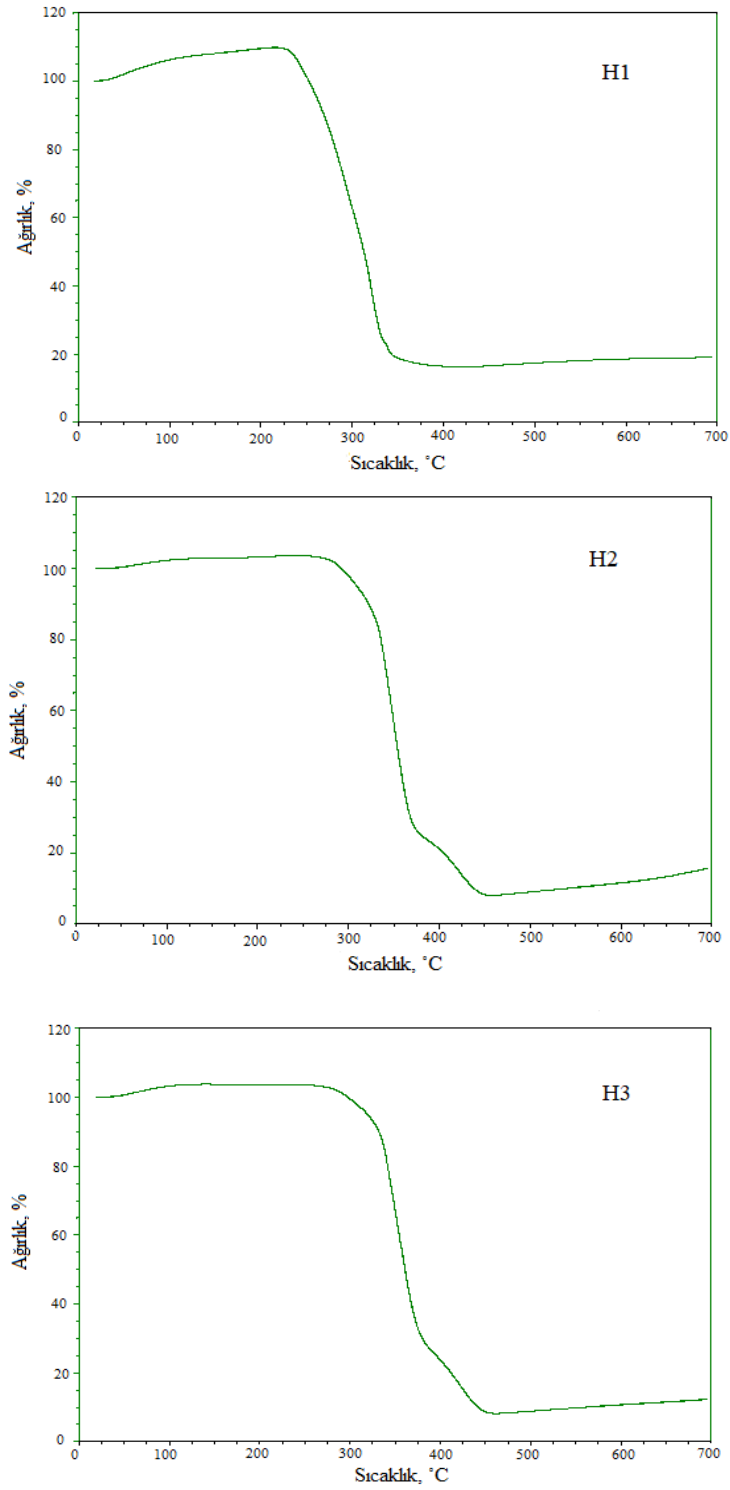


Şekil 5.20. Sentezlenmiş p-HEMA hidrojellerin FTIR spektrumları

Bileşenlerin (HEMA ve EGDMA) tüm karakteristik bantları FTIR spektrumunda gözlenmiştir (Şekil 5.20). pHEMA hidrojelinde, hidrojen bağlı alkol (O-H) pikinin gerilme titreşim bandı yaklaşık 3450 cm^{-1} de görülürken, EGDMA’da ki ester gruptan kaynaklanan C=O gerilme titreşimi ise 1730 cm^{-1} de görülmüş ve artan EGDMA miktarı ile (H1’den 3’e) pik şiddetinde artış görülmüştür. $-\text{CH}_2-$, C-H ve $-\text{CH}_3$ gruplarından kaynaklı alifatik gerilme ise 2950 cm^{-1} ‘de görülmüştür. Ayrıca HEMA’nın metil gruplarını gösteren alifatik C-H eğilmesi 1118 cm^{-1} ’ de gözlenmiştir (Dobic vd, 2011; Podkoscielna vd, 2012)

5.12.2. TGA analizi

TGA numunenin hangi sıcaklıkta bozunup gaz haline dönüştüğünü gösteren bir termal analiz yöntemidir. Farklı çapraz bağlayıcı bileşenlerine sahip polimer örneklerinin analizi, bunların bozunup gaz haline geçmeden maksimum kaç dereceye kadar dayandığını göstermektedir (Şekil 5.21).



Şekil 5.21. Sentezlenen hidrojel numunelerinin TGA analiz sonuçları (H1, H2, H3)

