



**BİYOLOJİK ÖNEME SAHİP BAZI MOLEKÜLLERİN
VÜCUT SIVILARINDAN TAYİNİNE YÖNELİK
MODİFİYE ELEKTROT TEMELLİ
SENSÖR GELİŞTİRİLMESİ**

Salih İLKBAŞ
Yüksek Lisans Tezi

Eskişehir, 2016

**BİYOLOJİK ÖNEME SAHİP BAZI MOLEKÜLLERİN
VÜCUT SIVILARINDAN TAYİNİNE YÖNELİK
MODİFİYE ELEKTROT TEMELLİ
SENSÖR GELİŞTİRİLMESİ**

Salih İLKBAŞ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**Kimya Anabilim Dalı
Danışman: Doç. Dr. Ali ÖZCAN**

**Eskişehir
Anadolu Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Nisan 2016**

JÜRİ VE ENSTİTÜ ONAYI

Salih İlkbaşı' ın “Biyolojik Öneme Sahip Bazı Moleküllerin Vücut Sıvılarından Tayinine Yönelik Modifiye Elektrot Temelli Sensör Geliştirilmesi” başlıklı tezi 12/04/2016 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından “Anadolu Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliği”nin ilgili maddeleri uyarınca, **Kimya** Anabilim Dalında Yüksek Lisans Tezi değerlendirilerek kabul edilmiştir.

Unvanı-Adı Soyadı

İmza

Üye (Tez Danışmanı) : Doç. Dr. Ali ÖZCAN

.....

Üye : Prof. Dr. Evrim SOFUOĞLU HÜR

.....

Üye : Doç. Dr. Levent ÖZCAN

.....

.....

Enstitü Müdürü

ÖZET

BİYOLOJİK ÖNEME SAHİP BAZI MOLEKÜLLERİN VÜCUT SIVILARINDAN TAYİNİNE YÖNELİK MODİFİYE ELEKTROT TEMELLİ SENSÖR GELİŞTİRİLMESİ

Salih İLKBAŞ

Kimya Anabilim Dalı

Anadolu Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Nisan, 2016

Danışman: Doç. Dr. Ali ÖZCAN

Bu tez çalışmasında, ürik asit, serotonin ve dopamin gibi biyolojik öneme sahip moleküllerin tayini için modifiye elektrot temelli sensör geliştirilmesi amaçlanmıştır. Sensör olarak poli(3,4-etilendioksitiyofen) (PEDOT) ve poli(pirrol-3-karboksilik asit) p(P3KA) polimerleriyle modifiye edilmiş kalem ucu grafit (KUG) elektrotların kullanımı incelenmiştir. Tez çalışması üç aşamadan oluşmaktadır. İlk aşamada ürik asit tayini için aşırı yükseltgenmiş PEDOT nanofiberleriyle modifiye edilmiş KUG elektrotların hazırlanması gerçekleştirilmiştir (AY-PEDOT-nf/KUG). AY-PEDOT-nf/KUG elektrot ürik asite karşı yüksek duyarlılık ve seçicilik göstermiştir. İkinci aşamada serotonin tayini için poli(pirrol-3-karboksilik asit) modifiye KUG (p(P3KA)/KUG) elektrotların hazırlanması araştırılmıştır. Elde edilen elektrotlar serotonin için yüksek duyarlılık göstermiştir. Serotonin tayininde ürik asit gibi elektroaktif türlerin etkilerini gidermek amacıyla analitik sinyal olarak serotoninin elektrot yüzeyinde yükseltgenmesi sonucu oluşan ara ürüne ait indirgenme piki kullanılmıştır. Seçilen indirgenme piki serotonin için yüksek seçicilik göstermiştir. Üçüncü aşamada ise, poli(pirrol-3-karboksilik asit) modifiye edilmiş aşırı yükseltgenmiş KUG (p(P3KA)/AY-KUG) elektrotların dopamin tayininde etkinliği araştırılmıştır. Hazırlanan modifiye elektrotların etkinliklerinin artırılması amacıyla elektrot hazırlama ve ölçüm koşulları detaylı bir şekilde optimize edilmiştir. Modifiye elektrotların etkinlikleri çeşitli türdeki girişim yapan türler varlığında incelenmiştir. Son olarak modifiye elektrotların etkinlikleri kan serumu ve idrar gibi gerçek biyolojik örneklerde test edilmiştir. Elde edilen sonuçlar hazırlanan modifiye elektrotların ideal bir sensörün gereksinimleri olan düşük maliyet, kolay hazırlanabilme, tek kullanımlık olma, kısa cevap zamanı, yüksek duyarlılık ve seçicilik gibi özelliklere sahip olduğunu göstermektedir. Buradan hazırlanan modifiye elektrotların ürik asit, serotonin ve dopamin tayininde alternatif bir sensör olarak kullanılabilecekleri söylenebilir.

Anahtar Kelimeler: Sensör, İletken polimer, Ürik asit, Serotonin, Dopamin.

ABSTRACT

DEVELOPMENT OF MODIFIED ELECTRODE BASED SENSORS FOR THE DETERMINATION OF SOME BIOLOGICALLY IMPORTANT MOLECULES IN BODY FLUIDS

Salih İLKBAŞ

Chemistry Program

Anadolu University, Graduate School of Sciences, April, 2016

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Ali ÖZCAN

In this study, development of a modified electrode based sensors for the determination of biologically important molecules like uric acid, serotonin and dopamine, has been aimed. The use of poly(3,4-ethylenedioxythiophene) (PEDOT) ve poly(pyrrole-3-carboxylic acid) p(P3CA) modified pencil graphite electrodes as sensors have been investigated. The whole study has been performed at three stages. In the first stage, the preparation of over-oxidized PEDOT nanofibers modified PGE (OO-PEDOT-nf/PGE) for the determination of uric acid has been performed. OO-PEDOT-nf/PGE showed high sensitivity and selectivity towards uric acid. In the second step, the preparation of poly(pyrrole-3-carboxylic acid) modified PGE for the determination of serotonin has been conducted. The prepared electrode showed high sensitivity for serotonin. In the determination of serotonin, to overcome the interference of electro-active substances like uric acid, the reduction peak of oxidation intermediates of serotonin has been selected as an analytical signal. The selected reduction peak showed high selectivity for serotonin. In the third step, efficiency of poly(pyrrole-3-carboxylic acid) modified over-oxidized PGE (P3CA/OO-PGE) in the determination of dopamine has been examined. The parameters effecting the electrode preparation and measurements have been deeply optimized to increase the efficiency of the modified electrodes. The efficiencies of modified electrodes have been tested in the presence of many different interfering substances. The results showed that the prepared electrodes had the requirements of ideal sensor such as low cost, easy preparation, disposable character, low response time, high sensitivity and selectivity. It can be concluded that the prepared modified electrodes can be used as alternative sensors for the determination of uric acid, serotonin and dopamine.

Keywords: Sensor, Conducting polymer, Uric acid, Serotonin, Dopamine.

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim boyunca bilgi birikimini ve tecrübelerini benimle paylaşıp bana yol gösteren, ilgisini ve desteğini hiçbir zaman esirgemeyen değerli danışmanım Sayın Doç. Dr. Ali ÖZCAN'a çok teşekkür ederim.

Tezimin değerlendirilmesinde jüri üyesi olarak yer alan Sayın Prof. Dr. Evrim SOFUOĞLU HÜR ve Sayın Doç. Dr. Levent ÖZCAN'a teşekkür ederim.

Tez çalışmam esnasında Fen Fakültesi olanaklarından yararlanmamı sağlayan Fen Fakültesi Dekanlığına, Kimya Bölümü imkanlarından yararlanmamı sağlayan Kimya Bölümü Başkanlığına ve Bölüm Başkanı Prof. Dr. İbrahim KANI'ye teşekkür ederim.

Deneysel çalışmalar süresince yardımlarını benden eksik etmeyen değerli çalışma arkadaşlarım Hakan Görçay ve Araş. Gör. Metin Gençten'e teşekkür ederim.

Tüm hayatım boyunca bana inanan, koşulsuz her zaman yanımda olan ve maddi manevi hiçbir desteklerini esirgemeyen Canım Annem Nazife İLKBAŞ ve Canım Babam Kadir İLKBAŞ'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANNAMESİ

Bu tezin bana ait özgün bir çalışma olduğunu, çalışmamın hazırlık, veri toplama, analiz ve bilgilerin sunumu olmak üzere tüm aşamalardan bilimsel etik ilke ve kurallara uygun davrandığımı; bu çalışma kapsamında elde edilemeyen tüm veri ve bilgiler için kaynak gösterdiğimi ve bu kaynaklara kaynakçada yer verdiğimi; bu çalışmanın Anadolu Üniversitesi tarafından kullanılan “bilimsel intihal tespit programı”yla tarandığını ve hiçbir şekilde “intihal içermediğini” beyan ederim. Herhangi bir zamanda, çalışmamla ilgili yaptığım bu beyana aykırı bir durumun saptanması durumunda, ortaya çıkacak tüm ahlaki ve hukuki sonuçlara razı olduğumu bildiririm.

Salih İLKBAŞ

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
BAŞLIK SAYFASI	i
JÜRİ VE ENSTİTÜ ONAYI.....	ii
ÖZET	iii
ABSTRACT.....	iv
TEŞEKKÜR	v
ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANNAMESİ.....	vi
İÇİNDEKİLER	vii
ŞEKİLLER DİZİNİ	xii
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	xx
SİMGELER VE KISALTMALAR	xxi
1. GİRİŞ	1
2. KURAMSAL TEMELLER VE GENEL BİLGİLER	4
2.1. Tez Çalışması Kapsamında Araştırılan Biyomoleküller	4
2.1.1. Ürik asit.....	4
2.1.1.1. Ürik asit tayininde kullanılan yöntemler	5
2.1.2. Serotonin	6
2.1.2.1 Serotonin tayininde kullanılan yöntemler	9
2.1.3. Dopamin	10
2.1.3.1. Dopamin tayininde kullanılan yöntemler	11
2.2. İletken Polimerler.....	13
2.2.1. İletken polimerlerde iletkenlik teorisi	15
2.2.2. İletken polimerlerin elde edilme yöntemleri.....	18
2.2.3. İletken polimerlerin kullanım alanları.....	18
2.2.4. Tez kapsamında kullanılan iletken polimerler ve özellikleri	19
2.2.4.1. Poli(3,4-etilendioksitiyofen) (PEDOT).....	19
2.2.4.2. Poli(pirrol-3-karboksilik asit) (p(P3KA)).....	20
2.3. Sensörler	21
2.4. İdeal bir Sensörün Sahip Olması Gereken Özellikler	22
2.5. Sensörlerin Kullanım Alanları.....	23
2.6. Sensör Bileşenleri	24
2.6.1. Tanıma elemanı (Reseptör)	24

2.7. Elektrokimyasal Çeviriciler	25
2.8. Voltametik Çeviriciler	25
2.9. Elektrokimya	25
2.10. Elektroanalitik kimya	26
2.11. Voltametik Analiz Yöntemleri	28
2.11.1. Voltametik hücre bileşenleri	30
2.11.2. Destek elektrolit	31
2.11.3. Çalışma elektrodu	31
2.11.4. Referans elektrot	32
2.11.5. Karşıt elektrot	33
2.11.6. Voltametik analizleri etkileyen parametreler	33
2.11.6.1. Destek elektrolit-çözücü seçimi	33
2.11.6.2. Ortam pH'sı	34
2.11.6.3. Sıcaklık kontrolü	34
2.11.6.4. Çözünmüş oksijenin giderimi	34
2.11.6.5. Çözeltinin karıştırılması ve temas süresi	35
2.11.6.6. Elektrotlara yapılan ön işlemler	35
2.11.7. Voltametricde akım çeşitleri ve elektron aktarımı	35
2.11.8. Voltametik teknikler	37
2.11.8.1. Dönüşümlü voltametri	38
2.11.8.2. Diferansiyel puls voltametrisi	39
2.12. Elektrotların Karakterizasyonu	40
2.12.1. Dönüşümlü voltametri	40
2.12.2. Elektrokimyasal impedans spektroskopisi	41
2.12.3. İnfrared spektroskopisi	42
2.12.4. Taramalı elektron mikroskopisi	42
2.12.5. Raman spektroskopisi	43
3. MATERYAL VE YÖNTEM	45
3.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler	45
3.2. Kullanılan Araç ve Gereçler	45
3.3. Sensör Olarak Kullanılacak Modifiye Elektrotların Hazırlanması	46
3.3.1. Ürik asit tayini için modifiye elektrotların hazırlanması	46
3.3.2. Serotonin tayinine yönelik modifiye elektrotların hazırlanması	47

3.3.3. Dopamin tayinine yönelik modifiye elektrotların hazırlanması	47
3.4. Hazırlanan Modifiye Elektrot Temelli Sensörlerin İlgili Türler Varlığında Elektrokimyasal Davranışlarının İncelenmesi.....	48
3.4.1. Ürik asit varlığında AY-PEDOT-nf/KUG elektrodun elektrokimyasal davranışının incelenmesi	48
3.4.2. Serotonin varlığında p(P3KA)/KUG elektrodun elektrokimyasal davranışının incelenmesi	49
3.4.3 Dopamin varlığında p(P3KA)/AY-KUG elektrodun elektrokimyasal davranışının incelenmesi	49
3.5. Biyolojik Türlerin Analizleri İçin Koşulların Optimizasyonu.....	49
3.5.1. Ürik asit tayini için analiz koşullarının optimizasyonu	49
3.5.2. Serotonin tayini için analiz koşullarının optimizasyonu	50
3.5.3. Dopamin tayini için analiz koşullarının optimizasyonu	50
3.6. Kalibrasyon Grafiklerinin Oluşturulması	51
3.7. Girişim Etkilerinin İncelenmesi.....	51
3.8. Gerçek Örnek Analizleri	52
4. BULGULAR VE TARTIŞMA	54
4.1. AY-PEDOT-nf/KUG Elektrot Temelli Ürik Asit Sensörü Geliştirilmesi	54
4.1.1. KUG elektrot ile ürik asitin elektrokimyasal davranışının incelenmesi.....	54
4.1.2. PEDOT-nf kaplı KUG elektrodun hazırlanması	54
4.1.3. PEDOT-nf/KUG elektrotlarının elektrokimyasal davranışına aşırı yükseltgemenin etkisi	56
4.1.4. Aşırı yükseltgeme koşullarının optimizasyonu.....	61
4.1.4.1. Aşırı yükseltgeme geriliminin optimizasyonu	61
4.1.4.2. Aşırı yükseltgeme süresinin optimizasyonu.....	62
4.1.4.3. Aşırı yükseltgeme ortam pH'sının optimizasyonu.....	63
4.1.5. PEDOT-nf/KUG ve AY-PEDOT-nf/KUG elektrotların karakterizasyon çalışmaları.....	64
4.1.5.1. Modifiye elektrotların dönüşümlü voltametri ölçümleri.....	64
4.1.5.2. Modifiye elektrotların elektrokimyasal impedans spektroskopisi ölçümleri.....	66

4.1.5.3. Modifiye elektrotların FTIR ölçümleri.....	67
4.1.5.4. Modifiye elektrotların Raman spektroskopisi ölçümleri	68
4.1.5.5. Modifiye elektrotların SEM analizleri	69
4.1.6. Ürik asit tayini için analiz koşullarının optimizasyonu.....	71
4.1.6.1. Ölçüm ortamının pH'sının optimizasyonu	71
4.1.6.2. Temas süresinin optimizasyonu.....	73
4.1.7. Ürik asit tayininde elektrot-aktif türlerin etkilerinin incelenmesi	73
4.1.8. Analitik parametrelerin belirlenmesi.....	76
4.1.9. Gerçek örneklerde ürik asit tayini	78
4.2. p(P3KA)/KUG Elektrot Temelli Serotonin Sensörü Geliştirilmesi.....	80
4.2.1. KUG elektrot ile serotoninin elektrokimyasal davranışının incelenmesi.....	80
4.2.2. p(P3KA) modifiye KUG elektrodun hazırlanması	81
4.2.3. p(P3KA)/KUG elektrodun elektrokimyasal davranışının incelenmesi.....	82
4.2.4. Elektropolimerizasyon döngü sayısının optimizasyonu	86
4.2.5. p(P3KA)/KUG elektrotların karakterizasyonu.....	87
4.2.5.1. Modifiye elektrotların dönüşümlü voltametri ölçümleri.....	87
4.2.5.2. Modifiye elektrotların elektrokimyasal impedans spektroskopi ölçümleri	89
4.2.5.3. Modifiye elektrotların SEM görüntüleri	90
4.2.6. Serotonin tayini için analiz koşullarının optimizasyonu	91
4.2.6.1. Ölçüm çözelti pH'sının optimizasyonu	91
4.2.6.2 Temas süresinin optimizasyonu.....	93
4.2.7. Serotonin tayininde elektro-aktif türlerin etkilerinin incelenmesi.....	94
4.2.8. Analitik parametrelerin belirlenmesi.....	95
4.2.9. Gerçek örneklerde serotonin tayini.....	97
4.3. Dopamin Tayini İçin p(P3KA) Modifiye AY-KUG Elektrotların Hazırlanması	99
4.3.1. KUG elektrot ile dopaminin elektrokimyasal davranışının incelenmesi.....	99
4.3.2. p(P3KA) modifiye AY-KUG elektrodun hazırlanması	100

