

**T.C.
MUĞLA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

KİMYA ANABİLİM DALI

**NANOKOMPOZİTLER ve ELEKTROKİMYASAL
BİYOSENSÖR UYGULAMALARI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

MELİHA ÇUBUKCU

**HAZİRAN 2008
MUĞLA**

**T.C.
MUĞLA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

KİMYA ANABİLİM DALI

**NANOKOMPOZİTLER ve ELEKTROKİMYASAL
BİYOSENSÖR UYGULAMALARI**




YÜKSEK LİSANS TEZİ

Meliha ÇUBUKCU

MUĞLA 2008

T.C.
MUGLA ÜNİVERSİTESİ
Fen Bilimleri Enstitüsü

Yrd. Doç. Dr. Ülke Anık danışmanlığında
Meliha Gurbukcu tarafından hazırlanan
Nanokompozitler ve Elektrokimyasal Biyosensör
Uygulamaları
başlıklı tez 06 / 06 / 2008 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından
Kinaya Anabilim Dalı'nda yüksek lisans/doktora
tezi olarak oybirliğiyle kabul edilmiştir.

| | | | |
|--------|---------------------------|------|---|
| Başkan | : Doç. Dr. Sina Timur | imza |  |
| Üye | : Doç. Dr. Haluk Ayhan | imza |  |
| Üye | : Yrd. Doç. Dr. Ülke Anık | imza |  |
| Üye | : | imza | : |
| Üye | : | imza | : |

ÖNSÖZ

Bu yüksek lisans tez çalışmasının hazırlanması ve yürütülmesinde çalışmalarımın her aşamasında değerli bilgileri ve önerileri ile beni yönlendiren ve her konuda bana destek olup yakın ilgi ve yardımlarını maddi manevi esirgemeyen çok değerli hocam, Sayın Yrd. Doç. Dr. Ülkü ANIK' a çok teşekkür eder sonsuz saygılarımı sunarım.

Ayrıca Anadolu Üniversitesi Fen Fakültesi Fizik Anabilimdalı öğretim üyesi Yrd. Doç. Dr. Uğur SERİNCAN' a SEM görüntülerini elde etmemizdeki değerli yardımlarından dolayı çok teşekkür ederim, her zaman olduğu gibi bu çalışmamda da yanımda olan ve desteklerini eksik etmeyen canım aileme sonsuz teşekkür ederim.

Bu çalışma TÜBİTAK "Nanopartikül Temelli Karbon Biyosensörlerinin Geliştirilmesi ve Ksantin ve Hipoksantin Tayinine İlişkin Performanslarının İncelenmesi" isimli 106T135 no' lu proje ile ve Muğla Üniversitesi BAP projesi kapsamında desteklenmiştir. Her iki kuruma da sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Meliha ÇUBUKCU

Muğla, 2008

İÇİNDEKİLER

| | <u>Sayfa No</u> |
|--|-----------------|
| ÖNSÖZ | I |
| İÇİNDEKİLER | II |
| ÖZET | V |
| ABSTRACT | VII |
| ŞEKİLLER DİZİNİ | IX |
| ÇİZELGELER DİZİNİ | XII |
| SEMBOLLER DİZİNİ | XIII |
| 1. GİRİŞ | 1 |
| 2. KAYNAK ÖZETLERİ | 2 |
| 2.1. Voltammetri | 2 |
| 2.1.1. Voltammetride kullanılan elektrotlar | 2 |
| 2.1.1.1. Çalışma elektrotları | 2 |
| 2.1.1.2. Yardımcı elektrot | 3 |
| 2.1.1.3. Referans elektrotlar | 3 |
| 2.1.1.4. Karbon bazlı elektrotlar | 3 |
| 2.1.1.5. Kompozit karbon elektrotlar | 4 |
| 2.1.1.5.1. Karbon pasta elektrot (CPE) | 4 |
| 2.1.1.5.2. Camımsı karbon pasta elektrotlar (GCPE)..... | 4 |
| 2.2. Biyosensörler | 5 |
| 2.2.1. Biyosensör nedir | 6 |
| 2.2.2. Biyosensörlerin kullanım alanları | 7 |
| 2.2.2.1. Klinik uygulamalar | 7 |
| 2.2.2.2. Çevresel uygulamalar | 8 |
| 2.2.3. Biyosensörlerde biyoaktif bileşen immobilizasyon yöntemleri | 8 |
| 2.2.4. Biyosensör çeşitleri | 9 |
| 2.2.4.1. Amperometrik biyosensörler | 9 |
| 2.3. Nanoteknoloji | 11 |
| 2.4. Nanopartiküller | 12 |
| 2.4.1. Karbon nanotüp (CNT) | 13 |
| 2.4.1.1. CNT' lerin tarihçesi | 14 |

| | |
|--|-----------|
| 2.4.1.2. CNT çeşitleri | 16 |
| 2.4.1.3. CNT'lerin yapısal ve fiziksel özellikleri | 17 |
| 2.4.1.3.1. Nanotüplerin yapısal özellikleri | 18 |
| 2.4.1.3.2. Nanotüplerin elektriksel özellikleri | 19 |
| 2.4.1.3.3. Nanotüplerin mekaniksel özellikleri | 20 |
| 2.4.1.4. Karbon nanotüplerin elde edilmesi | 21 |
| 2.4.1.4.1. Ark buharlaştırma | 21 |
| 2.4.1.4.2. Kesikli lazer buharlaştırma (Lazer-Ocak Yöntemi) | 22 |
| 2.4.1.4.3. Kimyasal buhar biriktirme (CVD) | 22 |
| 2.4.1.5. Karbon nanotüplerin işlenmesi | 22 |
| 2.4.1.6. Karbon nanotüplerin elektrokimyada kullanımı | 23 |
| 2.4.1.7. Karbon nanotüplerin biyosensör sistemlerinde kullanımı | 25 |
| 2.4.2. Altın nanopartiküller | 26 |
| 2.5. Kompozit | 28 |
| 2.5.1. Kompozit malzeme nedir | 28 |
| 2.5.2. Nanokompozit | 28 |
| 3. MATERYAL ve YÖNTEM | 32 |
| 3.1. Elektrokimyasal ölçme sistemi | 32 |
| 3.2. Kullanılan elektrotlar | 33 |
| 3.3. Kullanılan kimyasal maddeler | 34 |
| 3.3.1. Kullanılan çözeltilerin hazırlanması | 35 |
| 3.3.1.1 Destek elektrolit tampon çözeltisinin hazırlanması | 35 |
| 3.3.1.2. Reaktiflerin hazırlanması | 35 |
| 3.3.2. Çalışma hücresinde kullanılan çözeltinin hazırlanması | 35 |
| 3.4. Geliştirilen amperometrik biyosensörler..... | 36 |
| 3.4.1. Karbon nanotüp modifiye karbon pasta elektrodun elektroanalitik performansının ksantin biyosensöründe transduser olarak incelenmesi | 36 |
| 3.4.1.1. Elektrot hazırlanışı | 36 |
| 3.4.1.2. Deney yapılışı | 36 |
| 3.4.1.3. Örnek uygulama..... | 36 |
| 3.4.1.3.1.Konserve ton balığı örneği..... | 36 |
| 3.4.1.3.2. Plazma örneği..... | 37 |

| | |
|---|-----------|
| 3.4.2. Altın nanopartikül (Au-np) ve ksantin oksidaz (XO) modifiye camımsı karbon pasta elektrot (GCPE) ile ksantin (X) ve hipoksantin (Hx) tayini..... | 38 |
| 3.4.2.1. Elektrot hazırlanışı | 38 |
| 3.4.2.2. Deney yapılışı | 38 |
| 3.4.2.3. Örnek uygulama | 38 |
| 4. ARAŞTIRMA BULGULARI..... | 40 |
| 5. SONUÇLAR ve TARTIŞMA..... | 42 |
| 5.1. Karbon nanotüp (CNT) modifiye karbon pastanın elektrodun (CPE) ksantin biyosensöründe kullanımı | 42 |
| 5.1.1. Elektrodun elektroanalitik performansı..... | 42 |
| 5.1.1.1. Elektrot bileşeninin optimizasyonu..... | 42 |
| 5.1.1.2. Elektrokimyasal mekanizmanın incelenmesi..... | 50 |
| 5.1.2. Geliştirilen elektrodun ksantin biyosensör transduseri olarak kullanımı | 61 |
| 5.1.2.1. Optimum çalışma potansiyeli..... | 61 |
| 5.1.2.2. Analitiksel karakteristik | 64 |
| 5.1.2.3. Örnek uygulama | 66 |
| 5.2. Altın nanopartikül (Au-np) ve ksantin oksidaz (XO) ile modifiye camımsı karbon pasta elektrodun ksantin (X) ve hipoksantin (Hx) tayini | 67 |
| 5.2.1. Nanokompozit biyosensörün elektrokimyasal Au-np varlığının etkisi.. | 67 |
| 5.2.2. Uygulanan potansiyelin etkisi | 71 |
| 5.2.3. pH etkisi | 77 |
| 5.2.4. Au-np' nin etkisi | 80 |
| 5.2.5. Yüzey görüntüleme | 81 |
| 5.2.6. Analitiksel karakteristik | 83 |
| 5.2.7. Örnek uygulama | 85 |
| 5.2.8. Diğer Au-np içeren Hx biyosensörleri ile biyosensör performansının Karşılaştırılması | 86 |
| 5.3. Sonuç..... | 88 |
| KAYNAKLAR | 90 |
| ÖZGEÇMİŞ..... | 94 |

NANOKOMPOZİTLER ve ELEKTROKİMYASAL BİYOSENSÖR UYGULAMALARI

(Yüksek Lisans Tezi)

Meliha ÇUBUKCU

MUĞLA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

2008

ÖZET

Çalışma temel olarak farklı nanopartiküllerin kullanımı ile elde edilen nanokompozit elektrot ve bu elektrotlara biyolojik materyallerinde katılımıyla daha duyar, ekonomik ve pratik biyosensörler elde edilmesini kapsamaktadır. Bu amaçla karbon nanotüp (CNT) ve altın nanopartikül (Au-np) gibi farklı nanopartiküller ile farklı karbon elektrotlar birleştirilerek, elektrokimyasal reaktivitesi yüksek, pratik ve ekonomik transdüserler geliştirilmiştir. Geliştirilen sistemler ksantin oksidaz enzimi ile modifiye edildikten sonra bu elektrotların ksantin ve hipoksantin tayininde kullanım koşulları araştırılmıştır. Deneysel çalışma döngüsel voltammetri ve kronoamperometri gibi voltammetrik tekniklerin yardımıyla gerçekleştirilmiştir. Çalışmanın sonunda nanopartikül modifiye elektrotlar için daha yüksek akım değerleri ile daha düşük pik potansiyelleri elde edilmiştir. Karbon elektrotlara nanopartiküllerin katılımıyla sensörün elektron transfer reaktivitesini arttırdığı gözlenmiştir. Her iki biyosensör sistemi içinde öncelikle optimum çalışma koşulları belirlenmiştir. Bunun için kompozit elektrotların elektroanalitiksel performansları incelenerek nanokompozit yapının optimizasyonu, optimum çalışma potansiyeli ve optimum pH' ı belirlenmiştir.

Sistem optimizasyonundan sonra CNT modifiye karbon pasta elektrotlar (CPE) ksantin için karakterize edilerek 1-100 μM ksantin derişimi arasında doğrusallık elde edilmiştir. Çok-duvarlı karbon nanotüp modifiye karbon pasta elektrot (MWCNT-CPE) %3,35' lik bağıl standart sapma (R.S.D.) değerine sahipken tek-duvarlı karbon nanotüp modifiye karbon pasta elektrot (SWCNT-CPE) 1-20 μM doğrusal aralığında %3,5' luk R.S.D. değerini vermiştir.

Çalışmanın ikinci bölümünde, yine sistemin optimizasyonundan sonra biyosensör ksantin (X) ve hipoksantin (Hx) için karakterize edilmiştir. Ksantin için $5,00 \times 10^{-7}$ ve $1,00 \times 10^{-5}$ M derişimi arasında doğrusallık ve doğru denklemi $y = 0,0455x + 0,203$ olarak elde edilmiştir, aynı şekilde hipoksantin için $5,00 \times 10^{-6}$ - $1,50 \times 10^{-4}$ M arasında doğrusallık ve doğru denklemi $y = 0,0651x + 0,1116$ olarak belirlenmiştir. Geliştirilen her iki biyosensör sistemi konserve ton balığı ve plazma örneklerinde uygulanmış ve oldukça umut verici sonuçlar elde edilmiştir.

Anahtar kelimeler: Karbon nanotüp (CNT), altın nanopartikül (Au-np), amperometrik biyosensör, karbon pasta (CPE), camımsı karbon pasta (GCPE), ksantin (X), hipoksantin (Hx)

Sayfa adedi: 89

Tez yöneticisi: Yrd. Doç. Dr. Ülkü ANIK

**NANOCOMPOSITES and APPLICATIONS of
ELECTROCHEMICAL BIOSENSOR**

(M. Sc.Thesis)

Meliha ÇUBUKCU

**MUĞLA UNIVERSITY
INSTITUTE of SCIENCE and TECHNOLOGY**

2008

ABSTRACT

Present work mainly composed of the usage of different nanoparticles for obtaining nanocomposite electrodes that can be used as transducers for practical, economical and effective biosensor transducers. For this aim, by combining different nanoparticles with carbon electrodes, practical transducers with high electrochemical reactivity were developed. Developed systems modified with xanthine oxidase enzyme (XOD) and their usage conditions were investigated for xanthine (X) and hypoxanthine (Hx) detection. The experiments were carried out by applying voltammetric techniques such as cyclic voltammetry and chronoamperometry. Higher current values with lower peak potentials were obtained with nanoparticle modified electrodes. The ability of nanoparticles to promote the electron transfer reaction of sensor was provided by introducing the nanoparticle into the composite carbon electrode structure. First of all, the electroanalytical performance of composite electrodes was examined in order to find optimum composition for both biosensor systems. Then, optimum amount of nanoparticles, optimum potential and optimum pH of the system were searched.

After the optimization of the systems, carbon nanotube (CNT) modified carbon paste electrodes (CPEs) were characterized for xanthine and linearity was obtained in the concentration range between 1-100 μM xanthine and $y = 0,0455 x + 0,203$, with relative standard deviation (RSD) value of 3.35% for multi-wall carbon nanotube modified carbon paste electrode (MWCNT-CPE), while with single-wall carbon nanotube modified carbon paste electrode (SWCNT-CPE) these values were found as 1-20 μM and $y = 0,0651 x + 0,1116$, RSD as 3.5%. In the second part of the work, after optimization of the system, the biosensor was characterized for xanthine and hypoxanthine. A linearity was obtained in the concentration range between 5.00×10^{-7} – 1.00×10^{-5} M for X with equation of $y = 0,24x + 0,710$ and 5.00×10^{-6} – 1.50×10^{-4} M Hx, with equation of $y = 0,014x + 0,556$ respectively. The developed biosensor systems were also applied for canned tuna fish and plasma samples, and very promising results were obtained.

Key words: Carbon nanotube (CNT), gold nanoparticle (Au-np), amperometric biosensor, carbon paste (CPE), glassy carbon paste (GCPE), xanthine (X), hypoxanthine (Hx)

Page number: 89

Director: Ass. Prof. Dr. Ülkü ANIK

ŞEKİLLER DİZİNİ

| <u>Şekil No</u> | <u>Sayfa No</u> |
|---|-----------------|
| Şekil 2.1 Biyosensörün yapısı | 6 |
| Şekil 2.2 Bir biyosensörün temel bileşenleri | 7 |
| Şekil 2.3 Biyosensörlerin biyoaktif tabakalarında biyoaktif bileşen immobilizasyonunda kullanılan genel tekniklere ait gösterim | 9 |
| Şekil 2.4 Amperometrik esaslı bir biyosensörün şematik gösterimi..... | 10 |
| Şekil 2.5 (a) İnsan saç telinin çapı ~100,000 nm, (b) toplu iğne başı 1 mm.... | 12 |
| Şekil 2.6 Bir grafen yapısında nanotüp oluşumu | 13 |
| Şekil 2.7 CNT'lerin tanımı ve taramalı tünelleme mikroskopu (STM) ile elde edilen görüntüsü | 15 |
| Şekil 2.8 Üretilen Karbon Nanotüp Formları; a) Tek-katmanlı, b) Çok-Katmanlı, c) Çift-katmanlı, d) Fulleren içeren tek-katmanlı | 15 |
| Şekil 2.9 CNT'lerin sınıfları; (A) Tek-duvarlı karbon nanotüp (SWCNT), (B) Çok-duvarlı karbon nanotüp (MWCNT), (C) İki-duvarlı karbon nanotüp (DWCNT) | 16 |
| Şekil 2.10 CNT'lerin SEM görüntüleri..... | 18 |
| Şekil 2.11 CNT'lerin üç farklı oluşum yönleri | 19 |
| Şekil 2.12 C nanotüplerin bükülmesi a) Model b) Yüksek ayırım güçlü TEM fotoğrafı..... | 20 |
| Şekil 2.13 AFM ucu nanotüplerin SEM görüntüleri..... | 23 |
| Şekil 2.14 Altın nanopartikülün geçirmeli elektron mikroskopu (TEM) görüntüsü..... | 26 |
| Şekil 2.15 (a) Altın nanopartiküller kansersiz hücrelere yapışmaz. Sonuçlar basit bir mikroskop ile görülebilir, (b) Altın nanopartikül kanserli hücrelere yapışır ve onların parlamasını sağlar..... | 28 |
| Şekil 2.16 (a) Ksantin , (b) Ksantin oksidaz | 30 |
| Şekil 3.1 AUTOLAB PGSTAT 12 cihazı | 32 |
| Şekil 3.2 Üçlü elektrot sistemine ait düzenek | 33 |
| Şekil 5.1 MWCNT miktarının 2 mM ferrisiyanür için döngüsel voltammogramlara etkisi, 600' den -400 mV potansiyel aralığında, tarama hızı 100 mV/s, 50 mM fosfat tamponu pH 7..... | 43 |

| | |
|---|----|
| Şekil 5.2 SWCNT miktarının 2 mM ferrisiyanür için döngüsel voltammogramlara etkisi, 600'den -400 mV potansiyel aralığında, 100 mV/s tarama hızı, 50 mM fosfat tamponu, pH 7 | 45 |
| Şekil 5.3 (a) CPE, (b) %4 MWCNT-CPE, (c) %4 SWCNT-CPE için 2 mM ferrisiyanürün döngüsel voltammogramları | 49 |
| Şekil 5.4 SWCNT modifiye CPE yapısı için farklı tarama hızlarında 2 mM ferrisiyanüre ait döngüsel voltammogramlar | 50 |
| Şekil 5.5 MWCNT modifiye CPE yapısı için farklı tarama hızlarında 2 mM ferrisiyanüre ait döngüsel voltammogramlar | 55 |
| Şekil 5.6 SWCNT modifiye CPE için elde edilen doğrusallık | 59 |
| Şekil 5.7 MWCNT modifiye CPE için elde edilen doğrusallık | 60 |
| Şekil 5.8 (A) %4 MWCNT modifiye CPE, (B) %4 SWCNT modifiye CPE yapılarında 1 mM H ₂ O ₂ için akım değerleri üzerine çalışma potansiyelinin etkisi | 62 |
| Şekil 5.9 %4 SWCNT modifiye CPE yapısında 1 mM H ₂ O ₂ için ardışık katımla elde edilen kronoamperometrik eğriler | 63 |
| Şekil 5.10 %4 MWCNT modifiye CPE yapısında 1 mM H ₂ O ₂ için ardışık katımla elde edilen kronoamperometrik eğriler | 63 |
| Şekil 5.11 MWCNT modifiye CPE yapısında ksantin için elde edilen doğrusallık | 64 |
| Şekil 5.12 SWCNT modifiye CPE yapısı için ksantin analizine ilişkin doğrusal aralık | 65 |
| Şekil 5.13 Kompozit biyosensörler için (A) Au-np' siz (B) Au-np' lü, (a) zemin ve (b) 10 µM X çözeltilisinde kaydedilen döngüsel voltammogramlar | 68 |
| Şekil 5.14 (A) sadece GCPE ve (B) Au-np modifiye GCPE' de 10 mM H ₂ O ₂ ' nin döngüsel voltammogramları | 70 |
| Şekil 5.15 Au-np modifiye GCPE yapısı için 100-1000 mV arasında değişen potansiyel tayinini gösteren kronoamperometrik eğriler | 72 |
| Şekil 5.16 50 mM (pH 7,0) fosfat tamponunda çalışma potansiyelinin elektrot cevabına etkisi | 77 |

| | |
|--|----|
| Şekil 5.17 Au-np modifiye GCPE için çeşitli oranlarda pH tayinini gösteren kronoamperometrik eğriler | 78 |
| Şekil 5.18 Biyosensör cevabına pH'ın (pH 6,00-8,50) etkisi | 79 |
| Şekil 5.19 10 µM X için pH 7,5'da ve +700mV'da Au-np miktarının etkisi . | 80 |
| Şekil 5.20 XOD-Au-np-GCPE kompozitinin (A) 1,84 k×, (B) 14,94 k× ve (C) 36 k× büyüklükleri ile SEM görüntüleri, ivmelenme voltajı 20,00 kV | 82 |
| Şekil 5.21 XOD-Au-np-GCPE yapısında ksantin için doğrusallık | 84 |
| Şekil 5.22 XOD-Au-np-GCPE yapısında hipoksantin için doğrusallık | 84 |

ÇİZELGELER DİZİNİ

| <u>Çizelge No</u> | <u>Sayfa No</u> |
|---|-----------------|
| Çizelge 2.1 Karbon pasta elektrotlar için potansiyel sınırları | 4 |
| Çizelge 5.1 MWCNT modifiye CPE yapısında 2 mM ferrisiyanür çözeltisinin elde edilen akım değerleri | 47 |
| Çizelge 5.2 SWCNT modifiye CPE yapısında 2 mM ferrisiyanür çözeltisinin elde edilen akım değerleri..... | 47 |
| Çizelge 5.3 Elektrokatalitik aktivite açısından CPE, MWCNT-CPE ve SWCNT-CPE' nin karşılaştırılması | 48 |
| Çizelge 5.4 Test edilen XOD biyosensör konfigürasyonları | 87 |

SEMBOLLER DİZİNİ

| | |
|-------|-------------------------------|
| Au-np | Altın nanopartikül |
| CNT | Karbon Nanotüp |
| CPE | Karbon Pasta Elektrot |
| GCPE | Camımsı Karbon Pasta Elektrot |
| Hx | Hipoksantin |
| MWCNT | Çok-duvarlı Karbon Nanotüp |
| SWCNT | Tek-duvarlı Karbon Nanotüp |
| X | Ksantin |
| XOD | Ksantin Oksidaz |

1. GİRİŞ

Karbon elektrotlar voltammetrik analizlerde en çok kullanılan katı elektrotlardan biridir. Çünkü bu elektrotlar geniş anodik çalışma aralığı ve düşük zemin sağlamakla birlikte ekonomiktirler ve kimyasal anlamda inerttirler. Bunun dışında, son yıllarda sensör geliştirme amaçlı çalışmalarda nanopartiküllerin kullanımına ilişkin eğilim oldukça dikkat çekicidir.

Bu çalışmada voltammetrik tekniklerin yardımıyla farklı karbon temelli elektrotların farklı nanopartiküllerle modifiye edilmesiyle pratik, ekonomik ve duyarlı sensörlerin eldesi amaçlanmıştır. Uygun elektrot ile uygun nanopartikül saptanmasından sonra sistem ksantin oksidaz (XOD) enzimi ile modifiye edilerek gıda sektörü ve klinik uygulamalar açısından önemli olan ksantin (X) ve hipoksantin (Hx) tayinine yönelik biyosensörler geliştirilmiştir.

2. KAYNAK ÖZETLERİ

2.1. Voltammetri

Voltammetri, akım-gerilim ve derişim ilişkilerinin *çalışma elektrodu* denilen ve bu elektrodun polarize olduğu şartlar altında akımın, uygulanan potansiyelin bir fonksiyonu olarak ölçülmesinden faydalanarak, analit hakkında bilgi edinilen bir grup elektro analitik metotlara verilen isimdir. Akım-gerilim eğrileri, iki ya da üç elektrotlu sistemlerle elde edilir. Voltammetride değişik türden çalışma elektrotları kullanıldığı gibi, değişik türden gerilim kaynakları da kullanılmaktadır. Bunları doğru akım, doğru akıma bindirilmiş alternatif akım, kare dalga akım, değişik türden pulslu akımlar, dögüsel akım şeklinde sıralayabiliriz.

2.1.1. Voltammetride kullanılan elektrotlar

Voltammetride iki ya da üç elektrotlu sistemler kullanılabilir, yaygın olarak üç elektrotlu sistemler kullanılmaktadır.

2.1.1.1. Çalışma elektrotları

Voltammetride kullanılan elektrotların hem kimyasal hem de elektrokimyasal özellikleri önemlidir. Potansiyeli değişen elektrot, indikatör elektrot veya çalışma elektrodu adını alır. Genel olarak, kullanılan çalışma elektrotlarının, polarizasyonu arttırmak için yüzey alanları küçük tutulur (genellikle 1cm^2 ' den küçük).

Sabit ya da döndürülerek kullanabileceğimiz çalışma elektrotların hepsinin kendine has potansiyel çalışma aralığı vardır. Bu aralık elektrot türüne bağlı olduğu gibi, çözücüye, kullanılan elektrolit türüne ve pH' ye de bağlıdır.

2.1.1.2. Yardımcı elektrot

Akım, çalışma elektrodu ile yardımcı elektrot ikilisinden geçirilir ve çalışma elektrodunun potansiyeli karşılaştırma elektroduna karşı sıfır akım altında saptanır. Elektriğin, sinyal kaynağından çözeltinin içinden geçerek mikroelektroda aktarılmasını sağlayan yardımcı elektrot diğer bir deyişle karşı elektrottur.

2.1.1.3. Referans elektrotlar

Potansiyeli deney süresince sabit kalan elektrot *referans elektrottur*. Referans elektrot genellikle Ag/AgCl veya doymuş kalomel elektrottur. Polarize olmayan bu elektrotlar, akım şiddeti artınca ideal konumlarından saparak reaksiyon boyunca potansiyelleri değişmeden sabit kalmaktadır (Tural vd, 2006)

Voltammetride çok çeşitli tür ve şekilde çalışma elektrotları kullanılmaktadır. Bunlar cıva, platin, altın, bizmut, ve karbon kökenli katı elektrotlar ile modifiye elektrotlardır. Bizim çalışmalarımızda kullandığımız karbon bazlı elektrotlar ise, camımsı karbon pasta (GCPE) ve karbon pasta elektrotlardır.

2.1.1.4. Karbon bazlı elektrotlar

Karbon bazlı elektrotlar, hızlı yanıt veren, ekonomik ve farklı konfigürasyonlarda ve çaplarda kolaylıkla oluşturulabilen elektrotlardır. Camımsı karbon (GC) ve karbon pasta (CP) en yaygın kullanılan karbon elektrotlarıdır. CP çok düşük zemin akımına, yenilenme ve modifikasyon kolaylığı içeren kompozit doğası gibi avantajlara sahipken, GC elektrot önemli elektrokimyasal reaktiviteye, iyi mekaniksel katılığa ve ihmal edilebilir gözenekliliğe sahiptir. Karbon elektrotların bu önemli özellikleri karbon temelli elektrokimyasal sensörlerin geliştirilmesinde büyük öneme sahiptir (Anık-Kirgöz, 2004).

2.1.1.5. Kompozit karbon elektrotlar

2.1.1.5.1. Karbon pasta elektrot (CPE)

Karbon pasta elektrotlar toz grafitin mineral yağ gibi organik bir sıvı tarafından karıştırılmasıyla hazırlanmaktadır. Pasta hazırlandıktan sonra teflon tüp gibi bir tüp içerisine sıkıştırılarak doldurulur ve elektriksel bağlantı platin veya bakır bir tel yardımı ile sağlanmaktadır. Oldukça geniş bir potansiyel aralığına (Çizelge 2.1) sahip olan karbon pasta elektrotların yapım ve yenilenmeleri kısa ve kolay olup, yeterli derecede düşük zemin akımına sahiptirler (Tural vd, 2006).

Çizelge 2.1. Karbon pasta elektrotlar için potansiyel sınırları (Tural vd, 2006)

| Ortam | Anodik Sınır (V) | Katodik Sınır (V) |
|--|-------------------------|--------------------------|
| 1 M KCl | + 1,10 | -1,1 |
| 1 M HCl | + 1,02 | -0,9 |
| Asetat tamponu pH 4,7 | + 1,27 | |
| 0,1 M H ₂ SO ₄ | + 1,30 | |
| 1 M NaOH | | -1,4 |
| 1 M NaClO ₄ | | -1,1 |
| NH ₄ ⁺ / NH ₃ tamponu | | -1,2 |

2.1.1.5.2. Camımsı karbon pasta elektrot

Camımsı karbon pasta elektrotları (GCPE), camımsı karbon mikro partiküllerin organik pasta sıvısı ile karıştırılmasını içeren hazırlanması kolay yeni bir karbon elektrot türüdür, bu özelliği ile kompozit elektrotlar ile birleşerek kolaylıkla hazırlanabilmektedir.

Sıyırma voltammetrisi ile bazı eser metallerin tayini ve biyolojik olarak önemli bazı maddelerin döngüsel voltammetrik ölçümlerinde kullanılmasıyla GCPE' nin oldukça önemli olan elektrokimyasal davranışlarının incelenmesi konusunda çalışmalar hızla artmıştır. Ayrıca yapılan çalışmalarda GCPE, CPE ile karşılaştırıldığında hidrojen peroksit yükseltgenmesine karşı daha iyi elektrokimyasal reaktivite gösterdiği gözlenmiştir. GC' den daha pozitif ve CPE' den daha negatif olan peroksit yükseltgenmesi +0.72 V de başlamasına rağmen, GC' nin yüzey modifikasyonu ile karşılaştırıldığında GCP biyosensörlerinin hazırlanma kolaylığı biyosensör olarak bu elektrot materyalinin önemli özelliklerinden biri olmuştur (Anık-Kırgöz, 2004).

2.2. Biyosensörler

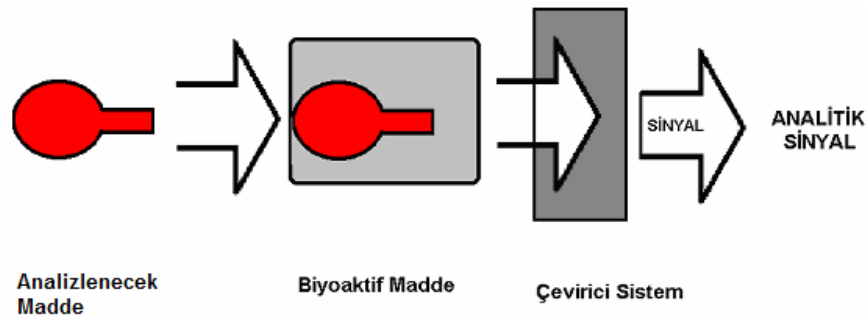
Biyosensör teknolojisinin tarihsel geçmişine bakıldığında bu alandaki ilk çalışmaların enzim sensörleriyle başladığı görülmektedir. Bunun yanı sıra elektrokimya alanındaki gelişmeler, özellikle amperometrik ve potansiyometrik esaslı sensörlerin pratik uygulamalarda rahatlıkla kullanılabilceği zemini oluşturmuştur. Çeşitli maddelerin çok sayıdaki duyarlı ve pratik analizlerine duyulan gereksinimin de artmasıyla ilk enzim elektrotlarıyla ilgili bilimsel çalışmalar başlamış oldu.