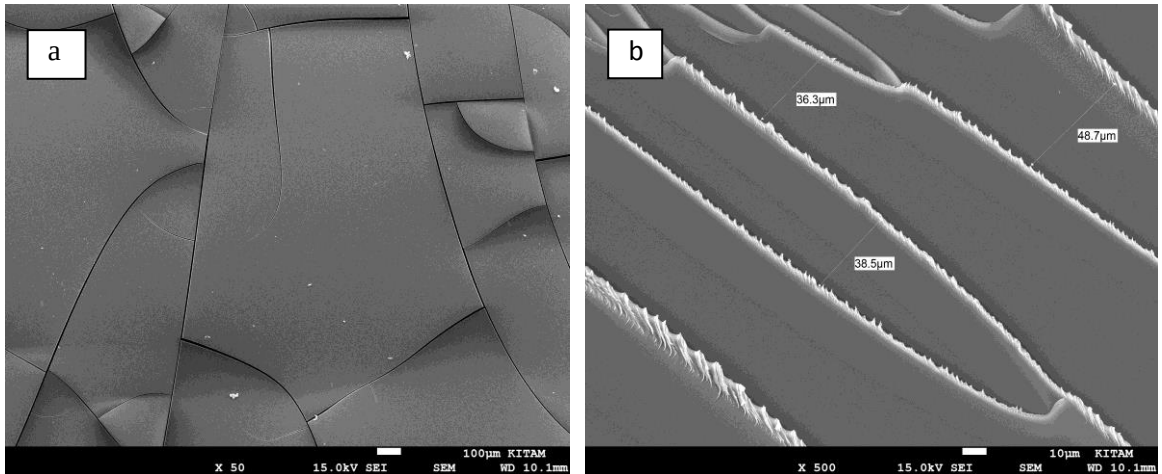
Buna göre Çizelge 5.10’ da görüldüğü gibi çapraz bağlayıcı miktarı en az olan (5 μL) H1 kodlu hidrojel 230 $^{\circ}\text{C}$ ’de bozunmaya başlarken, H2 kodlu hidrojel (çapraz bağlayıcı miktarı 10 μL) 280 $^{\circ}\text{C}$ ’de bozunmaya başlamakta, numunelerden çapraz bağlayıcı miktarı en fazla olan (25 μL) hidrojel ise 295 $^{\circ}\text{C}$ ’de bozunmaya başlamıştır. Bu da Bölüm 4.12’de bahsedildiği gibi çapraz bağlayıcı miktarının artmasıyla yapının güçleneceği bilgisini desteklemektedir.

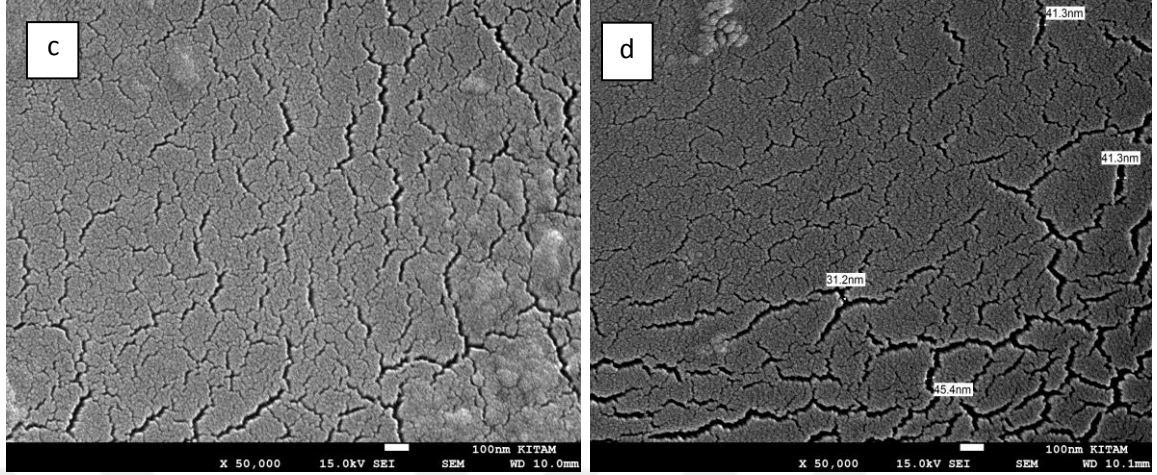
Çizelge 5.10. Sentezlenen hidrojel numunelerinin TGA analiz sonuçları

Hidrojel Örneği	Termal Bozunma Sıcaklığı ($^{\circ}\text{C}$)
H1	230
H2	280
H3	295

5.12.3. SEM Görüntüleme

Çapraz bağlanmış polimerlerin yüzey görüntülerinin elde edilmesi için SEM cihazı kullanıldı. Elde edilen farklı ölçekteki görüntüler Şekil 5.22’de verilmiştir. Hidrojin HEMA ve EGDMA’dan kaynaklanan yoğun yapısı ve polimerik yapıda bulunan, çözücünün absorplanmasını sağlayan yarıklar şekillerde görülmektedir. Alınan görüntülerin, literatürde yer alan pHEMA SEM görüntüleri ile benzer olduğu tespit edilmiştir (Seidel vd, 2000; Zainuddin vd, 2006; Zhao vd, 2018). Bu analiz sonucu bize yapının çözücü absorplayabilir ve dolayısıyla salım sistemlerinde kullanılabilir olduğunu göstermektedir.





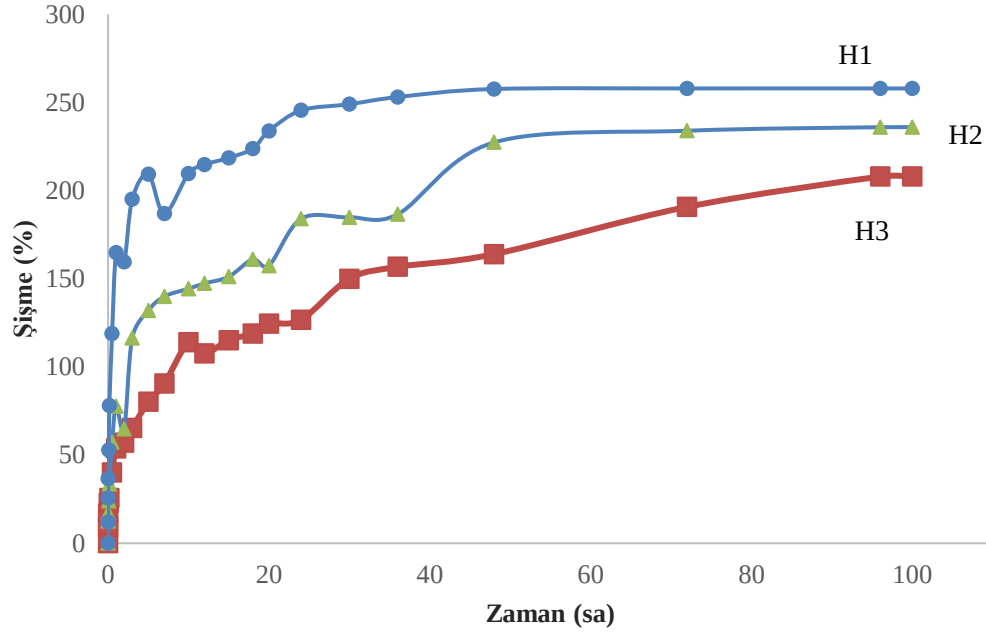
Şekil 5.22. pHEMA hidrojelilerin farklı ölçeklerdeki SEM görüntüleri (a: 100 µm; b:10 µm; c: 100 nm; d: 100 nm)