4.3.3. p(P3KA)/KUG elektrodun elektrokimyasal davranışının incelenmesi.....	101
4.3.4 KUG elektrotların aşırı yükseltgeme koşullarının optimizasyonu....	104
4.3.4.1. Aşırı yükseltgeme geriliminin optimizasyonu	104
4.3.4.2 Aşırı yükseltgeme süresinin optimizasyonu	105
4.3.4.3. Aşırı yükseltgeme ortam pH'sının optimizasyonu	105
4.3.5. p(P3KA) hazırlama koşullarının optimizasyonu	106
4.3.5.1. Monomer derişiminin optimizasyonu	106
4.3.5.2. Destek elektrolit miktarının optimizasyonu	107
4.3.5.3. P3KA döngü optimizasyonu.....	109
4.3.6. p(P3KA)/AY-KUG elektrotların karakterizasyonu	110
4.3.6.1. Modifiye elektrotların dönüşümlü voltametri ölçümleri.....	110
4.3.6.2. Modifiye elektrodun elektrokimyasal impedans spektroskopisi ölçümleri.....	112
4.3.6.3. Modifiye elektrodun SEM görüntüleri.....	113
4.3.7. Dopamin tayini için analiz koşullarının optimizasyonu	114
4.3.7.1. Ölçüm çözelti pH'sının optimizasyonu	114
4.3.7.2. Temas süresi optimizasyonu	116
4.3.8. Dopamin tayininde elektro-aktif türlerin etkilerinin incelenmesi....	117
4.3.9. Analitik parametrelerin belirlenmesi.....	118
4.3.10. Gerçek örneklerde dopamin tayini.....	120
5. SONUÇLAR	123
KAYNAKLAR	126
ÖZGEÇMİŞ	

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa

Şekil 2.1.	Vücut sıvılarında serotoninin sentez basamakları.....	8
Şekil 2.2.	İletken polimerlerin iletkenliklerinin iletken, yarı iletken ve yalıtkanlar ile karşılaştırılması	15
Şekil 2.3.	Farklı büyüklükteki moleküllerin oluşumu esnasında elektronların yer aldığı enerji düzeyleri.....	16
Şekil 2.4.	Poliasetilen yapısında oluşturulabilecek yük merkezlerinin gösterimi.....	17
Şekil 2.5.	Sensör bileşenlerinin şematik gösterimi	21
Şekil 2.6.	Elektroanalitik yöntemlerin sınıflandırılması	28
Şekil 2.7.	Voltametrik ölçümlerin gerçekleştirildiği bir analiz sisteminin şematik görünümü	29
Şekil 2.8.	Voltametrik ölçümlerde kullanılan 3 ve 5 boyunlu elektrokimyasal hücreler.....	30
Şekil 2.9.	Voltametrik ölçümlerde kullanılan beş boyunlu üç elektrotlu elektrokimyasal hücre	31
Şekil 2.10.	Doygun Ag/AgCl ve doygun kalomel elektrotların şematik gösterimi.....	32
Şekil 2.11.	Yaygın olarak kullanılan platin karşıt elektrotlar	33
Şekil 2.12.	Elektrokimyasal çalışmalarda pik şeklini ve pik akımını etkileyen olası sistem dönüşümleri.....	37
Şekil 2.13.	Elektrokimyasal hücrede gerçekleşen kütle aktarım türleri	37
Şekil 2.14.	Voltametrik çalışmalarda kullanılan uyarma sinyalleri ve gerçekleştirilebilecek farklı voltametri tipleri	38
Şekil 2.15.	Dönüşümlü voltametri için uyarma sinyali ve hipotetik tersinir bir tepkime için voltamogram.....	38
Şekil 2.16.	Diferansiyel puls voltametri için uyarma sinyali ve karşılık gelen hipotetik bir voltamogram	40
Şekil 2.17.	Bir EIS devresinin şematik gösterimi.....	42
Şekil 4.1.	Ürik asitin (5 µM) 0,1 M fosfat tamponunda (pH 2) KUG elektrot ile elde edilen dönüşümlü voltamogramı. Tarama hızı: 50 mVs ⁻¹ , bekleme süresi: 60 s	55
Şekil 4.2.	KUG elektrodun hacimce % 5 asetonitril içeren saf su içerisinde 10 mM EDOT, 0,1 M LiClO ₄ ve 0,1 M Na ₂ CO ₃ varlığında elde edilen dönüşümlü	

	voltamogramları. Tarama hızı: 50 mVs ⁻¹ , A: 1. Döngü, B: 2. Döngü, C: 3. Döngü.....	55
Şekil 4.3.	KUG (A) ve PEDOT-nf/KUG (B) elektrodun 0,1 M fosfat tamponunda (pH 2) elde edilen dönüşümlü voltamogramları.....	56
Şekil 4.4.	KUG (A) ve PEDOT-nf/KUG (B) elektrodun 50 µM ürik asit içeren 0,1 M fosfat tamponunda (pH 2) elde edilen dönüşümlü voltamogramları ..	57
Şekil 4.5.	AY-PEDOT-nf/KUG elektrodun ürik asit yokluğunda (A), AY-PEDOT-nf/KUG (B) ve KUG (C) elektrodun 50 µM ürik asit varlığında 0,1 M fosfat tamponunda (pH 2) elde edilen dönüşümlü voltamogramları	59
Şekil 4.6.	Ürik asit molekülünün yükseltgenme mekanizması	59
Şekil 4.7.	AY-PEDOT-nf/KUG elektrodun 25,0 µM ürik asit içeren fosfat tamponunda (pH 2) farklı tarama hızlarında elde edilen dönüşümlü voltamogramları.....	60
Şekil 4.8.	KUG(A), AY-PEDOT/KUG (B) ve AY-PPy/KUG (C) elektrotlarının 5,0 µM ürik asit içeren fosfat tamponunda (pH 2) elde edilen diferansiyel puls voltamogramları (Bekleme süresi: 120 s; Karıştırma hızı: 250 rpm) ..	61
Şekil 4.9.	Farklı gerilimlerde aşırı yükseltgenmiş AY-PEDOT-nf/KUG elektrotların 0,1 M fosfat tamponunda (pH 2) elde edilen 5,0 µM ürik asite ait yükseltgenme pik akımları	62
Şekil 4.10.	Farklı sürelerde aşırı yükseltgeme işlemi uygulanmış PEDOT-nf/KUG elektrotlar kullanılarak 0,1 M fosfat tamponunda (pH 2) 5,0 µM ürik asit varlığında elde edilen yükseltgenme pik akımları.....	63
Şekil 4.11.	Farklı sürelerde aşırı yükseltgeme işlemi uygulanmış PEDOT-nf/KUG elektrotlar kullanılarak 0,1 M fosfat tamponunda (pH 2) 5,0 µM ürik asit varlığında elde edilen yükseltgenme pik akımları	64
Şekil 4.12.	(A) KUG, (B) PEDOT-nf/KUG ve (C) AY- PEDOT-nf/KUG elektroda ait 0,1 M KCl ve 2,5 mM Fe(CN) ₆ ^{3-/4-} içeren çözelti içerisindeki davranışlarının voltamogramları	65
Şekil 4.13.	(A) KUG, (B) PEDOT-nf/KUG ve (C) AY- PEDOT-nf/KUG elektroda ait 0,1 M KCl ve Ru(NH ₃) ₆ ³⁺ içeren çözelti içerisindeki davranışlarının voltamogramları	66
Şekil 4.14.	KUG, PEDOT-nf/KUG ve AY-PEDOT-nf/KUG'nin 0,1 M KCl ve	

5 mM Fe(CN) ₆ ^{3-/4-} içeren fosfat tamponundaki (pH 7,4) empedans ölçümleriyle elde edilen Nyquist diyagramları	67
Şekil 4.15. PEDOT-nf/KUG ve AY- PEDOT-nf/KUG elektrotlara ait FTIR spektrumları.....	68
Şekil 4.16. KUG, PEDOT-nf/KUG ve AY-PEDOT-nf/KUG elektrotların Raman spektrumları.....	69
Şekil 4.17. KUG (A), 3 döngü ile hazırlanan PEDOT-nf/KUG (B), 20 döngü ile hazırlanan PEDOT-nf/KUG (C) ve 2V gerilim değerinde 60 saniye aşırı yükselgeme ile hazırlanan AY-PEDOT-nf/KUG (D) elektrotlarının SEM görüntüleri	71
Şekil 4.18. AY-PEDOT-nf/KUG elektrotların farklı pH değerlerinde elde edilen 5,0 µM ürik asite ait yükseltgenme pik akımları. (Bekleme süresi: 60 s).....	72
Şekil 4.19. AY-PEDOT-nf/KUG elektrotlar ile farklı pH değerlerinde elde edilen ürik asite ait yükseltgenme pik gerilimleri.....	72
Şekil 4.20. AY-PEDOT-nf/KUG elektrotlar ile pH 2’de farklı bekleme sürelerinde elde edilen 5,0 µM ürik asite ait yükseltgenme pik akımları.....	73
Şekil 4.21. 500,0 µM askorbik asit, 0,5 µM dopamin ve 0,5 µM serotonin karışımının ürik asit yokluğunda (A) ve 5,0 µM ürik asit varlığında (B) fosfat tamponunda (pH 2) AY-PEDOT-nf/KUG ile gerçekleştirilen DPV ölçümleri	75
Şekil 4.22. AY-PEDOT-nf/KUG elektrotlar ile 0,1 ve 20,0 µM derişim aralığında farklı miktarda ürik asit içeren çözeltilerde elde edilen diferansiyel puls voltamogramları. A: AY-PEDOT-nf/KUG elektrodun taban sinyalinin göstermektedir.....	76
Şekil 4.23. AY-PEDOT-nf/KUG elektrotlar ile belirli miktarda kan serumu içeren fosfat tamponunda (pH 2) ürik asit standartları eklenmeden (A) ve artan derişimlerde ürik asit standartları eklenerek (B) elde edilen diferansiyel puls voltamogramları. (Bekleme süresi 120s, karıştırma hızı 250 rpm)	79
Şekil 4.24. AY-PEDOT-nf/KUG elektrotlar ile belirli miktarda idrar örneği içeren fosfat tamponunda (pH 2) ürik asit standartları eklenmeden	

(A) ve artan derişimlerde ürik asit standartları eklenerek (B) elde edilen diferansiyel puls voltamogramları. (Bekleme süresi 120s, karıştırma hızı 250 rpm).....	79
Şekil 4.25. Serotoninin (5 μ M) 0,1 M fosfat tamponunda (pH 5) KUG elektrot ile alınan dönüşümlü voltamogramı. Tarama hızı: 50 mVs ⁻¹ , bekleme süresi: 60 s	81
Şekil 2.26. KUG elektrodun saf su içerisinde 20 mM P3KA, 0,1 M LiClO ₄ ve 0,1 M Na ₂ CO ₃ varlığında elde edilen dönüşümlü voltamogramları. (Tarama hızı: 20 mVs ⁻¹).....	82
Şekil 4.27. KUG (A) ve p(P3KA)/KUG (B) elektrotların 0,1 M fosfat tamponunda (pH 5) elde edilen dönüşümlü voltamogramları.....	83
Şekil 4.28. p(P3KA)/KUG (A) ve KUG (B) elektrotlarının fosfat tamponunda (pH 5) 5,0 μ M serotonin varlığında elde edilen dönüşümlü voltamogramları	84
Şekil 4.29. p(P3KA)/KUG elektrotların 1,0 μ M serotonin içeren fosfat tamponunda (pH 5) ürik asit yokluğunda (A) ve 50,0 μ M ürik asit varlığında (B) 0 ile 0,80 V gerilim aralığında anodik yönde gerilim taramasıyla elde edilen diferansiyel puls voltamogramları. Ok: Gerilim taramasının yönünü göstermektedir	85
Şekil 4.30. p(P3KA)/KUG elektrotların 1,0 μ M serotonin içeren fosfat tamponunda (pH 5) ürik asit yokluğunda (A) ve 50,0 μ M ürik asit varlığında (B) 0,80 ile -0,30 V gerilim aralığında katodik yönde gerilim taramasıyla elde edilen diferansiyel puls voltamogramları. Ok: Gerilim taramasının yönünü göstermektedir	86
Şekil 4.31. p(P3KA)/KUG elektrot ile 5,0 μ M serotonin içeren fosfat tamponunda (pH 5) 0,70 ile -0,20 V gerilim aralığında katodik yönde gerilim taraması esnasında gerçekleşen dönüşümleri.....	87
Şekil 4.32. Farklı döngülerde hazırlanan p(P3KA)/KUG elektrotlarla elde edilen 5 μ M serotoninine ait pik akımları	88
Şekil 4.33. KUG (A) ve p(P3KA)/KUG (B) elektrotlar kullanılarak 0,1 M KCl çözeltisinde 2,5 mM Fe(CN) ₆ ^{3-/4-} varlığında elde edilen dönüşümlü voltamogramlar.....	89
Şekil 4.34. KUG (A) ve p(P3KA)/KUG (B) elektrotlar kullanılarak 0,1 M KCl	

çözeltisinde 1,0 mM $\text{Ru}(\text{NH}_3)_6^{3+}$ varlığında elde edilen dönüşümlü voltamogramlar	89
Şekil 4.35. KUG ve p(P3KA)/KUG elektrotlar kullanılarak 0,1 M KCl ve 5,0 mM $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-/4-}$ içeren fosfat tamponunda (pH 7,4) elde edilen Nyquist diyagramları	90
Şekil 4.36. p(P3KA)/KUG elektrodun farklı büyütme oranlarında alınmış SEM görüntüleri. (A:100X, B:10000X ve C:50000X).....	91
Şekil 4.37. p(P3KA)/KUG elektrotlar ile farklı pH değerlerinde elde edilen 5,0 μM serotoninine ait yükseltgenme (A) ve indirgenme (B) pik akımları. (Bekleme süresi: 60 s).....	92
Şekil 4.38. p(P3KA)/KUG elektrotlar ile farklı pH değerlerinde elde edilen serotoninine ait yükseltgenme ve serotonin yükseltgenmesi esnasında oluşan ürünün pik gerilimleri.....	93
Şekil 4.39. p(P3KA)/KUG elektrotları ile farklı bekleme sürelerinde yapılan ölçümlerde elde edilen 1,0 μM serotoninin indirgenme pik akımları. (pH 5)	94
Şekil 4.40. p(P3KA)/KUG elektrotlar ile 500,0 μM askorbik asit, 5,0 μM dopamin ve 5,0 μM ürik asit içeren fosfat tamponunda (pH 5) serotonin yokluğunda (A) ve 5,0 μM serotonin varlığında (B) elde edilen diferansiyel puls voltamogramları.....	95
Şekil 4.41. p(P3KA)/KUG elektrotlar ile 0,01 μM ile 1,0 μM derişim aralığında farklı miktarda serotonin içeren çözeltilerde elde edilen diferansiyel puls voltamogramları. A: p(P3KA)/KUG elektrodun serotonin içermeyen ortamda elde edilen diferansiyel puls voltamogramını göstermektedir	96
Şekil 4.42. p(P3KA)/KUG elektrotlar ile belirli miktarda kan serumu içeren fosfat tamponunda (pH 5) serotonin standartları eklenmeden (A) ve artan derişimlerde serotonin standartları eklenerek (B) elde edilen diferansiyel puls voltamogramları. C: p(P3KA)/KUG elektrodun fosfat tamponunda elde edilen diferansiyel puls voltamogramını göstermektedir. (Bekleme süresi 90s, karıştırma hızı 250 rpm).....	98
Şekil 4.43. p(P3KA)/KUG elektrotlar ile belirli miktarda idrar örneği içeren fosfat tamponunda (pH 5) serotonin standartları eklenmeden (A) ve	

artan derişimlerde serotonin standartları eklenerek (B) elde edilen diferansiyel puls voltamogramları. C: p(P3KA)/KUG elektrodun fosfat tamponunda alınan diferansiyel puls voltamogramını göstermektedir. (Bekleme süresi 90s, karıştırma hızı 250 rpm).....	98
Şekil 4.44. Dopaminin (5 µM) 0,1 M fosfat tamponunda (pH 5) KUG elektrot ile alınan dönüşümlü voltamogramı.....	100
Şekil 4.45. AY-KUG elektrodun saf su içerisinde 20,0 mM P3KA, 0,1 M LiClO ₄ ve 0,15 M Na ₂ CO ₃ varlığında elde edilen dönüşümlü voltamogramları. (Tarama hızı: 20 mVs ⁻¹).....	101
Şekil 4.46. p(P3KA)/AYKUG elektrodun fosfat tamponu (pH 7,4) içerisinde elde edilen dönüşümlü voltamogramı. (Tarama hızı: 50 mVs ⁻¹).....	102
Şekil 4.47. KUG (A), p(P3KA)/KUG (B) ve p(P3KA)/AY-KUG (C) elektrotlarının 5,0 µM dopamin varlığında 0,1 M fosfat tamponunda (pH 6) elde edilen dönüşümlü voltamogramları.....	103
Şekil 4.48. Dopaminin yükseltgenme reaksiyonu	103
Şekil 4.49. Farklı gerilimlerde aşırı yükseltgemenmiş KUG elektrotlar kullanılarak hazırlanan p(P3KA)/AY-KUG elektrotların 0,1 M fosfat tamponunda (pH 6) elde edilen 5,0 µM dopamine ait yükseltgenme pik akımları.....	104
Şekil 4.50. Farklı sürelerde 1,9 V'da aşırı yükseltgenmiş KUG elektrotlar kullanılarak hazırlanan p(P3KA)/AY-KUG elektrotların 0,1 M fosfat tamponunda (pH 6) 5,0 µM dopamin varlığında elde edilen yükseltgenme pik akımları.....	105
Şekil 4.51. Farklı pH değerlerinde aşırı yükseltgenmiş KUG elektrotlar ile hazırlanan modifiye elektrotlar kullanılarak 0,1 M fosfat tamponunda (pH 6) 5,0 µM dopamin varlığında elde edilen yükseltgenme pik akımları	106
Şekil 4.52. Farklı derişimlerde P3KA monomeri içeren polimerizasyon çözeltisinde hazırlanan p(P3KA)/ AY-KUG elektrotlar ile fosfat tamponunda (pH 7,4) elde edilen 5,0 µM dopaminin yükseltgenme pik akımları	107
Şekil 4.53. Farklı miktarda Na ₂ CO ₃ içeren ortamda hazırlanan modifiye elektrotlar kullanılarak 5,0 µM dopamin içeren fosfat tamponunda	