Bugünkü çalışmalara bakıldığında elektrokimyasal esaslı iletim sistemlerinin pratik ve ticari uygulamalarda enzim elektrotlarının büyük bir üstünlüğü göze çarpmaktadır. Bu sonuçtaki en büyük etmen canlı sistemlerle ilgili hemen hemen her türlü maddenin doğrudan veya dolaylı olarak analizinde kullanılabilecek binlerce enzimin varlığıdır (Telefoncu, 1999).

2.2.1. Biyosensör nedir

Biyosensörler biyolojik tepkimelerde hedef analitleri denetlemek için kullanılan küçük algılayıcı cihazlardır. Birbiri içine geçmiş biri biyokimyasal diğeri elektrokimyasal özellikteki iki çeviriciden oluşmaktadır. Biyokimyasal kısmın görevi analizlenecek maddeyle etkileşerek onu tanımadır.

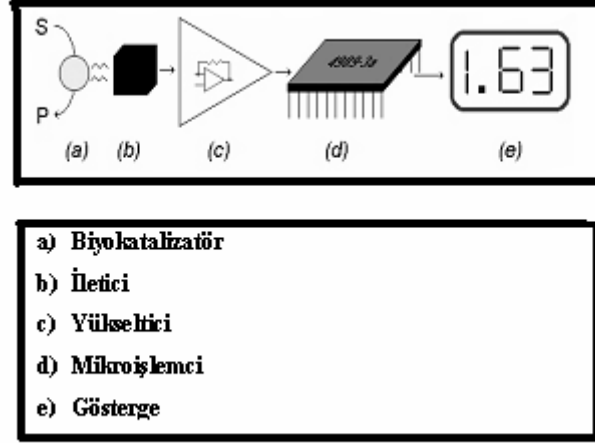
Bu tanıma olayının sonucunda bir biyokimyasal ürün de oluşabilmektedir. Biyosensörün ikinci kısmı olan elektrokimyasal kısım ise bu tanıma olayını okunabilir (ölçülebilir) bir sayısal değere çevirmekle görevlidir (Coulet, 1991; Telefoncu, 1999). Aşağıda bir biyosensörün şematik gösterimi verilmektedir (Şekil 2.1).



Şekil 2.1. Biyosensörün yapısı (<http://pharm.ege.edu.tr/pp/ozsozs/biosensor>)

1962 yılında Clark ve Lyons tarafından ilk kez bir enzimin bir elektrot ile entegre edilerek biyosensör oluşturulabileceğinin gösterilmesinden bugüne kadar bu tip elektrokimyasal sensörlerin geliştirilmesinde önemli bir aşama kaydedilmiştir. Biyosensörler bugün sağlık (diagnostik, pronostik vb.), gıda, su, kalite kontrol, çevresel incelemeler gibi birçok alanda kullanılır hale gelmiştir. Anyon ve kationları belirleyen sensörler klasik elektrokimya sayesinde hazırlanabilirken sisteme biyomateryalin (enzim gibi) de katılmasıyla diğeri bir çok materyalin tayini mümkün olmaktadır. Bu şekilde hazırlanan analiz sistemleri biyosensör olarak ifade edilir (Bloor, 1983).

Bir biyosensörün basitleştirilmiş işleyiş şeması şekil 2’ de verilmiştir;



Şekil 2.2. Bir biyosensörün temel bileşenleri
(http://sci.ege.edu.tr/~eubio/yaz_okulu/biyosensor.htm)

2.2.2. Biyosensörlerin kullanım alanları

Biyosensörler tıp, gıda, eczacılık, çevre kirliliği, savunma ve birçok endüstriyel aktivitede özellikle otomasyon, kalite kontrolü, durum tespit ve enerji saklanması çok önemli rol oynarlar. Bugüne kadar 180’ den fazla farklı madde için biyosensör hazırlanmış olup bunlardan ancak 25 kadarı ticari olarak üretilmektedir. Biyosensörler için mümkün uygulama alanları şunlardır:

2.2.2.1. Klinik uygulamalar

Bu alan biyosensörlerin temel uygulama alanıdır. Kan, gaz, iyon ve metabolik ölçümleri genellikle hastaların metabolik durumunu göstermek için gereklidir. Bu substratların çoğu tıbbi analitik laboratuvarlarında saatlerce hatta günlerce sürebilen klasik analizlerde geçen kan ve üre örnekleri tarafından belirlenir.

Biyosensörlerin kullanımı analitik sonuçların birkaç dakikada elde edilmesine olanak sağlar. "Medikal telesensörler" olarak da adlandırılan çipler vücut ısısını, nabızı, kan basıncını, kandaki şeker ve oksijen miktarlarını ve vücuttaki bazı metallerin konsantrasyonlarını ölçebilmektedir. Çeşitli şekerler, mayalar ve alkoller gibi reaktant ve ürünleri gösteren biyosensörlerde mevcuttur.

Bu sayede, ürün kalitesi artar, üretim seviyesi yükselir enerji tasarrufu sağlanır, bitki otomasyonu gelişir ve insan gücüne ihtiyaç azalır. Genellikle yiyecek ve içecek endüstrisinde geniş bir kullanım alanı vardır (Taşkiran, 2007).

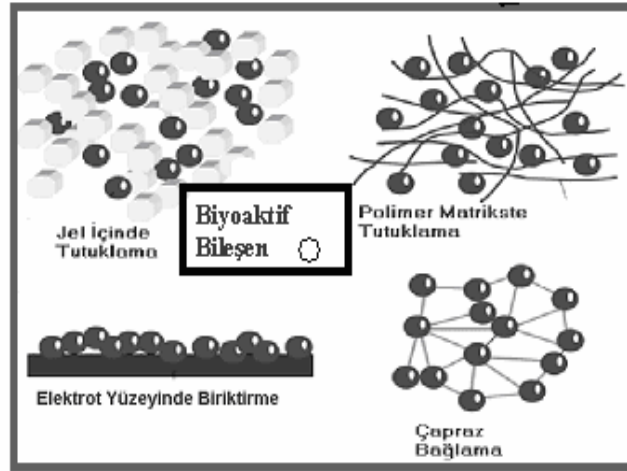
2.2.2.2. Çevresel uygulamalar

Havada suda toprakta ve diğer durumlarda yüksek seviyede potansiyel analit vardır. Mevcut kirlilik durumlarının yanı sıra çiftçilik, bahçecilik, veterinerlik ve madencilik biyosensörler için potansiyel birer kullanım alanıdır.

Biyoraportörler yoluyla petrol sızıntıları, yeraltı sularındaki uranyum miktarı, zehirli atıkların, kanserojenlerin ve içme sularını kirleten mikroorganizmaların derişimleri belirlenmektedir (Taşkiran, 2007).

2.2.3. Biyosensörlerde biyoaktif bileşen immobilizasyon yöntemleri

Biyoaktif bileşen ile iletici unsurun birleştirilmesinde oldukça farklı immobilizasyon yöntemlerinden yararlanılabilir. Biyoaktif bileşen sensör olarak da adlandırabileceğimiz temel iletici unsur üzerinde fiziksel olarak, jel içinde veya polimer matrikste tutuklanabilir, elektrot yüzeyinde biriktirilebilir, kovalent veya çapraz bağlanarak immobilize edilebilir. (http://sci.ege.edu.tr/~eubio/yaz_okulu/biyosensor.htm)



Şekil 2.3. Biyosensörlerin biyoaktif tabakalarında biyoaktif bileşen immobilizasyonunda kullanılan genel tekniklere ait gösterim (http://sci.ege.edu.tr/~eubio/yaz_okulu/biyosensor.htm)

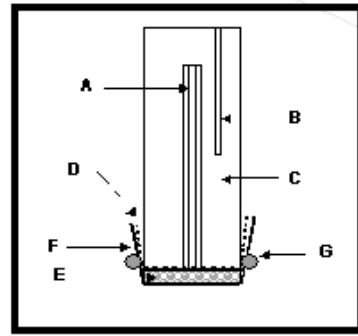
2.2.4. Biyosensör çeşitleri

Biyosensörlerde biyokomponent olarak enzimler yanında doku kültürleri, mikroorganizmalar, organeller, antikorlar, ve nükleik asitlerde kullanılabilmekte olup ölçüm tekniğine göre amperometrik, potansiyometrik, kondüktometrik, optik ve piezoelektrik biyosensörler olarak adlandırılabilirler.

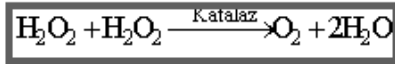
2.2.4.1. Amperometrik biyosensörler

Bugün biyosensörlerden bahsedilince ilk akla gelen daha genel ve yaygın kullanım imkanı bulmuş, analiz amacına yönelik biyoanalitik sistemler olmaktadır. Amperometrik biyosensörler bir substratın oksidasyon veya redüksiyonu sonucu oluşan akımı ölçer. Genel anlamda belli bir potansiyeldeki akım şiddetinin ölçümünü esas alır (Telefoncu, 1999).

Amperometrik biyosensörlerdeki en önemli faktör biyokatalizator ile elektrot veya varsa iletken polimer arasındaki elektron akışıdır. Bunu iletken polimerler en iyi şekilde başarırlar. Amperometrik biyosensör sistemlerine en uygun enzimler oksidazlar, dehidrogenazlar yani oksidoredüktaz sınıfı enzimlerdir (Clark, 1987).



Amperometrik esaslı bir biyosensörün şematik gösterimi
A: Çalışma elektrodu (Pt),
B: Referans elektrot (Ag/AgCl),
C: Elektrolit çözelti (KCl),
D: İç gaz geçirgen membran (Teflon),
E: İmmobilize enzimi içeren biyoaktif tabaka
F: Dış koruyucu membran (Selüloz asetat v.s)

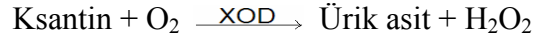
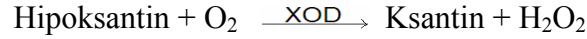


Şekil 2.4. Amperometrik esaslı bir biyosensörün şematik gösterimi

(http://sci.ege.edu.tr/~eubio/yaz_okulu/biyosensor.htm)

İletici sistem olarak bir amperometrik sensörün kullanılması durumunda ürünlerden sinyal oluşturan tür elektrot yüzeyinde tüketilmektedir. Bir biyosensörün biyoaktif tabakasındaki reaksiyonlar oldukça kompleks bir kinetiğe sahiptirler. Amperometri esaslı ve biyoaktif bileşen olarak enzimlerin kullanıldığı bazı biyosensörlere ilişkin bazı örnekler aşağıda verilmiştir.





Amperometrik tayinde karbon elektrotları kararlı düşük bir potansiyel sağlar ve düşük potansiyellerde elektron transfer reaksiyonunu hızlandırdığı için tercih edilirler.

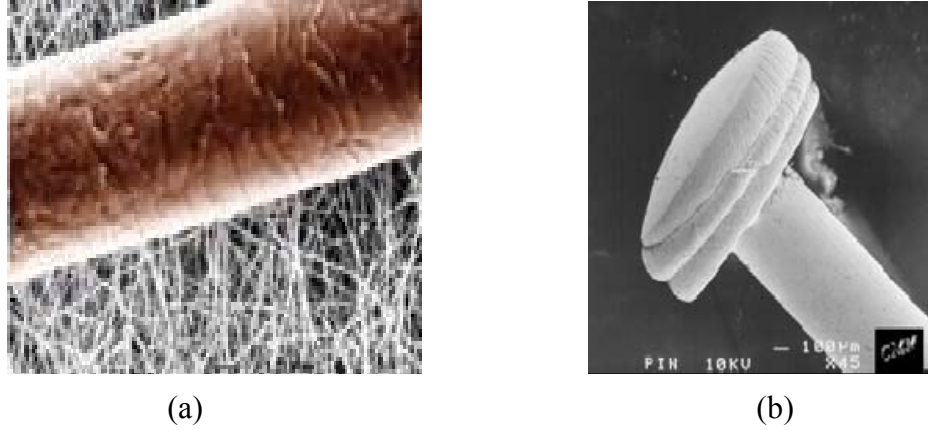
2.3. Nanoteknoloji

Yıllar önce bir odayı tek başlarına dolduran bilgisayarlar, önce masa üstlerimize, ardından dizüstlerine, şimdilerde de cebimize girecek kadar küçüldüler. Mikron boyutlarında hayatımıza giren gelişmelerse sadece bilgi işlemle sınırlı kalmamaktadır.

Peki bu kadar küçük boyutlarda ki materyallerin kullanımını ve geliştirilmesini içeren ve aynı zamanda hayatımızı kolaylaştıran nanoteknoloji nedir? Nanometre ölçeğindeki malzemelerin tasarımı, üretimi, montajı, karakterizasyonu ve bu malzemelerden elde edilmiş minyatür fonksiyonel sistemlerin uygulamalarını inceleyen ve hızla gelişen disiplinler arası araştırma-geliştirme faaliyetlerinin tümünü temsil etmektedir (<http://www.itab.anadolu.edu.tr/itab/pdf/nylp.pdf>).

Nanoteknoloji ölçü olarak “nanometre” adı verilen (kısa şekli nm) bir ölçme birimini kullanır. “Nano” sözcük olarak, bir fiziksel büyüklüğün bir milyarda biri anlamına gelir. Bir nanometreyse, metrenin bir milyarda birine eşit bir uzunluk birimidir. İnsan saç teli çapının yaklaşık 100,000 nanometre olduğu düşünülürse ne kadar küçük bir ölçekten bahsedildiği daha rahat anlaşılır.

Bir başka deyişle, bir nanometre içine yan yana ancak 2-3 atom dizilebilir; yaklaşık 100-1000 atom bir araya gelerek nano ölçeklerde bir nesneyi oluşturur. Nanoteknolojinin önemli yanlarından biri de sadece daha iyi ürünler değil, aynı zamanda daha gelişmiş üretim araçları sunmasıdır (<http://www.nanoteknoloji.net.tc/>).



Şekil 2.5. (a) İnsan saç telinin çapı $\sim 100,000$ nm, (b) toplu iğne başı 1 mm (<http://www.biltek.tubitak.gov.tr/bdergi/yeniufuk/icerik/ekDokuMuhNano.pdf>)

2.4. Nanopartiküller

Teknolojide yaşanan hızlı gelişmeler, nano teknolojinin doğmasına yol açtı ve çağımızın en öncelikli konularından biri oldu. Nano parçacıklar, ince filmler ve nanotüpler olarak elde edilen malzemeler, gösterdikleri çok ilginç fiziksel özellikler ve çok küçük boyutları nedeniyle teknolojide önemli bir kullanım alanına sahiptir. Nanoteknolojinin hayatımızda kullanımının artmasıyla birlikte nanomalzemeler üzerine çalışmalar artmıştır.

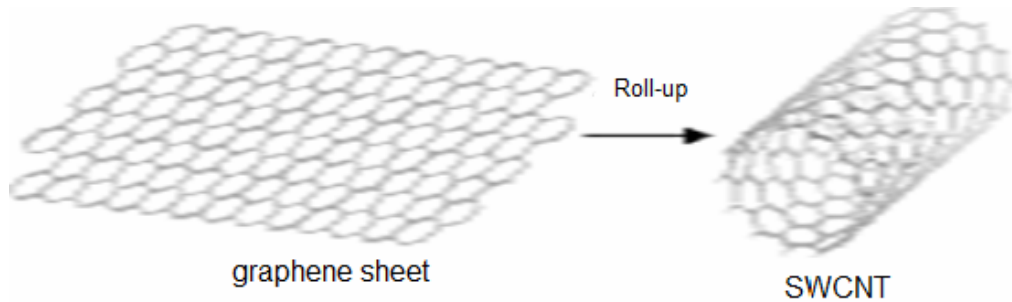
Nanometre boyutundaki farklı nanopartiküllerin kontrol edilebilir elektronik ve katalitik özellikleri bu partiküllerin elektrot fabrikasyonunda ve modifikasyonunda kullanılabilmesine olanak sağlamıştır. Çok tabakalı iletken nanopartiküllerle (Altın (Au) gibi metalik nanopartiküller) modifiye edilen elektrotlar gözenekli ve yüzey alanı geniş yapıya kavuşurlar.

Ayrıca metalik nanopartiküller analitiksel öneme sahip bazı elektrokimyasal tepkimelerin aşırı potansiyelini düşürerek metalik elektrotlarda tersinmez olan redox tepkimelerine de tersinirlik sağlamaktadır (<http://www.biltek.tubitak.gov.tr/bdergi/yeniufuk/icerik/ekDokuMuhNano.pdf>).

2.4.1. Karbon nanotüp (CNT)

Nanoteknolojinin hayatımıza girmesiyle birlikte çeşitli alanlarda kompozitler gibi daha hafif ve daha kullanışlı malzemeler geliştirilmiş ve kullanılmaya başlanmıştır. Ayrıca veri iletimi için bakır kablolar, altın çipler kullanılırken, nanoteknolojiye geçişle birlikte daha hafif, daha hızlı iletim ve daha az enerji sağlayan malzemeler üretilmeye başlanmıştır. İşte nanoteknolojinin en önemli konularından ve malzemelerinden biri karbon nanotüplerdir (CNT).

CNT, grafitin bal peteğini andıran atom düzleminin bir silindir üzerine hiçbir kusur oluşturmadan kesiksiz olarak sarılmış bir şekli olarak düşünülebilir (<http://www.itab.anadolu.edu.tr/itab/pdf/nylp.pdf>). Nanometrik aralıkta silindir, mikronun onda biri uzunluğunda olabilir ve her uç fulleren molekülün yarısı ile kapanır (Koç, 2003).



Şekil 2.6. Bir grafen yapısında nanotüp oluşumu
(<http://web.sakarya.edu.tr/~akbulut/intnano4a.pdf>)

CNT' ler önemli elektronik ve mekanik özelliklere sahip nano yapılarıdır. Nanotüpler ilk olarak tek boyutlu kuantum teller için prototip olarak düşünüldüğünden çok büyük bir ilgi çekmiştir. Diğer kullanışlı özelliklerin keşfedilmesiyle; özellikle dayanıklılığı, potansiyel kullanım alanları artmıştır.

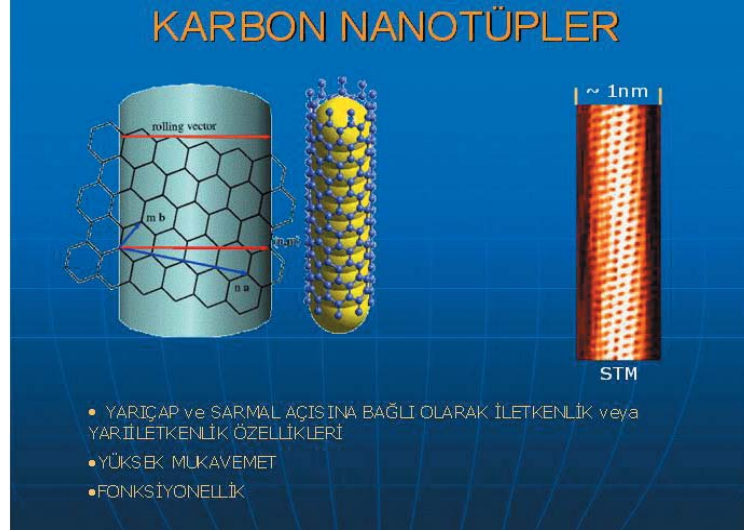
Örneğin, CNT' ler nanometrik boyutlardaki elektronik devrelerde ya da kuvvetlendirilmiş polimer malzemelerde kullanılabilir (http://physicsworld.com/cws/article/print/1761).

CNT' ler elektronik, kimyasal ve mekanik özellikleri ile sıradışı bir grup nanomateryaller olarak gösterilmektedirler. CNT' lerin benzersiz özellikleri kimyasal sensör görevi için özellikle de elektrokimyasal tayinde CNT' leri son derece önemli kılmaktadır. Son çalışmalar gösteriyor ki CNT güçlü bir elektrokatalitik aktivite ve elektrokimyasal cihaz üzerindeki yüzey bozulmasının azalmasına yardımcı olmaktadır (Wang ve Musameh, 2003).

2.4.1.1. CNT' lerin tarihçesi

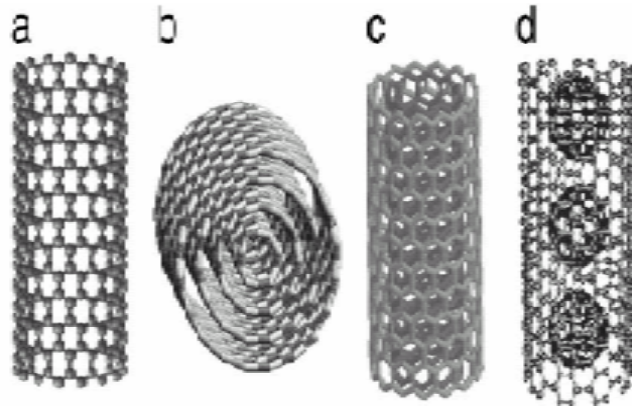
CNT' ler, silindirlere benzeyen fullerene tipidir. CNT' lerin bilimsel macerası 1985'ten 60 ya da daha fazla karbon atomunun birleştirilmesiyle oluşan futbol topu şeklindeki moleküllerin keşfiyle başlamıştır. Bu topların diğer atom veya moleküllerle yaptığı bileşiklere "fulleren" denir.

Bu keşiften sonra birçok laboratuvar sıcak karbon buharını yoğunlaştırarak futbol topu şeklindeki molekülleri elde etmeye çalışmış; bu elde etme işleminden küçük değişikliklerle çeşitli şekil ve boyutlarda küreye benzer yapılar elde edilmiştir (Koç, 2003).



Şekil 2.7. CNT' lerin tanımı ve taramalı tünelleme mikroskobu (STM) ile elde edilen görüntüsü (Çıracı, 2005)

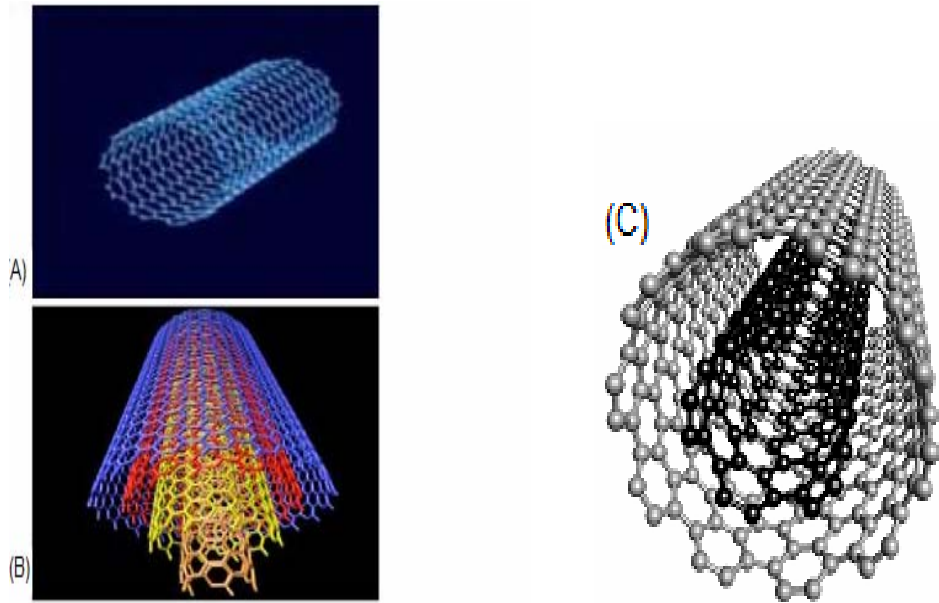
İlk tüp şeklindeki molekülleri 1991'de elektron mikroskobu uzmanı Sumia Iijima fullerenlerin ark-buharlaştırması sentezi sırasında katotta biriken malzemeyi araştırma sırasında bulunmuştur (Koç, 2003).



Şekil 2.8. Üretilen Karbon Nanotüp Formları; a) Tek-katmanlı, b) Çok-Katmanlı, c) Çift-katmanlı, d) Fulleren içeren tek-katmanlı (<http://web.sakarya.edu.tr/~akbulut/intnano4a.pdf>)

2.4.1.2. CNT çeşitleri

Nanotüplerin iki farklı sınıfı vardır: tek-duvarlı karbon nanotüpler (SWCNT) ve çok-duvarlı karbon nanotüpler (MWCNT), bunlardan çok ve tek duvarlı karbon nanotüplerin uygulama alanı daha geniştir.



Şekil 2.9. CNT'lerin sınıfları; (A) Tek-duvarlı karbon nanotüp (SWCNT), (B) Çok-duvarlı karbon nanotüp (MWCNT), (C) İki-duvarlı karbon nanotüp (DWCNT) (A,B-Merkoçi, 2005; C-hydrogen.cankaya.edu.tr/sunum/sunum5.ppt)

SWCNT'ler tüp çapı 1-2 nm' den oluşan kusursuz bir şekilde sarılmış tek bir grafit tabakadan meydana gelmektedir (R.Moore, 2004). Son zamanlarda, elektrokimya da elektrot materyali olarak SWCNT kullanımı büyük ilgi uyandırmıştır. SWCNT'ler olağanüstü mekaniksel, kimyasal ve elektronik özellikler göstermektedirler.

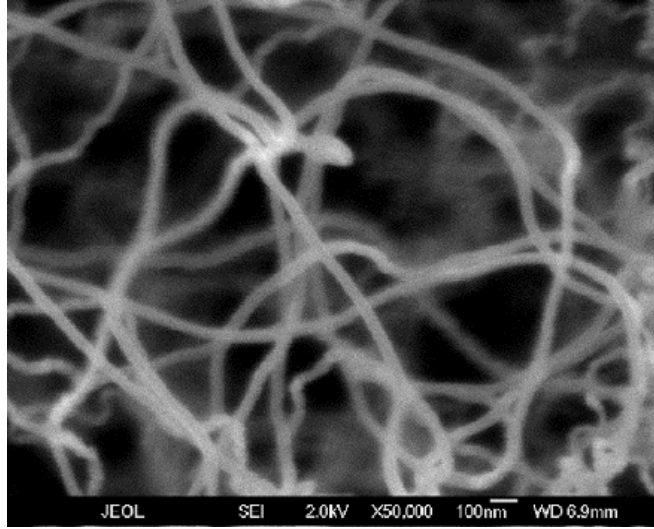
SWCNT' nin kütle taşınım mekanizması yarıçapa, sarmal yapıya ve çözeltideki elektroaktif türler ile elektron transfer reaksiyonuna aracılık etme yeteneğine bağlı olarak yarı iletken türden metalik türe doğru değişmektedir (Valentini, 2004).

MWCNT' ler çapları 2' den 50 nm' ye değişen, tabakalar arası uzaklığı 0.34 nm olan eş merkezli ve kapalı borucuklardan oluşmaktadır (R.Moore, 2004).

İki tane derişik SWCNT içeren MWCNT nin basitleşmiş yapısına iki-duvarlı karbon nanotüp (DWCNT) denir. 2-3 nm lik küçük çaplarından dolayı SWCNT ler gibi özellikler gösterirler ama o SWCNT lerden daha yüksek yapısal kararlılığa sahiptirler. Son yıllarda diğer karbon nanotüp çeşitlerinin elektriksel ve mekaniksel özelliklerinin üstünde daha büyük bir avantaj sağlamışlardır (Kuwahara vd, 2006).

2.4.1.3. CNT' lerin yapısal ve fiziksel özellikleri

CNT' ler, geometrilerine bağlı olarak yarı-iletken ve metalik özellik gösterirler. Hiç bir katkı maddesi olmaksızın, nanotüpün, geometrik parametrelerinin değiştirilmesiyle, elektronik özellikleri de değiştirilebilir. Tüplerin elektronik uygulamalarda, önemli bir yeri vardır. Karbon nanotüpler bilinen en sağlam ve esnek malzeme olma özelliğine sahiptirler. Dayanıklılık, esneklik gibi fizikî ve kimyevî özellikleri yanında; dış veya iç cidarlarının, atom veya molekülleri soğuracak özellikler taşıması, CNT' leri daha kullanışlı hale getirmektedir.

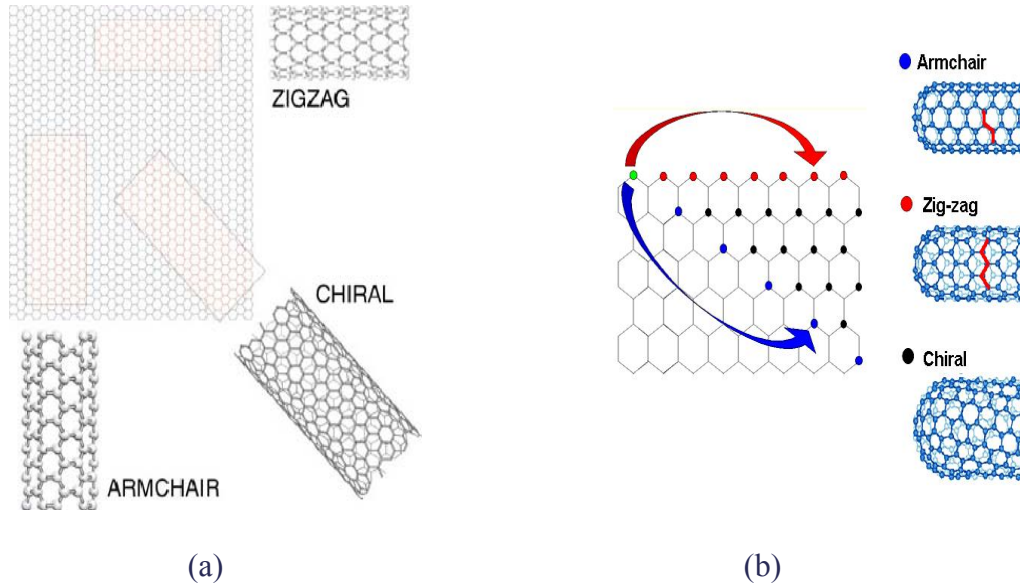


Şekil 2.10. CNT' lerin SEM görüntüleri (<http://www.nano-lab.com/nanotube-image.html>)

2.4.1.3.1. Nanotüplerin yapısal özellikleri

1991 yılında Sumi Iijima karbon nanotüpleri “Geçirmeli Elektron Mikroskobu” (TEM) yöntemi ile gözlemlenmiş ve böylece nanotüpler konusundaki araştırmalar üzerine yoğun çalışmalar yapılmaya başlanmıştır. Araştırmalar sonucunda bilim adamları karbon nanotüpler ile ilgili nano ölçekte birçok fiziksel, kimyasal, yapısal elektriksel ve optik özelliklerinin var olduğunu bulmuşlardır.

Yüksek çözünürlü mikroskopi teknikleriyle yapısı araştırılan karbon nanotüplerin kristal grafitlerden meydana gelen hegzagonal örgüdeki karbon atomlarının oluşturduğu silindirik yapılar olduğu görülmüştür. Nanotüpler 3 çeşit oluşum yönlerine sahiptirler. Bunlar: “armchair”, “zigzag” ve iki boyutlu grafit levhanın nasıl rulo yapıldığına bağlı olan “chiral” (Koç,2003) .