5.12.4. Şişme testi

Sabit tartıma getirilmiş hidrojel disk oda sıcaklığında pH 7.4 fosfat tampon içerisinde bekletilip, belirli zaman aralıklarında tartımları gerçekleştirilip hidrojellerin şişme profilleri belirlenmiştir (Şekil 5.23). Hidrojin şişme oranları Eşitlik 5.5 kullanılarak hesaplanmıştır.

$$\text{Şişme oranı (\%)} = \frac{W_s - W_0}{W_0} \times 100 \quad (5.5)$$

Eşitlikte W_s şişmiş polimerin ağırlığı; W_0 kuru polimerin ağırlığını ifade etmektedir.



Şekil 5.23. Sentezlenen hidrojenlerin zamana karşı şişme profilleri

Şekil 5.23’de görüldüğü gibi polimerizasyon çözeltisinde çapraz bağlayıcı miktarının artması suyun difüzyonunu zorlaştırdığı için hidrojenlerin şişme oranında azalma gözlenmiştir (Öncel, 2013).

5.13. Tersinir Şişme Çalışmaları

Sentezlenen hidrojenlerin şişme özelliklerinin tersinir olup olmadığının belirlenebilmesi için, bu hidrojenler ile ard arda şişme/kurutma çalışmaları gerçekleştirildi. Bunun için, fosfat tampon içerisinde şişirilen hidrojenler, denge şişme değerine ulaştıktan sonra, etüvde 37°C’de sabit tartıma gelinceye kadar kurutularak tekrardan şişme ortamına konulmuşlardır. Her bir hidrojen için bu işlem üçer defa tekrarlandı. Bu çalışmaya ait sonuçlar Çizelge 5.11’de verilmiştir.

Çizelge 5.11. Tersinir şişme çalışması sonuçları

Hidrojen Örneği	Denge Su İçeriği (%)		
	İlk Şişme	İkinci Şişme	Üçüncü Şişme
H3	201.2±3	191.6±4.8	197±2.5
H2	233.4±5	236.7±9	237.4±4.1
H1	252.4±3.7	256.2±2.4	257±3.2

Hidrojellerin yapısı gereği, şişme prosesinin tersinir olması ve şişirilip kurutulduktan sonra tekrar tekrar kullanılabilmesi önemlidir. Çizelge 5.12’de görüldüğü gibi denge su içerikleri arasındaki farkın az olması bu hidrojellerin şişme özelliklerinin tersinir olduğu göstermektedir (Shahirdavarpanah, 2015).

5.14. Dopamin Yükleme Çalışması

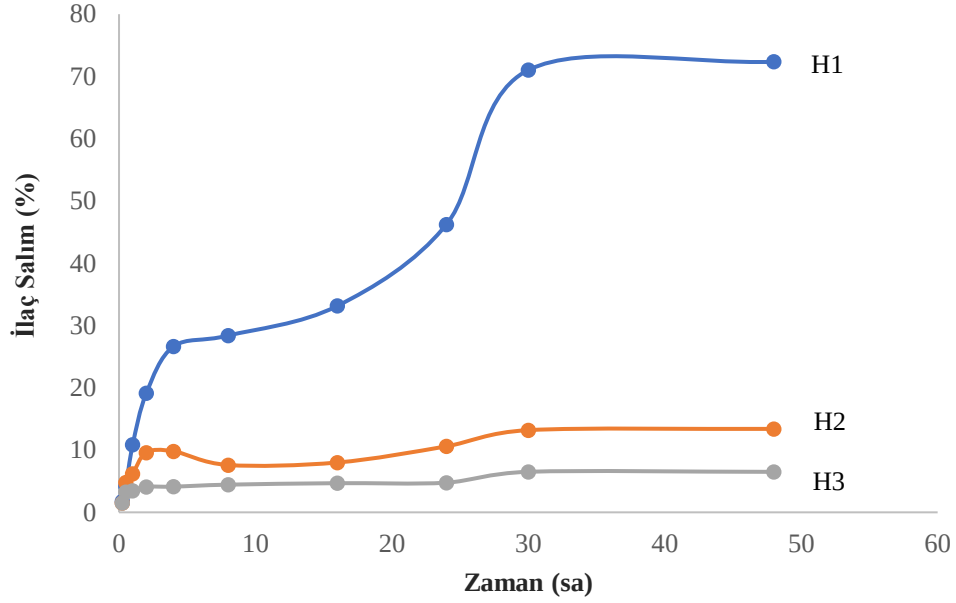
Hazırlanan farklı çapraz bağlayıcı miktarlarına sahip hidrojel disklerin her biri (H1, H2 ve H3) pH 7.4 fosfat tampon ile hazırlanmış 20 mL hacimde 20 µM dopamin çözeltileri içinde oda sıcaklığında 24 saat boyunca çözeltiler karıştırılarak bekletilmiştir. Sürenin bitiminin ardından diskler pH 7.4 fosfat tamponla ile üç defa yıkanmış ve ardından salım çalışmalarına geçilmiştir.