(pH 7,4) elde edilen yükseltgenme pik akımları. (C_{LiClO_4} : 0,1 M)	108
Şekil 4.54. Farklı miktarda $LiClO_4$ içeren ortamda hazırlanan modifiye elektrotlar ile 5,0 μM dopamin içeren fosfat tamponunda (pH 7,4) elde edilen yükseltgenme pik akımları	109
Şekil 4.55. Farklı döngülerde hazırlanan p(P3KA)/AY-KUG elektrotlarla elde edilen 5,0 μM dopamine ait pik akım değerleri.....	110
Şekil 4.56. (A) KUG, (B) AY-KUG ve (C) p(P3KA)/AY-KUG elektrotlarına ait 0,1M KCl çözeltisinde 2,5 mM $Fe(CN)_6^{3-/4-}$ varlığında elde edilen dönüşümlü voltamogramlar.....	111
Şekil 4.57. (A) KUG, (B) AY-KUG ve (C) p(P3KA)/AY-KUG elektrotlarına ait 0,1M KCl çözeltisinde 1,0 mM $Ru(NH_3)_6^{3+}$ varlığında elde edilen dönüşümlü voltamogramlar.....	112
Şekil 4.58. KUG, AY-KUG ve p(P3KA)/AY-KUG elektrotların 0,1 M KCl ve 5,0 mM $Fe(CN)_6^{3-/4-}$ içeren fosfat tamponundaki (pH 7,4) empedans ölçümleriyle elde edilen Nyquist diyagramları	113
Şekil 4.59. p(P3KA)/AY-KUG elektrodunun farklı büyütme oranlarında alınan SEM görüntüleri. (A: 1,5X, B: 10000X ve C: 50000X).....	114
Şekil 4.60. p(P3KA)/AY-KUG elektrotlar kullanılarak farklı pH değerlerinde elde edilen 5,0 μM dopamine ait yükseltgenme pik akımları. (Bekleme süresi: 60 s)	115
Şekil 4.61. p(P3KA)/AY-KUG elektrotlar ile farklı pH değerlerinde elde edilen dopamine ait yükseltgenme pik gerilimleri. (Bekleme süresi: 60 s)	115
Şekil 4.62. p(P3KA)/AY-KUG elektrotları kullanılarak fosfat tamponunda (pH 6) farklı bekleme sürelerinde gerçekleştirilen ölçümlerde elde edilen 5,0 μM dopamine ait yükseltgenme pik akımları	116
Şekil 4.63. p(P3KA)/AY-KUG elektrotlar ile 500,0 μM askorbik asit ve 5,0 μM ürik asit karışımını içeren fosfat tamponunda (pH 6) dopamin yokluğunda (A) ve 5,0 μM dopamin varlığında (B) elde edilen diferansiyel puls voltamogramları. C: 500,0 μM askorbik asit ve 15,0 μM ürik asit ve 5,0 μM dopamin karışımının diferansiyel puls voltamogramını göstermektedir	118
Şekil 4.64. p(P3KA)/AY-KUG elektrot kullanılarak fosfat tamponunda (pH 6) dopamin içermeyen (A) ve artan derişimlerde dopamin içeren (B)	

koşullarda elde edilen diferansiyel puls voltamogramları	119
Şekil 4.65. p(P3KA)/AY-KUG elektrotlar ile belirli miktarda kan serumu içeren fosfat tamponunda (pH 6) dopamin eklenmeden (A) ve artan derişimlerde dopamin eklenerek (B) elde edilen diferansiyel puls voltamogramları	121
Şekil 4.66. p(P3KA)/AY-KUG elektrotlar ile belirli miktarda ilaç örneği içeren fosfat tamponunda (pH 6) dopamin standartları eklenmeden (A) ve artan derişimlerde dopamin standartları eklenerek (B) elde edilen diferansiyel puls voltamogramları	121



ÇİZELGELER DİZİNİ

Sayfa

Çizelge 2.1.	Ürik asit molekülünün fizikokimyasal özellikleri	5
Çizelge 2.2.	Serotonin molekülünün fizikokimyasal özellikleri	8
Çizelge 2.3.	Dopamin molekülünün fizikokimyasal özellikleri	11
Çizelge 2.4.	Yaygın olarak kullanılan iletken polimerler ve yapıları.....	14
Çizelge 4.1.	Elektrotlar için empedans devre elamanlarının eş değer devreye fit edilmiş değerleri.....	67
Çizelge 4.2.	Ürik asit yükseltgenme pik akımına girişim etkisi incelenen türlerin maksimum izin verilen derişimleri ve bu türlerin varlığında yüzde pik akımı değişimleri.....	75
Çizelge 4.3.	Hazırlan yöntem ile hesaplanan gözlenebilme sınırı ve doğrusal ölçüm aralığı parametrelerinin daha önce literatürde rapor edilen yöntemler ile kıyaslanması.....	77
Çizelge 4.4.	Kan serumu ve idrar örneklerinde tespit edilen ürik asit derişimleri ve gözlenen bağıl hataları.....	80
Çizelge 4.5.	Kan serumu örnekleriyle gerçekleştirilen geri kazanım deney sonuçları.....	80
Çizelge 4.6.	Elektrotlar için empedans devre elamanlarının eş değer devreye fit edilmiş değerleri.....	90
Çizelge 4.7.	Hesaplanan gözlenebilme sınırı ve doğrusal ölçüm aralığının daha önce yaygın yöntemlerle kıyaslanması	96
Çizelge 4.8.	Kan serumu ve idrar örneklerinde tespit edilen serotonin derişimleri ve geri kazanım oranları	99
Çizelge 4.9.	Elektrotlar için empedans devre elamanlarının eş değer devreye fit edilmiş değerleri.....	113
Çizelge 4.10.	p(P3KA)/AY-KUG elektrot kullanılarak dopamin tayini için geliştirilen voltametrik yöntemin analitik parametrelerinin literatür çalışmaları ile kıyaslanması	119
Çizelge 4.11.	Kan serumu örneklerinde tespit edilen dopamin derişimleri ve belirlenen bağıl hata oranları	122

SİMGELER VE KISALTMALAR

AY-KUG	: Aşırı yükseltgenmiş kalem ucu grafit
AY-PEDOT-nf/KUG	: Aşırı yükseltgenmiş poli(3,4-etilendioksitiyofen) nanofiber modifiye kalem ucu grafit
CV	: Dönüşümlü voltametri
DPV	: Diferansiyel puls voltametrisi
EİS	: Elektrokimyasal İmpedans Spektroskopisi
KUG	: Kalem ucu grafit
M	: Molar
mM	: Milimolar
mV	: Milivolt
μ A	: Mikroamper
μ M	: Mikromolar
PEDOT	: Poli(3,4-etilendioksitiyofen)
p(P3KA)	: Poli(pirol-3-karboksilik asit)
p(P3KA)/KUG	: Poli(pirol-3-karboksilik asit) modifiye kalem ucu grafit
p(P3KA)/AY-KUG	: Poli(pirol-3-karboksilik asit) modifiye aşırı yükseltgenmiş kalem ucu grafit
s	: Saniye
V	: Volt

1. GİRİŞ

Birçok hastalığın oluşmasında biyolojik kökenli moleküllerle ilgili anormalliklerin rol oynadığı bilinmektedir. Bu nedenle biyolojik moleküllerin hastalıkların hem teşhis hem de tedavisi açısından hassas ve hızlı bir şekilde ölçümleri klinik uygulamalar için oldukça önemlidir. Kan serumu ve idrar gibi vücut sıvıları içerisinde birçok farklı molekül yer almaktadır. Ürik asit, serotonin ve dopamin de vücut sıvılarında yer alan biyomoleküllerdendir. Bu moleküllerin vücut içerisindeki miktarları birçok hastalığın teşhisi ve takibinde kullanılmaktadır. Ürik asit pürin metabolizmasının son ürünüdür ve vücut sıvıları içerisinde bol miktarda bulunmaktadır [1]. Kan serumu ve idrarda anormal seviyelerde ürik asit bulunması gut, hiperürikami ve Lesch-Nyhan sendromu gibi birçok hastalığa neden olmaktadır [2]. Serotonin merkezi sinir sistemi içerisinde bulunan monoamin yapılı sinir taşıyıcılarından birisidir. Serotonin duysal sistem tarafından kontrol edilen ruh hali, uyku, cinsellik ve iştah gibi duyuların işleyişini düzenlemekte önemli fonksiyonlara sahiptir. Depresyon, migren, psikolojik rahatsızlıklar ve endişe duygusu gibi bazı düzensizliklerin oluşum nedeni düşük serotonin derişimiyle ilgilidir [3, 4]. Ayrıca, bazı mide-bağırsak bozuklukları, hassas bağırsak hastalığı, inflamatuvar bağırsak hastalığı ve aşırı gıda duyarlılığını da içeren rahatsızlıklar da serotonin düzeyiyle ilişkilidir [4]. Bir katekolamin bileşği olan dopamin sinir iletiminde yer alan en önemli maddelerden biridir. Dopamin baskı, zevk, uyku, ruhsal durum, hareket mekanizması, motivasyon, dikkat, hafıza ve öğrenme gibi beyinde yer alan fonksiyonların düzenlenmesinde önemli rollere sahiptir [5]. Dopamin, vücut içerisindeki normal seviyesinden az olduğu durumlarda Parkinson hastalığına [6], fazlalığında ise Şizofreni rahatsızlığına yol açmaktadır [7]. Görüldüğü gibi ürik asit, serotonin ve dopamin gibi biyolojik moleküllerin vücut içerisindeki anormallikleri oldukça fazla hastalığa sebep olmaktadır. Bundan dolayı, bu moleküllerin kan serumu ve idrar gibi vücut sıvıları içerisindeki derişimlerinin tespit edilmesi, söz konusu hastalıkların tanısında, izlenmesinde ve tedavisinde hayati önem taşımaktadır. Bu nedenle, söz konusu moleküllerin ölçümlerinin yapılması ve birçok hastalığın teşhis edilebilmesi için seçici, duyarlı ve hızlı analitik yöntemlere ihtiyaç duyulmaktadır. Bu kapsamda gerçekleştirilen çalışmalarda, kan serumu ve idrar gibi örneklerde bu türlerin tayin edilebilmesi amacıyla birçok sistem ve yöntem araştırılmıştır. Florimetrik [8], spektroskopik [9], kromatografik [10,11] ve elektroanalitik yöntemler en çok tercih edilen yöntemler arasındadır. Florimetrik ve spektroskopik yöntemlerin belirli bir maktriiks içerisinde yer alan

analitlerin tayini için farklı ayırma ve saflaştırma işlemlerine ihtiyaç duyması gibi nedenlerle uygulamaları sınırlıdır. Kromatografik yöntemler ise oldukça yaygın kullanılmalarına rağmen analiz sürelerinin uzun olması, pahalı ekipman ve uzman personele ihtiyaç duymaları gibi dezavantajlara sahiptir. Birçok dezavantaja sahip geleneksel yöntemlere nazaran, elektroanalitik yöntemler; hassasiyetleri, kolay uygulanabilir olması, düşük maliyetli ekipmanları, kısa zamanda analiz yapılabilmesi, çok düşük derişimlere inebilmesi, az madde miktarı ile analiz yapılabilmesi ve ek saflaştırmaya ihtiyaç duymaması gibi özelliklerinden dolayı oldukça iyi bir alternatiftir [12]. Ayrıca, elektrokimyasal ve biyolojik tepkimlerde rol alan yükseltgenme-indirgenme olaylarının elektrot yüzeyinde ve vücut içerisinde benzer prensiple gerçekleşmesi oldukça önemli bir avantajdır [13]. Bu nedenle, biyolojik öneme sahip moleküllerin belirlenmesinde sıklıkla elektroanalitik yöntemler tercih edilmektedir. Elektrokimyasal sensörler ve biyosensörler elektrotanalitik uygulamalarda en çok tercih edilen yöntemlerin başında gelmektedir. Son yıllarda özellikle kan örneklerinde hastalıkların teşhisi amacıyla analit tayininin öneminin artması; seçicici, hassas, güvenilir ve düşük maliyetli sensör-biyosensör hazırlanması amacıyla yapılan çalışmalara büyük bir ivme kazandırmıştır [14,15]. Elektrokimyasal sensörler, moleküler düzeyde gerçekleşen kimyasal veya biyokimyasal olayların ve elektronik sinyal-iletim sürecinin ara yüzeylerde nasıl oluştuğunun anlaşılması için de mükemmel bir araçtır. Ayrıca, elektrokimyasal sensörler; küçültülerek eşsiz kaliteli cihazlara dönüşebilen, oldukça az madde miktarıyla ölçüm yapılabilen ve çok geniş bir yelpazede biyomedikal veya çevre uygulamalarında kullanılabilen sistemlerdir [16,17]. İyi işlenebilirlik, termal kararlılık, kolay hazırlanma ve iyi derecede optik-mekanik özellikler gibi avantajları nedeniyle iletken polimerler elektrokimyasal sensör sistemlerinde yoğun olarak araştırılmaktadır. Ayrıca, iletken polimerlerin çok geniş bir elektriksel iletkenlik aralığına sahip olması araştırmacıların son yıllarda bu konular üzerine yoğunlaşmasına neden olmuştur [18]. Ayrıca, iletken polimerlerin elektropolimerizasyon ile elektrot yüzeyinde kolayca oluşturulabilmesi birçok modifiye sensör-biyosensör sisteminde kullanımları arttırmaktadır.

Bu tez çalışmasında KUG elektrot yüzeyinde elektropolimerizasyon ile poli(pirrol-3-karboksilik asit) ve poli(3,4-etilendioksitiyofen) filmleri oluşturularak modifiye elektrot temelli sensörler hazırlanmış ve bu sensörlerin ürik asit, serotonin ve dopamin gibi biyolojik öneme sahip moleküllerin tayinleri için kullanılabilirlikleri incelenmiştir.