Şekil 2.11. CNT'lerin üç farklı oluşum yönleri [(a) <http://web.sakarya.edu.tr/~akbulut/intnano4a.pdf>; (b) http://www.yildiz.edu.tr/~gdereli/lab_homepage/ders.htm]

2.4.1.3.2. Nanotüplerin elektriksel özellikleri

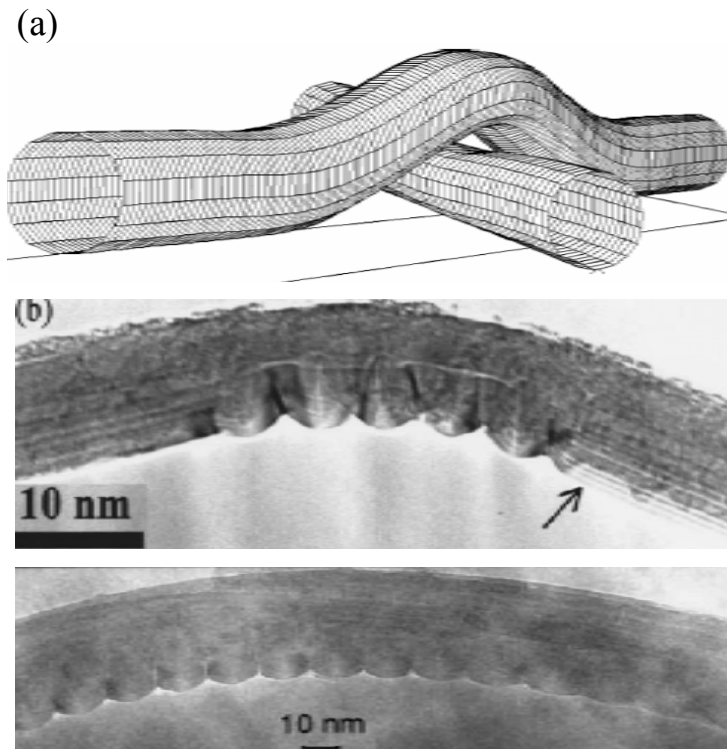
Karbon nanotüpler oldukça önemli yapısal, mekaniksel ve elektronik özelliklere sahip nanomateryallerdir. Karbon nanotüplerle yapılan iletimde, polifenilen esaslı zincirlerden 10 ila 100 kat daha fazla akım iletimi sağlanmaktadır. Karbon nanotüplerin ısı iletkenlikleri, en iyi ısı iletken olan elmasın 2 katıdır ve bakır telden 1000 kat daha fazla elektrik taşıyabilir.

CNT lerin küçük çaplarından dolayı kuantum mekanik etkileri elektronik yapılarını belirler. Bunun anlamı kuantizasyon şartlarının nanotüp çevresi boyunca nanotüpün metal ya da yarı iletken olarak davranıp davranmadığını belirler. CNT lerin en önemli uygulamalarından birini gösteren bu özellikler gelecek nanoelektronikinin temeli olduğu düşünülür (Merkoçi, 2005). Karbon nanotüpler, geometrilerine bağlı olarak yarı-iletken ve metalik özellik gösterirler. Hiç bir katkı maddesi olmaksızın, nanotüpün, geometrik parametrelerinin değiştirilmesiyle, elektronik özellikleri de değiştirebilir. Tüplerin elektronik uygulamalarda, önemli bir yeri vardır, çok esnek ve sağlamdırlar.

2.4.1.3.3. Nanotüplerin mekaniksel özellikleri

Grafit ve karbon fiberlerine benzer olarak, nanotüplerin çok sağlam ve yüksek elastikiyet modülüne sahip olmaları beklenmektedir. Ayrıca tek-katmanlı karbon nanotüplerin, tıpkı uzay teknolojisi uygulamalarında kullanılan karbon fiber gibi, çok sağlam ve esneme altında kırılmama dayanıklılığına sahip olması beklenmektedir.

Elmas kadar yüksek mukavemetlidirler ve 1,0-1,4 TPa arasında çok yüksek elastik modülüne sahiptirler. En iyi yüksek mukavemetli çelik alaşımından 30 kat daha güçlüdür. Düğüm yapılabilecek kadar esnek malzemelerdir ve yoğunluğu, en hafif malzemelerden olan alüminyumun yarısı ve çeliğin 1/6 sı kadardır. 3000 °C' ye kadar kararlı bir yapıya sahiptirler.



Şekil 2.12. C nanotüplerin bükülmesi a) Model b) Yüksek ayırım güçlü TEM fotoğrafı (<http://web.sakarya.edu.tr/~akbulut/intnano4a.pdf>)

Hasarsız bir karbon nanotüp, kendi ağırlığının 300 milyon katı bir ağırlığa dayanabilecek sağlamlıktadır. Bu sağlamlıkta başka bir malzeme yoktur. Ayrıca CNT lerin optik ve kimyasal özelliklerinden de bahsedebiliriz. Mesela CNT ler optik olabilirler ancak chiral nanotüpler çok uzun iseler optiklik ortadan kalkar. Kimyasal olarak da inerttirler ve graphene levhalardan daha reaktiftirler.

2.4.1.4. Karbon nanotüplerin elde edilmesi

Karbon nanotüpler temel üç yöntemle üretilir. Bunlar;

- Ark buharlaştırma
- Kesikli Lazer Buharlaştırma
- Kimyasal Buhar Biriktirme

2.4.1.4.1. Ark buharlaştırma

Fullerenin hazırlanması için kullanılan karbon nanotüpler benzer karbon-ark buharlaşma metodu ile katotdan üretilerek Iijima tarafından keşfedilmişlerdir (Trojanowicz, 2006). CNT leri hazırlamanın birçok yolu vardır ark buharlaştırma bunlardan ilkidir. Bu metot, neredeyse birbirinden 1 mm ile ayrılmış uç uca yerleşmiş iki grafit çubuğun genellikle düşük basınçta (50 ve 700 mbar arasında) ve inert gaz (helyum ve argon) ile doldurulan bir düzenekte ark buharlaşmasından MWCNT leri meydana getirmesiyle gerçekleştirilmektedir. İki ayrı grafit çubuk arasında SiC tozu üreten modifiye cihazlar tarafından bir dc ark voltaj uygulandıktan sonra, buharlaşmış anot çember içinde kurum şeklinde fullerin meydana getirir, ve buharlaşmış anodun bir kısmı katotta birikir. Metal katalizör içeren grafit çubuk (örn: Fe ve Co) anot olarak kullanıldığında ve katot da saf grafit olduğunda, SWCNT ler MWCNT ler yerine üretilmektedirler.

2.4.1.4.2. Kesikli lazer buharlaştırma (Lazer-Ocak Yöntemi)

Kesikli Lazer Buharlaştırma metodu aslında metal kümesi ve ultrafine partiküller olarak kullanılmıştır. Daha sonra fulerin ve CNT üretimi için geliştirildi. Lazer Buharlaşma metodu genellikle SWCNT nin üretimi için kullanılmıştır. Lazerlerin enerji yoğunluğu diğer buharlaşma aygıtlarından çok yüksek oldukça, lazer yüksek kaynama sıcaklığı olan (örn: karbon) materyaller için uygun olmaktadır.

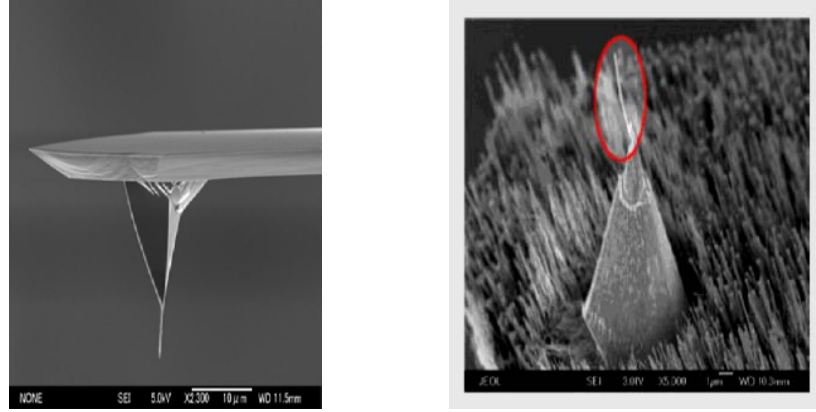
2.4.1.4.3. Kimyasal buhar biriktirme (CVD)

İlk iki metodun, ark buharlaştırma ve kesikli lazer buharlaştırma, bazı eksiklikleri vardır; bunlar yerleşim kontrolüne ve sentezlenmiş CNT lerin sıralanmasına izin vermemesi olarak sıralayabiliriz. Bu durumdan kimyasal buhar biriktirme ile kaçınılabilir. Bu popüler metot metal katalizörlüğünde termal olarak ayrışan hidrokarbon buharını (örn: metan) kullanmaktadır.

Metot ayrıca termal ya da katalitik CVD olarak da bilinmekte ve yöntem, yeterli yüksek sıcaklıkta hidrokarbonu ayrıştıran katalizör materyali varlığında tüp fırını içinden hidrokarbon buharının geçirilmesini içermektedir. CNT' ler katalizör üzerinden geçirilir ve sistem soğutulurak oda sıcaklığında toplanmaktadır (Merkoçi, 2005).

2.4.1.5. Karbon nanotüplerin işlenmesi

Nanotüplerden devre yapabilmek için, kontrollü bir şekilde nanotübün işlenebilmesi önemlidir. Nanotübün konumunu, şeklini ve yönelimini değiştirebilmek için atomik kuvvet mikroskobu (AFM) kullanılır.



Şekil 2.13. AFM ucu nanotüplerin SEM görüntüleri
(<http://web.sakarya.edu.tr/~akbulut/intnano4a.pdf>)

AFM ilk kez kontak yapmayan modelde, AFM ucunu tarayarak nanotüp görüntüsünü elde etmek için kullanılmıştır. Sonrasında AFM ucu zemine getirilerek, nanotüpü hareket ettirmek için kullanılmıştır. Nanotüp ve zemin arasındaki güçlü Van der Waals etkileşmesinden dolayı doğal dik şekline dönmeyerek bırakıldığı gibi kalır, pozisyonunu korur (Koç, 2003). CNT'ler kimyasal ve mekaniksel dinçliği ve oldukça büyük yüzey oranı yüzünden taramalı uç mikroskopu için prob ucu olarak kullanıma uygun olmaktadır (Kuwahara, 2006).

2.4.1.6. Karbon nanotüplerin elektrokimya kullanımı

Karbon elektrotlar voltammetrik analizlerde en çok kullanılan katı elektrotlardan biridir. Çünkü bu elektrotlar geniş anodik çalışma aralığı ve düşük zemin sağlamakla birlikte ekonomiktirler ve kimyasal anlamda inerttirler. Yaygın şekilde kullanılan, camımsı karbon elektrot (GCE), iyi kimyasal elektoreaktiviteye, mekaniksel kararlılığa ve ihmal edilebilecek boyutta gözenek yapısına sahiptir. CP ve GCPE ise kompozit yapıdaki karbon temelli elektrotlara örnek teşkil etmektedirler.

Camımsı karbon pasta ve karbon pasta elektrokimyada en yaygın şekilde kullanılan karbon elektrotlarıdır. GCE' lar iyi bir elektrokimyasal reaktivite, iyi mekaniksel sertlik ve ihmal edilebilir gözenekliliğe sahipken, CPE' lar çok düşük zemin akımı, yenilenebilir ve modifikasyon kolaylığı içeren kompozit doğası gibi avantajlara sahiptir. Karbon elektrotların bu ilgi çekici özellikleri karbon bazlı elektroanalitik sensörlerin üretimine dikkatin çekilmesinin nedenlerinden biridir. (Anık-Kırgöz, 2004).

Karbon elektrotları düşük zemin akımı, geniş potansiyel aralığı, düşük maliyet, kimyasal isteksizlik, çeşitli duyarlık ve tayin uygulamalarına uygunluklarından dolayı elektroanalizde yaygın olarak kullanılmaktadır. Karbonun çeşitli formları elektroanalitik uygulamalar için uygundur ve kullanılabilir. Bunlar arasında GCP ve CP en popüler karbon elektrot materyallerindedir. GCP ilginç elektrokimyasal reaktivite, ihmal edilebilir gözeneklilik ve iyi mekaniksel katılık göstermektedir. CP çok düşük zemin katkılarında, kompozit doğasından, modifikasyon, yenilenebilir ve küçültme kolaylığından dolayı popüler olmuştur. Bu tip elektrotlar su ile karışmayan grafit partiküllerin (yalıtkan pasta sıvısı) dağılımına dayanmaktadır (Wang, 2001). Elektron transfer reaksiyonunu arttırmak için karbon nanotüplerin yeteneği elektronik yapılarına ve yüksek elektriksel iletkenliklerine dayandırılmaktadır (Musameh, 2002).

CP ve kompozit elektrotlar birkaç yıldan beri elektrokimyasal sensörlerde kullanılmaktadır. CNT içeren benzer matrisler elektrokimyasal sensör alanında araştırmaların odak noktası olmuştur. Polimer matris içindeki CNT' ler ya rastgele ya da dikey olarak dağılabilmektedirler.

Literatürlerde CNT pastaları ya da kompozitleri üretmek için bağlayıcıların çeşitliliğinden (mineral yağ, teflon ya da epoksi reçine) bahsedilmiştir, katı epoksi bazlı CNT kompozitler en az kullanılandır. Yayınlanan makalelerin büyük çoğunluğu CNT' lerin düşük aşırı potansiyellerde elektron-transfer reaksiyonlarını arttırdığını göstermiştir. Bu avantaj CNT bazlı sensörlerin enzimlerle bağlanarak araştırmaların artmasına neden olmuştur. CNT' lerin elektrokimyasal sensör yapımında kullanılmasını sağlayan çeşitli avantajları vardır. Belki de bugüne kadar bulunan CNT enzim-temelli biyosensörlerin en ilginç özelliği gelişmiş çalışma kararlılığıdır.

Bununla beraber, sensör yapımında CNT'lerin kullanım avantajları ve fizibilitelelerini değerlendirmek için tam bir inceleme olması ve CNT'lerin nasıl üretildiği ve dağıldığı, yüzey kimyası ve morfolojisi, etkin yüzey alanı ve metal safsızlıkların varlığı gibi konuların çözümüne yönelik çalışmaların yapılması gerekmektedir (Merkoçi, 2005).

2.4.1.7. Karbon nanotüplerin biyosensör sistemlerinde kullanımı

Biyosensörlerin geliştirilmesi ve performansları biyosensör yapımında kullanılan materyallerin büyük bir kısmına bağlıdır. Ayrıca transduserin yapımı için kullanılan materyaller, enzim immobilizasyonu için kullanılan matrisler, stabilizatör ve medyatör gibi, fizikokimyasal karakteristiğine bağlıdır. Biyosensörlerin büyük çapta kullanımını önleyen sınırlayıcı faktörlerden biride kötü sinyal kararlılığı ve beklenmeyen düşük sensör-sensör yenilenebilirliğidir.

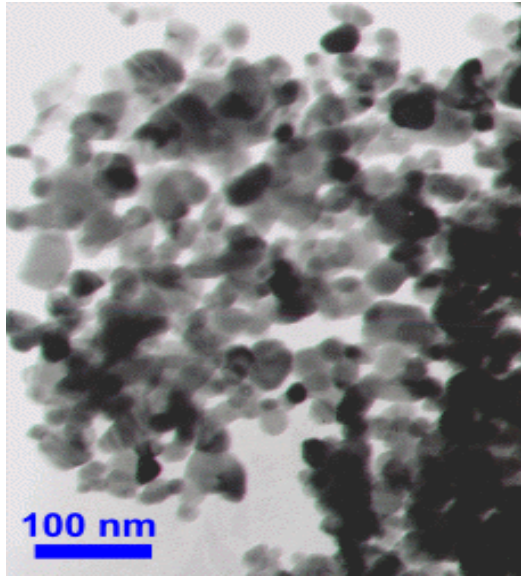
Bu sorunların nedeni transduserlerin ve biyosensörlerin oluşturulmasında kullanılan diğer materyalleri kesin olarak kontrol etmeye yetersiz olmasıdır. Kullanılan en yaygın elektrokimyasal transduser inert metallerdir, örneğin platin ya da altın ya da karbonlu materyallerdir. Karbon pastanın biyosensör yapımında destek matrisi olarak yaygın kullanımı basit oluşturma prosedürlerine, gösterdiği düşük zemin akımına, yüzey yenilenme yeteneğine, ve düşük maliyetine bağlıdır. Karbon pastaların ilk eksikliği pastanın bileşiminin yenilenme zorluğudur.

Diğer karbon materyalleri içinde elektrokimyasal transduser olarak grafit, karbon fiber gözenekli karbon ve camımsı karbon, ve ek olarak yeni keşfedilmiş ve çok ilginç olan karbon küreler ve nanotüpler de kullanılabilir. Bu materyaller aynı zamanda kullanışlı fiziksel karakteristik ve yenilenebilir elektrokimyasal davranışa sahipken enzim immobilizasyonuna sağlamaktadır.

Camımsı karbon uzun yıllardır elektrot materyali ve belirli bir biçimde biyosensör immobilizasyon matrisi olarak kabul edilen diğer bir materyaldir. Yapısal olarak, sıkı bir katı, mekaniksel olarak kararlı, gaz sızdırmaz, akışkan ve kimyasal olarak geniş aralığın üzerinde dirençlidir. Üstelik, yüksek gözeneklilik, geniş bir potansiyel aralığı üstünde düşük zemin akımı ve büyük moleküllerin adsorpsiyonu için önemli uygulanabilirliği bu materyali ideal kılmıştır (Sotiropoulou, 2003).

2.4.2. Altın nanopartiküller

Son yıllarda nanopartiküllerin önemli özellikleri hakkındaki gelişmeler biyoduyarlık alanlarında bu materyallerin uygulanabilirliği ve elektrokimyasal davranışları hakkındaki ilgiyi arttırmıştır. Altın nanopartikül (Au-np) proteinlerin adsorpsiyon üzerinden biyolojik aktivitelerini muhafaza etmelerine yardım eden bir çeşit nanomateryaldir. Büyük yüzey alanı, iyi elektronik özellikler ve redoks proteinlerinin doğru elektron transferinin çalışması için kullanımı biyosensör yapımındaki kullanışlığını arttırmıştır.



Şekil 2.14. Altın nanopartikülün geçirmeli elektron mikroskopu (TEM) görüntüsü (<http://www.nanoamor.com/inc/sdetail/6355>)

Enzim biyosensörünün performansının sadece enzim molekülünün doğasına değil aynı zamanda immobilizasyon yoluyla bu moleküllere uygulanan etkilere bağlı olduğu bilinir.

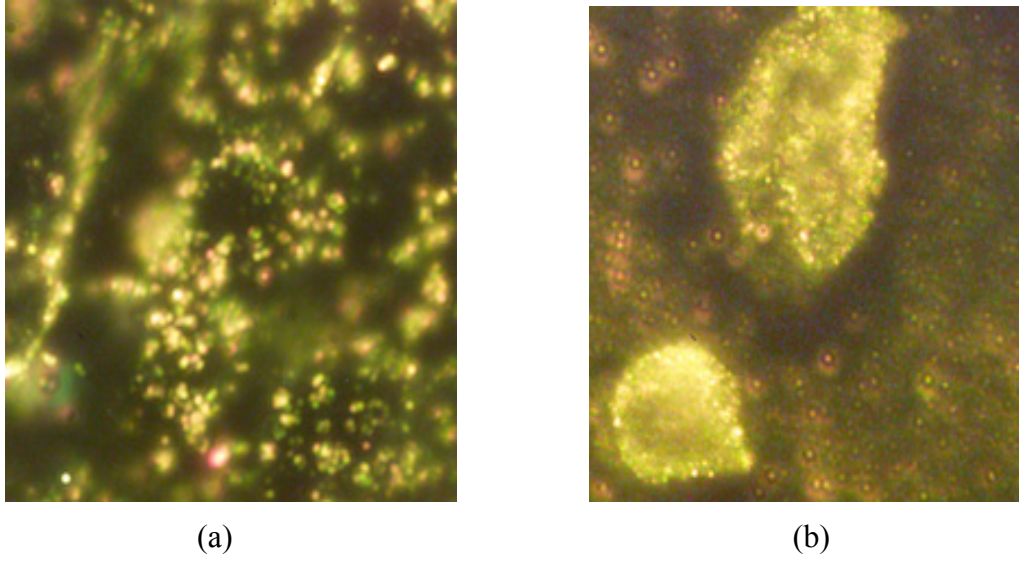
Altın nanopartikül ile elektrot yüzeyinin modifikasyonu yerel sistemlerdeki redoks proteinlerine benzer bir mikroçevre sağlar ve altın nanokristallerin iletim tüneli içinden doğru elektron transferi için protein kabuklarının yalıtma etkisinin indirgenmesi yoluyla oryantasyonda protein moleküllerine daha bir serbestlik sağlar.

Altın nanopartiküllerin yüzey morfolojisi, nanopartiküller arasındaki uzaklık ve elektrot yüzeyi, elektrot materyali ve redoks proteini arasındaki elektriksel bağlantının meydana getirilmesinde rol oynayan önemli faktörlerdir. Altın nanopartiküllerin nanometrik sınırları, elektron transferi için biyomolekül redoks kısmı ve elektrot arasındaki uzaklığı azaltması yoluyla hafifçe protein içine girer (Mena, 2005). Altın nanopartiküller kendilerine has optik, elektronik ve moleküler tanıma özellikleri yüzünden çeşitli alanların uygulamaları ile birlikte elektronik, nanoteknoloji ve önemli özellikteki yeni materyallerin sentezini içeren araştırmaların da konusu olmuştur.

Yeni çalışmalara göre altın nanopartiküller potansiyel olarak biomedikal uygulamalarda kullanılabilen ufak, kesin ve güçlü ısıtıcılar olarak davranabilmektedirler.

Ohio Üniversitesi bilimadamlarından Hugh Richardson ve Sasha Govorov' ye göre altın gibi metal nanopartiküllerin küçük bir kısmının lazer ışığının doğru frekansı ile uyarıldığında kendi büyüklüğünden 1000 kata kadar bir alanı ısıtabildiği ifade edilmektedir. 1 cm boyutundaki bir objeden 200,000 kat küçük olan altın nanopartikül 50 nm' dir (<http://news.research.ohiou.edu/news/index.php>)

Biyobağlıcılar kullanılarak, nanopartiküller özel hedeflere etki etmek için dizayn edilebilirler. Biyobağlıcılar sadece belli tip hücrelere bağlanmak için düzenlenen özel, yapışkan moleküllerdir. Biyomedikal uygulamalarda, birkaç tane altın nanopartikül tümör hücreleri gibi tek makro ölçekli objelere ısı etkisi üretmek için kullanılabilirler (Şekil 2.15) .



Şekil 2.15. (a) Altın nanopartiküller kansersiz hücelere yapışmaz. Sonuçlar basit bir mikroskop ile görülebilir, (b) Altın nanopartikül kanserli hücelere yapışır ve onların parlamasını sağlar (<http://www.gatech.edu/newsroom/release.html>)

2.5. Kompozit

2.5.1. Kompozit malzeme nedir

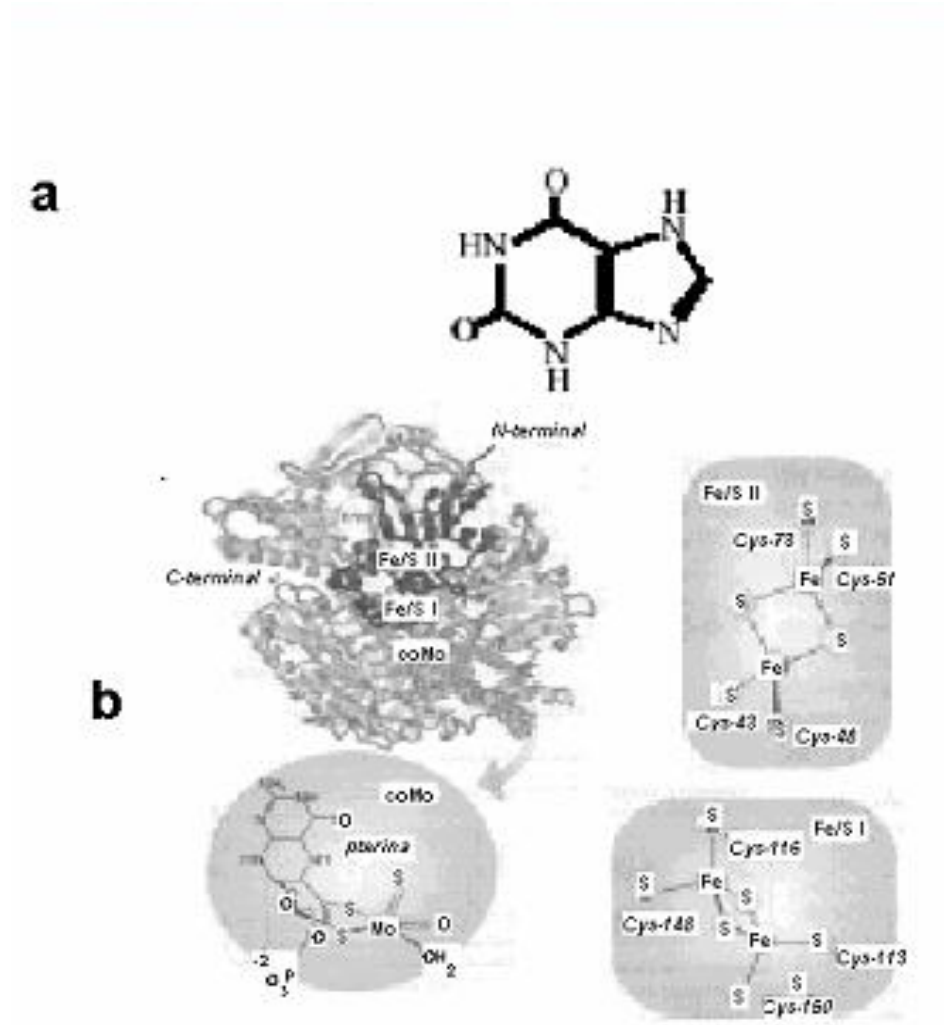
İki veya daha fazla sayıdaki aynı veya farklı gruptaki malzemelerin, en iyi özelliklerini bir araya toplamak ya da ortaya yeni bir özellik çıkarmak amacıyla, bu malzemelerin makro seviyede birleştirilmesiyle oluşan malzemelere “*Kompozit Malzeme*” denir.

2.5.2. Nanokompozit

Nano boyuttaki malzemelerin bir araya gelerek yeni bir yapı oluşturmasıdır. Nanokompozit yapılar ile elektrokimyasal ölçümler için elektrotlar geliştirilebilmektedir.

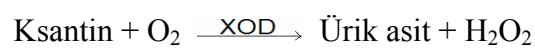
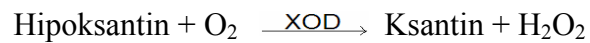
Bu çalışma temel olarak iki bölümden oluşmaktadır. Bunlardan ilki; CNT modifiye karbon pasta elektrotlarının ksantin (X) biyosensöründe transdüser olarak elektroanalitik performansının incelenmesidir.

İkincisi ise, altın nanopartikül (Au-np) ve ksantin oksidaz (XOD) modifiye camımsı karbon pasta elektrodun ksantin ve hipoksantin (Hx) tayininde performansının incelenmesinden oluşmaktadır. Çalışmanın ilk bölümünde, farklı oranlarda CNT içeren CPE' ler XOD enzimi ile modifiye edilerek ksantin tayinine ilişkin biyosensör geliştirilmiştir. Ksantin oksidaz kompleks bir flavo proteindir. İki benzer ve katalitik anlamda bağımsız alt ünitelerden oluşmuştur. Her bir alt ünite bir molibden merkez, ikide sülfür merkezi ve flavin adenin dinükleotit (FAD) içermektedir. Ksantin (a) ve ksantin oksidaz (b) yapıları şekil 16' da gösterilmektedir. Ksantine yönelik sensör geliştirilmesi biyolojik anlamda önemlidir. Çünkü bir bileşiğin düzeyi gıda endüstrisindeki et veya balığın endeks tazeliği olarak kullanılmaktadır. Bu bileşiğin tayini için spektrofotometrik ve kromatografik yöntemler geliştirilse de yöntemlerin pahalı olması ve ölçümden önce ön işlem gerektirmesi dezavantaj oluşturmaktadır.



Şekil 2.16. (a) Ksantin , (b) Ksantin oksidaz (Anık-Kırgöz, 2004)

Önerilen sistem enzimatik reaksiyon sonucunda açığa çıkan H_2O_2 nin yükseltgenmesine ilişkin akımın kronoamperometrik olarak incelenmesidir. Ksantin oksidaz, ksantinün ürik aside yükseltgenmesi sonucu reaksiyonu aşağıda gösterildiği gibi katalizlemektedir.

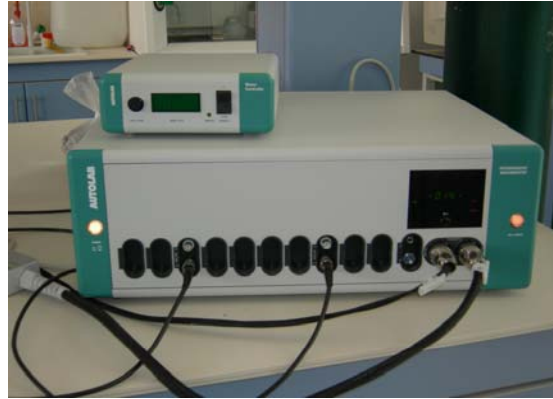


Sistem optimizasyonu gerçekleştirildikten sonra CNT' lerin etkisi incelenmiş ve biyosensör plazma örneklerindeki ksantin tayinini uyarlamıştır. İkinci bölümde kompozit bir elektrot altın nanopartikül (Au-np) ve XOD enzimi ile camımsı karbon mikropartikül modifiye edilerek X ve Hx tayini için hazırlanmıştır. Au-np ile hazırlanmış kompozit yapıdan daha duyar, pratik, kullanımı ve hazırlanması kolay bir elektrot elde edilmektedir.

3. MATERYAL ve YÖNTEM

3.1. Elektrokimyasal ölçme sistemi

Deneyleerde voltammetri, kronoamperometri gibi çeşitli elektrokimyasal metotların çalışılabildiği ana üniteye bağılı bilgisayar sistemi ile AUTOLAB PGSTAT 12 (Şekil 3.1) elektrokimyasal ölçüm sistemi kullanılmıştır. AUTOLAB PGSTAT 12 kullanım kolaylığını ve çok iyi bir performansı bir araya getiren dinamik bir sistemdir. AUTOLAB cihazlarının önemli bir özelliği modüler yapıda olmalarıdır. Bu cihaz özellikle sulu çözeltiler gibi düşük dirence sahip ortamlarda araştırma yapmak üzere dizayn edilmiştir.



Şekil 3.1. AUTOLAB PGSTAT 12 cihazı

Bilgisayar kontrollü olan AUTOLAB PGSTAT 12 cihazının sinyalleri GPES Windows 4,9 yazılımı ile değerlendirilmiştir. Deney verileri grafik şeklinde görülebildiği gibi, Windows tabanlı GPES 4,9 yazılımı ile üst üste çakıştırılarak karşılaştırmalı çalışmalar yapılabilmektedir. Magnetik ortamda dosyalanarak kaydedilen deneyler istenildiği zaman tekrar görülebilmektedir.

Kullanılan diğler cihaz ve malzemeler aşağıda verilmiştir;

- GCP ve CPE' nu temizlemek ve bazı maddeleri çözüme amacıyla BANDELIN marka RK 102 H model sonikatör kullanılmıştır.
- 25 °C' de pH = 7 ve pH = 7,5' da standart elektrot çözeltileriyle kalibre edilmiş ORION STAR SERIES model pH metre ile gerekli pH ölçümleri yapılmıştır.
- Kimyasal çözeltileri hazırlamak için katı kimyasalların tartımı PRECISA XR 205SM-DR model hassas terazi ile yapılmıştır.

3.2. Kullanılan elektrotlar

Çalışma hücresi, analit ve reaktif olmayan destek elektrolit içeren bir çözeltiliye daldırılmış üç elektrottan yapılmıştır. Deneyler oda sıcaklığında 10 ml' lik voltammetrik hücrede (Metrohm) üçlü elektrot sistemi kullanılarak gerçekleştirilmiştir (şekil 3.2).



şekil 3.2. Üçlü elektrot sistemine ait düzenek

Çalışma elektrodu olarak SWCNT ve MWCNT modifiye CPE, Au-nano modifiye GCPE kullanılmıştır. Referans elektrot olarak Ag/AgCl (Metrohm), yardımcı elektrot olarak Pt elektrot (Metrohm) kullanılmıştır.