5.15. Dopaminin Hidrojelden Salımının İncelenmesi

Farklı miktarlarda çapraz bağlayıcı içeren hidrojel diskler 20 mL pH 7.4 fosfat tampona alınarak 72 saat boyunca dopamin salım çalışmaları devam ettirilmiştir. Belirlenmiş zaman aralıklarında tampon ortamından 2 mL numune alınarak yerine 2 mL fosfat tamponu koyularak çanak (sink) koşul gözetilerek salım çalışmaları gerçekleştirilmiştir. Çanak koşul etkin maddenin ortamdaki konsantrasyonunun düzensiz artışı engellemek için sağlanır. Çanak koşul altında herhangi bir t zamanında çözünmüş etkin madde konsantrasyonu (C_t), bu etkin maddenin ortamdaki çözünürlüğünün (C_s) %20’sini geçmemelidir, ($C_t < 0.2 C_s$) (Gibaldi ve Feldman, 1967).

Dopamin salımı ilk iki saatte büyük bir artış göstermiştir. Daha sonraki 24 saat içerisinde H1 kodlu hidrojelden salım artarak devam ederken H2 ve H3 kodlu hidrojellerden salım H1’e göre nispeten çok az olmuştur. Hidrojel sisteminde salım mekanizması genel olarak difüzyon kontrollü olarak gerçekleşir ve hidrojellerden dopamin salımı şu şekilde olmaktadır; önce dopamin yüklü hidrojeller fosfat tampon ortamı ile etkileşmekte ve ortam sıvısı hidrojele penetre olup, hidrojel yapısını şişirmeye başlamaktadır. Aynı zamanda hidrojel üzerindeki dopamin de salınmaya başlamaktadır. Daha sonra, polimer matris ortam sıvısını absorblarken dopamin matristen difüzlenmeye başlar ve ortama salımı belirli bir süre artan bir şekilde devam

eder. H1, H2 ve H3 kodlu hidrojellerle yapılan salım çalışmaları ve sonuçlar Şekil 5.24’de görülmektedir.



Şekil 5.24. Farklı çapraz bağlayıcı içeren hidrojellerle dopamin salım profili

Hidrojellerden salım miktarının belirlenebilmesi için, disklerin bulunduğu rezervuarlardan belirli aralıklarla örnekler alınmıştır. Alınan örnekler daha önceki çalışmada yapıldığı gibi 280 nm’ de analiz edilip, elde edilen Şekil 5.18’de ki kalibrasyon grafiği vasıtasıyla miktarlar belirlenmiştir. Salım çalışmaları 72 saat boyunca devam ettirilmiştir. Ancak 30 saat sonra salım miktarlarının sabit bir değere ulaştığı gözlenmiştir. Bundan sonraki 72 saate varan süreçte de her hidrojelden salımın sabit değerde kaldığı tespit edilmiştir. Salım profili olarak çapraz bağlayıcı oranı en az olan H1 kodlu hidrojinin daha fazla dopamin salımı yaptığı görülmektedir. Sonuçlardan da anlaşıldığı gibi polimerizasyon çözeltisinde çapraz bağlayıcı miktarının artması ile hidrofobisite artmış, çözeltinin difüzyonu zorlaşmış ve buna bağlı olarak da beklenildiği gibi şişme oranı ve salım profili azalmıştır.

6. SONUÇ ve ÖNERİLER

Sunulan tez kapsamında; dopaminin seçimli tayinine yönelik moleküler baskılanmış elektrokimyasal sensör dizayn edilmiş ve sentezlenen pHEMA hidrojel vasıtasıyla dopaminin kontrollü salımı incelenmiştir.

Çalışma kapsamında elde edilen önemli sonuçlar aşağıda özetlenmiştir.

- Baskılanmış sensörlerin elektrokimyasal karakterizasyonunda NIP sensörün analitle etkileştirilmesiyle çok az bir miktar değişim olurken, MIP sensörle analitin etkileşimi sonucu akımın yaklaşık altı kat azaldığı gözlenmiştir. Bunun nedeni de baskılama prosedürüyle MIP sensörün yapısına katılan kaviterlerin analit ile etkileşmesi sonucu dolaraak elektron aktarımını engellemesidir.
- Geliştirilen dopamin baskılanmış sensörle sentetik dopamin pH 7.0 fosfat tampon ortamında 50 - 200 nM konsantrasyon aralığında kare dalga voltametrisi ile tayin edilebilmiştir.
- Elde edilen baskılama faktörlerine göre (β), DA/MIP sensörün dopamine; DOPA'ya göre 2.2 kat, tirozine göre 3.0 kat, fenilalanine göre 4.5 kat, serotonine göre 6.3 kat daha seçici olduğu tespit edilmiştir. Elde edilen veriler aracılığıyla da tespit edildiği gibi DA baskılanmış sensör yapısındaki DA'e özgü kaviterler nedeniyle aralarında dopaminin de bulunduğu analitlerden en fazla dopamin ile etkileşmiştir. Bu da baskılama prosedürünün polimere daha yüksek seçicilik kattığını ortaya koymuştur.
- Çalışmada kontrollü salım için kullanılan pHEMA hidrojellerin sentezinde monomer olarak HEMA, çapraz bağlayıcı olarak EGDMA ve başlatıcı olarak APS kullanılmıştır.
- Geliştirilen hidrojellerin dinamik şişme çalışmaları fosfat tampon çözeltisinde yapılmıştır. Ayrıca hidrojeller FTIR ve TGA ile karakterize edilmiştir. Daha sonra, dopamin salımı incelenmiştir.
- H1, H2 ve H3 olarak kodlanan farklı çapraz bağlayıcı içeriğe sahip hidrojellerin ilk şişmedeki denge su içerikleri sırasıyla % 252.4, % 233.4 ve % 201.2 olarak bulunmuştur.