Üç ana kısımda gerçekleştirilen çalışmanın ilk kısmında elektropolimerizasyon yöntemi ile aşırı yükseltgenmiş poli(3,4-etilendioksitiyofen) nanofiber (AY-PEDOT-nf) filmler ile modifiye edilen elektrotlar hazırlanarak ürik asit için seçici ve hassas sensörler geliştirilmesi amaçlanmıştır. İkinci kısmında KUG elektrotların yüzeyinde elektropolimerizasyon ile poli(pirol-3-karboksilik asit) p(P3KA) filmleri oluşturularak biyolojik örneklerde serotoninini seçici olarak tayin etmeye yönelik sensörler hazırlanmıştır. Çalışmanın son kısmında ise aşırı yükseltgeme işlemi uygulanmış KUG elektrotlar yüzeyinde poli(pirol-3-karboksilik asit) p(P3KA) filmleri elektropolimerizasyonla oluşturularak dopamin tayinine yönelik seçici ve hassas bir modifiye sensör üretilmiştir. Hazırlanan her üç modifiye elektrot temelli sensör ile hedef moleküller olan ürik asit, serotonin ve dopaminin gerçek örneklerde tayini başarılı bir şekilde gerçekleştirilmiştir.

2. KURAMSAL TEMELLER VE GENEL BİLGİLER

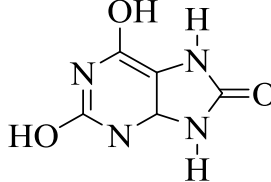
2.1. Tez Çalışması Kapsamında Araştırılan Biyomoleküller

Gerçekleştirilen tez çalışmasında, biyolojik öneme sahip ürik asit, serotonin ve dopaminin vücut sıvılarında tayinine yönelik modifiye elektrot temelli elektrokimyasal sensör hazırlanması araştırılmıştır. Hedef molekül olarak seçilen ürik asit, serotonin ve dopaminin önemi aşağıda sırasıyla detaylı olarak açıklanmıştır.

2.1.1. Ürik asit

Ürik asit (2,6,8-trihidroksipürin) vücut sıvılarında özellikle idrar içerisinde bulunan pürin mekanizmasının son ürünüdür [19]. Ürik asitin fizikokimyasal özellikleri Çizelge 2.1’de listelenmiştir. Katabolizmadan üretilen ürik asitin çoğu böbrek tarafından gerçekleştirilen birincil filtrasyon ve kısmi salgılamadan sonra kan dolaşım sistemi tarafından tekrar emilir. Plazma ve idrar gibi fizyolojik sıvıların içerisindeki ürik asit seviyesi belirli klinik durumlar için oldukça önemli bir indikatör görevi görür. Normal bir insanın kan serumu içerisinde 11,9 – 50,56 mM derişim aralığında ürik asit bulunur [20]. Ürik asit seviyesindeki aşırı anormalliklerin, diyabet, gut, lösemi, hiperürisemi, yüksek kolesterol, kalp hastalıkları ve böbrek hastalıkları gibi çeşitli hastalıkların bir belirtisi olduğu rapor edilmiştir [21]. Gerçekleştirilen başka bir çalışmada molibden eksikliği, bakır zehirlenmeleri ve doku sertleşmesi gibi durumlar ürik asit seviyesi ile ilişkilendirilmiştir [22]. Anormal derecede düşük ürik asit seviyesi, kişilerde Fanconi hastalığı ve Wilson hastalığı görülebileceğini gösteren bir işarettir [23]. Aşırı duyarlı hastalarla yürütülen pek çok çalışmada, kardiyovasküler hastalıklarla ürik asit seviyesi arasında bir ilişki olabileceği ortaya konmuştur [24]. Kronik kalp yetmezliğine sahip hastaların çoğunun kanında belirlenen ürik asit düzeyi, kişinin tedavi için hastaneye kaldırılmasında büyük öneme sahip bir öngörü sağlamaktadır [25]. Ayrıca ürik asit, böbrekle ilgili işlev bozukluklarının anlaşılmasında klinik açıdan önemli bir belirteçtir. Vücudunda yüksek miktarda ürik asit bulunan kişiler, anormal glukoz toleransı ile diyabet olma noktasında büyük risk seviyesine sahiptir [26]. Görüldüğü gibi, fizyolojik sıvılarda çözünmüş halde bulunan ürik asit seviyesinin tespit edilmesi, pek çok hastalığın teşhisi ve tanısı için yüksek önem arz etmektedir [27].

Çizelge 2.1. Ürik asit molekülünün fizikokimyasal özellikleri

Yaygın adı	Ürik asit
Kimyasal adı	7,9-dihidroksi-1H-pürin-2,6,8 (3H)-trion
Kimyasal formülü	C ₅ H ₄ N ₄ O ₃
Molekül formülü	
pKa	5,75
Erime noktası	300 °C
Molekül ağırlığı	168,11 g/mol

2.1.1.1. Ürik asit tayininde kullanılan yöntemler

Ürik asitin tayini için kullanılan oldukça fazla yöntem bulunmaktadır. Bu yöntemler arasında; kromatografik yöntemler [28,29], kemilüminesans yöntemleri [30,31], spektrofotometrik yöntemler [32,33], kapiler elektroforez [34,35] ve enzimatik yöntemler [36,37] yer almaktadır. Adı geçen klasik analiz yöntemlerinin yanı sıra ürik asit molekülünün elektroaktivitesinden dolayı elektroanalitik yöntemler de sıklıkla araştırılmaktadır. Bu yöntemlerden bazıları şunlardır:

Liang ve arkadaşları [38], camı karbon elektrot yüzeyini sülfonat grupları ile fonksiyonelleştirdikten sonra elektrot yüzeyinde elektrokimyasal olarak mikro altın yapıları oluşturmuşlardır. Elde edilen modifiye elektrodun ürik asit tayininde kullanılabilirliğini araştırmışlardır. Hazırladıkları modifiye elektrot ile 0,2-50 µM derişim aralığında doğrusallık elde edilmiş ve gözlenebilme sınırı 0,12 µM olarak bulunmuştur.

Alipour ve arkadaşları [39], elektrokimyasal ön işleme tabi tuttıkları kalem ucu grafit elektrot (KUG) ile biyolojik örnekler içerisinde dopamin ve ürik asit tayinini araştırmışlar. Hazırladıkları yüksek katalitik aktiviteye sahip elektrotlar ile 0,3-150 µM

aralığında ürik asit derişimi ile pik akımı arasında doğrusal bir ilişki bulmuşlardır. Ürik asidin gözlenebilme sınırını 0,12 μM olarak hesaplamışlardır.

Ürik asit tayinine yönelik gerçekleştirilen bir diğer çalışmada, ferrosiyanür iyonları katkılanan polipirol filmleri demir substrat üzerinde elektrokimyasal olarak sentezlenmiştir [40]. Hazırlanan modifiye elektrodun geniş bir derişim aralığında ürik asit tayini için sensör olarak kullanılabilceğı rapor edilmiştir. Gözlenebilme sınırı 23 μM olarak bulunmuştur.

Revin ve arkadaşları [41] 3-amino-5-merkaptto monomerini kullanarak elektropolimerizasyon yöntemiyle camısı karbon elektrot yüzeyinde iletken polimer fimi oluşturmuş ve bu modifiye sistemin ürik asit tayininde girişim etkisi gösteren moleküller varlığında kullanılabilirliğini araştırmışlardır. İletken polimer film elektrot ile ürik asit için 40 nM ile 0,1 mM derişim aralığında doğrusal cevaplar elde edilmiştir. Gerçekleştirilen ölçümler sonucunda ürik asit için gözlenebilme sınırı 0,52 nM olarak belirlenmiştir.

Noh ve arkadaşları [42] Hummer yöntemiyle elde ettikleri grafen oksit ve fonksiyonelleştirilmiş politiyofen polimeri ile camısı karbon elektrodu modifiye etmişlerdir. Elde edilen iletken polimer modifiye elektrot ile eklem ilaçları içerisinde bulunan askorbik asit, tirozin ve ürik asit miktarlarını belirlemek amacıyla çalışmalar yapılmıştır. Gerçekleştirilen ölçümler sonucunda ürik asit için 0,03 ile 0,52 mM derişim aralığında doğrusal sinyaller belirlenmiştir. Ayrıca hazırlanan iletken polimer temelli modifiye elektrot ile ürik asit gözlenebilme sınırı 1,86 μM olarak belirlenmiştir.

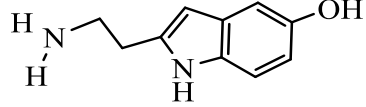
Literatür çalışmalarında da görüldüğü gibi farklı türde pek çok modifiye elektrodun ürik asit tayininde kullanımı araştırılmıştır. Buradan yeni modifikasyon ajanların kullanılması ile ürik asit tayini için literatür çalışmalarına göre daha iyi özelliklere sahip modifiye elektrotların hazırlanabilmesinin mümkün olduğu görülmektedir.

2.1.2. Serotonin

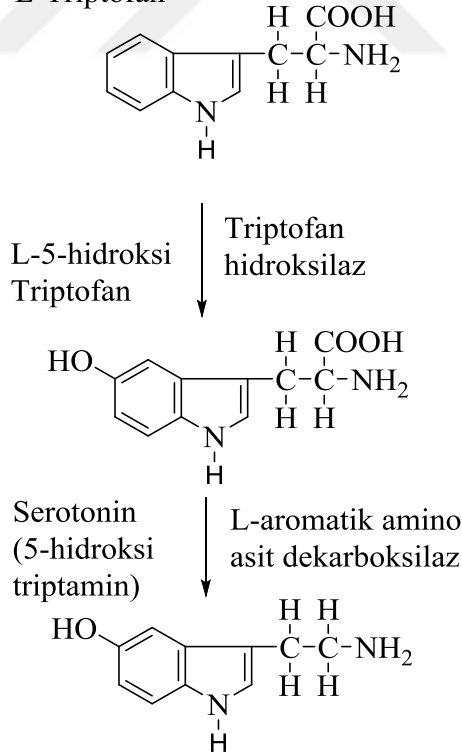
Serotonin, (5-hidroksi-triptamin) memelilerin sinir sistemi içerisinde duysal, motor ve davranış süreçlerini ayarladığına inanılan monoaminerjik bir nörotransmitterdir [43-45]. Serotoninin fizikokimyasal özellikleri Çizelge 2.2’de verilmiştir. Serotonin temel amino asit olan triptofanın bir metabolitidir [46]. Serotonin vücut içerisinde iki aşamada üretilir. İlk aşamada temel amino asit olan triptofan, triptofan hidroksilaz enzimiyle 5-hidroksitriptofana (5-HTP) dönüşür. İkinci aşamada ise, 5-HTP

dekarboksilize olarak serotonin formuna dönüşür (Şek. 2.1) [47]. Vücut serotonininin %90-95'i trombositler ve entrokromafin hücrelerin çeperlerinde bulunur. Ayrıca, serotonininin %99'u, hücre içerisinde sıkı şekilde düzenlenmiş halde bulunur [48]. Serotonin beyin, akciğer, böbrek, trombosit ve mide-bağırsak sistemi içerisindeki dokularda varlığı rapor edilmiştir [49]. Serotonin duyuşal sistem tarafından kontrol edilen ruh hali, uyku, cinsellik ve iştah gibi duyuların işleyişini düzenlemekte önemli fonksiyonlara sahiptir [50]. Merkezi sinir sistemi içerisinde serotonin ile ilgili süreçlerdeki anormallikler; iştahsızlık, kaygı, depresyon ve şizofreni gibi bazı ciddi ruhsal bozukluklara yol açar. Ayrıca, seronerjik nöronların tahribatı, Alzheimer ve Parkinson gibi hastalıkların oluşmasına neden olabilmektedir [51,52]. Serotonin seviyesi yüksek veya düşük olan hastalarda yüksek tansiyon, migren, fibrotik sendrom ve bağırsak tümörleri gibi rahatsızlıklar gözlenebilmektedir [53-55]. Son zamanlarda serotonininin, mide bağırsak fonksiyonlarının düzenlenmesinde görevli olduğu belirlenmiş ve bu fonksiyonel bozuklukların düzeltilmesinde kullanılabilecek yeni tedavilerin geliştirilmesinde etkin bir rol oynadığı rapor edilmiştir [56-58]. Dahası, inflamatuvar bağırsak sendromu ve aşırı gıda duyarlılığını da içeren rahatsızlıkların serotonin düzeyiyle ilişkili olduğu görülmüştür [4]. Teşhis amacıyla serotonin derişimi, kanda ve dolaşım sisteminde analiz edilmesi oldukça önemlidir. Sağlıklı bireyler için tipik serotonin plazma seviyesi 5-20 nM düzeyindedir [56-60]. Buradaki miktarlardan da anlaşılacağı üzere serotonin tayini için kullanılan yöntemlerin hassasiyetinin oldukça yüksek olması gerekmektedir.

Çizelge 2.2. Serotonin molekülünün fizikokimyasal özellikleri

Yaygın adı	Serotonin
Kimyasal adı	3-(2-aminoetil)-1H-indol-5-ol
Kimyasal formülü	$C_{10}H_{12}N_2O$
Molekül formülü	
pKa	10,16
Erime noktası	167,7 °C
Molekül ağırlığı	176,215 g/mol

L-Triptofan



Şekil 2.1. Vücut sıvılarında serotoninin sentez basamakları [47]

2.1.2.1 Serotonin tayininde kullanılan yöntemler

Serotoninin kan serumu içerisinde kalitatif ve kantitatif tayini için kullanılan pek çok analitik yöntem mevcuttur. İlk tayin yöntemleri arasında ise, düz kasın kasılma özelliklerinden yararlanılarak yapılan biyoanalizler yer almaktadır [54]. Nötral pH’da 300 nm’de absorban, 340 nm’de emisyon dalga boyu bulunan serotoninin floresans spektroskopisi ile nicel tayini yapılabilmektedir [61, 62]. İyon değişim kromatografisi ve jel filtrasyon yöntemi serotonin tayininde kullanılan diğer yöntemlerden birkaçıdır [54]. Ayrıca ince tabaka kromatografisi [63], radyoimmün test [64, 65], enzim immün test [66], gaz kromatografisi [67], gaz kromatografisi-kütle spektrometresi [68-71] ve yüksek performanslı sıvı kromatografisi [10, 72-74] serotonin tayininde kullanılmaktadır. Serotonin elektroaktif bir molekül olduğu için elektroanalitik yöntemler de serotonin tayini için sıklıkla kullanılmaktadır. Bu yöntemlerden bazıları aşağıda özetlenmiştir.

Wang ve arkadaşları [75] kalikseren molekülünü kullanarak camı karbon elektrot yüzeyinde Langmuir-Blodgett filmleri elde etmişler ve bu filmlerin serotonin için elektrokimyasal sensör olarak kullanılabilirliğini araştırmışlardır. Bu amaçla, hazırladıkları modifiye elektrotların, serotonin molekülüne karşı oldukça hassas ve seçici olarak cevap verdiğini bulmuşlardır. Elde edilen modifiye elektrot temelli elektrokimyasal sensörün $4,0 \times 10^{-7}$ ile $4,0 \times 10^{-5}$ M derişim aralığında serotonin tayininde kullanılabileceğini bulmuşlardır. Yöntemin gözlenebilme sınırı $8,0 \times 10^{-8}$ M olarak hesaplanmıştır.

Han ve arkadaşları [76] camı karbon elektrotları elektrokimyasal olarak indirgenmiş grafen oksit ve porfirin ile modifiye etmişler ve bu elektrotların serotonin tayininde sensör olarak kullanımını incelemişlerdir. Elde edilen modifiye elektrotlar ile serotonin için oldukça düşük bir gözlenebilme sınırına (4,9 nM) ulaşmışlardır.

Xue ve arkadaşları [77] camı karbon elektrot yüzeyinde indirgenmiş grafen oksit ve polianilin içeren bir nanokompozit ve altın nanopartiküller yardımıyla serotonin için molekül baskılı bir polimer hazırlamışlardır. Elde edilen modifiye elektrot serotoninin seçici tayininde kullanılmıştır. Hazırladıkları elektrokimyasal sensör 0,2 - 10,0 μ M derişim aralığında serotonin tayinine izin vermiştir. Serotonin için gözlenebilme sınırı 11,7 nM olarak bulunmuştur.

Caserino ve arkadaşları [78] çok duvarlı karbon nanotüp, polipirel ve gümüş nanopartiküller ile platin elektrot yüzeyini modifiye etmişler ve serotonin seçici elektrokimyasal sensör olarak kullanılabilirliğini araştırmışlardır. Hazırladıkları iletken

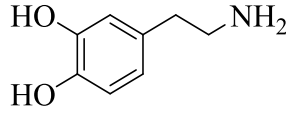
polimer esaslı elektrokimyasal sensörün serotoninini oldukça düşük bir gözlenebilme sınırında ($0,15 \mu\text{M}$) belirleyebildiği bulunmuştur.