3.3. Kullanılan kimyasal maddeler

Bu çalışmada bütün elektrokimyasal ölçümlerde destek elektrolit olarak pH=7 ve 7,5 da KH_2PO_4 tamponu (MERCK/ purity 99,995%) kullanılmıştır. Tampon hazırlanırken üzerine 1 M NaOH (98%, pure, Horasan Kimya) ilave edilerek pH ayarlaması yapılmıştır. Reaktif çözeltiler olarak $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ (99,99+%, d=1,89 g/mL, SIGMA-ALDRICH), Hipoksantin ($\text{C}_5\text{H}_5\text{N}_4\text{O}$ $\geq 99\%$, SIGMA), Ksantin sodyum tuzu ($\text{C}_5\text{H}_3\text{N}_4\text{NaO}_2$, minimum 99%, SIGMA) ve H_2O_2 (50%, d=1,19 g/mL, smyras merck index 12,4839) kullanılmıştır. Karbon Pasta ve modifiye karbon pasta hazırlanması için MWCNT (diam.=110-170 nm, length=5-9 micron, 90+%, ALDRICH), SWCNT (short diam. 1-2 nm x length 0,5-2 μm , 90%, ALDRICH), Au-np (gold colloid, 0,75A₅₂₀ units/mL, conc. : ~0,01 % as HAuCl_4 , SIGMA), grafit tozu (<20micron, sentetik, ALDRICH), glassy carbon spherical powder (20-50 micron, type1, Alfa Aesar) nanopartikülleri ve bunları pasta kıvamına getirmek için mineral yağ (SIGMA-ALDRICH) gibi organik bir sıvı ile karıştırılarak hazırlanmışlardır. Örnek uygulama çalışmalarında örneği parçalamak için perklorik asit (HClO_4 , 70% min., d 1,67, Prolabo) kullanılmıştır. Biyosensör yapımında pasta içinde XOD enzimi (from buttermilk 0,056 U/mg, Fluka, XOD 0,06 units/mg solid, SIGMA), kullanılmıştır.

3.3.1. Kullanılan çözeltilerin hazırlanması

3.3.1.1 Destek elektrolit tampon çözeltisinin hazırlanması

Deneylerde destek elektrolit olarak 50 mM fosfat tamponu (KH_2PO_4 , merck) kullanılmıştır. Bu amaçla KH_2PO_4 ' den gerekli miktarda tartım alınarak çözelti hacmi 500 mL olacak şekilde distile su ilave edilmiştir. Destek elektrolit hazırlanırken üzerine derişik NaOH ilave edilerek pH ayarlaması yapılmıştır.

3.3.1.2. Reaktiflerin hazırlanması

Deneylerde kullanılmak amacıyla 1×10^{-2} M' lık stok potasyum ferrisiyanür ($\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$, sigma-aldrich) ve 1×10^{-3} M' lık ksantin (X, $\text{C}_5\text{H}_3\text{N}_4\text{NaO}_2$) ve hipoksantin (Hx, $\text{C}_5\text{H}_5\text{N}_4\text{O}$) çözeltileri hazırlanmıştır. Bu amaçla maddelerden gerekli tartımlar alınarak çözelti hacmi potasyum ferrisiyanür için 100 mL ve ksantin/hipoksantin için de 20' şer mL olacak şekilde saf su ilave edilmiştir, Au-np ile yapılan çalışmalarda ksantin ve hipoksantin için 20' şer mL olacak şekilde fosfat tamponu ilave edilerek çözeltiler hazırlanmıştır. Çalışmalardaki bütün çözeltiler bidistile su ile hazırlanmıştır.

3.3.2. Çalışma hücresinde kullanılan çözeltinin hazırlanması

Döngüsel voltammetri ve kronoamperometri metotlarında kullanılmak üzere Bölüm 3.3.1.1.'de belirtilen destek elektrolit çözeltisinden gerekli miktarda ve Bölüm 3.3.1.2.'de hazırlanışı anlatılan reaktiflerden gerekli miktarda alınarak voltammetrik çalışma hücresindeki son hacim 10 mL olacak şekilde çözelti hazırlanmıştır.

3.4. Geliştirilen amperometrik biyosensörler

3.4.1. CNT modifiye CPE' nun elektroanalitik performansının X biyosensöründe transduser olarak incelenmesi

3.4.1.1. Elektrot hazırlanışı

Farklı oranlarda XOD temelli MWCNT ve SWCNT modifiyeli CPE (70:30 (w/w) % grafit tozu/mineral yağ, gerekli miktarda karbon nanotüp ve 0,3 mg XOD) grafit tozunun, enzimin ve mineral yağın bir spatula yardımı ile karıştırılmasıyla hazırlanmıştır. Daha sonra hazırlanan pasta elektrot boşluğuna (3 mm çapında, 5 mm yüksekliğinde) iyice doldurulmuştur. Elektriksel bağlantı bir bakır tel yardımı ile sağlanmıştır. Ölçüm yapılmadan önce, elektrot yüzeyleri uygun kağıtlara sürtülerek parlatılmıştır.

3.4.1.2. Deney yapılışı

Kronoamperometrik ölçümler 0,05 M fosfat tamponunda (pH 7,0) çözelti karıştırırken MWCNT için +0,9 V çalışma potansiyeli altında ve SWCNT için +0,8 V çalışma potansiyelinde uygulanmıştır. Döngüsel voltammetrik ölçümler aynı destek elektrolit varlığında tarama hızı 100 mV/s de, potansiyel aralığı 550 ya da 600 mV ve -400 mV da yürütülmüştür.

3.4.1.3. Örnek uygulama

3.4.1.3.1. Konserve ton balığı örneği

Konserve ton balığı örneği (Dardenel) yerel bir marketten temin edilmiştir. Örnekteki proteinleri çöktürmek için 5 mL 0,5 M HClO₄ eklenmesinden sonra ton balığı parçalanarak homojenleştirilmiştir. Elde edilen denature örnekler 10 dk kadar mekanik olarak karıştırılmıştır ve sonra 5dk' lığına 4000 rpm' de santrifüjlenmiştir.

Üstte kalan sıvının pH' ı derişik NaOH ile pH 7,0' ye ayarlanmıştır ve analitik çalışmalar için standart katma metodu uygulamadan önce 10 kez seyreltilmiştir. SWCNT-CPE ile karışan çözeltilerdeki amperometrik ölçümler Ag/AgCl' ye karşı +800 mV potansiyel ile analitik çözeltinin elektrokimyasal hücreye transferi ile gerçekleştirilmiştir. Ksantin tayini hiç ksantin içermeyen 2-3 ardışık katım ve bilinen miktarda ksantin (5 µM) içeren denature örnekleri içermiştir.

3.4.1.3.2. Plazma örneği

Kan örneği, santrifüjlendi ve serum kısmı atıldı. Plazma örneği yerel bir hastaneden temin edilmiştir ve tekrar 0,5 M 5 mL HClO₄ eklenmesi ile denature edilmiştir. Yukarıda bahsedilen santrifüj işleminden sonra, elde edilen plazma örnekleri 100 kez seyreltilmiştir ve standart katma metodu analitiksel deneme için kullanılmıştır.

Amperometrik ölçümler MWCNT-CPE için +0,9 V ta gerçekleştirilmiştir. Ksantin tayini için hiç ksantin içermeyen örnekten 2-3 ardışık katım ve bilinen miktarda ksantin (100 µM) içeren denature örneklerin çalışma hücrelerine ilavesiyle gerçekleştirilmiştir.

3.4.2. Au-np ve XOD modifiye GCPE ile ksantin ve hipoksantin tayini

3.4.2.1. Elektrot hazırlanışı

XOD-Au-nano temelli GCPE 80:20 (% w/w) camımsı karbon mikropartikül/mineral yağ, 0,3 mg XO ve 2 μ L Au-np' ün hepsinin birlikte bir spatül yardımı ile karıştırılmasıyla hazırlanmıştır. Daha sonra hazırlanan pasta elektriksel bağlantının bir bakır tel yardımı ile sağlandığı elektrot boşluğuna (3 mm çapında, 5 mm yüksekliğinde) iyice doldurulmuştur. Hazırlanan elektrot yüzeyinin kuruması için 15 dk kadar desikatöre konmuştur. Sonra elektrot yüzeyi pastanın çözelti içine sızmasını önlemek için o-ring vasıtasıyla dializ membran ile kaplanmıştır.

3.4.2.2. Deney yapılışı

Üç elektrot 10 mL' lik elektrokimyasal hücreye daldırılmıştır. Kronoamperometrik ölçümler çözelti karışırken 50,0 mM fosfat tamponunda (pH 7,5) ve +700 mV çalışma potansiyeli altında uygulanmıştır. Her analizin süresi 125 s ve geçici akım destek elektrolit varlığında 50 s denge durumu sonrasında bozunmuştur. 50 mV/s tarama hızı, 50 Hz frekans, 20 mV genlikte ve 20 mV potansiyel basamağında, döngüsel voltammetrik deneyler aynı destek elektrolit ile -500 ve +1250 mV arasında gerçekleştirilmiştir. Elektrot yüzeyi her ölçümden önce yenilenmiştir.

3.4.2.3. Örnek uygulama

Konserve ton balığı örneği (Dardenel) yerel bir marketten temin edilmiştir. Örnek 2 bölüme ayrılmıştır. Bir bölüm 15 gün oda sıcaklığında bırakılırken diğer bölüm hemen kullanılmıştır. Konserve ton balığı 5 mL 0,5 M HClO₄ eklenmesinden sonra güzelce parçalanarak homojen bir karışım elde edilmiştir.

Elde edilen denature örnekler mekanik olarak 10 dk karıştırılmıştır ve sonra 5 dk 4000 rpm de santrifüj edilmiştir. Üstte kalan sıvının pH' ı derişik NaOH ile pH 7,0' ye ayarlanmıştır ve analitik çalışmalar için standart katma metodu uygulamadan önce 10 kez seyreltilmiştir.

Karışan çözeltilerdeki amperometrik ölçümler Ag/AgCl' ye karşı +700 mV potansiyelde ve analitik çözeltinin elektrokimyasal hücreye transferi ile gerçekleştirilmiştir. Hipoksantin tayini hiç ksantin içermeyen 2-3 ardışık katım ve bilinen miktarda ksantin (5 µM) içeren denature örnekleri içermiştir. Hipoksantin tayini örneğin 2' ye 3 ardışık katımı ve bilinen miktarda hipoksantin içeren denature örneklerini içermiştir.

4. ARAŞTIRMA BULGULARI

Bu çalışma iki temel bölümden oluşmuştur. İlki, karbon nanotüp modifiye karbon pasta elektrotlarının X biyosensöründe transdüser olarak elektroanalitik performansının incelenmesidir, ikincisi ise, Au-np ve XOD modifiye camımsı karbon pasta elektrodun X ve Hx tayininde performansının incelenmesinden oluşmaktadır. Bu çalışmada ki asıl amaç, nanopartikül temelli karbon elektrotların voltammetrik teknikler yardımı ile elektrokatalitik aktivitelerinin incelenmesi ve birbirlerine karşı üstünlüklerinin karşılaştırılmasını göstermektir.

Çalışmanın ilk bölümünde MWCNT ve SWCNT modifiye CPE' nin cevapları karşılaştırılmıştır ve bu nanopartiküllerin değişik oranlarda kullanılması ile CPE üzerine etkileri incelenmiştir. Optimum kompozisyonu bulmak için kompozit elektrodun elektroanalitiksel performansı incelenmiştir. Çeşitli oranlarda SWCNT ve MWCNT içeren CPE' lar hazırlanarak ferrisiyanür/ferrosiyanür sistemine karşı karakterize edilmiştir. Her iki sisteme ilişkin optimum yapılar belirlenerek, SWCNT ve MWCNT' nin CPE' nin elektrokimyasal aktivitesine katkısı kıyaslanmıştır. Ayrıca tarama hızı değiştirilerek kütle taşınımının türü ve mekanizması aydınlatılmıştır. Buradan da farklı yapılarda CNT' nin ferrisiyanür yükseltgenmesine karşı etkisi incelenmiş ve %4'lük CNT içeren yapıların en iyi sonuç verdiği görülmüştür. Sonuç olarak CNT temelli yapıların elektrokatalitik etki ile pik potansiyelini düşürdüğü gözlemlenmiştir. Daha sonra bu optimum bileşenler XOD enzimi ile modifiye edilmiş ve X biyosensöründe transdüser olarak kullanılmıştır. Sistemin optimizasyonundan sonra, biyosensör X için karakterize edilmiştir. MWCNT-CPE için 1-100 μM X derişim aralığında doğrusallık elde edilmiştir ve R.S.D. değeri %3,35 olarak bulunmuştur. SWCNT-CPE için ise 1-20 μM derişim aralığında R.S.D. değeri %3,5 olarak bulunmuştur.

Araştırmanın ikinci bölümünde, kompozit elektrot X ve Hx tayini için XOD, Au-np ve camımsı mikropartikül ile modifiye edilerek hazırlanmıştır. Sistemin X için optimizasyonundan sonra, biyosensör X ve Hx için karakterize edilmiştir. Doğrusallık X için $5,00 \times 10^{-7}$ ve $1,00 \times 10^{-5}$ M derişim aralığında, $y = 0,0455x + 0,203$ denkleminde ve Hx için ise $5,00 \times 10^{-6}$, den $1,50 \times 10^{-4}$ M derişim aralığında, $y = 0,0651x + 0,1116$ denkleminde değerler elde edilmiştir. Elde edilen değerler yapısında Au-np içeren veya içermeyen X ve/veya Hx biyosensörleri ile karşılaştırılmıştır. Geliştirilen sistem ayrıca konserve ton balığı örneğinde Hx tayini için uygulanmıştır ve umut verici sonuçlar elde edilmiştir.

5. SONUÇLAR ve TARTIŞMA

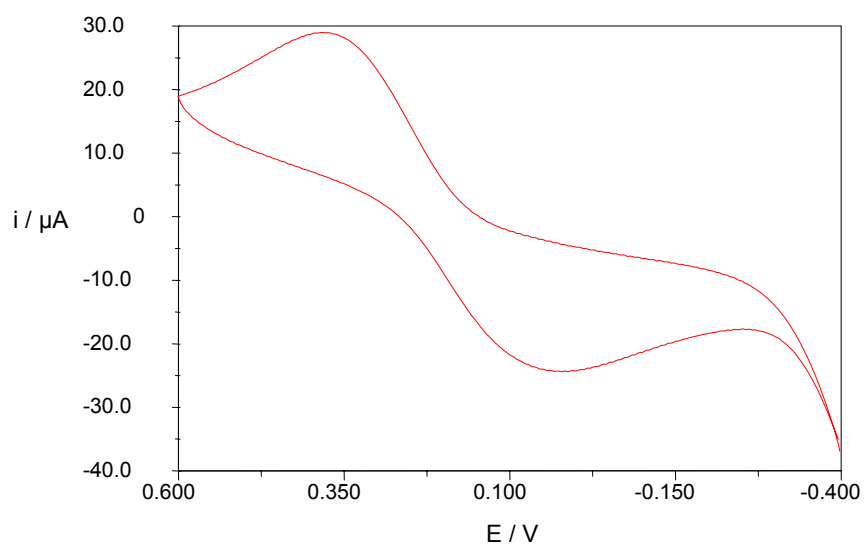
5.1. CNT modifiye CPE' nin ksantin biyosensöründe kullanımı

5.1.1. Elektrodun elektroanalitik performansı

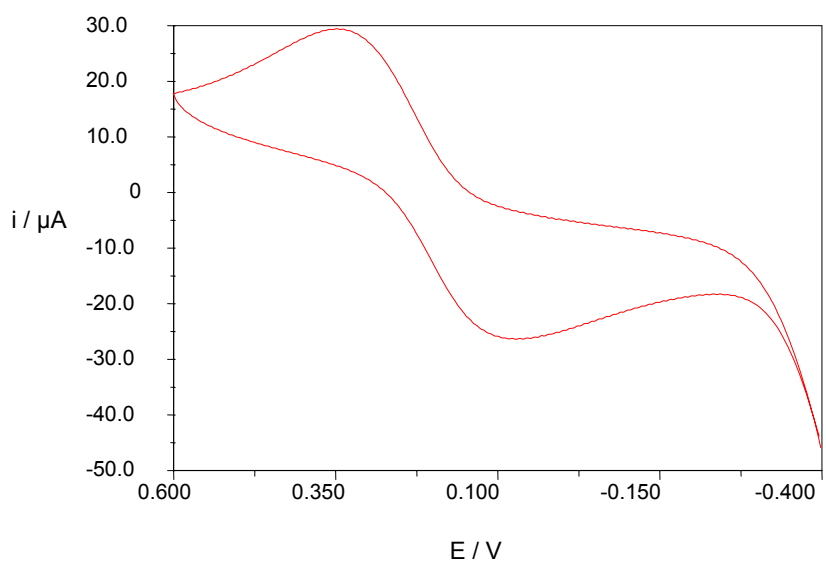
5.1.1.1. Elektrot bileşeninin optimizasyonu

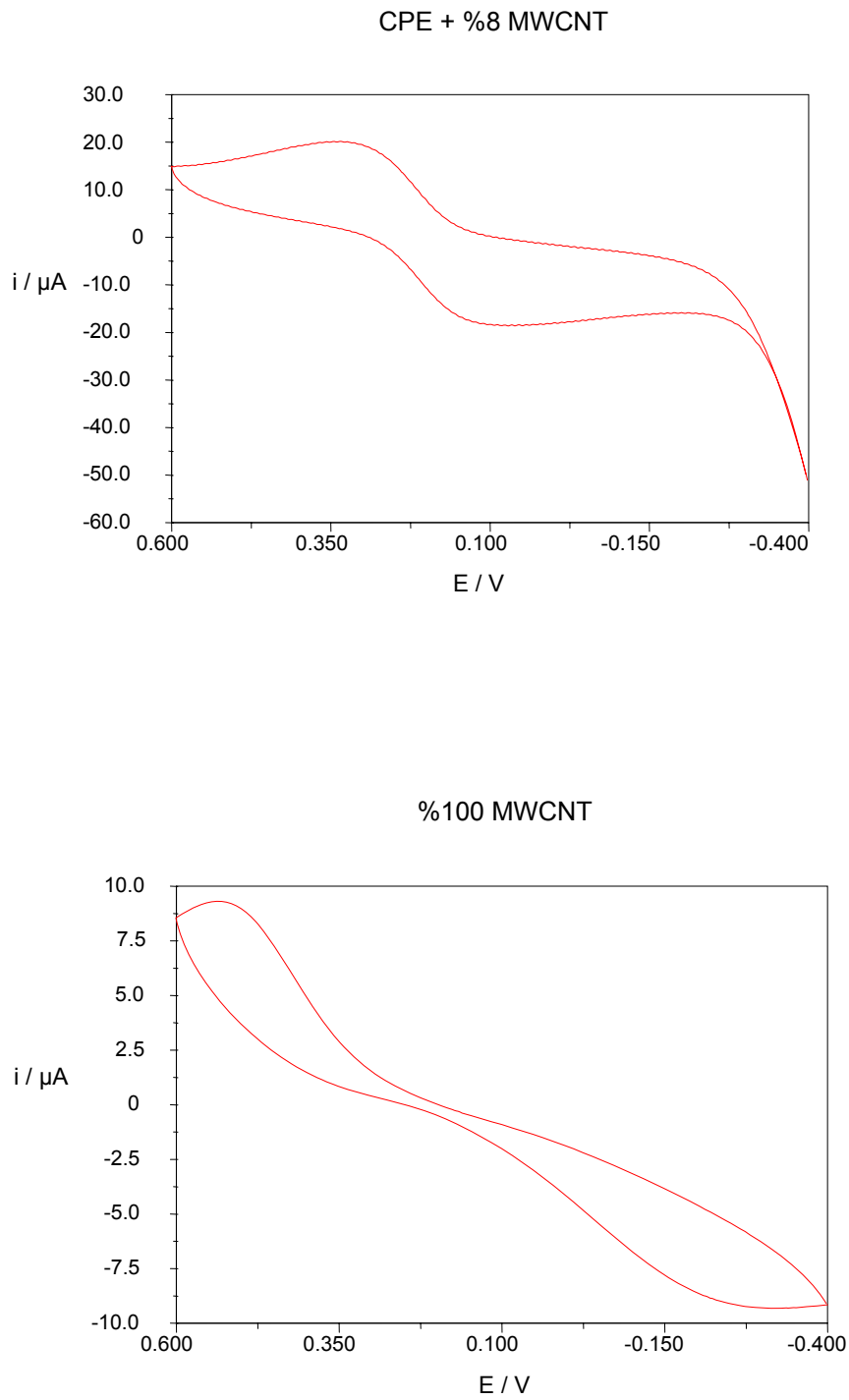
Çalışmanın ilk adımında CNT' nin optimum miktarı bulunmuştur. Bu amaçla değişik oranlarda MWCNT, SWCNT (% 2, 4, 8, 10, 15, 100) içeren karbon pasta kompozit elektrotları ve nanopartikül içermeyen karbon pasta elektrodu ayrı ayrı hazırlanarak 2 mM ferrisiyanür reaktifine ilişkin döngüsel voltammogramları alınmıştır. Sonuçlar Şekil 5.1, 5.2 ve çizelge 5.1, 5.2' de verilmiştir.

CPE + %2 MWCNT



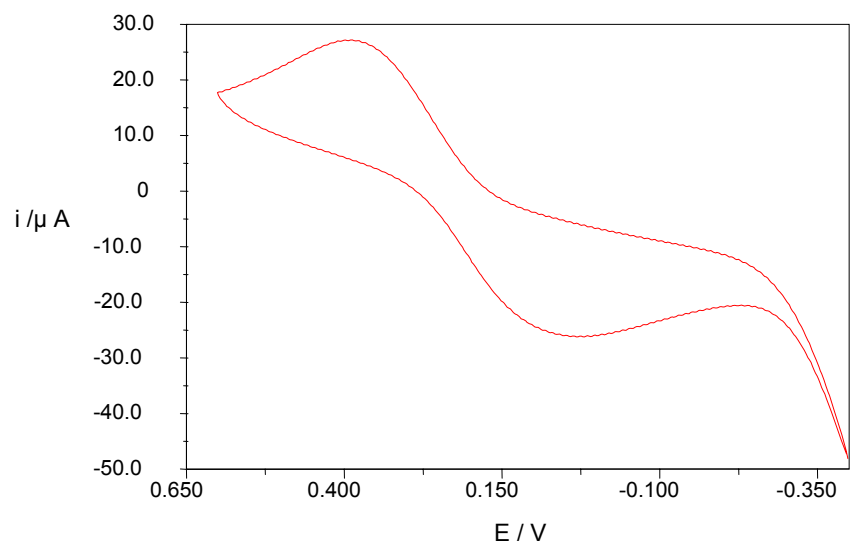
CPE + %4 MWCNT



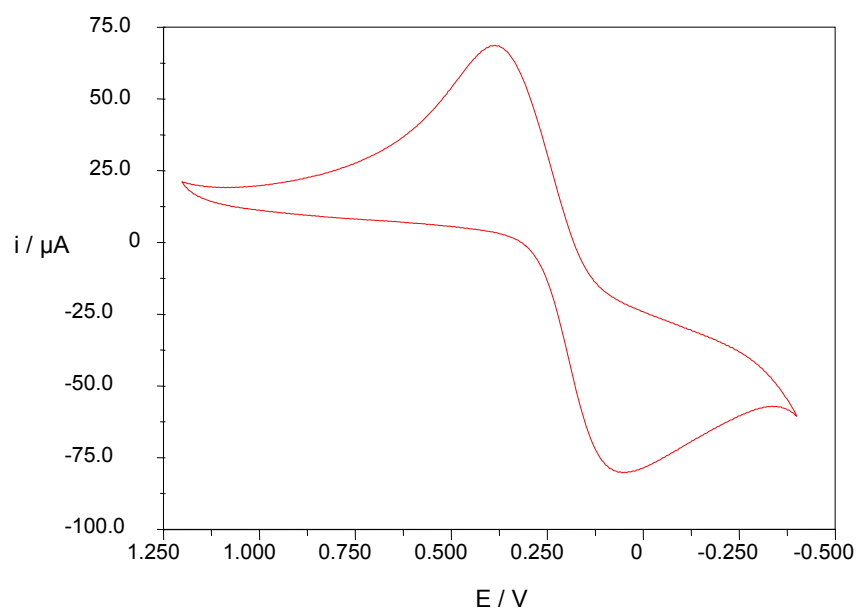


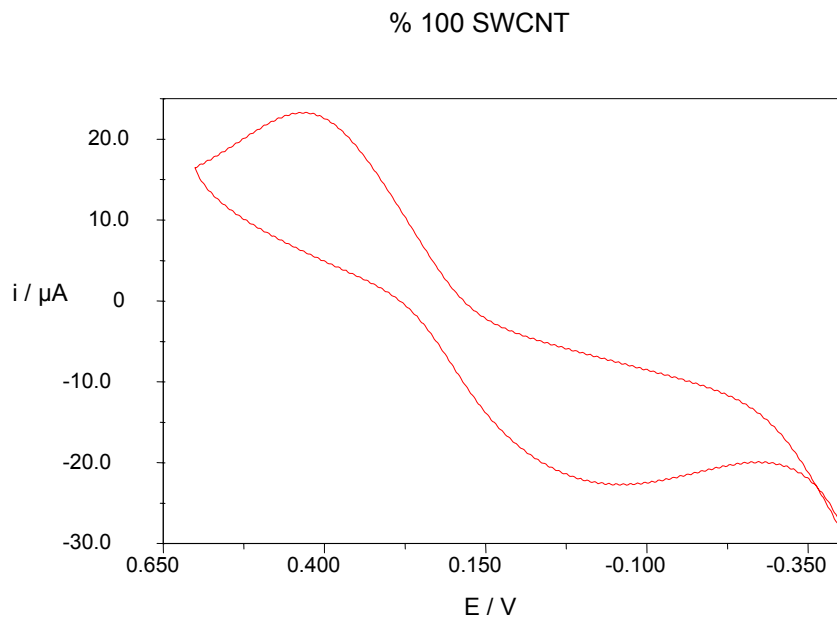
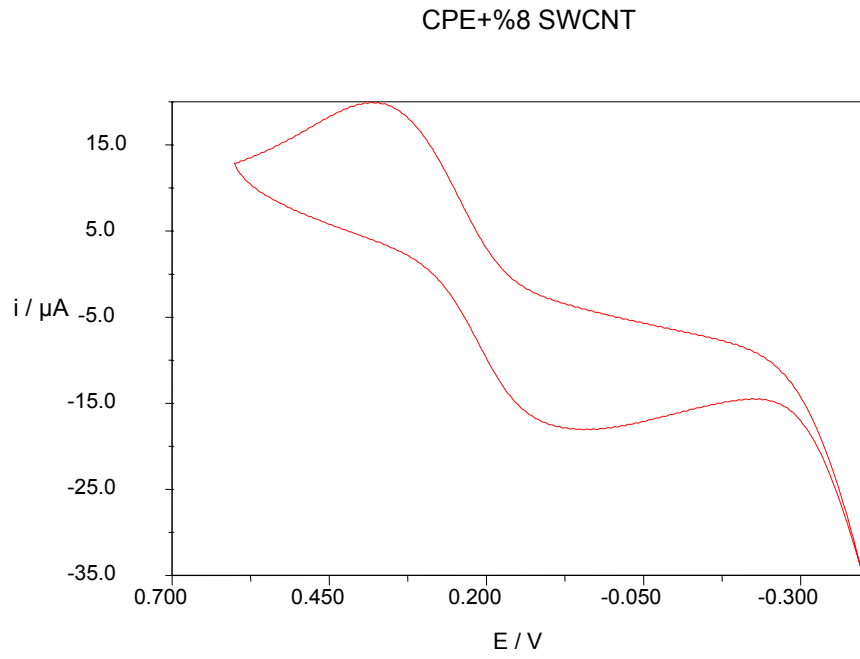
Şekil 5.1. MWCNT miktarının 2 mM ferrisiyanür için döngüsel voltammogramlara etkisi, koşullar: 600' den -400 mV potansiyel aralığında, tarama hızı 100 mV/s, destek elektrolit 50 mM fosfat tamponu, pH 7,0

CPE+%2 SWCNT



CPE+%4 SWCNT





Şekil 5.2. SWCNT miktarının 2 mM ferrisiyanür için döngüsel voltammogramlara etkisi, koşullar: 600'den -400 mV potansiyel aralığında, 100 mV/s tarama hızı, destek elektrolit 50 mM fosfat tamponu, pH 7,0

Çizelge 5.1. MWCNT modifiye CPE yapısında 2 mM ferrisiyanür çözeltisinin elde edilen akım değerleri

| Kompozit | Akım/Ip (μA) |
|-----------------|---|
| CPE + %2 MWCNT | 19,6 0 |
| CPE + %4 MWCNT | 22,20 |
| CPE + %8 MWCNT | 13,30 |
| %100 MWCNT | 2,52 |

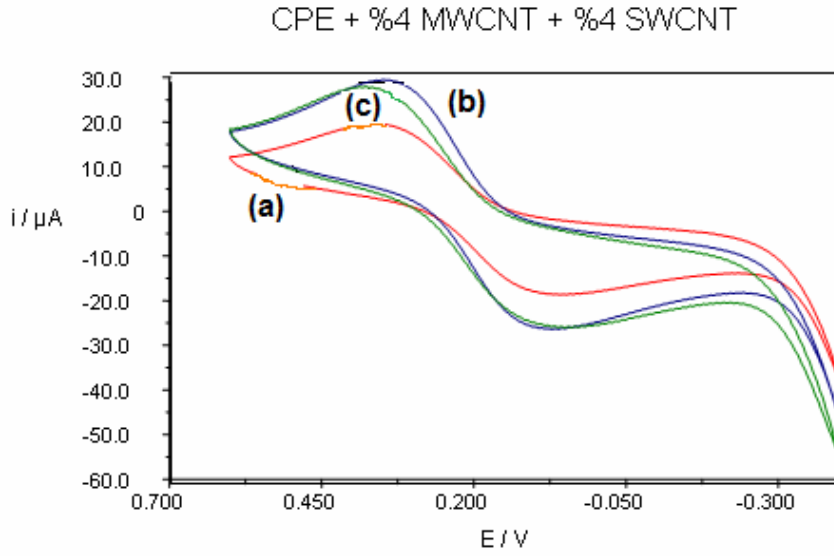
Çizelge 5.2. SWCNT modifiye CPE yapısında 2 mM ferrisiyanür çözeltisinin elde edilen akım değerleri

| Kompozit | Akım/Ip (μA) |
|-----------------|---|
| CPE + %2 SWCNT | 19,0 |
| CPE + %4 SWCNT | 77,5 |
| CPE + %8 SWCNT | 14,4 |
| % 100 SWCNT | 14,2 |

En iyi akım değerleri %4 MWCNT ve %4 SWCNT içeren elektrotlara ilişkindir (şekil 5.3, izelge 5.3). Sadece CPE' nin akım değeri 14,5 μA iken MWCNT ve SWCNT içeren CPE yapıları için 22,20 μA ve 19,5 μA akım değeri elde edilmiştir, E_p değeri ise 0,344 V (CPE), 0,327 V (MWCNT-CPE) ve 0,354 V (SWCNT-CPE) değerlerini göstermiştir. Akım değerindeki hafif artış ve pik potansiyelindeki azalma (MWCNT olduğu gibi) elektron transfer reaksiyonlarına aracılık eden CNT' nin elektrokatalitik aktivitesine dayandırılabilir (Moore vd, 2004; Pumera vd, 2005). Bununla birlikte, kompozitteki CNT miktarı arttıka akım değeri azalmıştır.