- Kontrollü salım çalışmaları, fosfat tampon çözeltisinde (pH 7.4) yürütülmüştür. Hidrojellerden salım miktarının belirlenebilmesi için, disklerin bulunduğu rezervuarlardan belirli aralıklarla örnekler alınmıştır. Alınan örnekler UV ile analiz edilip, dopaminin salım miktarları belirlenmiştir.
- Salım çalışmaları 72 saat boyunca devam ettirilmiştir. Ancak 30 saat sonra salım miktarlarının sabit bir değere ulaştığı gözlenmiştir. Bundan sonraki 72 saate varan süreçte de her hidrojelden salımın sabit değerde kaldığı tespit edilmiştir.
- Salım profili olarak çapraz bağlayıcı oranı en az olan H1 kodlu hidrojelin daha fazla dopamin salımı yaptığı görülmektedir.
- Sonuçlardan da anlaşıldığı gibi polimerizasyon çözeltisinde çapraz bağlayıcı miktarının artması ile hidrofobisite artmış, çözeltinin difüzyonu zorlaşmış ve buna bağlı olarak da beklenildiği gibi şişme oranı haliyle salım profili azalmıştır.
- Sonuç olarak tez çalışmasında tasarlanan bu sensör ile dopamin tayinine yönelik daha duyarlı, seçimli ve güvenilir bir yöntem geliştirilmiştir. Moleküler baskılama tekniği ile geliştirilen elektrokimyasal sensör ile farmasotik preparattan başarılı bir şekilde dopamin tayin edilmiştir. Böylece geliştirilen bu sensörün ileride tasarımlanabilecek ve kullanabilecek sensör teknolojilerine katkı sağlayabileceği düşünülmektedir.
- Ayrıca literatürdeki diğer çalışmalara nazaran bu çalışmadaki dopamin salımına yönelik elde edilen salım süresinin daha uzun zamana yayıldığı tespit edildi. pHEMA hidrojelin biyouyumluluk ve dış koşullara dayanıklılığı gibi avantajlarından faydalanılarak geliştirilmiş bu sistemin dopamin salım çalışmaları için faydalı ve farklı bir alternatif olacağı düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

- Ahmad, O. S., Bedwell, T. S., Esen, C., Garcia-Cruz, A. and Piletsky S. A. 2019. Molecularly Imprinted Polymers in Electrochemical and Optical Sensors. Trends in Biotechnology, 3:37, 294-309. doi: 10.1016/j.tibtech.2018.08.009.
- Ashley, J., Tong, X. and Sun, F. Y. 2018. A multifunctional molecularly imprinted polymer-based biosensor for direct detection of doxycycline in food samples. Talanta, 182, 49-54. doi: 10.1016/j.talanta.2018.01.056
- Asliyuce, S., Uzun, L., Rad, A., Unal S., Say, R. and Denizli, A. 2012. Molecular imprinting based composite cryogel membranes for purification of anti-hepatitis B surface antibody by fast protein liquid chromatography. Journal of Chromatography B, 889–890: 95-102. doi: 10.1016/j.jchromb.2012.02.001
- Ayano, G., 2016. Common Neurotransmitters: Criteria for Neurotransmitters, Key Locations, Classifications and Functions. Advances in Psychology and Neuroscience, 1:1, 1-5. doi:10.11648/j.ajpn.20160406.12
- Ayhan, H. ve Ayhan, F. 2014. Kontrollü ilaç salımı için fotoçapraz bağlı poli(etilen glikol) hidrojeller. Türk Biyokimya Dergisi, 39:4, 403–415.
- Barker, G. C. and Jenkins, I. L. 1952. Square Wave Polarography, Analyst, 77, 685.
- Bard, A. and Faulkner, L. (David Harris) 1944. *Electrochemical methods: fundamentals and applications*, John Wiley&Sons Yayıncılık, 383-387, Newyork. ISBN 0-471-04372-9 1.
- Bilgen, O., Uzun, L., Beşirli, N. and Denizli, A. 2013. Microcontact Imprinted Surface Plasmon Resonance Sensor for Myoglobin Detection. Materials Science and Engineering: C, 33:7, 95–102. doi: 10.1016/j.msec.2013.04.041
- Bossi, A., Bonini, F., Turner, A.P.F. and Piletsky, S. A. 2007. Molecularly imprinted polymers for the recognition of proteins: The state of art. Biosensors and Bioelectronics, 6:22, 1131-1137. Doi: 10.1016/j.bios.2006.06.023
- Brooksby, P. A. and Downard, A. J. 2004. Electrochemical and Atomic Force Microscopy Study of Carbon Surface Modification via Diazonium Reduction in, Aqueous and Acetonitrile Solutions. Langmuir, 8:20, 5038-5045.
- Carlsson A., Lindqvist M. and Magnusson T. 1957. 3,4- Dihydroxyphenylalanine and 5-Hydroxytryptophan as Reserpine Antagonists. Nature, 180, 1200.
- Chen, X., Tian, W., Li, S. and Liu, J. 2016. Effect of temperature on corrosion behavior of aluminum alloy in ethylene glycol–water solution. Chinese Journal of Aeronautics, 4: 29, 1142-1150.