Song ve arkadaşları [79] poli(etilendioksitiyofen) ve poli(sodyum-4-sitren sülfonat) polimerleri ile flor katkılı kalay oksit elektrot yüzeyini modifiye ederek serotonin için elektrokimyasal bir analiz sistemi oluşturmayı amaçlamışlardır. Hazırladıkları polimer esaslı modifiye elektrot ile serotonin için $1,7$ ile $138 \mu\text{M}$ derişim aralığında doğrusal cevaplar elde edilmiştir. Hazırlanan elektrokimyasal yöntemin gözlenebilme sınırı $0,23 \mu\text{M}$ olarak belirlenmiştir.

2.1.3. Dopamin

Dopamin (2-(3,4-dihidroksifenil)-etilamin), memelilerin merkezi sinir sistemlerinde mesaj iletimini sağlayan nörotransmitter bir katekolamindir [80]. Şekil 2.3'te dopaminin fizikokimyasal özellikleri gösterilmiştir. Dopamin; sinir, kardiyovasküler ve hormonal sistemler içerisindeki fonksiyonel faaliyetlerin sürdürülmesi açısından önemli rol oynamaktadır. Stres, davranış ve dikkat gibi bilişsel fonksiyonların düzenlenmesinde oldukça büyük öneme sahiptir. Özellikle beyinde siyah cisim ile korpus striatum arasında santral sinir iletili görevi üstlenir. Dopamin beyin ön üst lobunda siyah cisim adı verilen bölgelerinde üretilir. Dopamin organik bir katyon halinde vücut sıvıları ve beyin dokularında bulunur. Dopamin seviyesinin vücut sıvıları içerisindeki anormalliği birçok hastalık ile ilişkilendirilmiştir [81, 82]. Bunlar arasında Parkinson hastalığı, şizofreni, epilepsi, bunama ve HIV enfeksiyonu gibi hastalıklar yer almaktadır [83, 84]. Dopaminin beyinde bulunan hareket kontrol merkezlerine, duyuşsal tepkilere, zevk alma ve acı çekme hislerine etki ettiğı birçok çalışmada belirtilmiştir [85]. Bunlara ilave olarak dopamin seviyesinin anormalliği yeme, içme, uyku ve davranış bozukluklarına sebep olabilmektedir. Ayrıca dopamin, sempatik sinir sistemindeki etkilerinden dolayı ilaç olarak kan basıncını yükseltmek ve kalp atışlarını hızlandırmak amacıyla da kullanılmaktadır [86].

Çizelge 2.3. Dopamin molekülünün fizikokimyasal özellikleri

Yaygın adı	Dopamin
Kimyasal adı	4-(2-aminoetil) benzen-1,2-diol
Kimyasal formülü	C ₈ H ₁₁ NO ₂
Molekül formülü	
pKa	9,41
Erime noktası	128 °C
Molekül ağırlığı	153,178 g/mol

2.1.3.1. Dopamin tayininde kullanılan yöntemler

Hastanelerde dopamin tayini ELİZA kitleriyle yapılmaktadır. İlk olarak kan serumu içerisinde pıhtılaşmayı sağlayan fibrinojen molekülü çöktürülür. Bu molekül çöktürüldükten sonra kalan kısım kan serumudur. Kan serumundan ELİZA kitine belirli bir miktarda ilave edilerek ELİZA okuyucu yardımıyla dopamin miktarı belirlenir. ELİZA yöntemi dopamin tayini için oldukça yaygın olarak kullanılmasına karşın, çok pahalı bir yöntemdir. Ayrıca dopamin tayini için spektroskopik, kromatografik ve florimetrik yöntemler gibi geleneksel yöntemler kullanılmaktadır. Bu amaçla gerçekleştirilen çalışmalardan bazıları aşağıda açıklanmıştır.

Gottas ve arkadaşları [87] gerçekleştirdikleri bir çalışmada dopamin tayinine yönelik yeni bir kromatografik metot geliştirmişlerdir. Bu amaçla 1,7 mikron çapında dolgu malzemesi içeren Aquity T3 (2,1 × 100 mm) marka kolon ve formik asit içeren metanol-su karışımını kullanmışlardır. Bu koşullarda dopamin için 0,15-16 ng/mL derişim aralığında doğrusal cevap elde edilmiş ve gözlenebilme sınırı 0,15 ng/mL olarak belirlenmiştir.

Raj ve arkadaşları [88] çiçek özü yardımıyla gümüş nanopartikül elde etmişler ve dopamin tayini için kullanılabilirliğini incelemişlerdir. Elde ettikleri gümüş nanopartiküller ile dopamini yüzey plazmon rezonans spektroskopisi ölçümleriyle belirlemeyi başarmışlardır. Hazırladıkları yöntem ile 2×10^{-7} M gözlenebilirlik sınırına ulaşmışlardır.

Wang ve arkadaşları [89] dopamin tayini için hassas ve seçici bir yöntem hazırlamayı amaçlamışlardır. Bu amaçla ilk olarak dopamini civa nitrat ile tepkimeye sokarak yükseltmişlerdir. İkinci aşamada ise oluşan yükseltgenme ürününü etilen diamin ile karıştırarak 10 dakika boyunca ısıtmışlardır. Bu işlemler neticesinde dopamin yükseltgenme ürünü floresans özellik gösteren bir forma dönüşmüştür. Hazırladıkları bu yöntem ile gerçekleştirdikleri florimetri ölçümleri sonucunda dopamini 0,02-0,06 mg/mL derişim aralığında belirlemeyi başarmışlardır.

Li ve arkadaşları [90], dopamin tayini için grafen ve karbon nanotüp karışımını kullanarak molekül baskılı elektrotlar elde etmişlerdir. Elde ettikleri molekül baskılı elektrot dopamine karşı 2×10^{-15} - 2×10^{-12} M derişim aralığında doğrusal cevaplar vermiştir. Hazırladıkları bu yöntemde literatürde daha önce yayımlanan çalışmalara oranla oldukça düşük bir gözlenebilirlik sınırı ($6,67 \times 10^{-16}$ M) elde etmişlerdir.

Gorczyrski ve arkadaşları [91] elektrokimyasal biriktirme yöntemi ile mangan (II) kompleks molekülünü altın elektrot yüzeyine modifiye etmiş ve bu modifiye elektrodun girişim etkisi gösterebilen biyolojik türler varlığında dopamin tayini için kullanılabilirliğini araştırmıştır. Bu amaçla hazırladıkları modifiye elektrot ile, girişim etkisi gösterebilen türler varlığında oldukça geniş bir derişim aralığında (1×10^{-10} – $8,5 \times 10^{-4}$ M) doğrusal sonuçlar almışlardır. Elde ettikleri modifiye elektrot ile dopamin için oldukça düşük ($6,8 \times 10^{-9}$ M) gözlenebilirlik sınırına ulaşmışlardır.

Lete ve arkadaşları [92] dopamin ve katekolün tayinine yönelik yeni bir elektrokimyasal biyosensör sistemi hazırlamayı amaçlamışlardır. Bu amaçla, tek duvarlı karbon nanotüp ve poli(3,4-etilendioksitiyofen) polimerini altın mikro elektrot yüzeyine modifiye etmişler ve elektrokimyasal olarak dopamini tayin edebilmeyi başarmışlardır. Hazırladıkları iletken polimer esaslı biyosensör ile dopamine karşı 100-500 μ M derişim aralığında doğrusal sinyaller elde edilmiştir. Hazırlanan biyosensörün gözlenebilirlik sınırı 2,4 μ M olarak bulunmuştur.

Gopalan ve arkadaşları [93] dopamin ve askorbik asiti elektrokimyasal yöntemlerle tayin edebilmek amacıyla altın nanopartikül katkılanan camsı karbon elektrot yüzeyinde poli(4-aminotiyofenol) polimeri oluşturmuşlardır. Elde ettikleri iletken polimer esaslı modifiye elektrot ile dopamine karşı 10-50 μM derişim aralığında doğrusal sinyaller elde etmişlerdir. Ayrıca hazırlanan sistem ile kan serumunda dopamin ölçümleri gerçekleştirilmiş ve dopamin için %96 ile %101 oranında geri kazanım değerleri elde edilmiştir.

Lan ve arkadaşları [94] elektrokimyasal polimerizasyon yöntemi ile camsı karbon elektrot yüzeyinde poli(6-tiyoguanin) filmleri oluşturmuşlar ve hazırladıkları sistemin dopamin, ürik asit, ksantin ve hipoksanstin molekülleri için elektrokimyasal sensör olarak kullanılabilirliğini incelemişlerdir. Elde edilen iletken polimer esaslı modifiye elektrot ile dopamine karşı 1-200 μM derişim aralığında doğrusal cevaplar elde edilmiştir. Hazırladıkları elektrokimyasal sensörün gözlenebilme sınırı 0,05 μM olarak bulunmuştur.

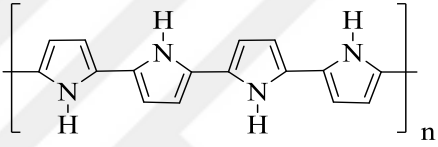
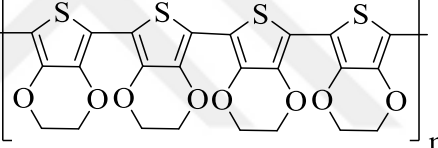
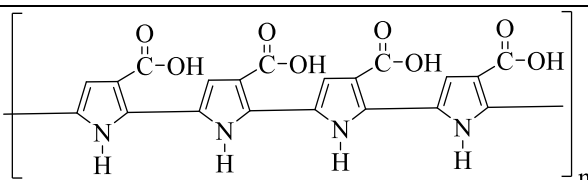
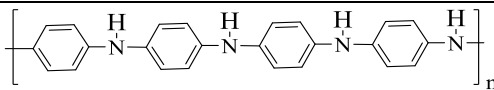
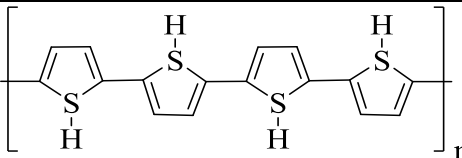
Tez çalışması kapsamında hedef moleküller olarak seçilen ürik asit, serotonin ve dopamin tayinine yönelik yukarıda açıklanan kaynaklardan da görüldüğü gibi pek çok farklı türde modifiye elektrot hazırlanmıştır. Bu çalışmalar söz konusu türlerin tayini için yeni modifiye elektrotların geliştirilerek daha iyi özelliklerde sensörlerin elde edilebileceğini göstermektedir. Tez çalışması kapsamında hazırlanması planlanan elektrokimyasal sensörlerde modifikasyon ajanı olarak iletken polimerlerin kullanımı araştırılmıştır.

2.2. İletken Polimerler

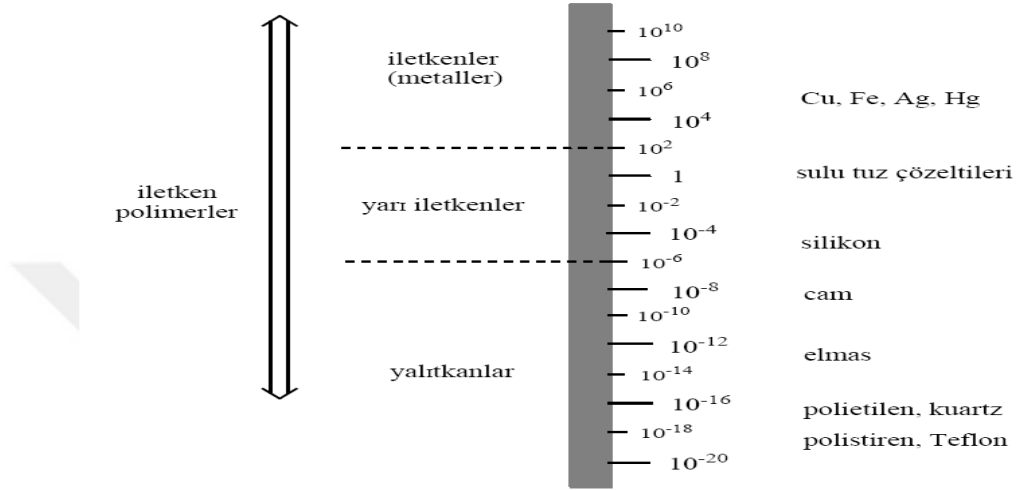
Polimer, çok sayıda monomer olarak adlandırılan küçük moleküllerin kovalent bağlar ile birbirine bağlanarak oluşturduğu büyük moleküllere verilen isimdir. Polimerler günlük hayatımızda pek çok farklı amaç için yoğun olarak kullandığımız malzemelerdir. Polimerler kendilerini oluşturan monomerlerin yapılarına göre çok farklı özellik gösterebilmektedir. Genel olarak yalıtkan özellik gösteren polimerleri iletken hale getirmek bilim insanları için uzun yıllar önemli bir konu olmuştur. İlk çalışmalar metal tuzları ve karbon tozlarının polimer yapısına sokularak polimere iletkenlik kazandırılmaya yönelik olmuştur. İlerleyen yıllarda Shirakawa ve arkadaşları tarafından gerçekleştirilen bir çalışma kapsamında elektriksel iletkenlik gösteren poliasetilen senteziyle iletken polimer kavramı doğmuştur. Günümüze kadar pirol, anilin, tiyofen gibi

maddeler kullanılarak pek çok iletken polimer sentezlenmiş ve çeşitli uygulamalarda kullanılmıştır. Günümüzde iletken polimer kavramı kendi örgüsü içinde elektriği iletebilen polimerler olarak tanımlanmaktadır. Sentetik metaller olarak da isimlendirilen iletken polimerler, konjuge π -elektron sistemine sahip olmalarından dolayı elektriksel iletkenlik yanında düşük iyonlaşma potansiyeli, düşük enerjili optik geçiş ve yüksek elektron afinitesi gibi elektronik özelliklere de sahiptir [95]. Çizelge 2.4'te yaygın olarak kullanılan bazı iletken polimerler ve yapıları verilmiştir.

Çizelge 2.4. Yaygın olarak kullanılan iletken polimerler ve yapıları

Monomer	Polimerin adı	Polimerin yapısı
Pirol	Polipirol	
Etilendioksitiyofen	Poli(3,4- etilendioksitiyofen)	
Pirol-3-karboksilik asit	Poli(pirol-3- karboksilik asit)	
Anilin	Polianilin	
Tiyofen	Politiyofen	

İletken polimerler yapılarına, katkılama derecesine ve katkılamada kullanılan reaktife göre farklı derecelerde iletkenlik gösterebilmektedir. Şekil 2.2’de iletken polimerlerin iletkenliklerinin bilinen bazı maddelerle karşılaştırılması görülmektedir. Görüldüğü gibi iletken polimerler yalıtkanlardan iyi iletken olan metallere kadar geniş bir aralıkta iletkenlik gösterebilmektedir.



Şekil 2.2. İletken polimerlerin iletkenliklerinin iletken, yarı iletken ve yalıtkanlar ile karşılaştırılması

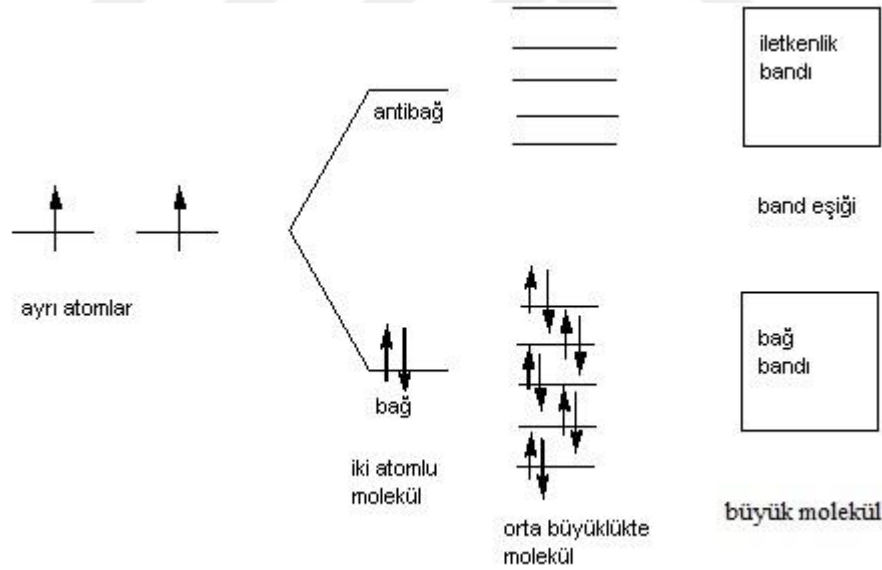
2.2.1. İletken polimerlerde iletkenlik teorisi

İletken polimerler, tek ve çift bağlardan oluşan sp^2 hibritleşmesine sahip, organik yapılardan oluşan polimer zincirleri içerir. Bu polimerlerin yapısında, p-orbitallerinin elektron bulutlarının üst üste çakışmasıyla oluşan π bağları yer almaktadır. Bunun sonucunda meydana gelen tek ve çift bağlar polimerde konjugasyonun oluşmasını sağlamaktadır [96].