Çizelge 5.3. Elektrokatalitik aktivite açısından CPE, MWCNT-CPE ve SWCNT-CPE' nin karşılaştırılması

| Kompozit | Potansiyel/E_p (V) | Akım/I_p (μA) |
|-----------------|--|---|
| CPE | 0,344 | 14,5 |
| %4 MWCNT | 0,327 | 22,2 |
| %4 SWCNT | 0,354 | 19,5 |

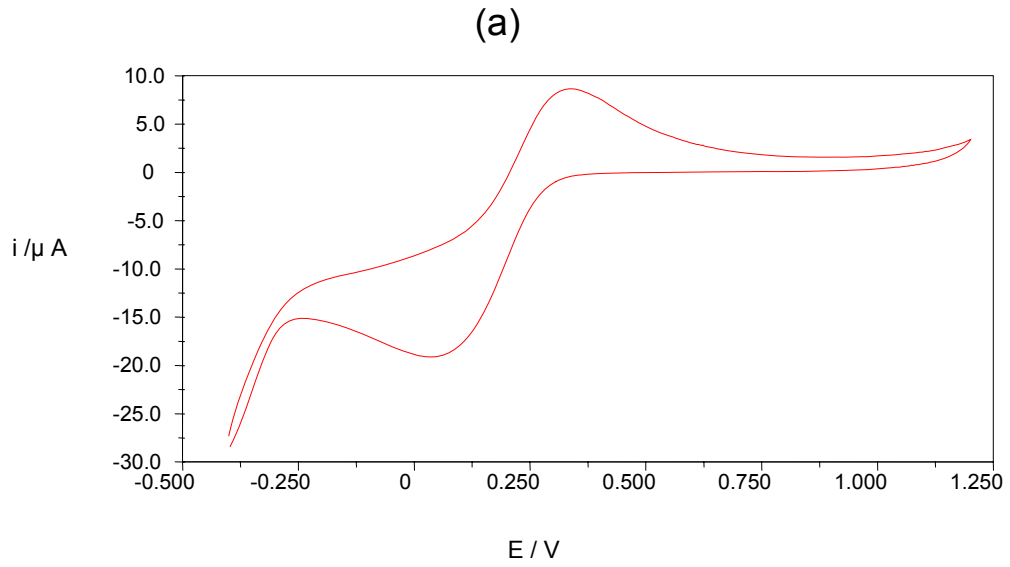


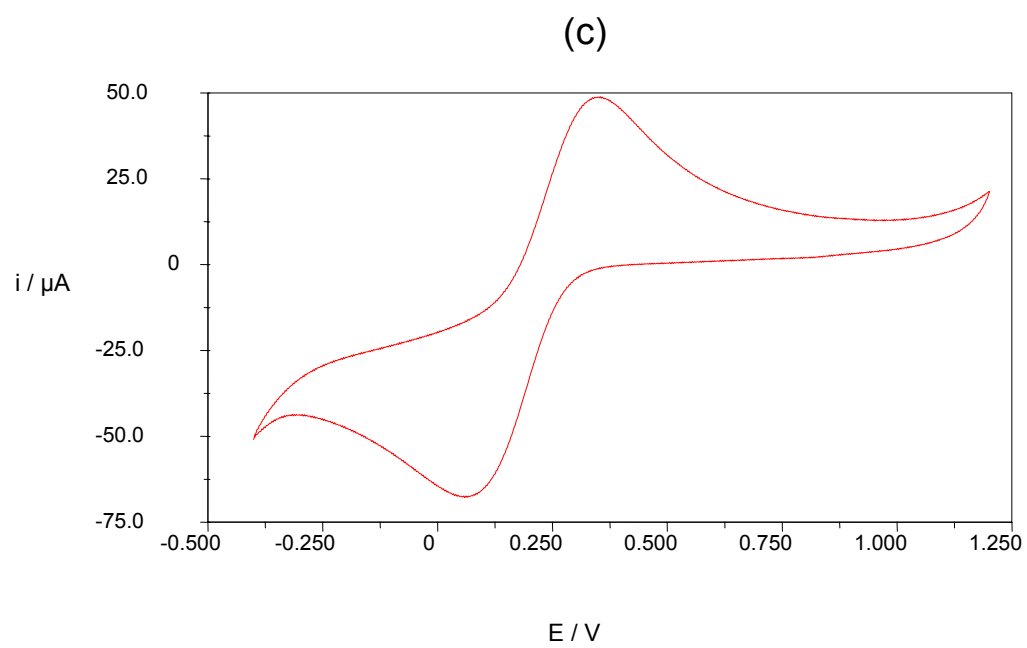
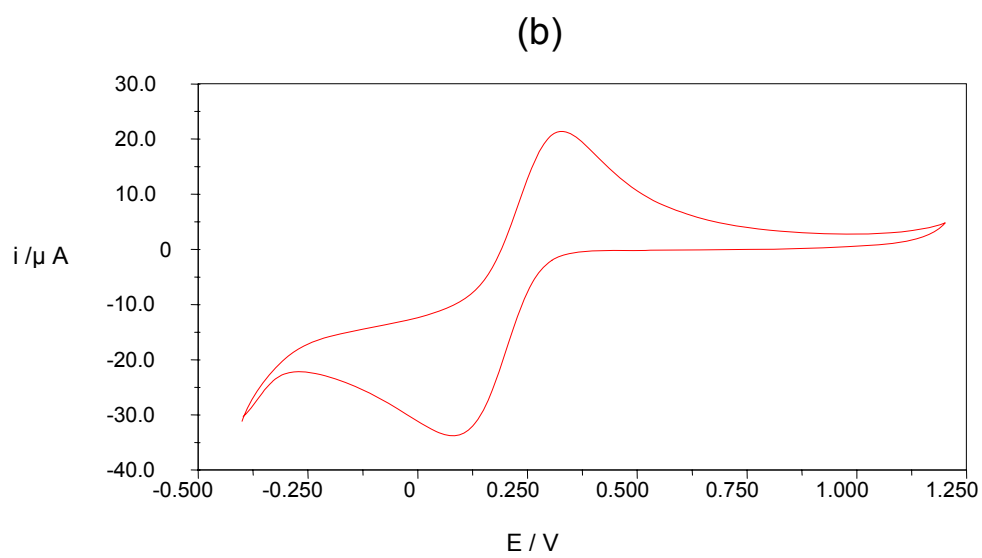
Şekil 5.3. (a) CPE, (b) %4 MWCNT-CPE, (c) %4 SWCNT-CPE için 2 mM ferrisiyanürün döngüsel voltammogramları, koşullar: 600'den -400 mV potansiyel aralığında, 100 mV/s tarama hızı, destek elektrolit 50 mM fosfat tamponu, pH 7,0

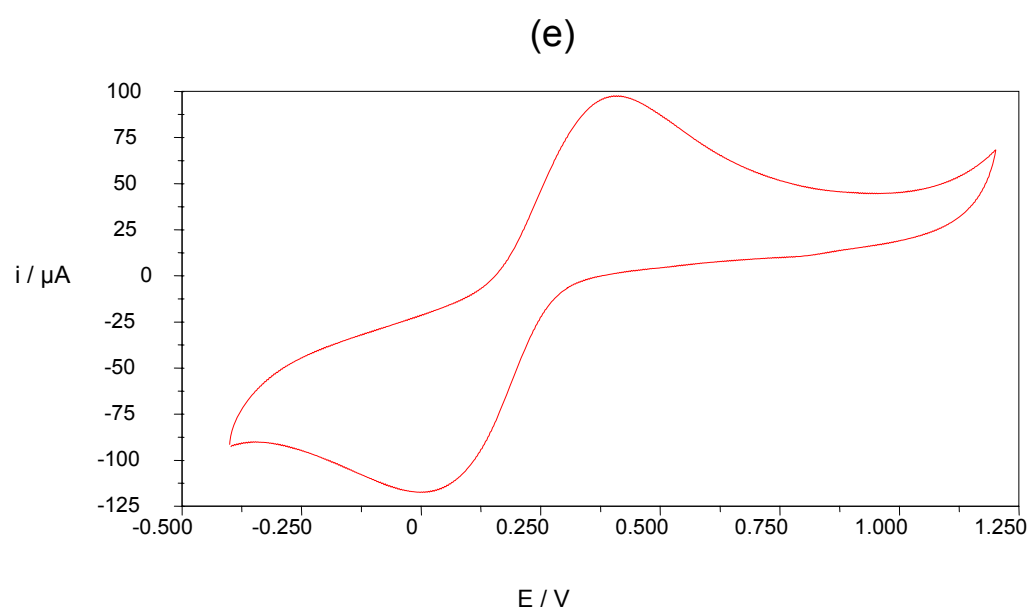
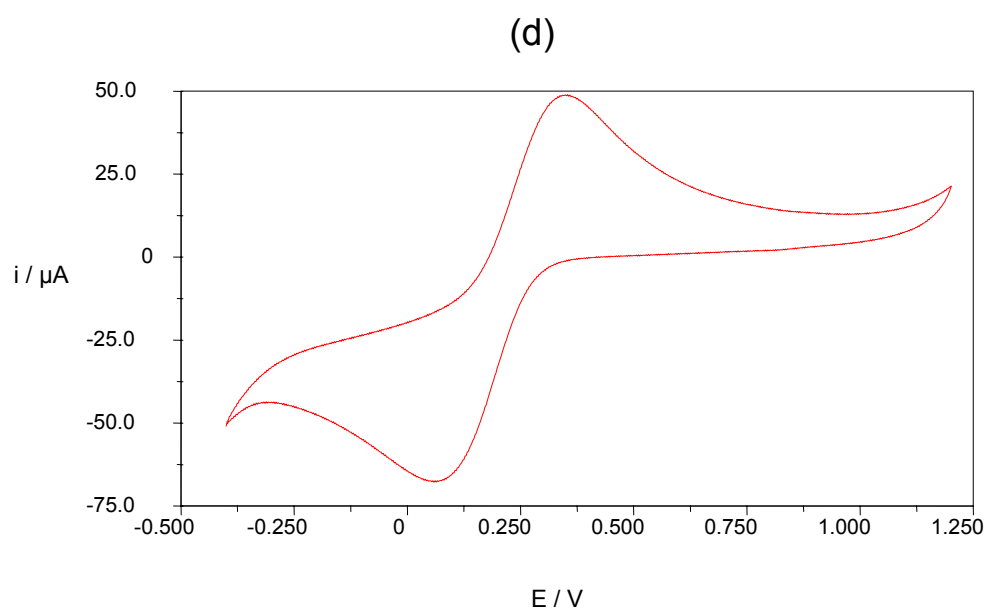
CNT' nin büyük yüzey alanına sahip olması, bu nanopartikülün biyolojik moleküller ile modifikasyonunu kolaylaştırmaktadır (Perez vd, 2005). Diğer bir yandan çalışmamızda olduğu gibi elde edilen akım değerlerini düşüren büyük yüzey alanı zemin akımında ki artışa neden olabilmektedir (Zhang vd, 2004). Sonuç olarak, optimum yapı olarak %4 MWCNT/SWCNT modifiye CPE olarak belirlenmiştir ve bundan sonraki çalışmalarda bu yapıya sahip elektrotlar kullanılmıştır.

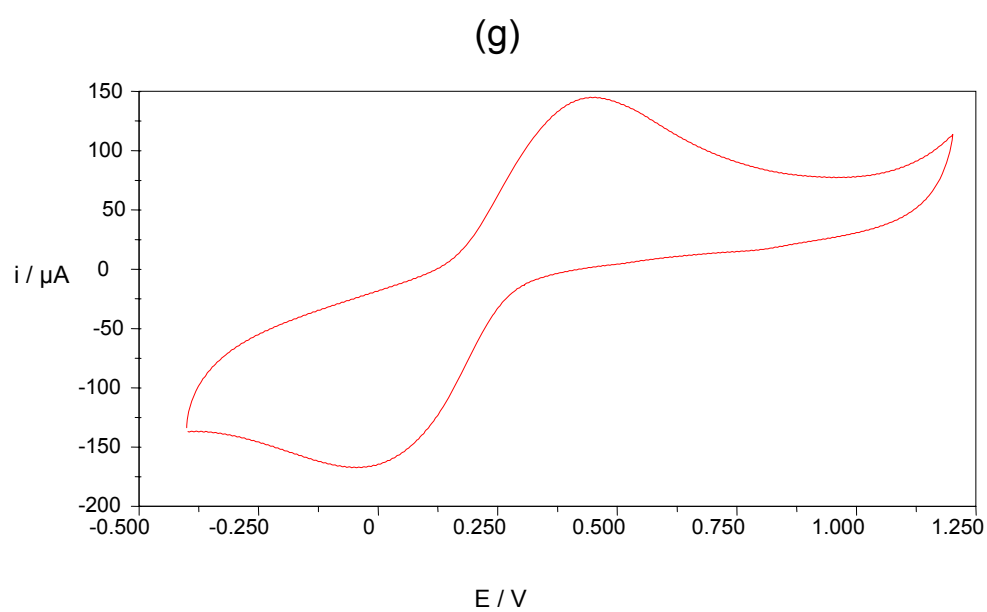
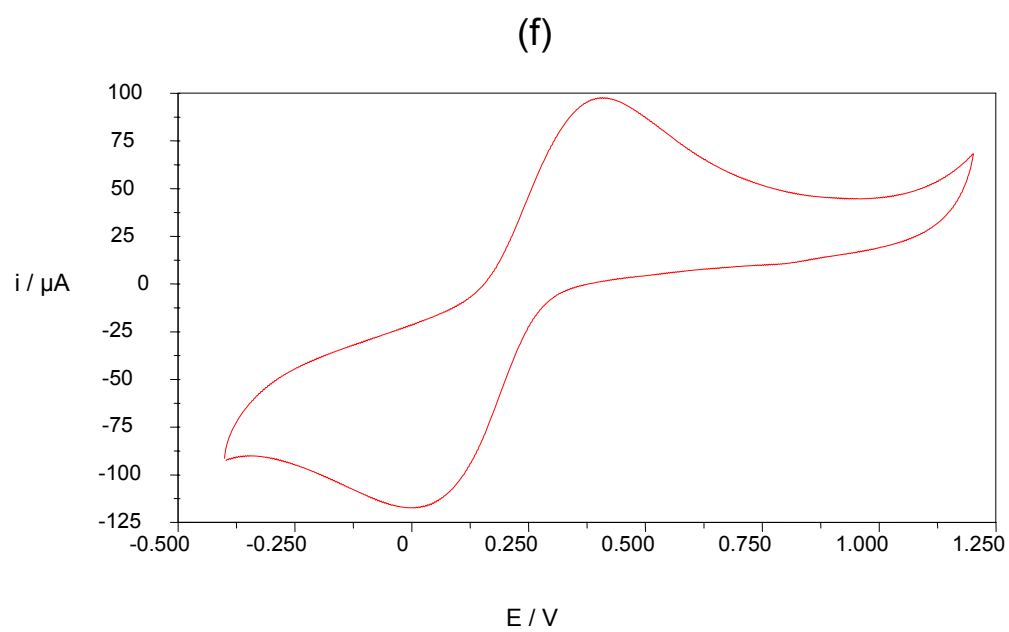
5.1.1.2. Elektrokimyasal mekanizmanın incelenmesi

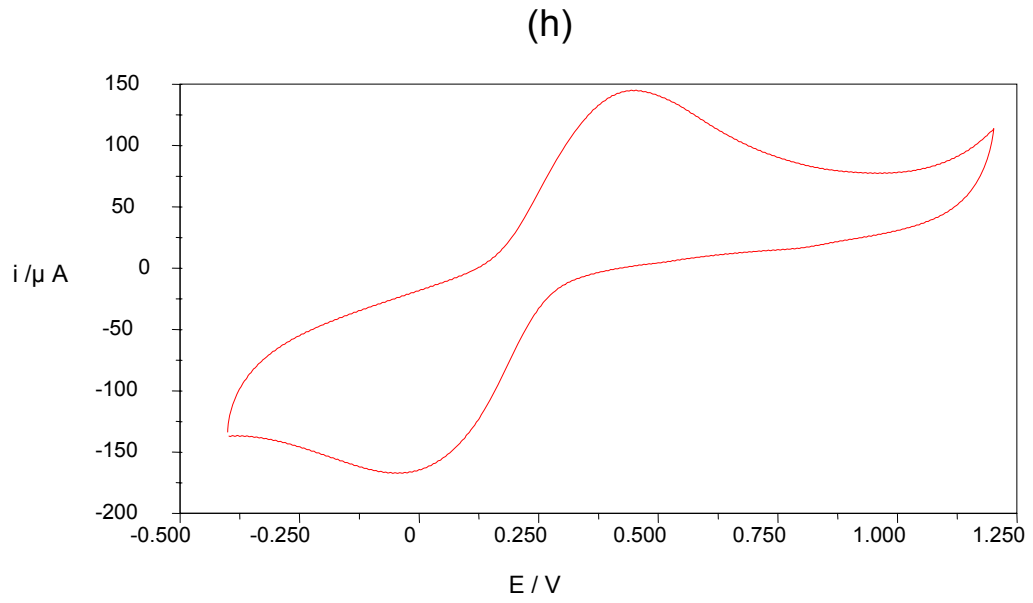
SWCNT ve MWCNT modifiye CPE için değişik tarama hızlarında 2 mM ferrisiyanürün elektrokimyasal analizi yapılmıştır. Şekil 5.4 ve 5.5’ de sırasıyla SWCNT ve MWCNT analizlere ait voltammogramlar görülmektedir.



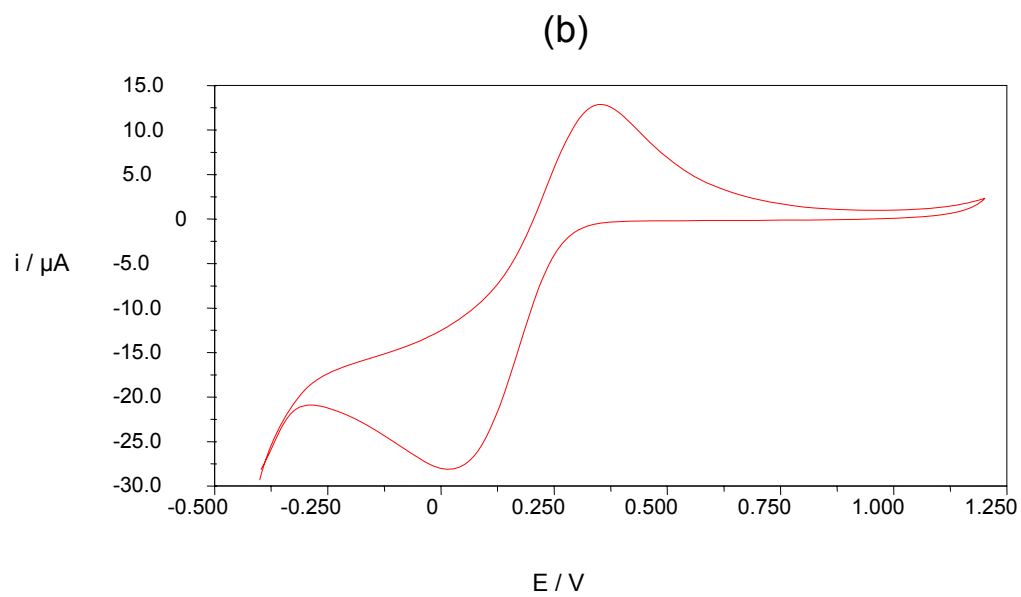
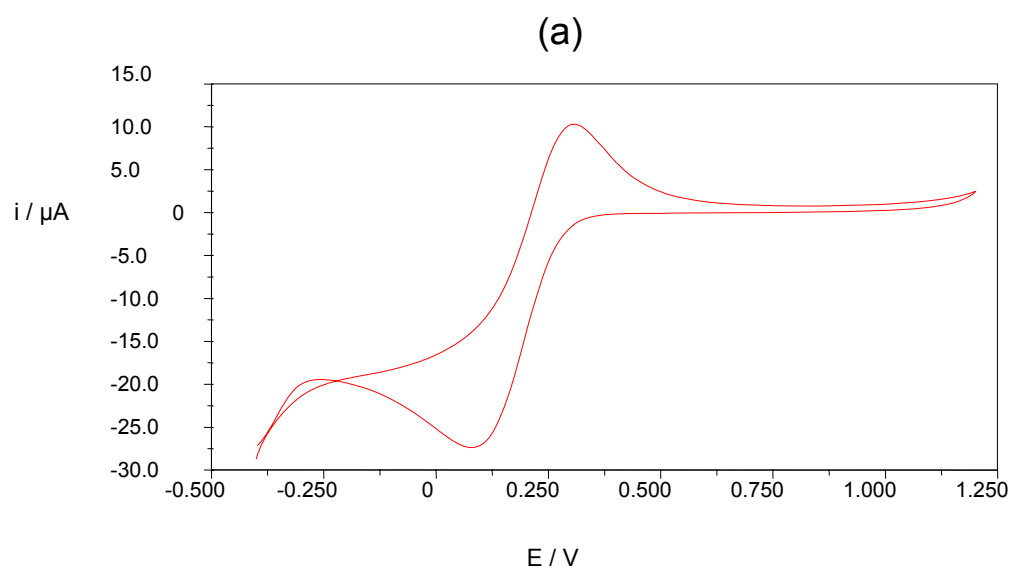


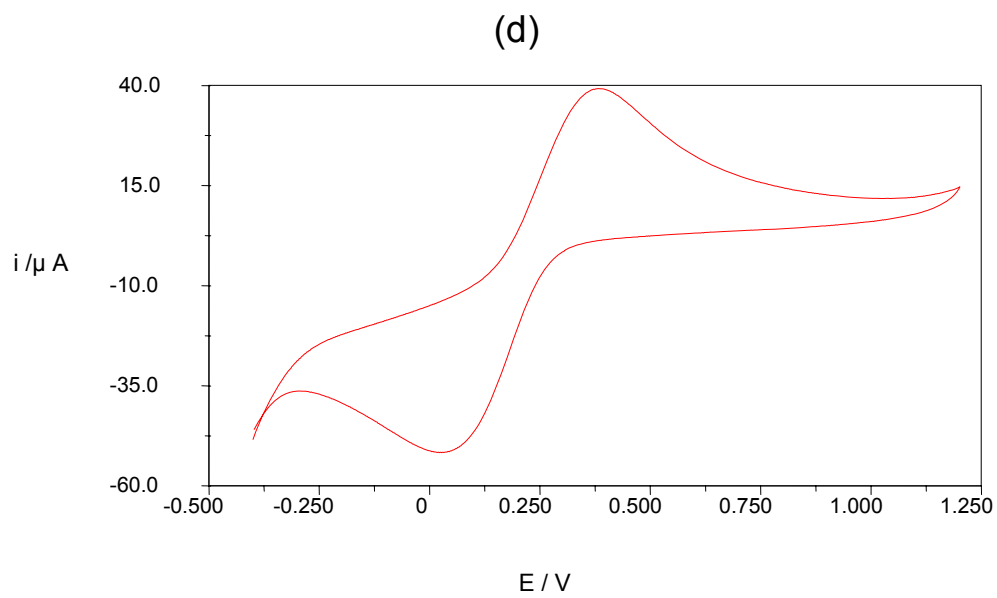
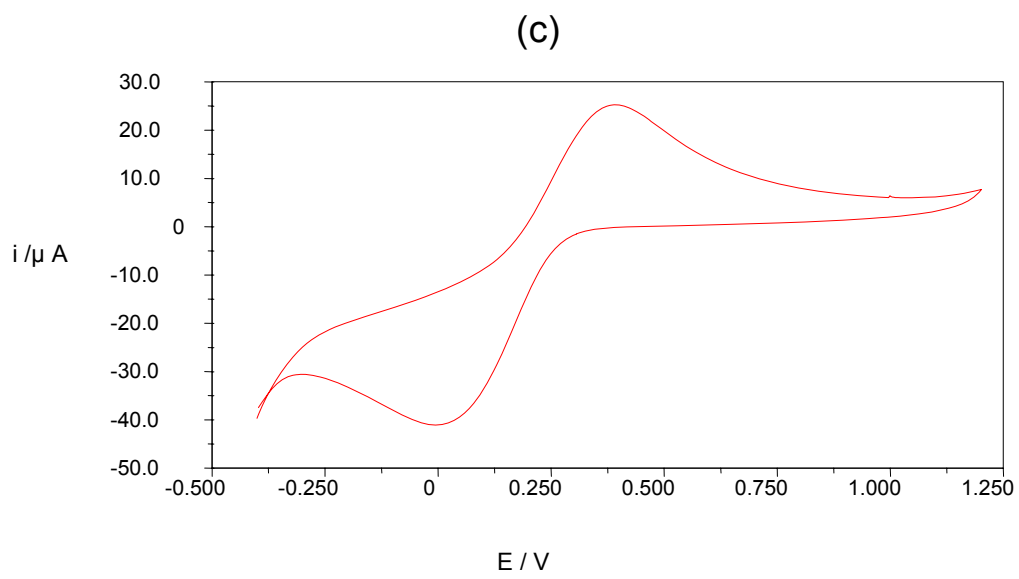




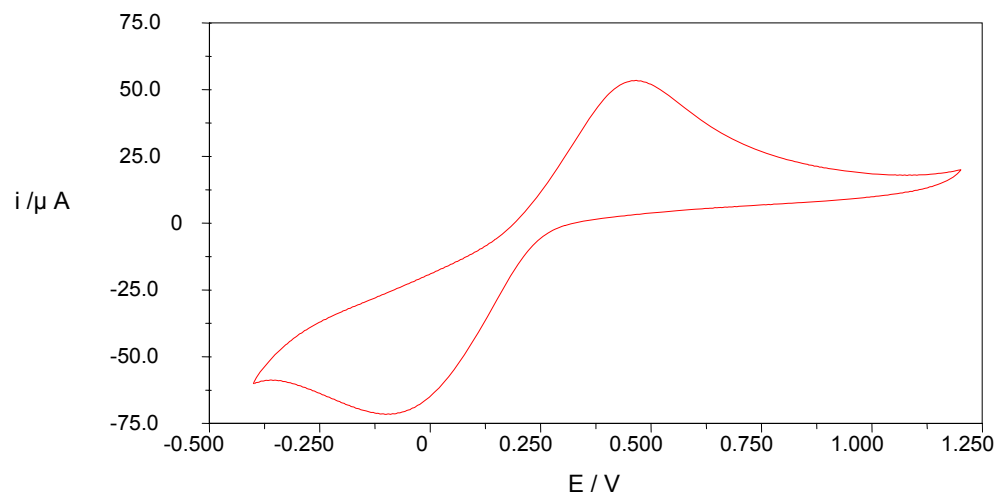


Şekil 5.4. SWCNT modifiye CPE yapısı için farklı tarama hızlarında 2 mM ferrisiyanüre ait döngüsel voltammogramlar; koşullar: -0.4 ile 1.2 potansiyel aralığında, 50 mM fosfat tamponunda, pH 7,0; (a) 5 mV/s, (b) 10 mV/s, (c) 25 mV/s, (d) 50 mV/s, (e) 100 mV/s, (f) 250 mV/s, (g) 500 mV/s, (h) 1000 mV/s

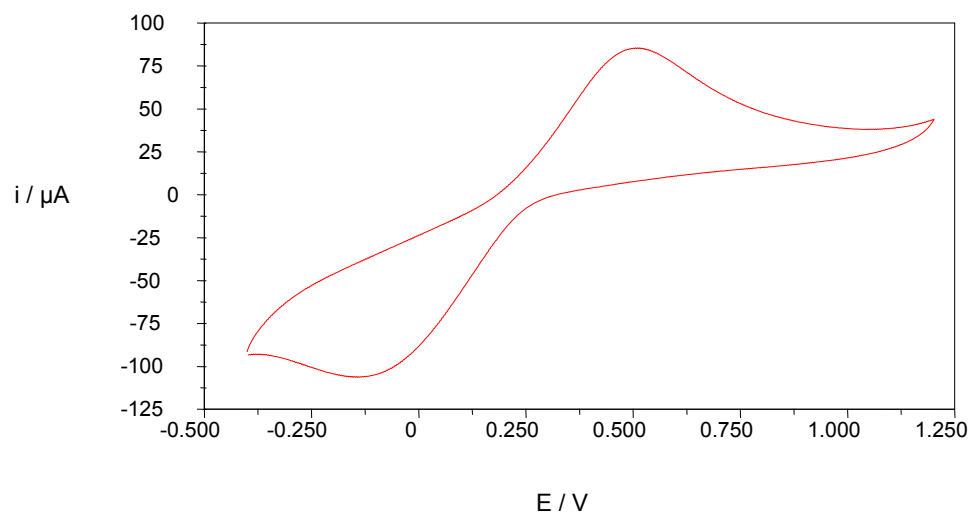


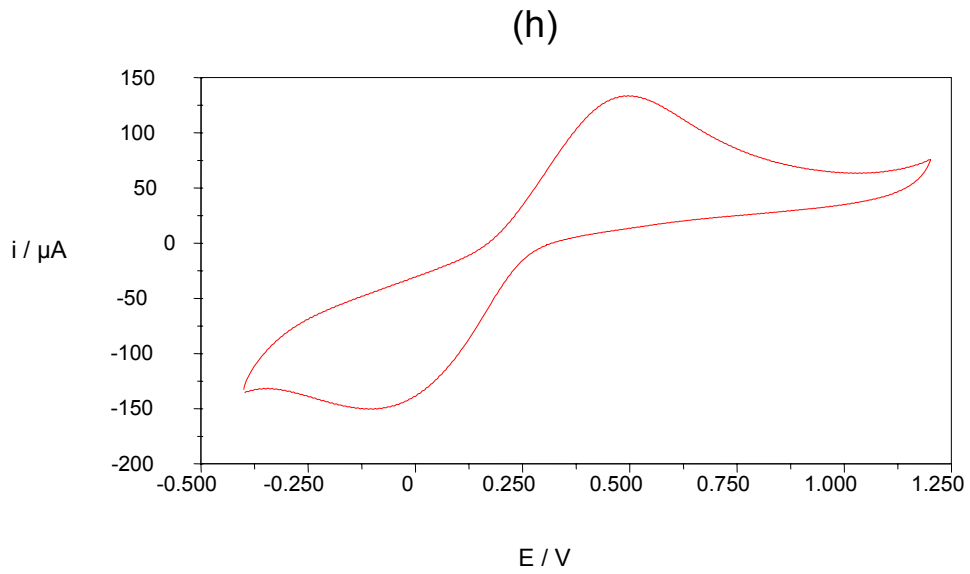
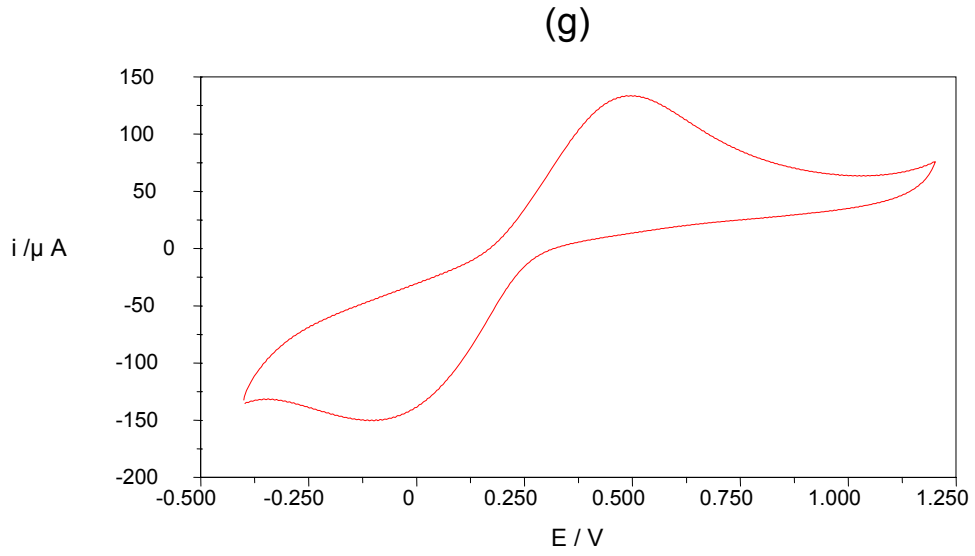


(e)