- Chen, Y., Chena, L., Bi, R., Xu, R. and Liu, Y. 2012. A potentiometric chiral sensor for L-Phenylalanine based on crosslinked polymethylacrylic acid–polycarbazole hybrid molecularly imprinted polymer. *Analytica Chimica Acta*, 754, 83 – 90. doi: 10.1016/j.aca.2012.09.048
- Chen Z., Wang T. and Yan Q. 2018. Building a polysaccharide hydrogel capsule delivery system for control release of ibuprofen. *Journal of Biomaterials Science Polymer Edition*, 29: 3, 309-324. doi: 10.1080/09205063.2017.1415583.
- Cogal, S. 2018. Electrochemical determination of dopamine using a poly(3,4-Ethylenedioxythiophene)-reduced graphene oxide-modified glassy carbon electrode. *Analytical Letters*, 51:11, 1666-1679.
- Coyle, S., Curto, V. F., Benito-Lopez, F., Florea, L. and Diamond D. (Sazonov, E. ve Neuman M. R.) 2014. Wearable Sensors, fundamentals, implementation and applications. *Wearable Bio and Chemical Sensors*, 65-83. ISBN: 9780124186620
- Çekirdek, P. 2005. Voltametik metotlarla ditiyofosfonat anyonlarının elektrokimyasal davranışlarının incelenmesi. Doktora Tezi, Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı, 28-30, Ankara.
- Diaz, H., Torres, W. and Larmat, F. 2018. Molecularly imprinted polypyrrole for the selective detection of dopamine and serotonin. *IOP Conference Series: Journal of Physics*, 1119, 012014. doi :10.1088/1742-6596/1119/1/012014
- Dobić, S., Jovašević, J., Vojisavljević, M. and Tomić, S. 2011. Hemocompatibility and swelling studies of poly(2-hydroxyethyl methacrylate-co-itaconic acid-co-poly(ethylene glycol) dimethacrylate) hydrogels. *Hemijska industrija*, 65: 6, 675–685. doi: 10.2298/HEMIND111005102D
- Duran, M. 2010. Disopiramidin Elektrokimyasal Davranışının incelenmesi ve tayini için anodik adsorptif sıyırma yönteminin geliştirilmesi. Yüksek Lisans Tezi, Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı, 36, Ankara.
- El-Zohry, A. and Hashem, E. Y. 2013. Environmental Method to Determine Dopamine and Ascorbic Acid Simultaneously via Derivative Spectrophotometry, *Journal of Spectroscopy*, 2013, 1-7. doi: 10.1155/2013/260376
- Erdem, M. M. 2010. Elektrokimyasal DNA Sensörü İçin Nanomalzemelere Dayalı Elektrot Materyallerinin Geliştirilmesi ve Uygulamaları. Doktora Tezi, Adnan Menderes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı, 54-56, Aydın.
- Filip, J. and Tkac, J. 2014. The pH dependence of the cathodic peak potential of the active sites in bilirubin oxidase. *Bioelectrochemistry*, 96, 14-20.

- Fišar, Z., Hroudová, J. and Raboch J. (Mario Francisco Juruena) 2012. Clinical, Research and Treatment Approaches to Affective Disorders. Intech, 191-195, ISBN 978-953-51-0177-2
- Fuchiwaki, Y. and Kubo, I. 2010. Electrochemical sensor based on biomimetic recognition utilizing molecularly imprinted polymer receptor, *Biomimetics. Learning from Nature*, 19, 385.
- Ganjali, M. R., Poursaberi, T., Khoobi, M., Shafiee, A., Adibi, M., Pirali-Hamedani, M. and Norouzi, P. 2011. Copper Nano-composite Potentiometric Sensor, *International Journal of Electrochemical Science*, 6, 717 – 726.
- Gao, B., Chen, L., Zhao, Y., Yan, X., Wang, X., Zhou, C., Shia, Y. and Xue W. 2019. Methods to prepare dopamine/polydopamine modified alginate hydrogels and their special improved properties for drug delivery. *European Polymer Journal*, 110, 192-201. doi: 10.1016/j.eurpolymj.2018.11.025
- Gholivand M. and Amiri M. 2012. Simultaneous detection of dopamine and acetaminophen by modified gold electrode with polypyrrole/asazophloxine film. *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 676, 53-59.
- Gibaldi, M. and Feldman, S. 1967. Establishment of sink conditions in dissolution rate determinations. Theoretical considerations and application to nondisintegrating dosage forms, *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 56: 10, 1238-1242
- Greif, R., Peat, R., Peter, M. L. and Robinson, J. (Ellis Horwood) 1990. Instrumental Methods in Electrochemistry. Woodhead Yayıncılık, 180-183, Oxford.
- Holford, T. R. J., Davis, F. and Higson S. P. J. 2012. Recent trends in antibody based sensors, *Biosensors & Bioelectronics*, 34:1, 12-24.
- Hong S., Lee L. Y. S. 2013. A Dopamine Electrochemical Sensor Based on Molecularly Imprinted Poly(acrylamidophenylboronic acid) Film. *Electroanalysis*, 4, 1085-1094.
- Huang, C., Sun, Y. and Huang, W. 1997. Curing Kinetics of the Synthesis of Poly(2-hydroxyethylmethacrylate) (HEMA) with Ethylene Glycol Dimethacrylate (EGDMA) as a Crosslinking Agent. *Journal of Polymer Science Part A-polymer Chemistry*, 35:10, 1873–1889. doi:org/10.1002/(SICI)1099-0518(19970730)35:10<1873::AID-POLA2>3.0.CO;2-P
- Hulanicki, A., Glab, S. ve Ingman, F. 1991. Chemical sensors: definitions and classification. *Pure and Applied Chemistry*, 63:9, 1247–1250. doi: 10.1351/pac199163091247