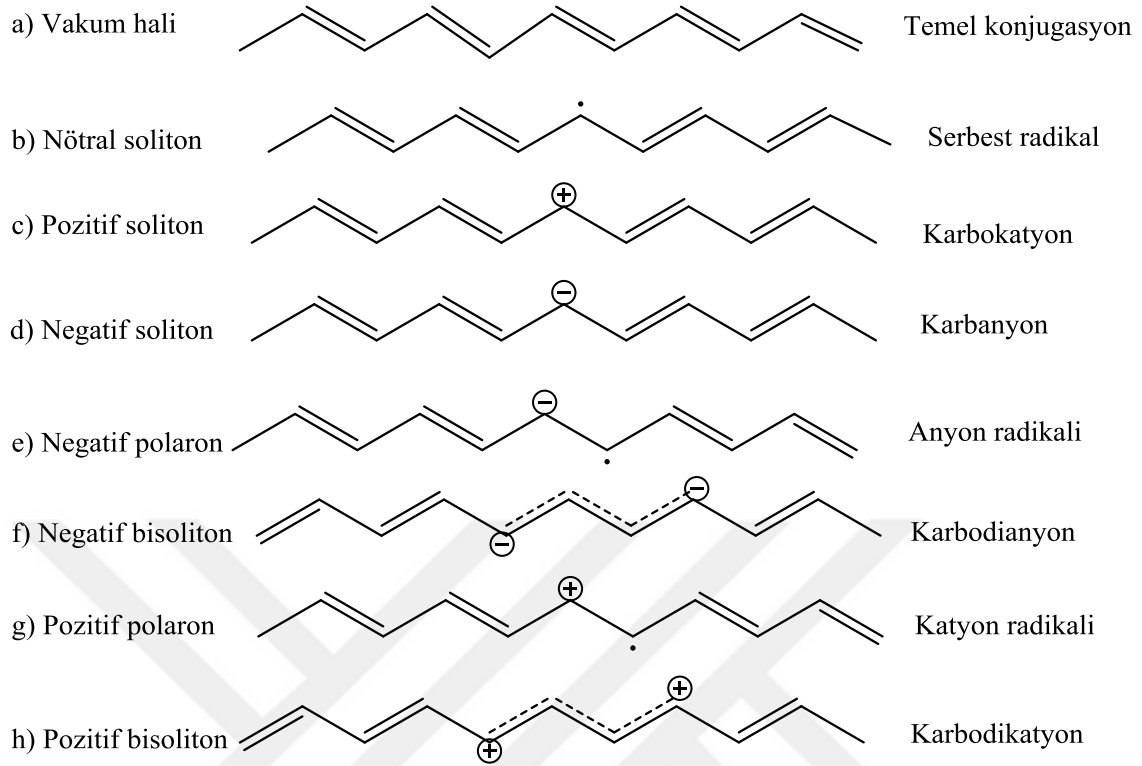
Polimerlerin elektronik iletkenliğe sahip olabilmesi için konjugasyonun yanında, yapısında bulunan elektronların zincir boyunca taşınmasını sağlayan yük merkezlerinin bulunması gerekir. Ana zincirinde konjüge çift bağlar bulunan polimerlerde çeşitli işlemlerle bu tür bölgeler oluşturulabilir. Bu durum katkılama olarak isimlendirilir. Katkılama işlemi sonucunda polimer yapısına iletkenliği sağlayacak elektronların verilmesi veya elektronların alınmasıyla polimer örgüsünde negatif ve pozitif yük merkezleri oluşturulabilir. Artı yüklü bir boşluğa başka bir yerden atlayarak gelen bir elektron, geldiği yerde de artı yüklü bir boşluk oluşturur. Zincir boyunca ard arda ve

zincirler arasında yinelenerek gerçekleşen bu olaylar elektriğin polimer boyunca iletilmesini sağlar [97].

Polianilin, polipirol ve poliasetilen gibi polimerlerdeki iletkenlik mekanizması band kuramıyla açıklanmıştır [98]. Kovalent bir bağın oluşması sırasında iki yeni enerji düzeyi ortaya çıkar. Bunlar, bağ enerji düzeyi (bağ orbitali) ve boş olan antibağ enerji düzeyi (antibağ orbitali) olarak adlandırılır (Şek. 2.3). Bağ enerji düzeyindeki elektronlar yeterli enerji alarak daha yüksek enerjili antibağ enerji düzeyine çıkabilirler. Molekül büyüklüğü arttıkça bağ orbitallerinin sayısı artar ve orbital enerji düzeyleri arasındaki enerji farkında azalma olur. Bir noktada birbirinden net ayrılmış enerji düzeyleri, sürekli görünümdeki bir enerji bandına dönüşür. Bu band bağ bandı veya valans bandı (π orbitali) olarak adlandırılır. Bağ bandı, içindeki elektronların yerleri kolayca değiştirilerek band içerisinde hareket ettirebilir. Bağ bandı oluşumuna benzer bir şekilde sayıları sonsuza yaklaşan antibağ orbitalleri de iletkenlik bandını oluşturur (π^* orbitali). Bağ bandı ve iletkenlik bandı arasındaki enerji farkı ise band aralığı veya band eşiği olarak adlandırılır. Bu eşiği aşmak için gerekli minimum enerjiye band eşik enerjisi adı verilir [98].



Şekil 2.3. Farklı büyüklükteki moleküllerin oluşumu esnasında elektronların yer aldığı enerji düzeyleri



Şekil 2.4. Poliasetilen yapısında oluşturulabilecek yük merkezlerinin gösterimi

Polimerlerde elektriksel iletkenlik, polimer zinciri yapısındaki hata merkezleri üzerinden ilerler. Hata merkezleri oluşturulmadan önceki yapı vakum halini gösterir. Poliasetilen polimerinin vakum hali Şekil 2.4a'da gösterilmiştir. Konjuge çift bağa sahip polimerlerde elektronik uyarma, örgüde relaksasyon meydana getirmektedir. Polimerlerde iki çeşit yapısal relaksasyon olduğu kabul edilmektedir. Bunlardan ilki polimer zinciri boyunca oluşan tek düze relaksasyon, ikincisi ise lokal olarak yapısal bozulmaya neden olan relaksasyondur. Söz konusu relaksasyonlar sonucunda polimer zinciri üzerinde soliton olarak adlandırılan farklı spin-yük konjugasyonuna sahip hata merkezleri oluşturabilmektedir. Poliasetilende relaksasyon sonucu oluşan serbest radikal (nötral soliton) Şekil 2.4b'deki gibidir. Poliasetilen molekülünde katkılama sonucu yapıda pozitif veya negatif soliton olarak adlandırılan spini olmayan yapılar oluşmaktadır (Şek 2.4c-d). Katkılama sonucunda polimere elektron verilmesiyle polimer zincirinde negatif yük merkezi ve bir tanede radikalik bir merkez oluşur. Bu radikal negatif bisoliton olarak adlandırılır (Şek.2.4e). İkinci bir elektronun polarona verilmesi ise bisoliton olarak adlandırılan dianyon yapı oluşur (Şek. 2.4f). Bisoliton çifleşmemiş elektron içermez, ancak band aralığında bulunan elektronlar iletkenlik bandıyla kendileri arasındaki düşük

enerji düzeyini kolaylıkla geçerek iletkenlik bandına atlayabilirler. Böylece iletkenlik serbest elektronlar üzerinden gerçekleşir. Poliasetilenden bir elektron koparılmasıyla bir radikal-kasyon (pozitif polaron) (Şek. 2.4g), ikinci bir elektronun koparılması ile ise dikasyon (pozitif bisoliton) (Şek. 2.4h) yapıları oluşur. Sonuç olarak katkılama işlemi sonrasında meydana gelen soliton, polaron ve bipolaron gibi yapılar polimerlere iletkenlik özelliği kazandırmaktadır [99].

2.2.2. İletken polimerlerin elde edilme yöntemleri

İletken polimerlerin eldesinde pek çok yöntem mevcut olmasına karşın en çok tercih edilen yöntemler kimyasal veya elektrokimyasal polimerizasyondur. Kimyasal polimerizasyonda monomer molekülleri uygun başlatıcılarla karıştırılarak polimerleşmesi sağlanır. Elektrokimyasal polimerizasyonda ise monomer içeren bir çözeltide uygun bir elektrokimyasal hücre yardımıyla bir elektrot yüzeyinde gerilim uygulamasıyla polimer elde edilir. Elektrokimyasal olarak aktif olan monomerler elektrot yüzeyinde uygun gerilim değerinde yükseltgenerek radikalik gruplar oluşturur. Oluşan radikalik yapıların birbirine veya oluşan polimer zincirlerine bağlanması sonucunda polimer filmleri elde edilir [100]. Elektrokimyasal polimerizasyon sonucunda oluşan polimer filmi elektrot yüzeyine sıkıca bağlanmaktadır. Elektropolimerizasyon yöntemi ile hazırlanan iletken polimerler geniş bir aralıkta iletkenlik özelliği göstermektedir. Bu nedenle oldukça geniş uygulama alanlarına sahiptir [101].

2.2.3. İletken polimerlerin kullanım alanları

İletken polimerler, metaller ve yarı iletkenlerin elektriksel ve optiksel özellikleri ile geleneksel polimerlerin sahip olduğu mekaniksel özelliklere sahiptir. Bunların yanında iletken polimerler elektropolimerizasyon gibi yöntemlerle kolayca sentezlenip işlenebilmektedir. Bu nedenle iletken polimerler oldukça fazla uygulama alanına sahiptir. Bu uygulama alanlarından bazıları piller [102], ışık-emisyon diyotları [103] ve kimyasal sensörler olarak sıralanabilir. Bunlara ilave olarak iletken polimerler sahip oldukları eşsiz özellikleri nedeniyle biyomedikal uygulamalarda da sıklıkla kullanılmaktadır. Organik yapıları, biyomoleküllerle kolay fonksiyonelleştirilebilme, yüksek iyonik ve elektronik iletkenlik gibi özellikleri nedeniyle biyosensör uygulamalarında iletken polimerler yoğun olarak tercih edilmektedir. İletken polimerler kullanılarak hazırlanan biyosensörler ile

hücre reseptörlerindeki DNA moleküllerinden, enzimler ve antibadilere kadar vücut içerisinde bulunan oldukça fazla biyomolekölün tayini yapılabilmektedir [18]. Ayrıca ilaç salınım sistemlerinde de iletken polimerlerin kullanımı söz konusudur. Bu uygulamalar arasında son yıllarda pek çok analitin seçici ve hassas tayinine yönelik geliştirilen sensör sistemleri dikkat çekmektedir.

2.2.4. Tez kapsamında kullanılan iletken polimerler ve özellikleri

Tez çalışması kapsamında hazırlanan modifiye elektrotlarda modifikasyon ajanı olarak poli(3,4-etilendioksitiyofen) ve poli(pirrol-3-karboksilik asit) kullanılmıştır.

2.2.4.1. Poli(3,4-etilendioksitiyofen) (PEDOT)

PEDOT 1980'li yıllarda Bayer araştırma laboratuvarında ilk defa sentezlenmiş politiyofen türevi bir iletken polimerdir. Hazırlanan PEDOT filmlerinin oldukça yüksek iletkenlik (600 S/cm) gösterdiği bulunmuştur [104-106]. PEDOT da diğer iletken polimerler gibi oldukça geniş bir uygulama alanına sahiptir. Ayrıca, PEDOT biyolojik türlerin tayinine yönelik çalışmalarda sıklıkla kullanılan bir iletken polimerdir. PEDOT kullanılarak hastalıklara sebep olan birçok biyolojik türün tayinlerine yönelik pek çok sensör sistemi geliştirilmiştir.

Macaya ve arkadaşları [107] tarafından, diyabet hastalığının kolayca teşhis edilebilmesi amacıyla PEDOT-polistren filmler oluşturularak oldukça hızlı ve hassas cevap veren bir glukoz sensörü hazırlanmıştır.

Pedersen ve arkadaşları [108] tarafından, insan metabolizmasına hasar veren ve hastalıklara sebep olan İnfluenza A virüsünü, insan hücrelerinde tayin edebilecek PEDOT ile modifiye edilmiş bir biyosensör tasarlanmıştır

Green ve arkadaşları [109] tarafından, merkezi sinir sistemi dokularında bulunan NGH hormonunun vücut içerisindeki seviyesinin takip edilebilmesi amacıyla PEDOT polimer filmleri oluşturulmuş ve birçok girişim etkisi gösterebilecek tür varlığında NGH başarılı bir şekilde belirlenmiştir.

Görüldüğü gibi PEDOT'un elektrokimyasal sensörlerde kullanımına yönelik pek çok çalışma yer almaktadır. Buna karşın, aşırı yükseltgenmiş PEDOT'un kullanımına yönelik sınırlı sayıda çalışma yer almaktadır. Bu kapsamda, Lin ve arkadaşları [110] aşırı yükseltgenmiş PEDOT ile modifiye edilmiş karbon baskı elektrotların hazırlanmasını

araştırmışlardır. Hazırladıkları sensörün etkinliğini dopamin tayininde test etmişlerdir. Aşırı yükseltgenmiş PEDOT'un dopamin tayininde yüksek hassasiyet gösterdiği rapor edilmiştir. Söz konusu çalışma haricinde literatürde aşırı yükseltgenmiş PEDOT'un sensör çalışmalarında kullanımına yönelik bir çalışmaya rastlanmamıştır.

2.2.4.2. Poli(pirol-3-karboksilik asit) (p(P3KA))

Polipirol 1916 yılında ilk defa kimyasal polimerizasyon yöntemi ile sentezlenmiş ve pirol siyahı olarak adlandırılmıştır. Polipirol, pirol veya süstitüe pirol monomerlerinin yükseltgenmesi ile elde edilmektedir. Yükseltgenme işlemi genellikle, bir kimyasal yükseltgen varlığında çözelti içerisinde veya dışarıdan bir gerilim uygulanarak elektrot yüzeyinde elektropolimerizasyon işlemi ile gerçekleştirilebilmektedir. Polipirol ve türevleri olan iletken polimerler, çevre için önemli kaplama malzemelerinden biyoyumluluk gösteren biyosensör sistemlerine; yüksek elektriksel iletkenlik gösteren malzemelerden homojen film materyallerine kadar oldukça geniş bir uygulama alanına sahiptir [111]. Polipirolün türevlerinden birisi olan poli(pirol-3-karboksilik asit) p(P3KA), yapısında bulunan karboksilik asit fonksiyonel grupları sayesinde polimere farklı özellikler kazandırılabilir. Örneğin biyomoleküllerin kolayca immobilize edebileceği iletken polimer filmlerinin oluşturulmasına izin vermektedir [112]. p(P3KA) eşsiz optik, elektriksel ve yapısal özellikleri nedeniyle immunosensör uygulamalarında sıkça kullanılan bir materyaldir [113]. Ayrıca p(P3KA), hastalıkların teşhisinde ya da takip edilmesinde büyük öneme sahip biyolojik moleküllerin tayininde sıklıkla kullanılan bir iletken polimerdir. p(P3KA) iletken polimeri kullanılarak yapılan çalışmalardan bazıları aşağıda açıklanmıştır.

Shi ve arkadaşları [114] p(P3KA)-alumina modifiye kompozit membranlar hazırlayarak statik ve dinamik koşullarda bilirubin absorpsiyonunu incelemişlerdir. Hazırlanan modifiye membran ile bilirubin ve albümin içeren çözeltiden bilirubini seçici olarak ayırmayı başarmışlardır

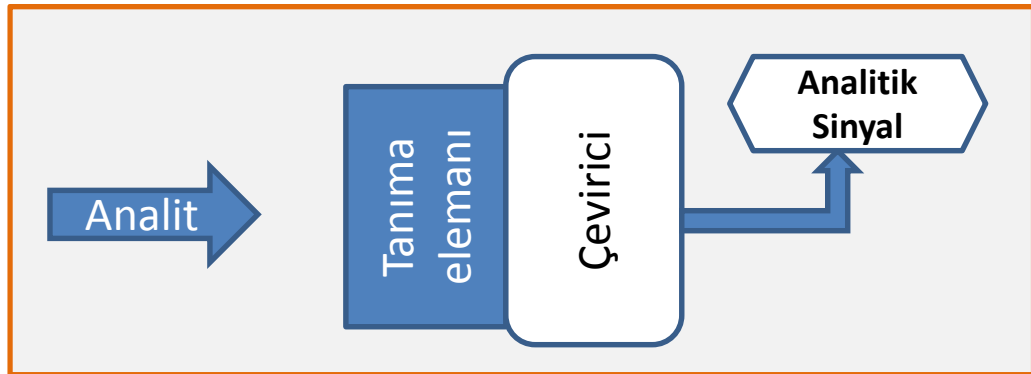
Cui ve arkadaşları [111] gözenekli platin ve p(P3KA) ile modifiye edilen bor katkılı elmas elektrotlar ile klinik, biyolojik ve çevre alanlarında tayini oldukça önemli olan hidrojen peroksit (H_2O_2) molekülünün belirlenmesine yönelik yüksek hassasiyet gösteren bir elektrokimyasal sensör tasarlamışlardır. Hazırladıkları sensörün gözlenebilirlik sınırı $2,0 \mu M$ olarak bulunmuştur.