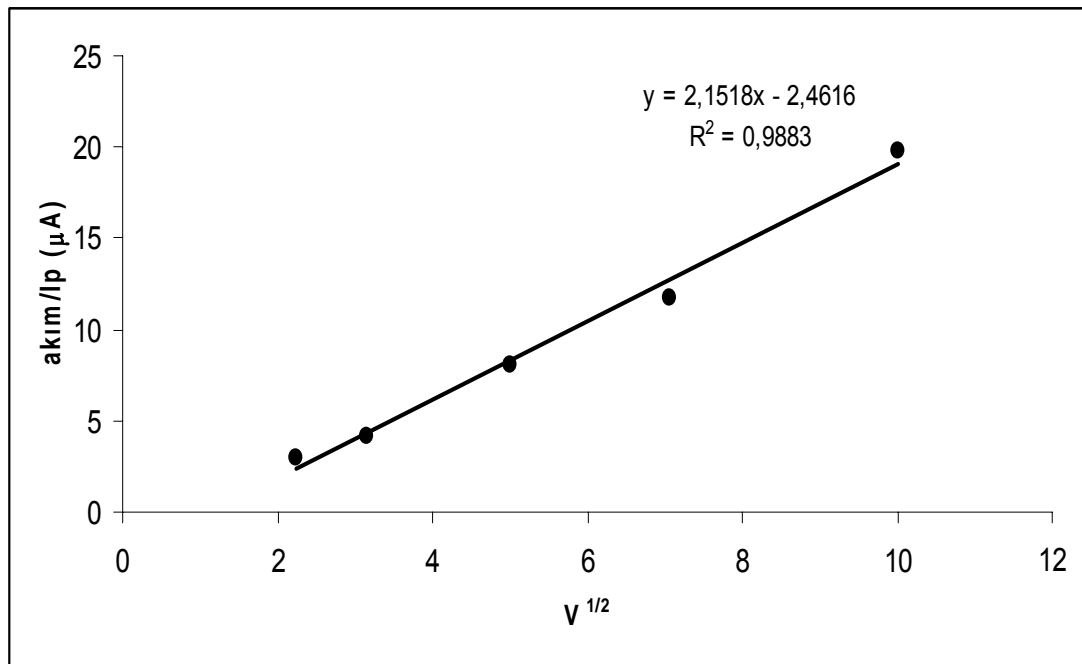
(f)



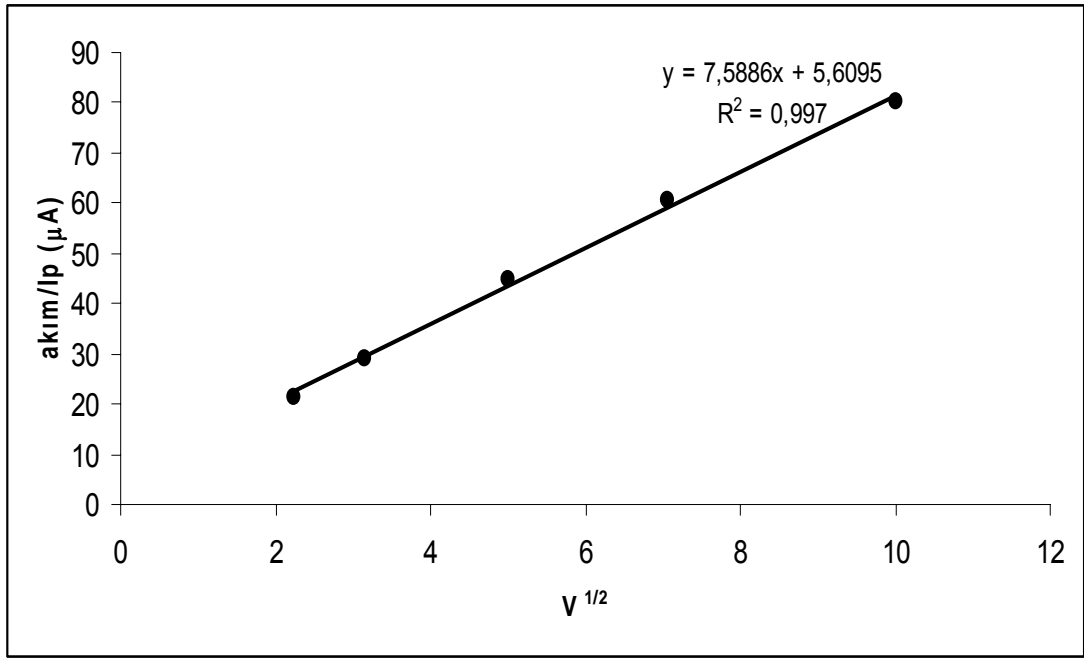


Şekil 5.5. MWCNT modifiye CPE yapısı için farklı tarama hızlarında 2 mM ferrisiyanüre ait döngüsel voltammogramlar; koşullar: -0.4 ile 1.2 potansiyel aralığında, 50 mM fosfat tamponunda, pH 7,0; (a) 5 mV/s, (b) 10 mV/s, (c) 25 mV/s, (d) 50 mV/s, (e) 100 mV/s, (f) 250 mV/s, (g) 500 mV/s, (h) 1000 mV/s

SWCNT ve MWCNT modifiye CPE yapıları için 2 mM ferrisiyanürün I_p ' ye karşı $v^{1/2}$ eğrileri oluşturularak (şekil 5.6, 5.7), reaksiyonun elektrokimyasal analizi yapılmıştır. Bunun sonucunda MWCNT modifiye CPE için 5-250 mVs^{-1} arası tarama hızında akımın doğrusal olarak değiştiği gözlenmiştir. Böylelikle akımın yarı-sonsuz lineer difüzyon tarafından kontrol edildiğini söyleyebiliriz. SWCNT için doğrusallık bu reaksiyonun difüzyon-kontrollü doğasını gösteren 1000 mVs^{-1} e kadar devam etmiştir.



Şekil 5.6. SWCNT modifiye CPE için elde edilen tarama hızına bağlı lineer grafik, koşullar: destek elektrolit, 50 mM fosfat tamponunda, pH 7,0

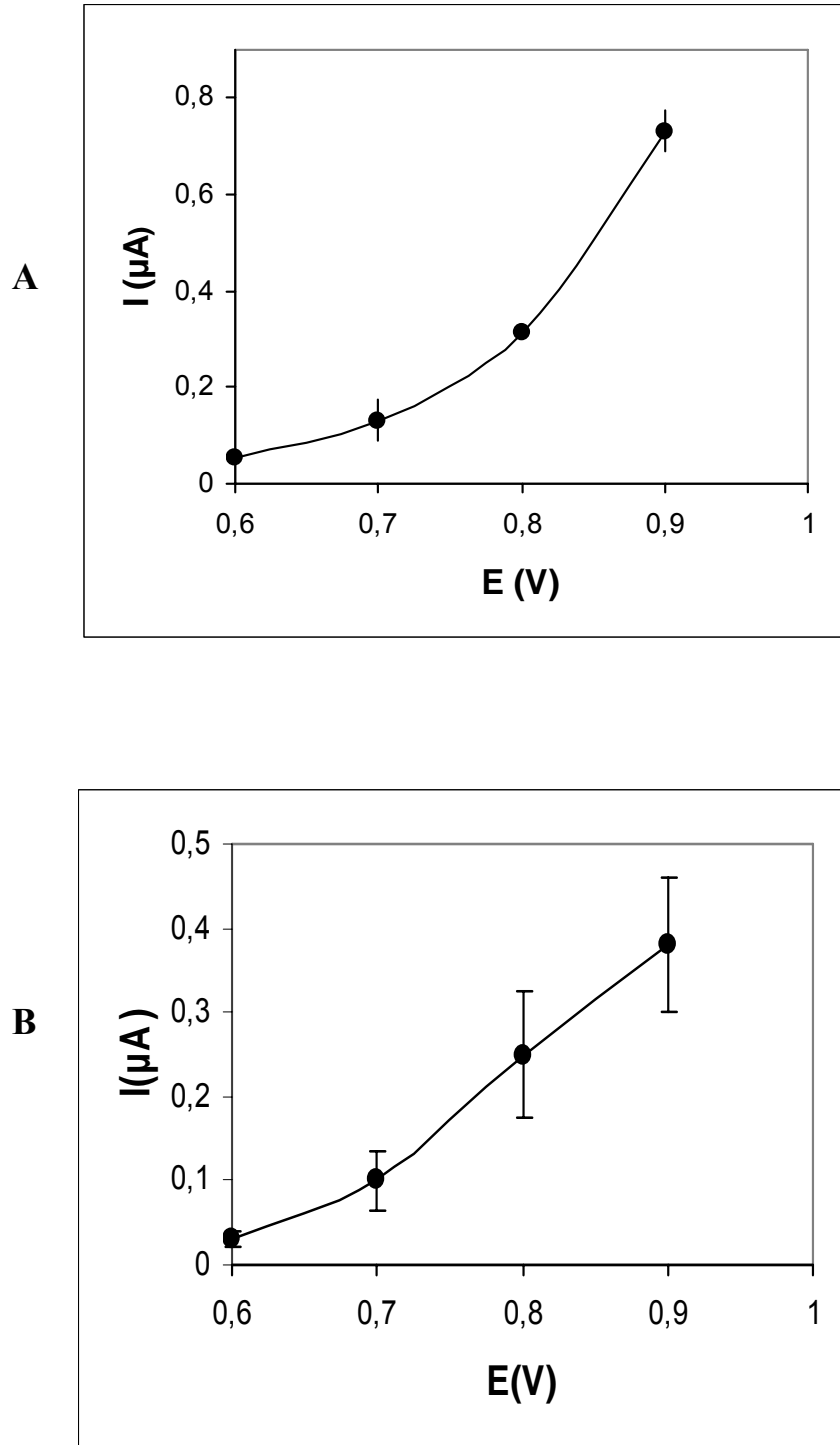


Şekil 5.7. MWCNT modifiye CPE için elde edilen tarama hızına bağlı lineer grafik, koşullar: destek elektrolit, 50 mM fosfat tamponunda, pH 7,0

5.1.2. Geliştirilen elektrodun ksantin biyosensör transduseri olarak kullanımı

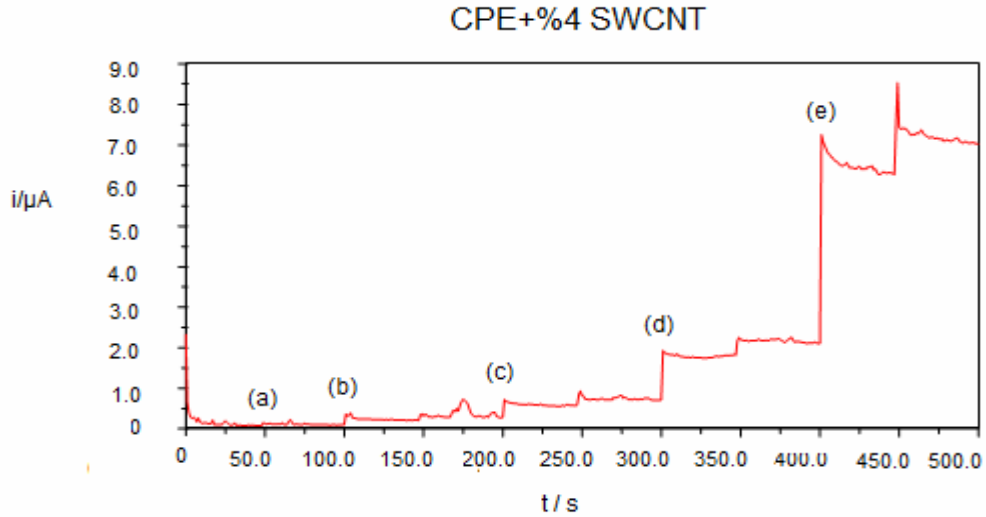
5.1.2.1. Optimum çalışma potansiyeli

Optimum elektrot yapısını bulduktan sonra, bu kompozit X biyosensörü elde etmek için XOD enzimi tarafından modifiye edilmiştir. Sistemin pH' ı, XOD miktarı ve sıcaklığı önceden yayımlanan çalışmalarda optimize edilmiştir (Anık-Kırgöz vd, 2004). CNT' nin önemli özelliklerinden biride, daha düşük çalışma potansiyeli sağlaması beklenen elektrokatalitik aktivitesidir. Bu etkiyi incelemek için, biyosensörün performansı 1 mM hidrojen peroksit çözeltisi için 100 mV artışla 600-900 mV arasında test edilmiştir (Şekil 5.8 a ve b). Uygulanan potansiyel değeri arttıkça MWCNT modifiye CPE ile daha yüksek akım değerleri elde edildiği gözlenmiştir. En yüksek akım değeri +900 mV ta elde edildiğinden bu potansiyel, MWCNT içeren elektrotlar için optimum çalışma potansiyeli olarak belirlenmiştir. SWCNT modifiye elektrotla gerçekleştirilen çalışmada da en yüksek akım değeri +900 mV ta gözlenmiştir. Ancak burada en yüksek akım değerinin %68' i +800 mV ta elde edildiği için, SWCNT modifiye elektrotlar için yapılan çalışmalarda bu potansiyel kullanılmıştır.

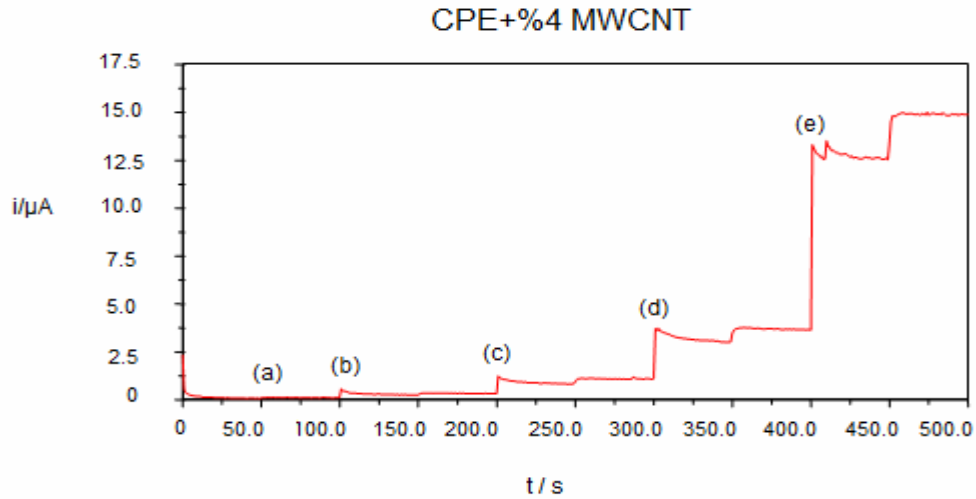


Şekil 5.8. Çalışma potansiyelinin etkisi (A) %4 MWCNT modifiye CPE, (B) %4 SWCNT modifiye CPE, koşullar: 1 mM H_2O_2 , destek elektrolit, 50 mM fosfat tamponu, pH 7,0

SWCNT ve MWCNT modifiye CP biyosensörleri için 1 mM H₂O₂ için optimum potansiyel tayini yapılmıştır. Bunun için 0,6-0,9 mV potansiyel aralığında 100 mV artışla denemeler gerçekleştirilmiştir (Şekil 5.9, 5.10).



Şekil 5.9. %4 SWCNT modifiye CPE yapısında 1 mM H₂O₂ için ardışık katımla elde edilen kronoamperometrik eğriler; (a) 600 mV, (b) 700 mV, (c) 800 mV, (d) 900 mV, (e) 1000 mV, koşullar: destek elektrolit, 50 mM fosfat tamponu, pH 7,0

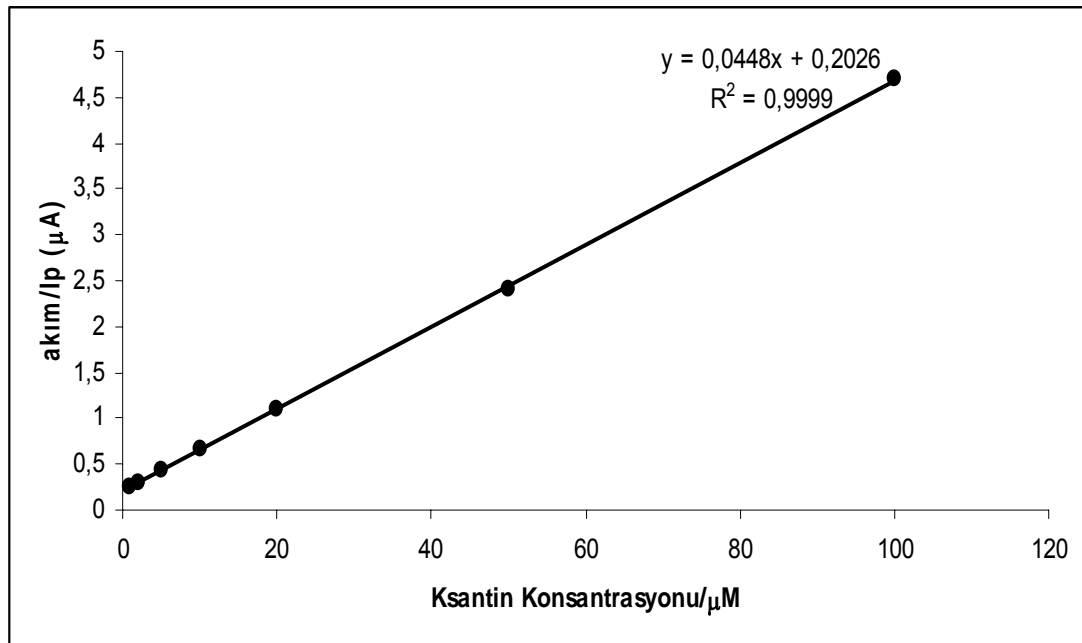


Şekil 5.10. %4 MWCNT modifiye CPE yapısında 1 mM H₂O₂ için ardışık katımla elde edilen kronoamperometrik eğriler; (a) 600 mV, (b) 700 mV, (c) 800 mV, (d) 900 mV, (e) 1000 mV, koşullar: destek elektrolit, 50 mM fosfat tamponu, pH 7,0

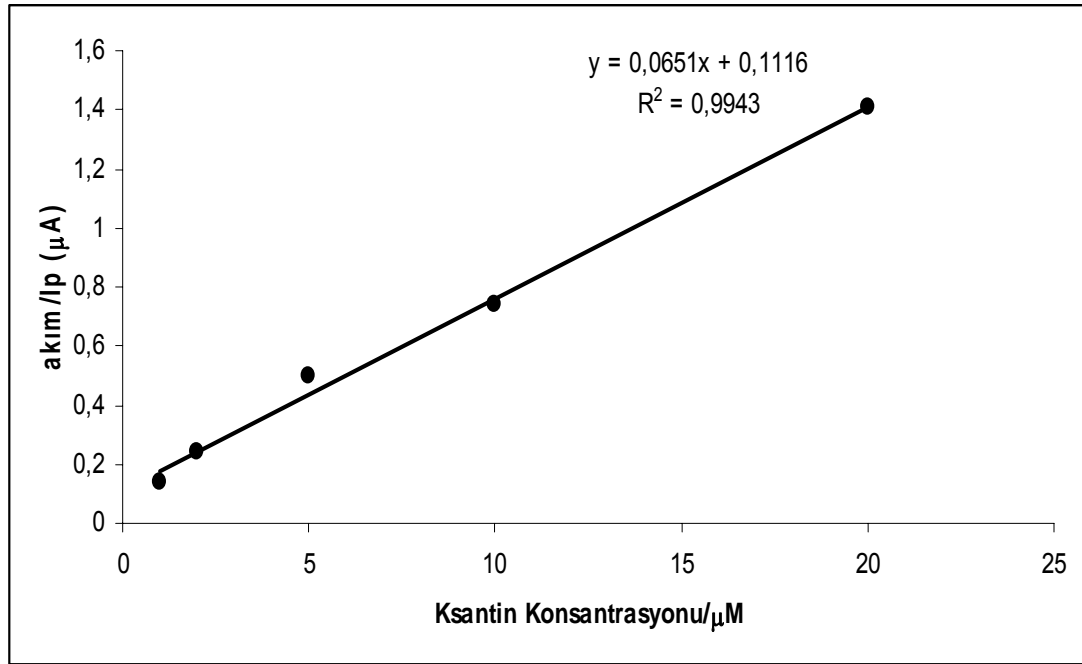
5.1.2.2. Analitiksel karakteristik

MWCNT modifiye biyosensör için lineer aralık 1-100 μM ksantin (şekil 5.11) arasında, doğru denklemi $y = 0,0455 x + 0,203$ ($R^2=0,99$) olarak hesaplanmıştır. Yanıt süresi ise 150 s dir. SWCNT modifiye CNT için ise doğrusal aralık 1-20 μM (şekil 5.12), doğru denklemi $y = 0,0651 x + 0,1116$ ($R^2 = 0,99$) şeklinde elde edilmiştir. Daha yüksek konsantrasyonlarda, standart eğri doğrusallıktan sapma göstermiştir.

Biyosensörün tekrarlanabilirliği 100 μM ksantin ($n=4$) için test edilmiştir ve bağıl standart sapma (R.S.D.) MWCNT için %3,35 olarak hesaplanmıştır. SWCNT için bu değer 5 μM ksantin ($n=5$) için test edilmiştir ve bağıl standart sapma (R.S.D.) %3,50 olarak hesaplanmıştır.



Şekil 5.11. MWCNT modifiye CPE yapısında ksantin için elde edilen doğrusal aralık; koşullar: destek elektrolit, 50 mM fosfat tamponu, 0,3 mg XOD, pH 7,0



Şekil 5.12. SWCNT modifiye CPE yapısı için ksantin analizine ilişkin doğrusal aralık; koşullar: destek elektrolit, 50 mM fosfat tamponu, 0,3 mg XOD, pH 7,0

5.1.2.3. Örnek uygulama

a) *Konserve ton balığı örneği*

Ette ve deniz ürünlerinde bulunan ksantin miktarı yiyecek kalite kontrol endeksi olarak önemlidir. Konserve ton balığı örnekleri ile standart katma yöntemi uygulanarak SWCNT-CPE ksantin tayini için kullanılmıştır. Deneysel bölümde bahsedildiği gibi, perklorik asitle proteinlerin denatürasyonu sağlanarak örneklerin içerdiği proteinler parçalanmıştır. Santrifüjden sonra, elde edilen üstteki sıvı iki bölüme ayrılarak birinci bölümde son derişim 5 μM ksantin çözeltisi elde edilecek şekilde gereken miktarda ksantin eklenmiş diğer kısma ise kör çözelti olarak kullanılabilmesi için ksantin eklenmemiştir. Standart ksantin ve ksantinsiz örnekler stok substrat çözeltisi olarak kullanılmıştır ve dengeden sonra reaksiyon hücrelerine eklenmiştir. Örnekteki ksantin miktarı kalibrasyon eğrisinden hesaplanarak geri kazanım değeri %103,33 olarak hesaplanmıştır. Ksantin analiti içermeyen ton balığı örneği herhangi bir akım değeri vermemiştir. Geri kazanım değerinin %100 e yakın olması örnek doğasının ölçümü etkilemediğini göstermektedir.

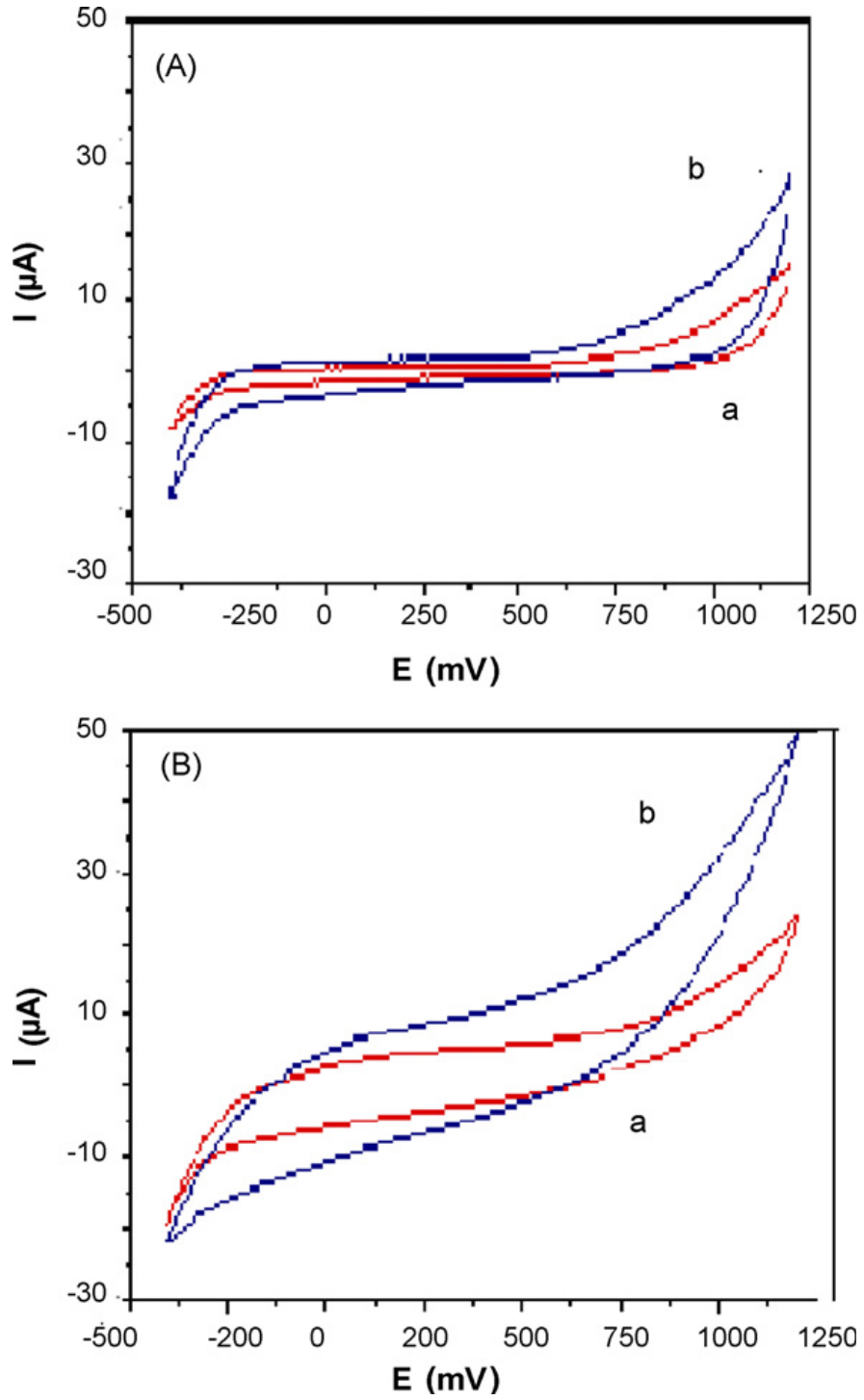
b) *Plazma örneği*

MWCNT-CPE yapısı ile plazma örneğindeki ksantin tayini için yukarıdakine benzer bir prosedür uygulanmıştır. Bilinen miktarda ksantin (100 μM) içeren denature plazma örnekleri ve içinde hiç ksantin analiti içermeyen plazma örnekleri stok substrat çözeltisi olarak kullanılmıştır. Çalışma tampon çözelti ile seyreltilmiştir ve dengeden sonra reaksiyon hücrelerine eklenmiştir. Ksantin analiti içermeyen plazma örnek çözeltisi, örneğin doğasının ölçümü etkilediğini kanıtlayan herhangi bir akım değeri göstermemiştir. Kalibrasyon eğrisinden, örnekteki ksantin miktarı bulunmuştur ve geri kazanım değeri %100,65 (n=3) olarak hesaplanmıştır.

5.2. Au-np ve XOD ile modifiye GCPE' nun ksantin ve hipoksantin tayini

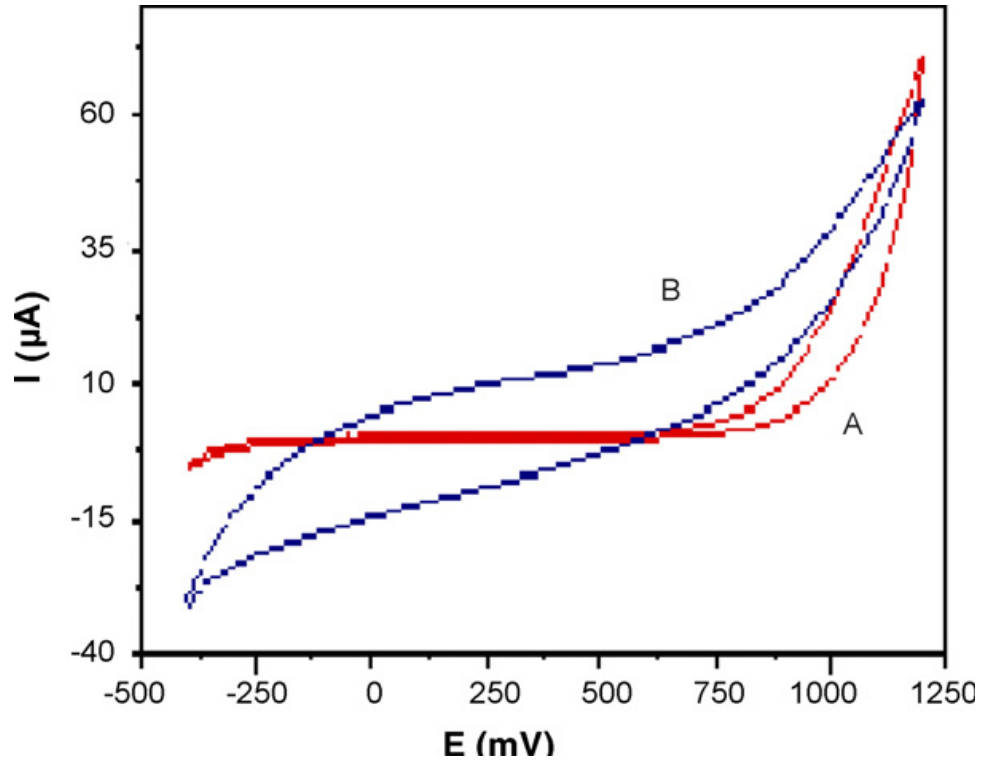
5.2.1. Nanokompozit biyosensörün elektrokimyasal Au-np varlığının etkisi

Au-np fiziko-kimyasal karakterinden dolayı biyosensör alanında çok fazla ilgi çekmiştir (Li, 2003; Xiao, 1999). Au-np redoks proteinine benzer bir uygun mikroçevre sağlamaktadır ve elektrot yüzey modifikasyonu için de uygun bir nanopartiküldür (Wu vd, 2007). Au-np nin nanokompozit yapı üzerindeki etkisini inceleyebilmek için, Au-np içeren ve Au-np içermeyen iki biyosensör hazırlanarak X tayini gerçekleştirilmiştir. Şekil 5.13 biyosensörlerin (A) Au-np' siz ve (B) Au-np' lü (a) zemin ve (b) 10 μ M X çözeltisi için 50 mV/s' deki döngüsel eğrileri göstermektedir. Her iki elektrot X katımına göre tanımlı bir elektrokimyasal cevap göstermiştir. Bununla birlikte, voltammogramlardan görüldüğü gibi, XOD-Au-np-GCPE' da ki enzimatik reaksiyon XOD-GCPE' ye (0,75 V) nazaran aslında daha düşük potansiyellerde (0,5 V civarı) başlamıştır. Bu da yapıya Au-np katımının çalışma potansiyelini düşürdüğünü göstermektedir. Ayrıca, elde edilen voltammogram şekillerinden, XOD-Au-np-GCPE nanokompozit elektrodunun daha yüksek akım yani daha iyi duyarlık sağladığını da söyleyebiliriz.