- Hutchins, R. S. ve Bachas, L. G. 1995. Nitrate-selective electrode developed by electrochemically mediated imprinting/doping of polypyrrole. *Analytical Chemistry*, 67:10, 1654-1660. doi: 10.1021/ac00106a002
- Jonathan, N.B. 2005. Dopamine as a Prolactin (PRL) Inhibitor. *Endocrine Reviews*, 6, 22.
- Jonathan, B. 1985. Dopamine: a prolactin inhibiting hormone. *Endocrine Reviews*, 6, 564-589.
- Kaniewska, M. ve Trojanowicz, M. 2009. Chiral Sensors Based on Molecularly Imprinted Polymers. *Electroanalysis*, 21, 229–238.
- Kim, D., Lee, S. ve Piao Y. 2017. Electrochemical determination of dopamine and acetaminophen using activated graphene-Nafion modified glassy carbon electrode. *Journal of Electroanalytical Chemistry* 794, 221–228.
- Kiss, L., David, V. David, J. ve ark. 2016. Electropolymerized molecular imprinting on glassy carbon electrode for voltammetric detection of dopamine in biological samples. *Talanta*, 160, 489-498.
- Lei, J. ve Ju, H. 2012. Signal amplification using functional nanomaterials for biosensing, *Chemical Society Reviews*, 41, 2122-2134.
- Li, Y., Gu, Y., Zheng, B., Luo, L., Li, C., Yan, X., Zhang, T., Lu, N. ve Zhang, Z. 2017. A novel electrochemical biomimetic sensor based on poly(Cu-AMT) with reduced graphene oxide for ultrasensitive detection of dopamine, *Talanta*, 162, 80–89.
- Liu J., Zhang L., Li L., Song H., Liu Y., Tang H. ve Li Y. 2015. Synthesis of metronidazole imprinted molecularly imprinted polymers by distillation precipitation polymerization and their use as a solid-phase adsorbent and chromatographic filler. *Journal of Separation Science*, 38: 7, 1172–1178. doi:10.1002/jssc.201401248.
- Lodish, H., Berk A. ve Zipursky S.L. 2000. *Molecular Cell Biology* (Dorduncu Baski). W. H. Freeman Yayinevi, Bölüm 21.1, Amerika
- Machicote, R. G., Castillo, M. A., Pacheco, M. E. ve Bruzzone, L. 2018. A Molecular Imprinted Polymer as a Flow-Through Optical Sensor for Oxazepam. *Journal of Analytical Methods in Chemistry*, 218, 1-7. doi: 10.1155/2018/6302609
- Mao, Y. ve Bao, Y. 2011. Electrochemical sensor for dopamine based on a novel graphene-molecular imprinted polymers composite recognition element. *Biosensors and Bioelectronics*, 1, 291-297.

- Moona, J. M., Thapliyalb, N. , Hussaina, K. K. , Goyalc, R. N. ve Shima, Y. B. 2018. Conducting polymer-based electrochemical biosensors for neurotransmitters: A review. *Biosensors and Bioelectronics*, 102, 540–552.
- Mosbach, K. 1994. Molecular imprinting. *Trends in Biochemical Sciences*, 19: 1, 9-14.
- Nagatsu, T. 1998. Catecholamine synthesis and release: overview. *Advance Pharmacology*, 42, 1–14.
- Nassar, A., Zhang Z., Hu N. ve Rusling J. F. 1997. Kumosinski TF. Proton-coupled electron transfer from electrodes to myoglobin in ordered biomembrane-like films. *The Journal of Physical Chemistry B*, 101:12, 2224–2231. doi: 10.1021/jp962896t
- Nidhi, P., Anamika, C., Twinkle, S., Mehul, S., Hitesh, J. ve Umesh, U. 2016. Controlled Drug Delivery System: A Review. *Indo American Journal Of Pharmaceutical Sciences*, 3: 3, 227-233.
- Opladen, T. vd. 2016. The International Working Group on Neurotransmitter related Disorder (iNTD): A worldwide research project focused on primary and secondary neurotransmitter disorders. *Molecular Genetics and Metabolism Reports*, 9, 61–66.
- Öncel, P. 2013. Ilac Salimi İçin Moleküler Baskılanmış Kriyojel Membranlar. Yüksek Lisans Tezi. Hacettepe Üniversitesi Biyomühendislik Anabilim Dalı, Ankara.
- Özcan, A., İlkbaş, S. ve Özcan, A. 2017. Development of a disposable and low-cost electrochemical sensor for dopamine detection based on poly(pyrrole-3-carboxylic acid)-modified electrochemically overoxidized pencil graphite electrode. *Talanta*, 165, 489-495.
- Özgündüz, H. İ. 2006. Akrilik asit-Akrilamid-Poli(Vinil Alkol) içeren yarı-ıpn tipi hidrojelilerin şişme özellikleri ve lipaz salım davranışları, Yüksek Lisans Tezi, Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı, 27-29, Ankara.
- Pacheco, J. G., Castro, M. ve Machado, S. 2015. Molecularly imprinted electrochemical sensor for ochratoxin A detection in food samples, *Sensors and Actuators B*, 215, 107–112.
- Patel, J. ve Patel, A. 2016. Artificial Neural Network for Drug Design, Delivery and Disposition (Birinci Baskı). Academic Press: Elsevier, 195-218, doi: 10.1016/C2014-0-00253-5.
- Peeters, M., Troost F.J., 2012. MIP-based Biomimetic Sensor for the Electronic Detection of Serotonin in Human Blood Plasma, 171-172, 602-610.

- Peppas, N. A., Bures, P., Leobandung, W. ve Ichikawa, H. 2000. Hydrogels in pharmaceutical formulations, *European Journal of Pharmaceutics And Biopharmaceutics*, 50:1, 27-46.
- Perfezou, M., Turner, A. ve Merkoci, A. 2012. Cancer Detection Using Nanoparticle-Based Sensors, *Chemical Society Reviews*, 41:7, 2606-2622
- Podkoscielna, B., Bartnicki, A. ve Gawdzik B. 2012. New crosslinked hydrogels derivatives of 2-hydroxyethyl methacrylate: Synthesis, modifications and properties. *eXPRESS Polymer Letters* 6:9, 759–771.
- Power, A. ve Morrin, A. (Mohammed Khalid) 2013. *Electroanalytical Sensor Technology*. InTech Yayıncılık, 3-7, Londra. doi: 10.5772/51480
- Randviir, E. P. ve Banks, C. E. 2013. Electrochemical impedance spectroscopy: an overview of bioanalytical applications. *Analytical Methods*, 5: 5, 1098-1115.
- Ren, Y., Zhao X., Liang, X., Ma, P. ve Guo B. 2017. Injectable hydrogel based on quaternized chitosan, gelatin and dopamine as localized drug delivery system to treat Parkinson's disease. *International Journal of Biological Macromolecules*, 105:1079-1087. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2017.07.130.
- Sannino, A., Demitri, C. ve Madaghiele, M. 2009. Biodegradable cellulose-based hydrogels: Design and applications. *Materials*, 2:2, 353-373.
- Scampicchio, M., Bulbarelo, A., Arecchi, A., Cosio, M. S., Benedetti, S. ve Mannino S. 2012. Electrospun Nonwoven Nanofibrous Membranes for Sensors and Biosensors, 24:4, 719-725.
- Scorrano, S. ve ark. 2011. Synthesis of molecularly imprinted polymers for amino acid derivatives by using different functional monomers. *International Journal of Molecular Science*, 12:3, 1735-1743. doi: 10.3390/ijms12031735.
- Seidel, J. M. ve Malmonge, S. M. 2000. Synthesis of PolyHEMA Hydrogels for Using as Biomaterials. *Bulk and Solution Radical-Initiated Polymerization Techniques*. *Materials Research*, 3:3, 1-5.
- Silvester, D. 2011. Recent advances in the use of ionic liquids for electrochemical sensing, *Analyst*, 136, 4871-4882.
- Skoog D. A, West D. M, Holler F. J. ve Crouch S. R. (Bard E. J.) 2004. *Fundamentals of Analytical Chemistry*. Belmont, CA: Brooks-Cole – Thomson Learning Yayıncılık, 716-718; 743-744, Los Angeles.