Roy ve arkadaşları [115] polipirol ve p(P3KA) kullanarak kopolimer sentezlemişlerdir. Sentezledikleri kopolimerin biyomedikal uygulamalarını araştırmışlardır. Bu sayede, çok sayıda biyolojik kökenli türün tayinine olanak sağlayan iletken bir polimer platformu geliştirilmiştir.

Görüldüğü gibi p(P3KA) farklı kimyasal sensörlerin hazırlanmasında aktif olarak yer almaktadır. Buna karşın, literatürde bu güne kadar serotonin ve dopamin tayinine yönelik gerçekleştirilen çalışmalarda p(P3KA)'nın kullanımına rastlanmamıştır.

2.3. Sensörler

Sensör (algılayıcı), bir örnek içerisinde tayin edilmek istenen analitin derişimini ya da aktivitesini ölçmeye yarayan sistem olarak adlandırılmaktadır. Kimyasal bilgi, analit ile alakalı ilgili kimyasal özelliklerden veya araştırılan sistemin fiziksel özelliklerinden elde edilmektedir [116]. En iyi bilinen sensörlerden biri, asitler ve bazlar için kullanılan turnusol kâğıdıdır. Turnusol kâğıdı, çözeltinin asidik ve bazık karakterine göre farklı tepkiler vererek renk değiştirir. Bu renk değişimi, sistem hakkında kalitatif bilgi vermektedir. Çözeltinin asitlik veya bazlık dereesi hakkında daha fazla bilgiye ihtiyaç duyulduğu durumlarda turnusol kâğıdı yerine pH kâğıtları kullanılmaktadır. Bununla birlikte çözeltinin daha kesin veya ayrıntılı bir pH ölçümünün gerekli olduğu durumlarda pH metre kullanılmaktadır. Görüldüğü gibi sensör kavramı çok geniş bir aralıkta pek çok farklı sistemi kapsamaktadır. Kimyasal sensör ise, UIPAC tarafından analitin derişimi ya da sistemin fiziksel bir özelliği ile ilgili bilgiyi analitik olarak yararlı bir sinyale dönüştüren araç olarak tanımlanmıştır. Şekil 2.5'te sensör bileşenleri şematik olarak gösterilmektedir.



Şekil 2.5. Sensör bileşenlerinin şematik gösterimi

2.4. İdeal Bir Sensörün Sahip Olması Gereken Özellikler

İdeal bir sensör pek çok farklı gereksinimi yerine getirebilmelidir. Söz konusu gereksinimlerden başlıcaları aşağıda detaylı olarak açıklanmıştır.

Seçicilik: Bir sensörün seçiciliği girişim yapabilecek yani benzer özellik gösteren türler varlığında analite ait sinyai diğer sinyaller arasından seçebilmesinin bir ölçüsüdür. Seçicilik bir sensörün sahip olması gereken en önemli özelliklerden birisidir. Sensörün analitik seçiciliği genellikle tanıma elemanı veya kullanılan çevirici tarafından belirlenir.

Hassasiyet: Analitin derişimindeki değışimleri algılama kapasitesi olarak tanımlanır. Sensörler ile ölçüm yapılırken bir kimyasal tepkimedeki ilgili analitin derişimindeki değışim tespit edilir. Standart çözeltilerle elde edilen cevapların derişime karşı grafiğe geçirilmesiyle elde edilen kalibrasyon grafiğinde sensörün hassasiyet gösterdiği derişim aralığı belirlenir. İdeal bir sensörün mümkün olan en düşük derişimde ilgili analite cevap vermesi istenir.

Kalibrasyon gereksinimi: İdeal bir sensör, derişimi bilinen standart analit çözeltileri ile kolayca kalibre edilebilmelidir. Kalibrasyon için çok sayıda veriye ihtiyaç duymamalıdır. Tayin edilecek analitin derişimi kalibrasyon aralığı içerisinde olmalıdır. İdeal bir sensörün kalibrasyon gereksiniminin mümkün olduğu kadar düşük olması istenir.

Doğrusallık: Sensörden elde edilen derişim-sensör cevabı eğrilerininin, analitin tayinin yapılacağı derişim aralığında doğrusal olması istenir. Ayrıca doğrusal aralığın mümkün olduğu kadar geniş olması istenir. Böylece analit derişimi hem düşük hem de dah yüksek düzeylerde kolayca tayin edilebilir.

Tayin sınırı: Tayin sınırı, analitin belirli bir güven aralığındaki tayin edilebilecek en düşük derişimini gösterir. Tayin sınırını, sensörün yüzey alanı ve tayin edilecek analite afinitesi gibi faktörler etkiler. İdeal bir sensör sisteminin mümkün olan en düşük derişime cevap vermesi istenir.

Yanıt zamanı: Tayini yapılacak türün olduğunca kısa sürede ölçümünün yapılabilmesi oldukça önemlidir. Bu durum sensörlerin kullanılan diğer yöntemlere karşı önemli bir avantajıdır. Özellikle hastalık teşhislerinde ilgili türün kısa sürede tayin edilmesi hastalar açısından büyük öneme sahiptir.

Kullanım ömrü: Özellikle biyosensör sistemlerinde biyolojik dönüştürücülerin aktivitesindeki azalma kullanım ömrünü kısaltan başlıca nedendir. İdeal bir sensör-biyosensör sisteminde ise kullanım ömrünün uzun olması istenir. Kullanım ömrü, yapılan

ölçüm sayısına veya ölçülen analit derişimin büyüklüğüne bağı olarak değişiklik gösterebilir. Ayrıca kullanım ömrü; sıcaklık, pH, nem ve havadaki oksijenle temas gibi bazı parametrelerden etkilenmektedir. Bununla birlikte bazı biyosensörlerin analite karşı hassasiyetlerini daha uzun süre korumaları amacıyla düşük sıcaklıklarda muhafaza edilmeleri gerekmektedir.

Küçültülebilirlik: Sensör sisteminin küçültülebilmesi ticari amaçla kullanımı açısından oldukça önemlidir. Sensör sisteminin küçültülebilmesi, başka bir sistemle kombine edilerek kullanımı açısından da büyük önem arz etmektedir.

2.5. Sensörlerin Kullanım Alanları

Son yıllarda sensör sistemlerinin çok çeşitli sektörlerde oldukça geniş kullanım alanı bulunmaktadır. Pek çok endüstriyel süreçte kalite kontrol uygulamaları, endüstriyel uygulamalar sonucu oluşan atık su denetimi, çevresel atıkların analizi, zirai ve veterinerlik uygulamaları, maden analizleri, gıda analizleri ve teşhis-tedavi amaçlı tıbbi uygulamalar gibi birçok alanda sensörler yoğun olarak kullanılmaktadır.

Tez çalışması kapsamında hazırlanan sensörlerin etkinlikleri biyolojik sistemlerde incelenmesi hedeflenmiştir. Bu nedenle burada sensörlerin tıbbi uygulamaları daha kapsamlı olarak verilmiştir.

Sensör ve biyosensör sistemlerin başlıca uygulama alanlarından biri olan tıbbi uygulamaları, hastalıkların teşhisi, izlenmesi ve tedavisinde sıklıkla kullanılmaktadır. Özellikle insan vücut sıvıları içerisinde bulunan biyolojik kökenli bileşenlerin, iyonların ve vücut metabolitlerinin miktar tayini oldukça önemli ve hassas bir konudur. Klasik yöntemlerle söz konusu türlerin bu örneklerde ayrıştırılması ve analizi uzun zaman almaktadır. Fakat bu analizlerin hızlı şekilde yapılabilmesi hayati önem taşımaktadır. Bu kapsamda, biyolojik kökenli moleküllerin hassas ve hızlı bir şekilde tayin edilebilmelerine yönelik pek çok sensör sistemi tasarlanmaktadır. Bu çalışmalardan bazıları aşağıda özetlenmiştir.

Yari ve arkadaşları [117] gerçekleştirdikleri bir çalışmada karbon pasta yüzeyine polidopamin ile modifiye edildikten sonra karbon nanotüp-Fe₃O₄ kompoziti ile ikincil bir modifikasyon tabakaası oluşturmuşlardır. Hazırlanan modifiye elektrodu DNA yapısında yer alan adenin ve guanin bazlarının elektroaktivitelerini belirlemede kullanmışlardır. Elde ettikleri veriler doğrultusunda DNA'nın söz konusu elektrot yardımıyla hassas bir şekilde tayininin yapılabileceğini belirtmişlerdir.

Noh ve arkadaşları [118] tarafından bilirubin tayini için gerçekleştirilen çalışmada, mangan ve bakırı nasyon yardımıyla elektrot yüzeyine immobilize etmişler ve bilirubin için enzim içermeyen bir sensör hazırlamışlardır. Hazırlanan elektrot yardımıyla bilirubin kan serumunda başarılı bir şekilde tayin edilmiştir.

Li ve arkadaşları [119] dopamin tayini için altın-gümüş alaşımında oluşan nano gözenekli mikro çubuklar içeren bir molekül baskılı polimer hazırlamışlardır. Hazırladıkları polimeri tanıma elemanı olarak kullanmışlar ve bir elektrokimyasal sensör tasarlamışlardır. Elde edilen sensörün $2,0 \times 10^{-13}$ ile $2,0 \times 10^{-8}$ M derişim aralığında doğrusallık gösterdiği rapor edilmiştir.

Yukarıdaki çalışmalarda görüldüğü gibi biyolojik kökenli türlerin tayini amacıyla birçok sensör sistemi tasarlanmıştır. Bilim insanları, her geçen gün söz konusu türlerin daha seçici tayinlerinin yapılabilmesi için çalışmalarına devam etmektedir. Özellikle elektroanalitik teknikler kullanılarak hazırlanan sensör sistemleri düşük gözlenebilme sınırlarına inmeye olanak sağladığı için çok yaygın kullanım alanına sahiptir.

2.6. Sensör Bileşenleri

Sensörler Şekil 2.5’den de görüldüğü gibi tanıma elemanı ve çevirici olmak üzere temel olarak iki ana kısımdan oluşmaktadır. Bu kısımlar aşağıda sırasıyla açıklanmıştır.

2.6.1. Tanıma elemanı (Reseptör)

Tanıma elemanı herhangi bir sensörün en önemli bileşenlerinden biridir ve belirli bir analit ya da analit türüne karşı sensörün seçiciliğinde oldukça büyük bir paya sahiptir. Bu yüzden, analitin tayininde girişim özelliği gösterebilen türlerin etkilerinin giderilmesinde büyük role sahiptir. Sensörün tanıma elemanı kısmında kimyasal bilgi çevirici tarafından ölçülebilecek bir enerji formuna dönüştürülür. Bu sayede analit hakkında yorumlanabilir bir bilgi elde edilir. Polimerler, kompleks moleküller, moleküler baskılı polimerler ve birçok biyolojik molekül sensör sistemlerinde tanıma elemanı olarak kullanılmaktadır.

2.6.2. Çeviriciler

Çeviriciler, analit ile reseptör arasındaki etkileşim ya da tepkime sonucunda ortaya çıkan analit hakkındaki bilginin işlenebilir elektrik sinyaline dönüştürülmesini sağlayan

araçlardır. Çeviriciler, genel olarak çalışma prensibine göre dört ana gruba ayrılabilir [120].

- a) Optik çeviriciler
- b) Mekanik temelli çeviriciler
- c) Isı duyarlı çeviriciler
- d) Elektrokimyasal çeviriciler

Tez çalışması kapsamında hazırlanan sensörlerde çevirici olarak elektrokimyasal sistemler kullanılmıştır. Bu nedenle burada verilen çevirici gruplarından elektrokimyasal çeviricilere daha detaylı olarak değinilecektir.

2.7. Elektrokimyasal Çeviriciler

Elektrokimyasal çeviriciler analit ile biyolojik tanıma elemanı arasındaki etkileşim neticesinde iyon veya elektronların oluşturulması veya tüketilmesi sonucunda çözeltinin elektrokimyasal özelliklerindeki değişimleri algılayan sistemlerdir. Elektrokimyasal çeviriciler de kendi içinde ölçülen parametreye göre potansiyometrik, kondüktometrik, iyon-seçici alan-etkili transistörler ve voltametrik çeviriciler olarak dört alt gruba ayrılabilir. Tez çalışması kapsamında hazırlanan sensörlerde bu elektrokimyasal çevirici gruplarından voltametrik çeviricilerin kullanımı araştırılmıştır.

2.8. Voltametrik Çeviriciler

Voltametrik çeviricilerin temel prensiplerinin anlaşılabilmesi için elektrokimya ve elektroanalitik kimyanın anlaşılması gerekmektedir.

2.9. Elektrokimya

Elektrokimya, kimya ve elektriğin bağlandığı modern araştırmaların önemli bir alanını temsil eder. Bu bağlantı ilk kez kimyasal enerjiyi elektrik enerjisine dönüştüren ve ilk pilin mucidi olan Volta tarafından 1793 yılında ispat edilmiştir. 1980 yılında elektrik enerjisini kimyasal enerjiye çevirmeyi başarabilen Alessandro Volta, hazırladığı sistemi kullanarak suyu hidrojen ve oksijen bileşenlerine ayırmayı başarmıştır. Genel olarak elektrokimya maddelerin elektrik enerjisi ile etkileşime girmesi sonucu oluşan fiziksel ve kimyasal bütün değişimleri inceleyen bilim dalı olarak tanımlanmaktadır [121].

Elektrokimyasal tepkimeler yükseltgenme-indirgenme türü tepkimelerdir. Bu tür tepkimelerde elektron alış-verişi söz konusudur. Aktarılan tür elektronlar olduğu için yükseltgenme-indirgenme tepkimeleri hem çözelti ortamında doğrudan reaktiflerin temas ettirilmesi ile hem de bir elektrokimyasal hücrede reaktiflerin doğrudan temas etmedikleri koşullarda dolaylı olarak gerçekleştirilebilir. Elektrokimyasal hücre, incelenen maddeyi içeren bir çözelti ve maddenin elektrokimyasal dönüşüme uğradığı elektrotları içeren elektrokimyasal ölçüm sistemlerinin bir parçasıdır [122].

Yükseltgenme-indirgenme tepkimelerinde elektron veren tür yükseltgenirken, elektron alan tür indirgenir. Elektrokimyasal hücrede yükseltgenme anot yüzeyinde, indirgenme katot yüzeyinde gerçekleşir. Yükseltgenme-indirgenme tepkimeleri eşzamanlı gerçekleşen yani bir elektrotta yükseltgenme olurken diğer elektrotta indirgenme gerçekleşmektedir. Benzer şekilde bir elektrotta indirgenme gerçekleşirken diğer elektrotta mutlaka yükseltgenme olmalıdır. Bu nedenle bir elektrot tepkimesine uğrayan bir tür bir elektrokimyasal hücrede belirli bir miktarda elektron iletimine neden olur. Elektrik akımı elektrik yükünün akışı nedeniyle oluşmaktadır. Elektrotları birbirine bağlayan devredeki metalik kısımlarda elektrik yükü elektronlar tarafından taşınır [122]. Elektrik akımının birimi amper (A) dir. Bir amperlik elektrik akımı birim zamanda (saniye) akan elektrik yük miktarı (Kulon) olarak tanımlanır. Kulon (Coulomb, C) elektriksel yük birimidir ve $6,25 \cdot 10^{18}$ elektrona karşılık gelen elektriksel yüke 1 Kulon, 1 mol elektrona karşılık gelen elektrik yüküne ise 1 Faraday ($1F = 96485 \text{ C}$) denir.