Şekil 5.13. Kompozit biyosensörler için (A) Au-np' sız (B) Au-np' lü, (a) zemin ve (b) 10 μM X çözeltisinde kaydedilen döngüsel voltammogramlar. Koşullar: destek elektrolit, 50 mM fosfat tamponu (pH 7,5) ve tarama hızı 50 mVs^{-1}

Au-np enzimatik tepkimeyi mi kolaylaştırmaktadır, yoksa ürün olarak oluşan H_2O_2 nin çıkışını mı katalizlemektedir? Bu sorunun cevabını bulabilmek için enzimsiz iki elektrot hazırlanarak bu elektrotların H_2O_2 ye ilişkin yanıtları incelenmiştir. Şekil 5.14' de, (A) sadece GCPE, (B) Au-np modifiye GCPE' nin 10 mM H_2O_2 üzerine cevabı gösterilmiştir. Voltammogramlardan görüldüğü gibi, her iki elektrot H_2O_2 çözeltisi üzerine neredeyse aynı elektrokatalitik davranışı göstermiştir. Diğer yandan, daha düşük potansiyelerde XOD enzimini içeren elektrotların H_2O_2 yanında ürik asite de yanıt verdiği düşünülmektedir (Agui vd, 2006). Yani bu artış Au-np' ün ürik asite katalitik etkisinden dolayı olabilir. Ancak daha önceki çalışmalarda Au-nano partiküllerinin ürik asite ilişkin bir katalitik aktiviteye sahip olmadıkları kanıtlanmıştır (Wu vd, 2007). Sonuç olarak, Au-np' ün varlığı enzimatik reaksiyonu kolaylaştırdığı açıktır. Au-np, altın nanokristallerin iletici kanalları içinden doğru elektron transferini sağlayarak protein kabuğunun yalıtıcı etkisini. Au-np' ler protein kabuğunun yalıtkan etkisini altın nanokristallerin iletici tünellerinde doğrudan elektron transferini sağlayarak azaltırlar. Altın partiküllerin nanomerik uçlarının protein kabuğunu delmesi elektrot ve biyomoleküller bölümleri arasındaki uzaklığı elektron transferi açısından azaltmaktadır (Mena vd, 2005).



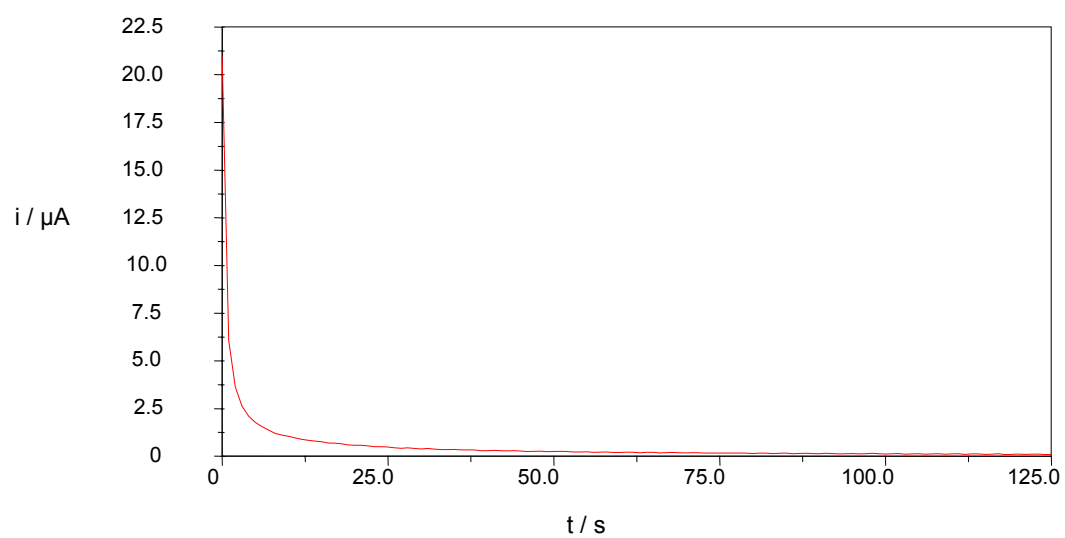
Şekil 5.14. (A) sadece GCPE ve (B) Au-np modifiye GCPE' de 10 mM H₂O₂' nin döngüsel voltammogramları. Koşullar: destek elektrolit, 50 mM fosfat tamponu (pH 7,50) ve tarama hızı 50 mVs⁻¹

5.2.2. Uygulanan potansiyelin etkisi

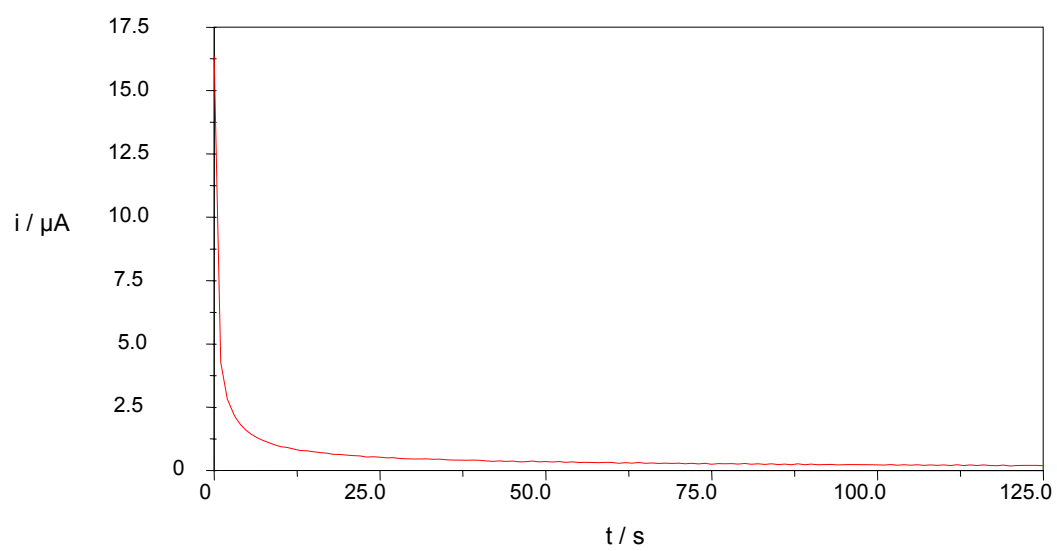
Uygulanan çalışma potansiyeli etkisinin incelenmesi için çalışma potansiyeli araştırılmıştır. Öncelikle Au-np modifiye GCPE biyosensörü için 100-1000 mV arasında ve 100 mV' luk artışla potansiyeller incelenmiştir (Şekil 5.15). Şekil 5.16' de gösterildiği gibi, sensörün performansı 10 µM X çözeltisi için 100 mV artışla 1000 mV ve 200 mV arasında test edilmiştir. En yüksek akım +900mV' da elde edilmesine rağmen, +700mV bu potansiyelde %77 maksimum akım değerine ulaşıldığı için çalışma potansiyeli olarak seçilmiştir.

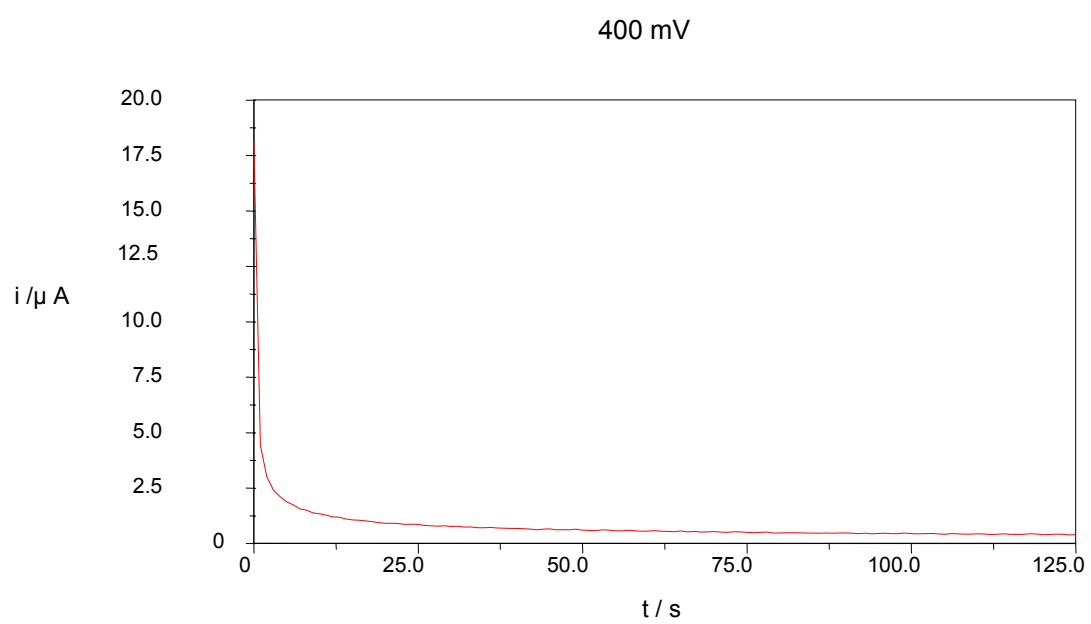
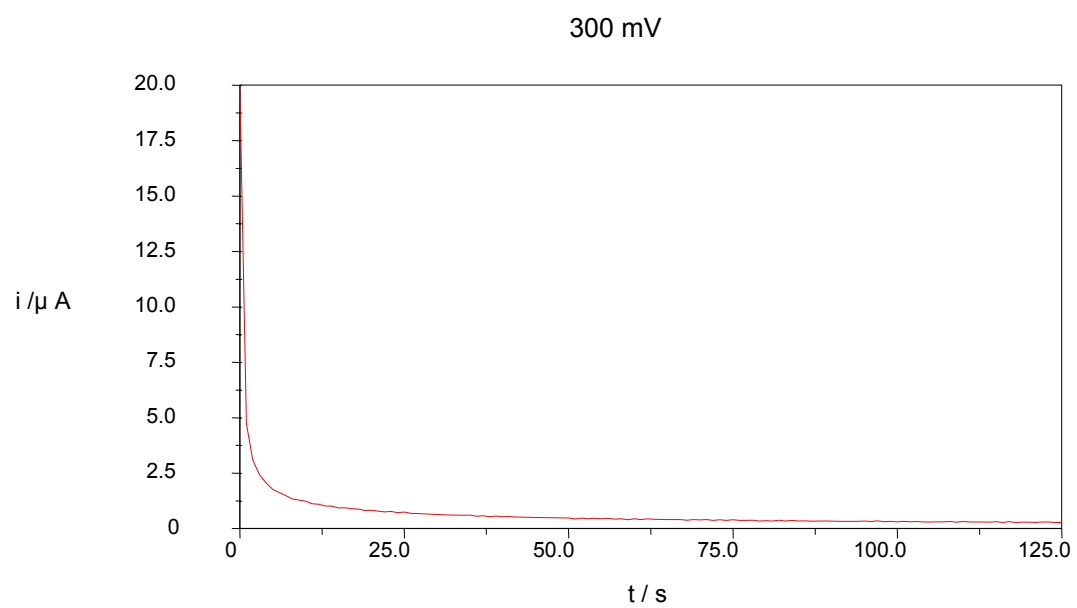
Askorbik asit (AA) gibi maddeler gerçek örneklerde X ve Hx ile birlikte bulunabilirler ve bu potansiyel değerinde elektrokimyasal olarak yükseltgenebilirler. Bu etkiyi gözlemlemek için geliştirilen sistemin AA' e +700mV' da ki kronoamperometrik cevabı izlenmiştir. Sonuç olarak, AA için 500 µM' a kadar hiçbir kronoamperometrik sinyal elde edilmemiştir. Bu sebeple, bu çalışma şartları altında ve geliştirilen nanobiyokompozit elektrot ile AA ölçümlerimize girişim yapmamıştır.

100 mV

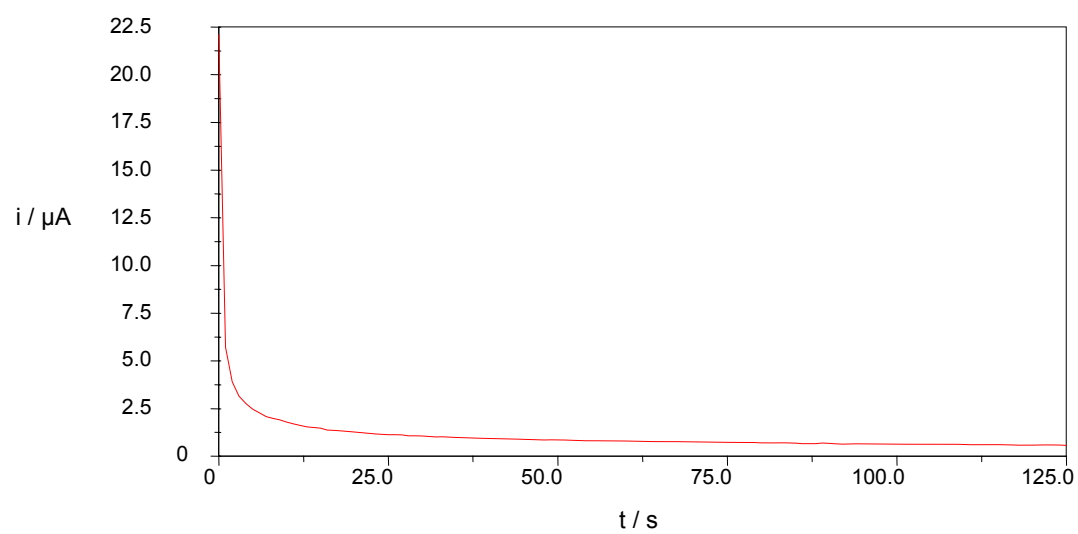


200 mV

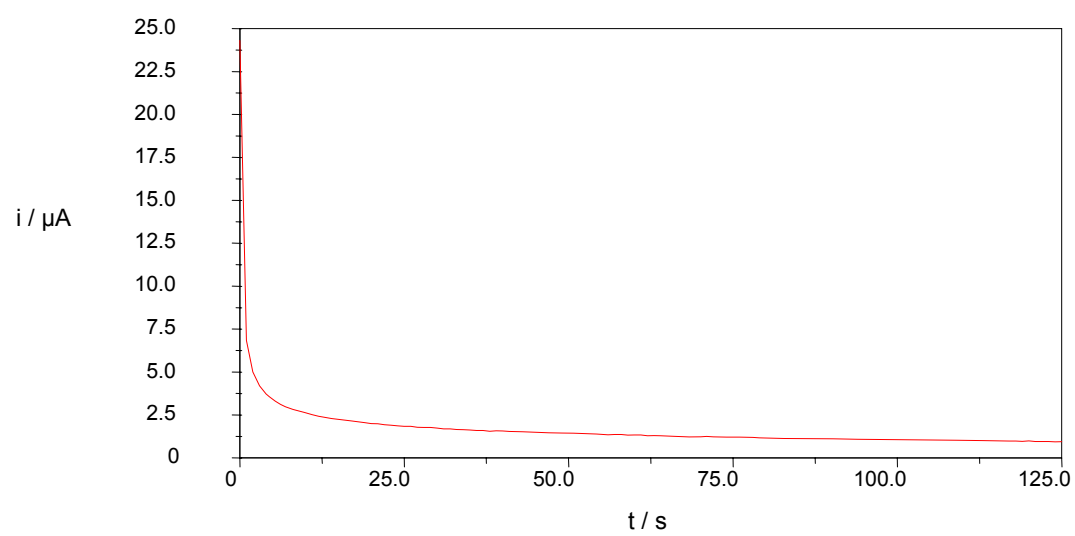




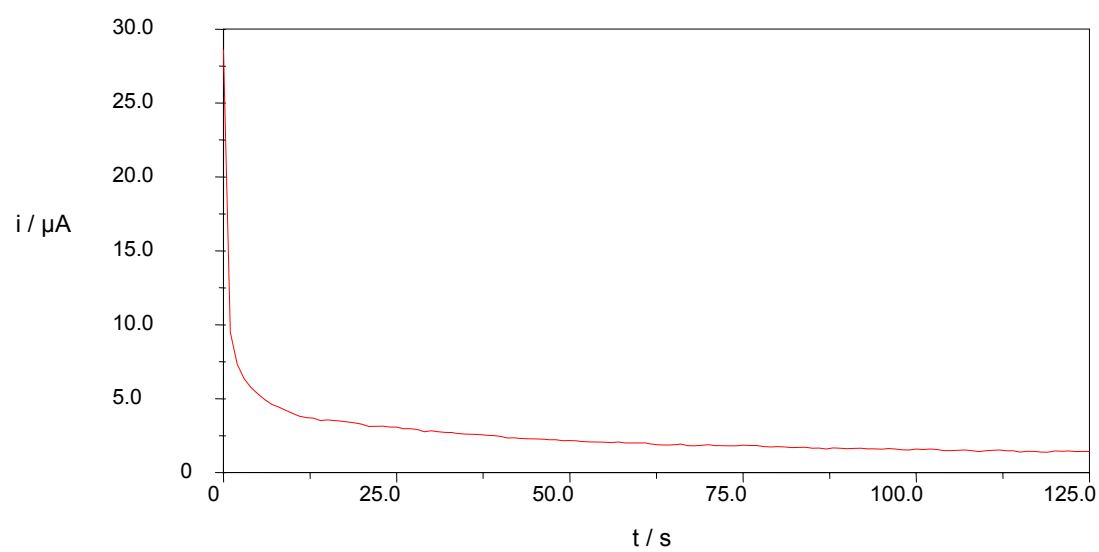
500 mV



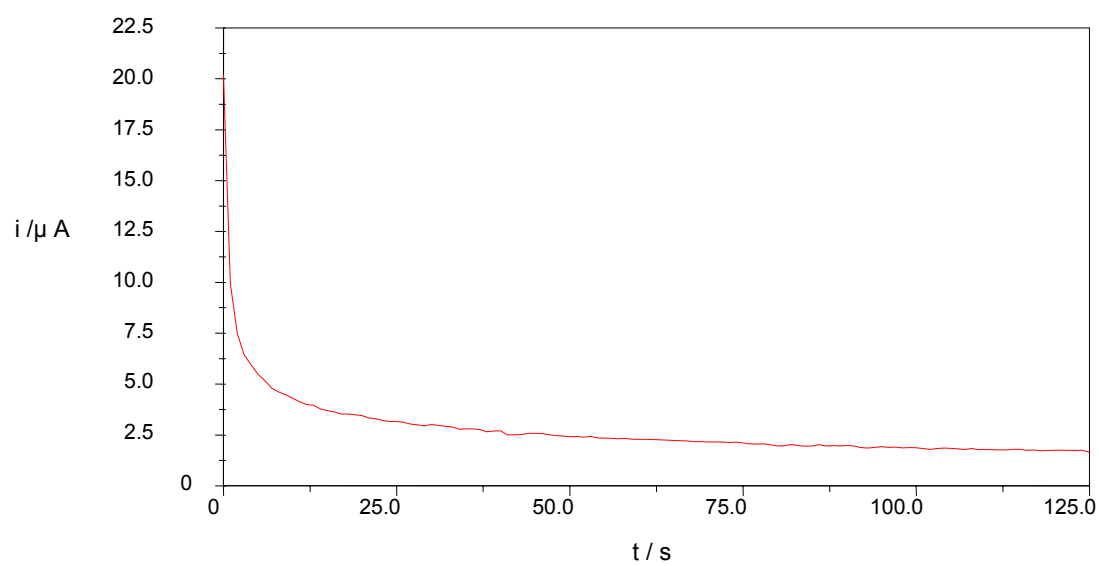
600 mV

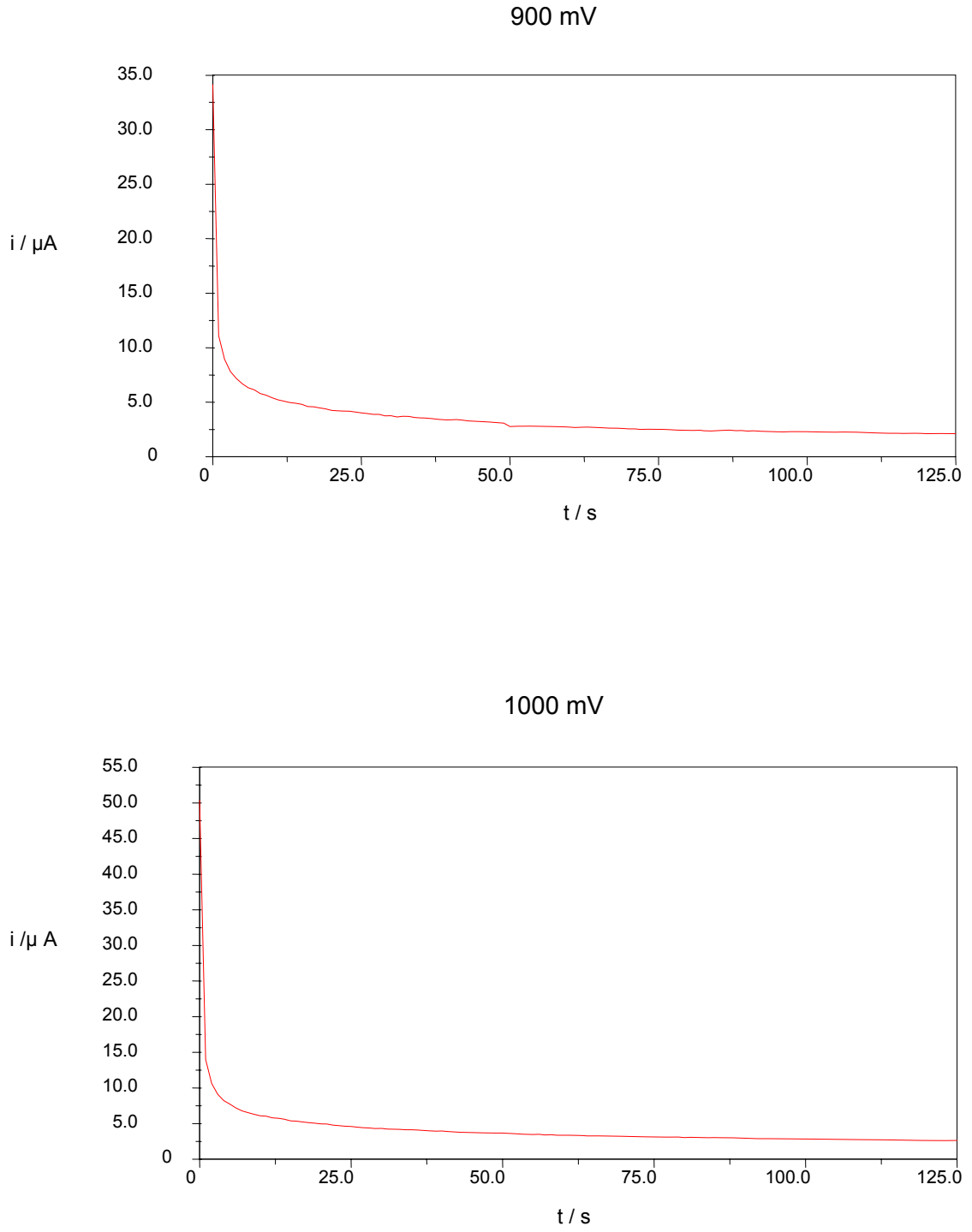


700 mV

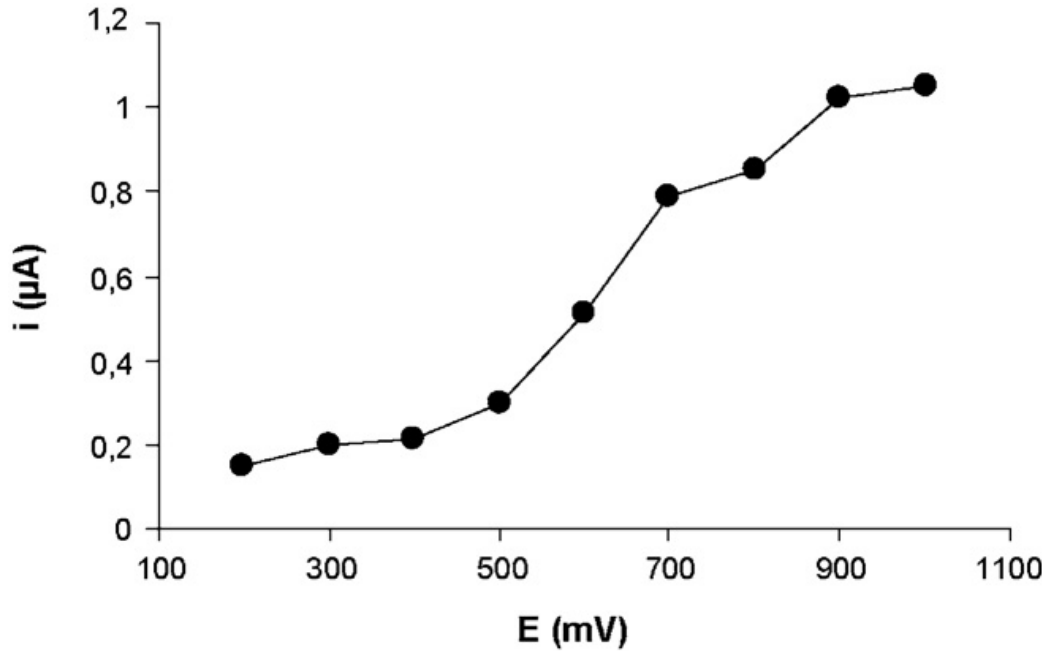


800 mV





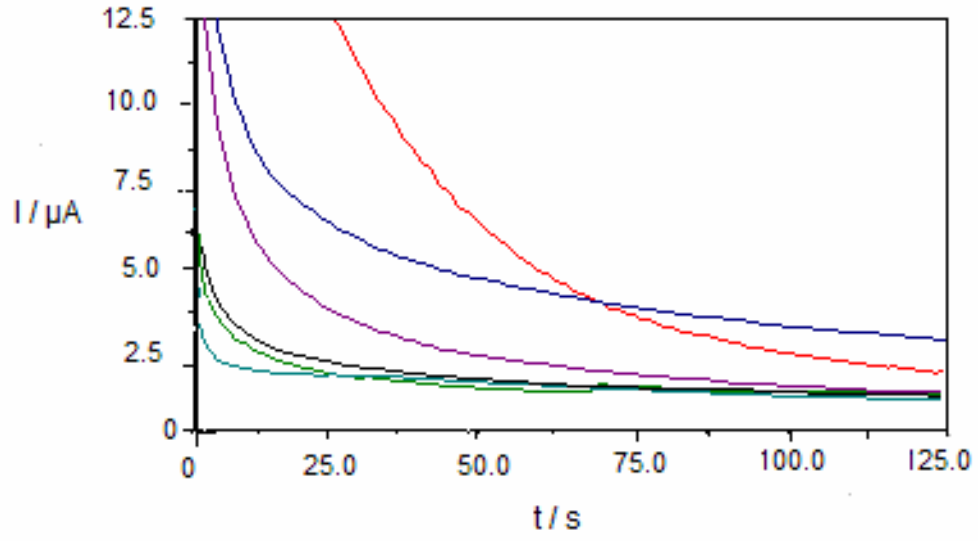
Şekil 5.15. Au-np modifiye GCPE yapısı için 100-1000 mV arasında değişen potansiyel tayinini gösteren kronoamperometrik eğriler, koşullar: destek elektrolit; 50 mM fosfat tamponu, 2 μL Au-np, 0,3 mg XOD



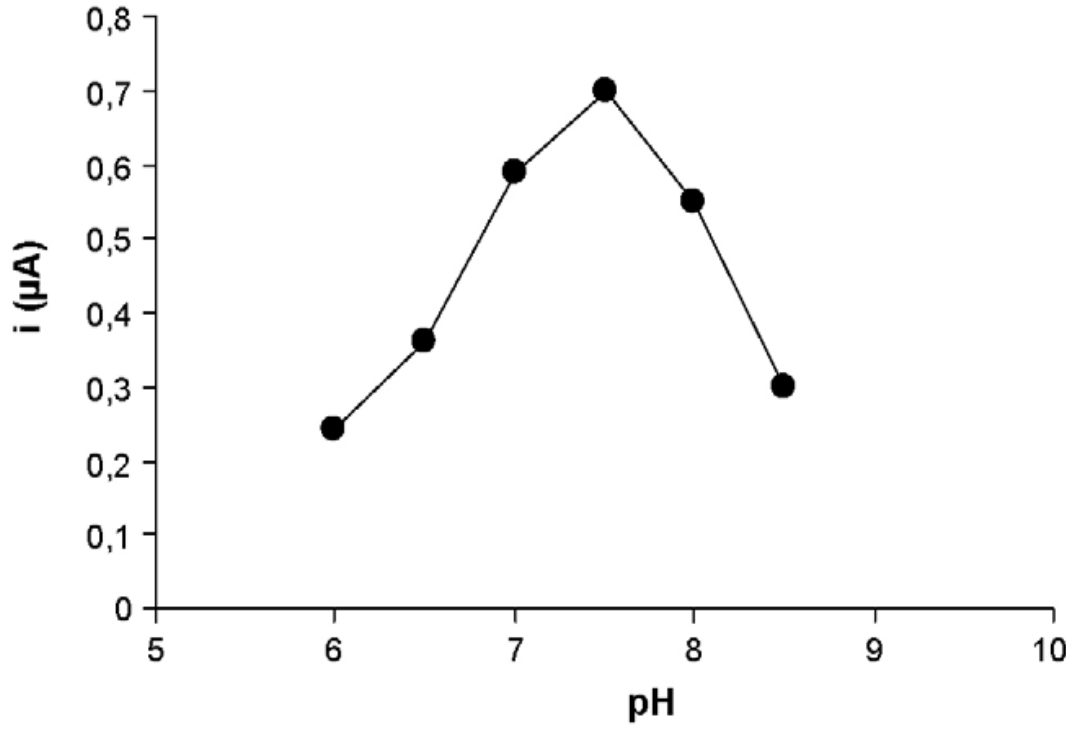
Şekil 5.16. 50 mM (pH 7,0) fosfat tamponunda çalışma potansiyelinin elektrot cevabına etkisi; koşullar: 10 µM X ile 5 µL Au-np

5.2.3. pH etkisi

Elektrot cevabına pH'ın etkisi pH 6,5 ve 8,5 arasında 0,5 artışla fosfat tampon sistemi (50,0 mM) kullanılarak incelenmiştir (Şekil 5.17). Enzim elektrodunun 10 µM X'e akım cevabı pH 6,5' dan 7,5'a artmıştır, ve sonra 7,5' dan büyük pH değerlerinde bir azalma elde edilmiştir. Sonuç olarak, pH 7,5 sonraki çalışmalar için optimum pH olarak seçilmiştir (Şekil 5.18).