- Song, W., Chen, Y., Xu J., Yang, X. ve Tian, D. 2010. Dopamine sensor based on molecularly imprinted electrosynthesized polymers. *Journal of Solid State Electrochemistry*,14, 1909–1914.
- Sönmezler, M. 2011. QCM Temelli Histidin Sensörler. Yüksek Lisans Tezi, Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, 25-27, Ankara.
- Tanrıverdi, K. 2007. Bazı hidrojellerin sentezi ve şişme özelliklerinin incelenmesi, Yüksek Lisans Tezi, Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, 32-34, Konya.
- Tural, H., Gökçel, H. İ., Ertaş, F. N. 2006. *Enstrümantal Analiz I Elektroanalitik Yöntemler*. Ege Üniversitesi Yayınları, 2. Baskı, 336, İzmir.
- Ulaşan, M., Çengelöglu, Y. ve Yavuz, M. S. 2013. Biocompatible Hydrogels: Synthesis, Swelling Property and Solvent Effect on Gelation, Selcuk Üniversitesi Mühendislik Bilim ve Teknik Dergisi, 1: 3, 31-36.
- Vasapollo, G. ve ark. 2011. Molecularly Imprinted Polymers : Present and Future Perspective. *International Journal of Molecular Sciences*, 12, 5908-5945.
- Yan, Q., Liu, L., Wang, T. ve Wang H. 2019. A pH-responsive hydrogel system based on cellulose and dopamine with controlled hydrophobic drug delivery ability and long-term bacteriostatic property. *Colloid and Polymer Science*, 5: 297, 705-717. doi: 10.1007/s00396-019-04501-w
- Yang, S., Wang, Y., Jiang, Y., Li, S. ve Liu, W. 2016. Molecularly Imprinted Polymers for the Identification and Separation of Chiral Drugs and Biomolecules, *Polymers*, 8, 2-16.
- Yeşiller, S. G. 2014. Enzim Aktivitesinin Tayinine Yönelik Elektrokimyasal İmpedans Spektroskopisi Temelli Biyosensör Geliştirilmesi. Yüksek Lisans Tezi, Namık Kemal Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı, 37-39, Tekirdağ.
- Yola, M. L. 2009. Ezetimib’in Elektrokimyasal Davranışlarının İncelenmesi ve Elektrokimyasal Yöntemlerle Farmasötik Preparatlardan Analizi, Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- Yuan X. Z., Song C., Wang H. ve Zhang J. 2010. *Electrochemical Impedance Spectroscopy in PEM Fuel Cells*. Springer-Verlag, 95-138, London.
- Wu D., Xue X., 2013. Sensitive and Selective Determination of Dopamine by Electrochemical Sensor Based on Molecularly Imprinted Electropolymerization of o-phenylenediamine. *Analytical Methods*, 5, 1469.

- Zainuddin, D. J. , Hill T. , Whittaker, A. K. ve Chirila T. V. 2006. In-vitro study of the spontaneous calcification of PHEMA-based hydrogels in simulated body fluid. *Journal of Materials Science*, 17: 1245–1254.
- Zhao, W., Shi, Z. , Hu, S., Yang, G. ve Tian, H. 2018. Understanding piezoelectric characteristics of PHEMA-based hydrogel nanocomposites as soft self-powered electronics. *Advanced Composites and Hybrid Materials*, 1:2, 320–331.



ÖZGEÇMİŞ

Adı ve Soyadı: Nihal ERMİŞ
Doğum Yeri : Trabzon
Doğum Tarihi: 31.07.1986
Yabancı Dili: İngilizce, Almanca

Eğitim Durumu

Lise: Tefvik Serdar Anadolu Lisesi (2004)

Lisans: Hacettepe Üniversitesi Eğitim Fakültesi Kimya Öğretmenliği (2010)

Yüksek Lisans: Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı (2013)

Çalıştığı Kurum/Kurumlar ve Yıl

Absdorf Volksschule (Avusturya) - Öğretmen - (2010-2011)

Ondokuz Mayıs Üniversitesi Kimya Bölümü - Araştırma Görevlisi - (2012-2019)

Yayınlar

Uygun, Z. O., Uygun, H. D., **Ermis, N.** and Canbay E. 2015. Molecularly Imprinted Sensors — New Sensing Technologies (Biosensors-Micro and nanoscale applications). Intech, 85-108. ISBN:978-953-51-2173-2

Ermis, N., Uzun, L. and Denizli, A. 2017. Preparation of molecularly imprinted electrochemical sensor for L-phenylalanine detection and its application. Journal of Electroanalytical Chemistry, 807, 244–252.

Ermis, N. and Tinkılıç, N. 2018. Preparation of molecularly imprinted polypyrrole modified gold electrode for determination of tyrosine in biological samples. International Journal of Electrochemical Science, 13, 2286-2298.

Motealleh, A., Çelebi-Saltik, B., **Ermis, N.**, Nowak, S., Khademhosseini, A. and Kehr N. S. 2019. 3D printing of step-gradient nanocomposite hydrogels for controlled cell migration. Biofabrication. 11,4. doi: 10.1088/1758-5090/ab3582.