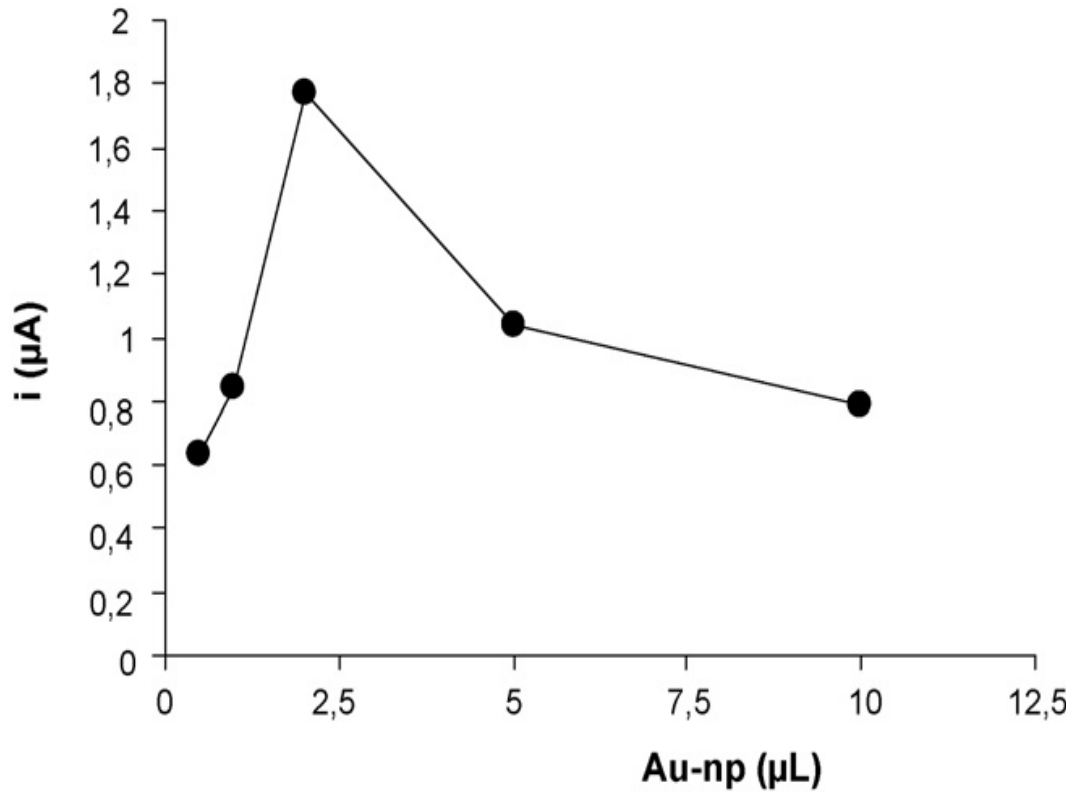
Şekil 5.17. Au-np modifiye GCPE için çeşitli oranlarda pH tayinini gösteren kronoamperometrik eğriler; koşullar: destek elektrolit 50 mM fosfat tamponu, 2 µL Au-np, 0,3 mg XOD (kırmızı pH 6, mavi pH 6,5, yeşil pH 7,0, açık yeşil pH 7,5, siyah pH 8, mor pH 8,5)



Şekil 5.18. Biyosensör cevabına pH' ın (pH 6,00-8,50) etkisi; koşullar: fosfat tamponu (50 mM), +700mV, 10 μM X ile 5 μL Au-np

5.2.4. Au-np' nin etkisi

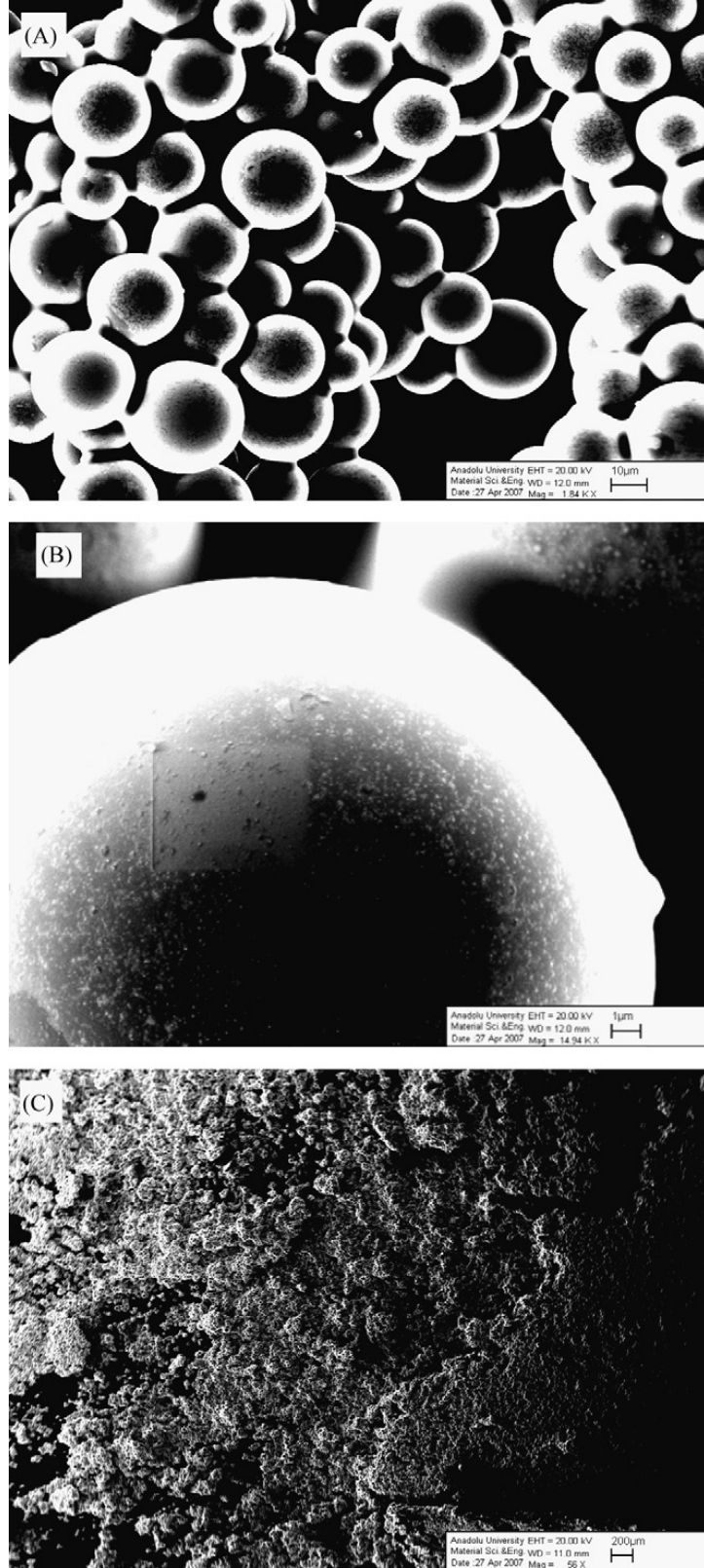
Şekil 5.19 Au-np miktarının (0,5, 1, 2, 5, 10 μL) 10 μM X' nin akım cevabına etkisi gösterilmiştir. Şekilden de görüldüğü gibi, akım 1' den 2 μL ' ye keskin bir şekilde artmaktadır ve sonra 2 μL ' den daha büyük hacimler için keskin bir azalma elde edilmiştir. Eğrinin şekli diğer Au-np modifikasyonunu içeren biyosensör çalışmalarına uygunluk göstermiştir (Liu vd, 2003). Liu ve arkadaşlarına göre, bu azalma dirençteki artmaya ve Au-np miktarındaki artıştan dolayı grafitin aktif oranının azalmasına ve elektrodun çift tabakasından meydana gelen kapasitif akıma bağlanabilir.



Şekil 5.19. 10 μM X için pH 7,5' da ve +700mV ' da Au-np miktarının (0,5-1,0-2,0-5,0 ve 10,0 μL) etkisi

5.2.5. Yüzey görüntüleme

Şekil 5.20 optimize edilmiş şartlar altında XOD-Au-np-GCPE kompozit materyalinin SEM görüntülerini göstermektedir. (A) 1.84 k \times büyütme ile yüksek derecede sıkıştırılmış sızdırmaz yüzeyler GCPE için koyu bölgedeki küresel mikropartiküllerin üzerindeki noktalar ile karakterize edilmiştir. Diğer bir yandan, camımsı karbon mikropartikül gibi materyallerin 20-50 μm ve Au-np 10 nm boyutlarına ilişkin olarak, koyu bölgedeki noktalar Au-np ile XOD olabilir ((B) de 14.94 k \times büyütme ile). (C) de 36 k \times büyütme ile, kompozitin süngere benzer yapısı görülebilir.

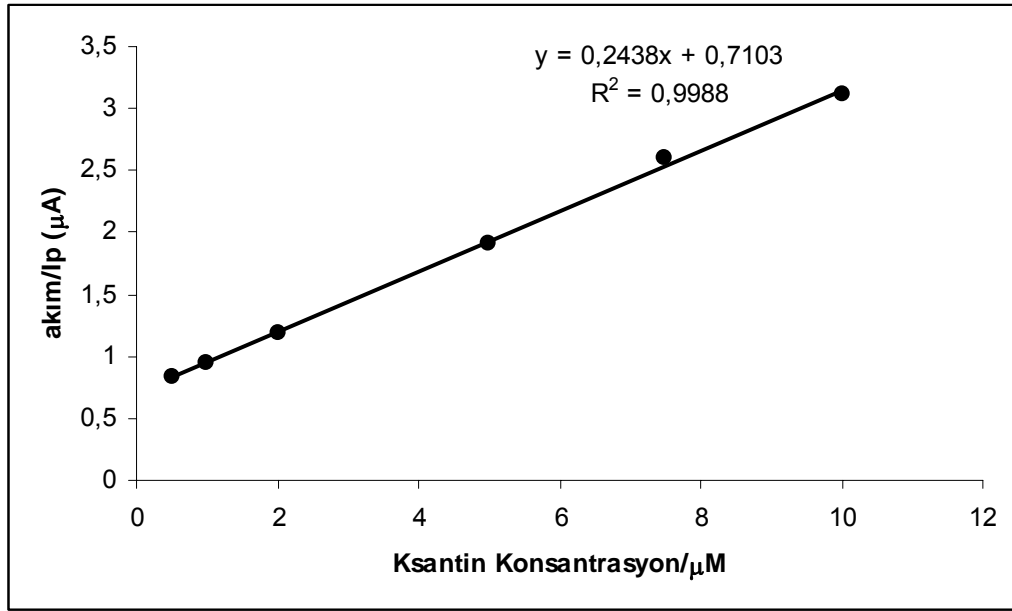


Şekil 5.20. XOD-Au-np-GCPE kompozitinin (A) 1,84 k \times , (B) 14,94 k \times ve (C) 36 k \times büyüklükleri ile SEM görüntüleri, ivmelenme voltajı 20,00 kV

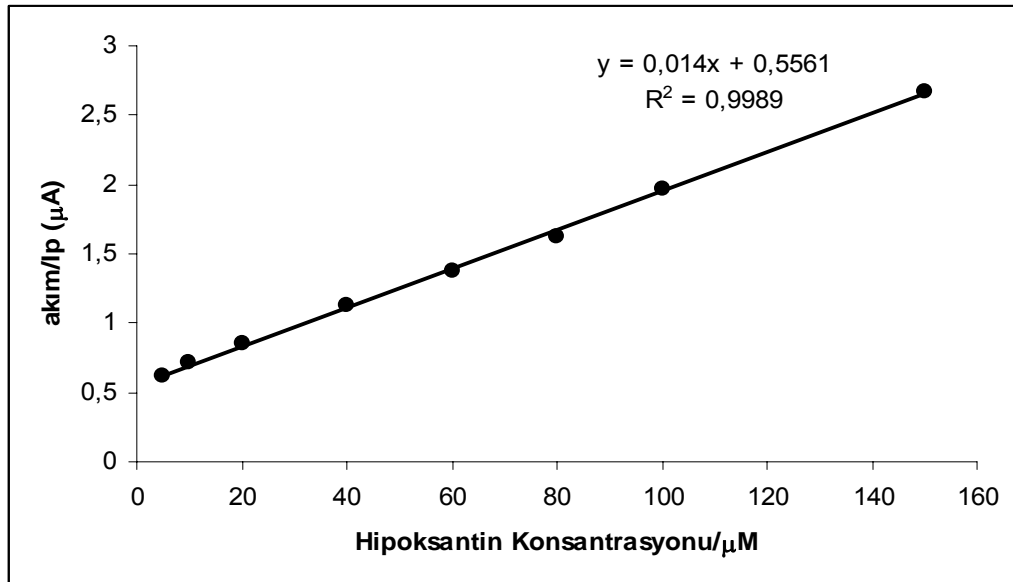
5.2.6. Analitiksel karakteristik

Koşullar X için optimize edildikten sonra elde edilen biyosensör hem X hem de HX tayinine uyarlanmıştır. Biyosensör için doğrusallık X için $5,0 \times 10^{-7}$ ve $1,0 \times 10^{-5}$ M derişim aralığında $y = 0,24x + 0,710$ denklemi ile (şekil 5.21), ve Hx için $5,0 \times 10^{-6}$ dan $1,50 \times 10^{-4}$ M derişim aralığında, $y = 0,014x + 0,556$ denklemi şeklinde elde edilmiştir (şekil 5.22). Her iki reaktif için R^2 değerleri 0,99' a eşittir. Karşılaştırma için, bu deneyler XOD ile sadece GCPE kullanılarak tekrar edilmiştir. X için, lineer aralık $2,0 \times 10^{-6}$ ve $1,0 \times 10^{-5}$ M ve denklem $y = 3,10-5x + 0,0033$ şeklindeyken Hx için lineer aralık $20,0 \times 10^{-6}$ ve $80,0 \times 10^{-6}$ M ve denklem $y = 0,0206x + 0,2111$. R^2 değerleri X için 0,99' a ve Hx için 0,97' e eşittir. Açıkça görüldüğü gibi Au-np içeren yapılar daha geniş lineer aralığa ve daha iyi R^2 değerine sahiptirler. Ayrıca Au-np içeren diğer Hx biyosensörleri ile karşılaştırıldığında daha geniş lineer aralık XOD-Au-np modifiye GCPE ile elde edilmiştir (Agüi vd, 2006). Bu durum, bu elektrot potansiyelinde (+700 mV) H_2O_2 ve/veya ürik asitin daha etkili elektrokimyasal yükseltgenmesinden dolayı olabilir. Kompozit yapının bir bölümünde Au-np' nin bulunması enzimatik reaksiyon ürünlerinin birikimini ve sonrasında enzim inhibisyonunu önleyebilir.

Biyosensörün tekrarlanabilirliği R.S.D. değerlerine göre $5 \mu\text{M}$ (n=5) X için ve $80 \mu\text{M}$ (n=5) Hx olarak test edilmiştir ve %6,31 ve %3,57 olarak hesaplanmıştır. Depolama kararlılığı kontrol edilmiştir ve enzim elektrotu ölçümler arasında $+4^\circ\text{C}$ de saklanmıştır. 1 hafta sonra sadece %18' lik aktivite kaybı olmuştur.



Şekil 5.21. XOD-Aunp-GCPE yapısında ksantin için grafik; koşullar: destek elektrolit; 50 mM fosfat tamponu, 2 μL Au-np, 0,3 mg XOD, pH 7,5



Şekil 5.22. XOD-Aunp-GCPE yapısında hipoksantin için grafik; koşullar: destek elektrolit; 50 mM fosfat tamponu, 2 μL Au-np, 0,3 mg XOD, pH 7,5

5.2.7. Örnek uygulama

Etteki ve deniz ürünlerinde ki ksantin ve hipoksantin seviyesi yiyecek kalite kontrol endeksi olarak önemlidir. İki bölüme ayrılan (bir bölümü taze örnek olarak kullanılmıştır ve diğer bölüm kullanmadan önce 15 gün oda sıcaklığında bekletilen bozunmamış örnek olarak sınıflandırılmıştır) konserve ton balığı örnekleri Hx tayini için kullanılmıştır. X tayini ise sadece taze örneklerde yapılmıştır. Standart katma yöntemi örnek matriks etkisini değerlendirmek için uygulanmıştır.

Bölüm 3' de bahsedildiği gibi, perklorik asit proteinlerin denaturasyonlarını sağlayarak örneklerin proteinlerine parçalanması için kullanılmıştır. Santrifüjden sonra, üstte temiz bir sıvı elde edilmiştir. Standart X çözeltisi için son konsantrasyon 5 uM olacak şekilde sıvının bir bölümüne eklenmiştir. Standart Hx çözeltisi son konsantrasyon 80 µM olacak şekilde bu üst sıvının bir bölümüne eklenmiştir, diğer bölüm ise hiç standart Hx çözeltisi içermemektedir.

Diğer bir deyişle her iki çözelti standart katmaya tabi tutulmuştur, standart Hx içeren ve içermeyen örnekler stok substrat çözeltisi olarak kullanılmıştır ve dengeden sonra reaksiyon hücrelerine eklenmiştir. Örnekteki Hx miktarı kalibrasyon eğrisinden hesaplanmıştır.

Taze ve bozunmuş örnekler için geri kazanım değerleri Hx için %102,5 ve %106 ve taze örneklerde X için %110 olarak hesaplanmıştır. Standart Hx ve X çözeltisi içermeyen örnekler hiç sinyal vermemiştir.

Bozunmuş örnek için yüksek geri kazanım değeri mikrobiyal kontaminasyondan meydana gelen diğer bileşiklerin girişimlerine dayandırılabilir. Diğer bir yandan, taze örneğin geri dönüşümü %100' e yakındır. Çünkü ksantin içeren örneklerden elde edilen sinyaller standart çözeltilere çok yakındır, buradan da örneğin doğasının ölçümü etkilemediği sonucu çıkarılabilir.

5.2.8. Diğer Au-np içeren Hx biyosensörleri ile biyosensör performansının karşılaştırılması

Au-np modifiye elektrot yüzeyleri farklı yollarla hazırlanabilir: (1) SAM fonksiyonel grupları ile altın nanopartiküllerin bağlanması; (2) bulk elektrot yüzeyine nanopartiküllerin direk biriktirilmesi; (3) kompozit elektrot matrisinde diğer bileşenler ile altının karıştırılarak elektrot içine koloidal altının birlikte katılması. Biyosensörler, adsorpsiyon yardımı ile biyomoleküllerin nanopartikül üzerine immobilize edilmesiyle oluşturulabilirler, glutaraldehit gibi bifonksiyonel ajanlar ile çapraz bağlanarak ya da kompozit elektrodun diğer bileşenleri ile karıştırılarak yapılabilmektedirler (P. Yañez-Sedeño vd, 2005).

Pingarron ve arkadaşları (Agüi vd, 2006) Au-np içeren veya içermeyen yapıların diğer Hx biyosensörlerin bazıları ile karşılaştırmışlardır ve en yüksek akımı (5 μ M için 87,4 nA) glutaraldehit ile çapraz bağlanmış XOD ve Au-np biriktirilmiş CPE için elde etmişlerdir. Aynı miktarda enzim ve aynı çalışma potansiyeli (+600 mV) kullanılarak, aynı miktardaki Hx tayini için geliştirilen elektrot, XOD-Au-np-GCP kompozit elektrodu 91 nA (n=3) değerini vermiştir. Geliştirilen elektrotlara daha yüksek akım elde edilmesi, enzimin doğrudan kompozit elektrot maddesi içine katılması sayesinde daha yüksek biyoaktiviteye sahip olmasıyla açıklanabilir. Bunun sonucunda nanokompozit elektrodun substrat yanıtı daha hızlı, daha duyarlı ve daha kararlı olmuştur.

Çizelge 5.4. Literatürlerde test edilen XOD biyosensör konfigürasyonları^a (Agüi, 2006)

| Biyosensör | <i>i</i> (nA)^b |
|------------------------------------|----------------------------------|
| XOD-CPE | 1.30 |
| Naf-XOD-CPE | Sinyal yok |
| GA-BSA-XOD-CPE | 13.2 |
| XOD-Aucoll-CPE ^c | 1.80 |
| XOD-nAu-CPE ^d | 2.10 |
| GA-BSA-XOD-nAu-GCE ^d | 42.4 |
| XOD-Aucoll-Cyst-CPE | 3.87 |
| Naf-XOD-Aucoll-Cyst-CPE | 1.11 |
| GA-BSA-XOD-Aucoll-Cyst-CPE | 18.9 |
| GA-BSA-XOD-Aucoll-CPE ^c | 20.7 |
| GA-BSA-XOD-nAu-CPE ^d | 87.4 |
| GA-BSA-XOD-nAu-AuE ^d | 51.3 |
| GA-BSA-XOD-AuE | 14.9 |

a CPE' lar 250 mg grafit için 90 µL mineral yağ ile hazırlanmıştır

b Ortalama değer ($n = 3-5$)

c Elektrotlar 100 mg grafit tozu için 300 µL koloidal altın süspansiyonu ile karıştırılarak hazırlanmışlardır

d Elektrotlar 1% H₂AuCl₄' de a -400 mV' da biriktirilerek hazırlanmışlardır

e Nafyon

f Glutaraldehit

g Bovin Serum Albümin

5.3. Sonuç

Bu çalışmada MWCNT ve SWCNT' nin CPE üzerine ksantin biyosensöründe transduser olarak etkileri incelenmiştir. Optimum kompozit yapı için, değişik oranlarda CNT içeren elektrotların elektrokatalitik davranışları ferrisiyanür çözeltisi için çalışılmıştır ve sadece CPE ile karşılaştırılmıştır. Sonuç olarak yüksek akım değerleri ile düşük pik potansiyelleri (MWCNT-CPE) CNT modifiye CPE' lar ile elde edilmiştir. Her iki elektrodun ksantin biyosensörüne tekrarlanabilirliği neredeyse aynıdır, ki burada MWCNT-CPE sisteminin SWCNT-CPE sistemi ile karşılaştırıldığında daha geniş bir doğrusal aralığa sahip olduğu görülmüştür. Diğer bir yandan, hidrodinamik voltammogramlardan, çalışma potansiyeli arttıkça MWCNT-CPE' nin daha etkin bir transduser olduğu açıktır. +900 mV' da daha yüksek akım değerleri elde edilmesine rağmen, SWCNT-CPE' nin +800 mV' da çalıştığı gösterilmiştir (örnek uygulamadan). Biyosensör yapısı için SWCNT temelli CPE' un MWCNT temelli CPE' lara göre daha duyar cevap verdiği ve SWCNT' nin elektrokatalitik etki ile pik potansiyelini düşürdüğü gözlenmiştir. Biyosensör yapıları içinde elektrokimyasal reaktivitelerine bakıldığında en yüksek SWCNT, sonra MWCNT ve en son CPE şeklinde olduğu görülmüştür. Plazma örneğinde ve konserve ton balığı örneğinde ki ksantin tayini için geliştirilen sistemin uygulamaları geliştirilen transduserlerin örneğin doğasından etkilenmediğini gösteren umut verici sonuçlar sağlamıştır ve farklı çeşitteki örnekler içinde kullanılabilir. Sonuç olarak, ksantin tayini için CPE içine CNT katıldığı zaman daha iyi duyarlıkta basit ve pratik biyosensör elde edildiği sonucu çıkarılabilir.

Diğer yandan XOD–Au-np–GCPE hazırlanması kolay, X ve Hx tayini için kullanışlı bir biyosensördür. Gereken miktarda XOD, Au-np, GC mikropartikül ve mineral yağ karıştırılarak kolaylıkla hazırlanabilir. Sonuçlardan, özellikle Hx tayinine bakıldığında daha pratik ve etkili bir biyosensör elde edildiği sonucu çıkarılabilir. Bu durum GC mikropartikül ile Au-np içeren kompozit yapı ile açıklanabilir. Au-np, altın nanokristallerin iletim tünelleri vasıtasıyla enzimin aktif kısmı ile elektrot arasındaki doğrudan elektron transferine izin veren enzimatik reaksiyonları katalizlemektedir (Manso vd, 2004). Öte yandan, Au-np' ün immobilize reaktif olarak kullanımından ziyade bu iki materyalin kompozit yapı içinde birleşimi, daha yüksek biyoaktiviteye sahip immobilize edilmiş enzimin substrata ilişkin duyarlı, kararlı ve hızlı cevap vermesine neden olmaktadır.

KAYNAKLAR

Anık Kırğöz, U., Timur, S., Wang, J., Telefoncu, A. 2004. Xanthine oxidase modified glassy carbon paste electrode. *Electrochemistry Communications*, 6, (9): 913-916

Agui, L., Manso, J., Yanez-Sedeno, P., Pingarron, J.M. 2006. Amperometric biosensor for hypoxanthine based on immobilized xanthine oxidase on nanocrystal gold-carbon paste electrodes, 113, (1): 272-280

Bloor, D., Movaghar, B., 1983. Conducting polymers. *IEEE Proceedings* 130.225-232

Coulet, P. R., "What is a Biosensor?" Chapter 1; "Biosensor principles and applications" Ed: Blum, L. J., Coulet, P. R. 1991.), Marcel Dekker Inc., New York, sayfa 1-6

L.C. Clark, Jr (1987) 'The enzyme electrode', in A.P.F. Turner, I. Karube and G.S. Wilson (Eds) , *Biosensors: Fundamentals and Applications*, Oxford University Press, Oxford Chap. 1, pp. 3-12

Çıracı S., 2005. Bilkent Ulusal Nanoteknoloji Araştırma Merkezi, Bilim ve Teknik Eki Yeni Ufuklar, , vol.453, c.38, sf.1-10

Koç, M. B., Nanotüpler, Bitirme Tezi, Ankara Üniversitesi, Ankara, 2003

Konuk, M., Oktay, S. 2007. Biyolojik Sistemlerde Uygulamalara Yeni Bir Yaklaşım: Nanoteknoloji ve Nanomateryaller. *Gıda Teknolojileri Elektronik Dergisi*, 2, (3): 23-24

Kuwahara, S., Akita, S., Shirakihara, M., Sugai, T., Nakayama, Y., Shinohara, H. 2006. Fabrication and characterization of high-resolution AFM tips with high-quality double-wall carbon nanotubes. *Chemical Physics Letters*, 429, (4-6): 581-585

Li, D., Li, J.H., 2003. Self-assembly of 4-ferrocene thiophenol capped electroactive gold nanoparticles onto gold electrode, *Surface Science*, 522, (1-3): 105-111

Liu, S., Yu, J., Ju, H. J. 2003. Renewable phenol biosensor based on a tyrosinase-colloidal gold modified carbon paste electrode, *Electroanalytical Chemistry*, 540, 61-67

Manso, J., Agui, L., Yanez-Sedeno, P., Pingarron, J.M. 2004. Development and Characterization of Colloidal Gold-Cysteamine-Carbon Paste Electrodes, 37, (5): 887-902

Mena, M.L., Yáñez-Sedeño, P., Pingarrón, J.M. 2005. A comparison of different strategies for the construction of amperometric enzyme biosensors using gold nanoparticle-modified electrodes. *Analytical Biochemistry*, 336, (1): 20–27

Merkoçi, A., Pumera, M., Llopis, X., Perez, B., del Vale, M., Alegret, S. 2005. New Materials for electrochemical sensing VI: Carbon nanotubes. *Trends in Analytical Chemistry*, 24, (9): 826-838

Moore, R. R., E. Banks, C., G. Compton, R. 2004. Basal Plane Pyrolytic Graphite Modified Electrodes: Comparison of Carbon Nanotubes and Graphite Powder as Electrocatalysts. *Analytical Chemistry*, 76, (10): 2677-2682

Musameh, M., Wang, J., Merkoçi, A., Lin, Y. 2002. Low potential stable NADH detection at carbon-nanotube-modified glassy carbon electrodes. *Electrochemistry Communications*, 4, (10): 743-746

Perez, B., Pumera, M., Merkoçi, A., Alegret, S. 2005. Glucose Biosensor Based on Carbon Nanotube Epoxy Composites, *Journal of Nanoscience and Nanotechnology*, 5, (10): 1694-1698

Pumera, M., Merkoçi, A., Alegret, S. 2005. Carbon nanotube-epoxy composites for electrochemical sensing, *Sensors and Actuators B*, 113, (2): 617-622

Sotiropoulou, S., Gavalas, V., Vamvakaki, V., Chaniotakis, N.A. 2003. Novel carbon materials in biosensor systems. *Biosensors and Bioelectronics*, 18, (2-3): 211-215

Taşkıran, A., Karbon nanotüp (CNT) temelli karbon pasta elektrotların ksantin biyosensöründe transduser olarak kullanımı. Bitirme Tezi, Muğla Üniversitesi, 2007

Telefoncu, A. (1999) *Biyosensörler*, (Telefoncu, A., ed.), s. 1, Ege Üniversitesi Fen Fakültesi Baskı Atölyesi, İzmir

Tural, H., Ertaş, F. N., Gökçel, H. 2006. *Enstrümental Analiz ve Elektroanalitik Yöntemler*, Ege Üniversitesi Fen Fakültesi Baskı Atölyesi, İzmir, 339s

Trojanowicz, M., 2006. Analytical applications of carbon nanotubes: a review. *Trends in Analytical Chemistry*, 25, (5): 480-489

Valentini, F., Orlanducci, S., Terranova, M. L., Amine, A., Palleschi, G. 2004. Carbon nanotubes as electrode materials for the assembling of new electrochemical biosensors. *Sensors and Actuators B*, 100, (1-2): 117-125

Wang, J., Anık Kırğöz, Ü., Mo, J., Lu, J., Kawde, A. N., Muck, A. 2001. Glassy Carbon Paste Electrodes. *Electrochemistry Communications*, 3, (4): 203-208

Wang, J., Musameh, M. 2003. Carbon Nanotube/Teflon Composite Electrochemical Sensors and Biosensors. *Analytical Chemistry*, 75, (9): 2075-2079

Wu, B.-Y., Hou, S.-H., Yin, F., Li, J., Zhao, Z.-X., Huang, J.-D., Chen, Q., 2007. Amperometric glucose biosensor based on multilayer films via layer-by-layer self-assembly of multi-wall carbon nanotubes, gold nanoparticles and glucose oxidase on the Pt electrode. *Biosensors and Bioelectronics*, 22,(6): 838-844

Xiao, Y., Ju, H.X., Chen, H.Y. 1999. A reagentless hydrogen peroxide sensor based on incorporation of horseradish peroxidase in poly(thionine) film on a monolayer modified electrode. *Analytica Chimica Acta*, 391, (3): 299-306

Xiao, Y., Ju, H.X., Chen, H.Y. 2000. Direct Electrochemistry of Horseradish Peroxidase Immobilized on a Colloid/Cysteamine-Modified Gold Electrode, 278, (1): 22-28

Yañez-Sedeño, P., Pingarroñ, J.M. 2005. Gold nanoparticle-based electrochemical biosensors, *Anal. Bioanal. Chem.* 382,884

Zhang, M., Smith, A., Gorski, W. 2004. Carbon Nanotube-Chitosan System for Electrochemical Sensing Based on Dehydrogenase Enzymes, *Analytical Chemistry*, 76, 5045-5050

<http://www.itab.anadolu.edu.tr/itab/pdf/nylp.pdf>

<http://www.nanoteknoloji.net.tc/>

<http://www.biltek.tubitak.gov.tr/bdergi/yeniufuk/icerik/ekDokuMuhNano.pdf>

<http://www.nanoamor.com/inc/sdetail/6355>

<http://www.gatech.edu/newsroom/release.html>

<http://www.nano-lab.com/nanotube-image.html>

http://www.yildiz.edu.tr/~gdereli/lab_homepage/ders.htm

<http://web.sakarya.edu.tr/~akbulut/intnano4a.pdf>

<http://pharm.ege.edu.tr/pp/ozsozs/biosensor>

http://sci.ege.edu.tr/~eubio/yaz_okulu/biyosensor.htm

<http://techofnano.com/nano/nano-teknoloji/nanomalzeme.html>

<http://news.research.ohiou.edu/news/index.php>

<http://hydrogen.cankaya.edu.tr/sunum/sunum5.ppt>

<http://physicsworld.com/cws/article/print/1761>

ÖZGEÇMİŞ

Meliha ÇUBUKCU 1982 yılında Muğla' da doğdu. İlk ve orta öğrenimini Köyceğiz Atatürk İlköğretim okulunda tamamladı. Lise öğrenimini Köyceğiz Naip Hüseyin Süper Lisesinde tamamladı. 2001 yılında Abant İzzet Baysal Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi İngilizce Kimya Bölümü' ne girdi ve 2005 yılında lisans eğitimini tamamladı. 2006 yılında Muğla Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsünde Yüksek Lisansa başladı. Yüksek Lisans eğitimi boyunca Tübitak 106T135 no' lu projeden burs almıştır. Nanokompozitler ve Elektrokimyasal Biyosensör Uygulamaları konulu Muğla Üniversitesi BAP projesinde çalıştı. SCI-expanded index kapsamında Talanta ve Microchimica Acta dergilerinde 2 tane yayını vardır. 4 tane uluslararası ve 3 tanede ulusal olmak üzere toplam 7 tane bildirimleri vardır. 2008 yılında Yüksek Lisans eğitimini tamamladı. Elektroanalitik kimya alanında çalışmaları devam ediyor. İyi derecede İngilizce ve az derecede Almanca bilmektedir.