2.10. Elektroanalitik kimya

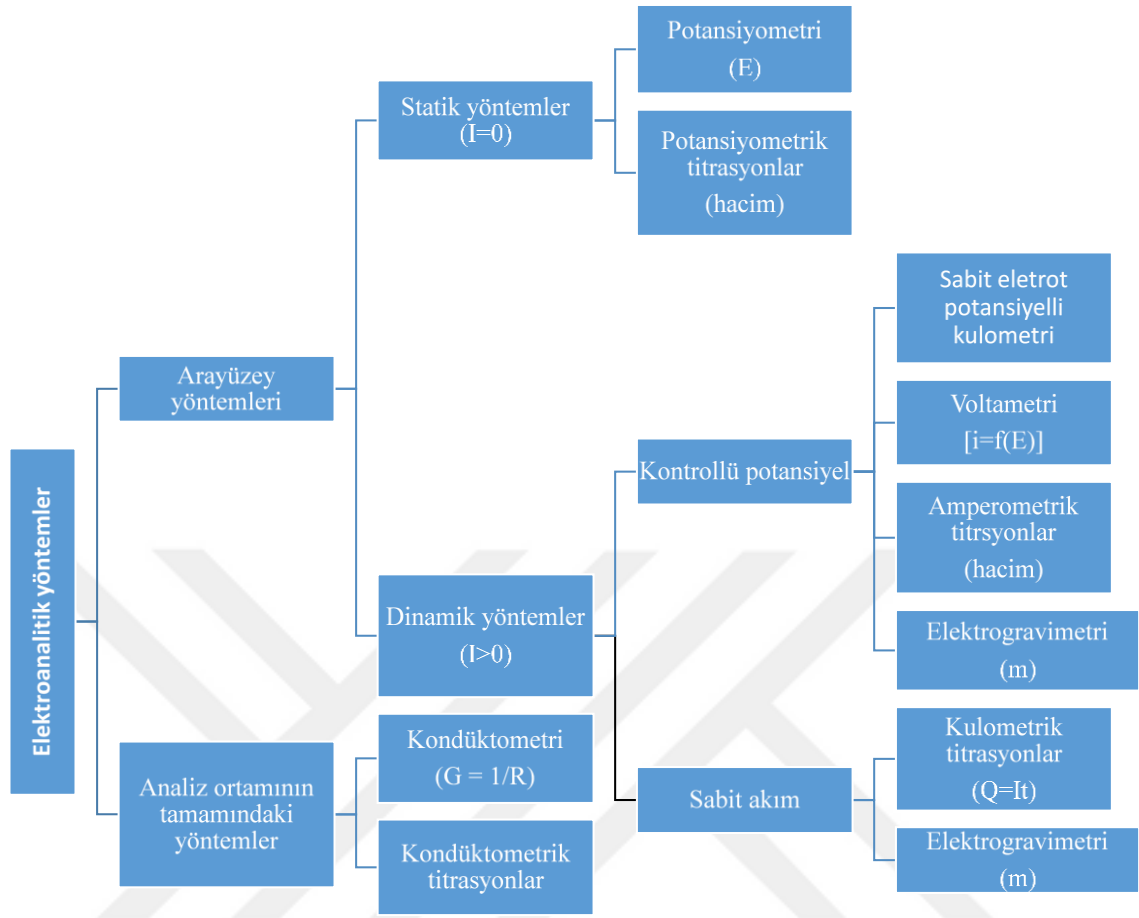
Elektroanalitik teknikler, analit bir elektrokimyasal hücrenin parçası olduğunda, çözeltinin elektriksel özelliklerine dayanan bir grup kantitatif analitik yöntemler topluluğudur [123]. Bu teknikler oldukça düşük tayin sınırlarına ulaşabilirler ve elektrokimyasal yöntemlerin uygulanabildiği sistemler hakkında ara yüzeyde gerçekleşen yük aktarımının sitokiyometrisi ve hızı, kütle aktarım hızı, adsorpsiyon ve kemisorpsiyonun derecesi, kimyasal reaksiyonların hız ve denge sabitleri gibi bilgileri de kapsayan çok fazla karakterizasyon bilgisi de sunmaktadırlar[124].

Elektroanalitik yöntemlerin diğer analitik yöntemlere göre sahip olduğu avantajlar aşağıdaki gibi sıralanabilir [125].

- a) Çok az miktarda maddenin analiz için yeterli olması,

- b) Kullanılan cihazların diğer yöntemlerden daha ucuz olması,
- c) Kolayca metoda dönüştürülebilmesi,
- d) Analiz süresinin diğer yöntemlere nazaran daha kısa olması,
- e) Analitlerin ön saflaştırma işlemlerine gereksinimin az olması,
- f) Doğrusal aralığının geniş olması,
- g) Elde edilen sonuçların çoğu zaman bir elementin ya da molekülün yükseltgenme basamağı için spesifik olması.

Elektroanalitik tekniklerin temeli çözelti-elektrot sistemine elektriksel bir etki uyguladığında sistemde meydana gelen değişimin ölçülmesi ilkesine dayanır. Hemen hemen bütün elektrokimyasal tekniklerde potansiyel, akım ve zaman parametreleri bulunur. Bu parametreler tekniklerin adlandırılmasında kullanılır. Elektroanalitik teknikler için literatürde birçok sınıflandırma mevcuttur. Bunlardan en yaygın olanı ise Şekil 2.6'da verilmiştir. Görüldüğü gibi analitik amaçlarla kullanılabilecek pek çok yöntem mevcuttur. Tez çalışması kapsamında hazırlanan sensörlerin performanslarının belirlenmesinde bu yöntemlerden birisi olan voltametrik yöntemler kullanılmıştır.



Şekil 2.6. Elektroanalitik yöntemlerin sınıflandırılması [124]. (i: Akım, E: Potansiyel, G: İletkenlik, Q: yük miktarı, hacim: Standart çözelti hacmi, m: Elektrokimyasal olarak biriktirilen türün kütlesi)

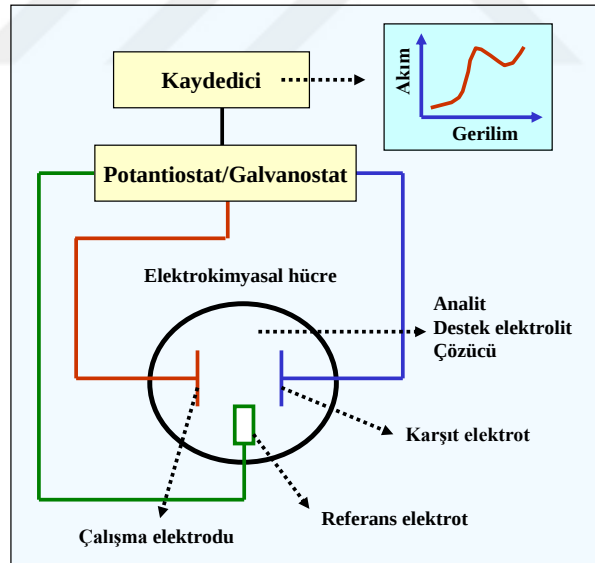
2.11. Voltametrik Analiz Yöntemleri

Voltametri, bir indikatör ya da çalışma elektrodunun polarize olduğu şartlar altında, uygulanan potansiyelin bir fonksiyonu olarak akımın ölçülmesinden yararlanarak analit hakkında bilgi edinilen bir grup elektroanalitik yöntemle verilen isimdir. Voltametrisinin temeli 1922 yılında Çekoslovak bilim adamı Jaroslav Heyrovski tarafından atılmıştır. Heyrovski cıvayı elektrot olarak kullanmış ve cıva yüzeyinde çeşitli türlerin yükseltgenme ve indirgenme davranışlarını incelemiştir.

Voltametri ile eser miktardaki metal ve türevlerinin, S^{2-} , CN^- , Cl^- ve F^- gibi anyonların, NO_2^- , SCN^- , $S_2O_3^{2-}$, SO_3^{2-} ve SO_2 gibi inorganik bileşiklerin yanı sıra; aromatikler, peroksitler, eterler, nitroaromatikler, aminler, heterosiklik aminler, fenoller, alifatik halojenler, kinonlar, karboksilik asitler, dienler, asetilenler gibi organik bileşiklerin tayini de yapılabilmektedir.

Voltametri analitik uygulamalarının yanında anorganik kimya, fizikokimya ve biyokimyada çeşitli ortamlarda meydana gelen yükseltgenme-indirgenme olaylarının, yüzeydeki adsorpsiyon olaylarının incelenmesinde, kompleks oluşumu, kimyasal tepkimelerin sitokiyometrik ve kinetik açıdan incelenmesinde, elektrot tepkime mekanizmalarının aydınlatılmasında ve kimyasal olarak modifiye edilmiş elektrot yüzeylerindeki elektron aktarım mekanizmalarının belirlenmesi gibi bazı temel araştırma alanlarında da sıklıkla kullanılmaktadır [124].

Voltametrik analiz sistemleri temel olarak elektrokimyasal hücre, potansiyostat/galvanostat ve kaydedici olmak üzere üç kısımdan oluşur. Voltametrik analizlerde kullanılan bir analiz sistemi Şekil 2.7’de şematik olarak gösterilmiştir. Sistemde kaydedici olarak önceleri mekanik kaydediciler kullanılırken günümüzde farklı türde bilgisayar yazılımları kullanılmaktadır. Potansiyostat/galvanostat ise çalışma elektroduna gerilim ve akım uygulanması ve bu uyarılar varlığında elektrot yüzeyinde oluşan değişimleri algılamak için kullanılır. Moleküllerin gerilim uyarısına verdiği akım cevabının uygulanan gerilimin fonksiyonu olarak grafiğe geçirilmesi sonucu voltamogram olarak adlandırılan sistem çıktıları elde edilir [124].



Şekil 2.7. Voltametrik ölçümlerin gerçekleştirildiği bir analiz sisteminin şematik görünümü

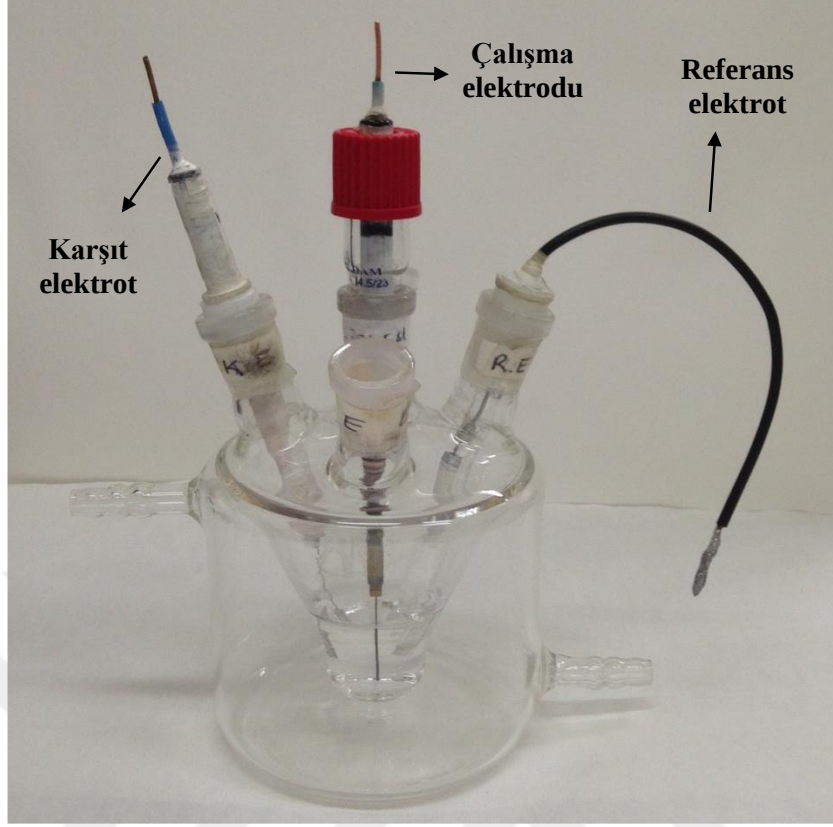
Voltametrik ölçümlerde kullanılan voltametrik hücre ve bileşenleri aşağıda daha detaylı olarak açıklanmıştır.

2.11.1. Voltametrik hücre bileşenleri

Voltametrik ölçümlerde iki ya da üç elektrotlu elektrokimyasal hücreler kullanılır. Üç elektrodun yer aldığı hücrelerde çalışma elektrodu, karşıt elektrot ve karşılaştırma elektrodu bulunurken, iki elektrotlu hücrelerde ise çalışma elektrodu ve karşılaştırma elektrodu bulunur [126]. Voltametrik ölçümler elektrokimyasal hücre adı verilen sistemlerde gerçekleştirilir.



Şekil 2.8. Voltametrik ölçümlerde kullanılan 3 ve 5 boyunlu elektrokimyasal hücreler



Şekil 2.9 Voltametrik ölçümlerde kullanılan beş boyunlu üç elektrotlu bir elektrokimyasal hücre

2.11.2. Destek elektrolit

Elektrokimyasal ölçüm çözeltisi analit, destek elektrolit ve çözücünden oluşmaktadır. Voltametrik ölçümlerde analiz çözeltisine destek elektrolit adı verilen çözeltinin iletkenliğini artırıcı kimyasallar ilave edilmektedir. Ölçüm çözeltisindeki destek elektrolit miktarı analit iyonlarından en az 100 kat daha yüksek olmalıdır. Elektrokimyasal deneylerde en yaygın kullanılan destek elektrolitler alkali metal tuzlarıdır [127].

2.11.3. Çalışma elektrodu

Çalışma elektrodu, sistemde uygulanan gerilim sonucunda yüzeyinde yükseltgenme veya indirgenme olaylarının gerçekleştiği elektrottur. Voltametrik çalışmalarda genel olarak çeşitli şekil ve büyüklükte iletken yüzeyler kullanılır. Bu elektrotlar platin (Pt), altın (Au) veya gümüş (Ag) gibi metallerin ya da camsı karbon, grafit ve bor katkılı elmas gibi karbon malzemelerin küçük diskler halinde bir yalıtkan polimer içerisine gömülmesi ile elde edilir. Voltametrik analizlerde bunlara ek olarak

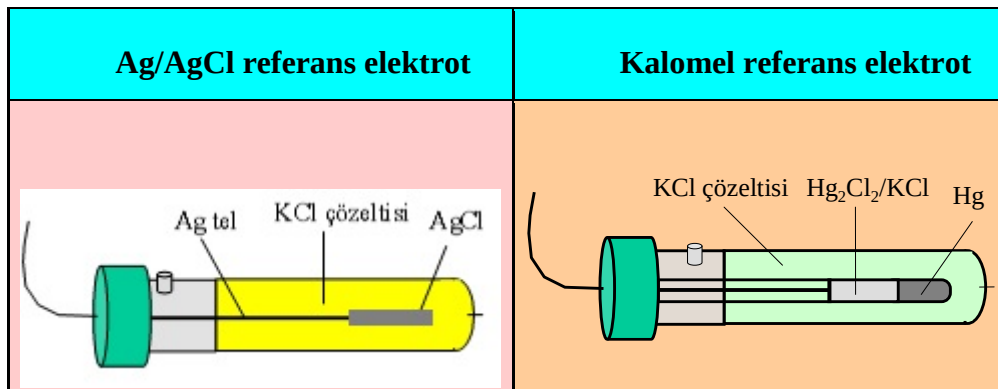
civanın karbon, platin, altın veya gümüş üzerine kaplanması ile hazırlanan civa-filmleri, indiyum kalay oksit gibi yarı iletkenler ve asılı halde bir civa damlası da çalışma elektrodu olarak kullanılabilir [128].

Voltametik ölçümlerde karşılaşılan en büyük sorun ölçümlerin tekrarlanabilir bir yüzeyde gerçekleştirilme zorunluluğudur. Ölçüm sırasında çalışma elektrodunun yüzeyinin analit veya analitin elektrokimyasal ürünleri tarafından kirlenebilmekte veya elektrodun kendisi yükseltgenerek yüzeyinde oksit tabakası oluşabilmektedir. Böyle durumlarda, elektrodun yüzeyi değiştiği için bir sonraki ölçüm farklı bir yüzeyde gerçekleştirilmiş olur. Bunun sonucu olarak elde edilen verilerin tekrarlanabilirliği düşmektedir. Bu durumun engellenmesi için ya her ölçüm sonunda çalışma elektrot yüzeyinin temizlenmesi ya da tek kullanımlık elektrotların kullanılması gerekmektedir.

Kalem ucu grafit elektrot; tek kullanımlık oluşu, düşük maliyeti, ticari uygunluğu, tekrarlanabilirliğinin yüksek olması, düşük arka plan akımına sahip olması ve kolay modifiye edilebilmesi gibi özelliklerinden dolayı elektrokimyasal analizlerde sıklıkla tercih edilen bir çalışma elektrodudur [129]. Bu özelliklerinden dolayı gerçekleştirilen tez çalışmasında, çalışma elektrodu olarak kalem ucu grafit elektrotlar kullanılmıştır.

2.11.4. Referans elektrot

Referans elektrotlar tersinir bir yarı tepkime içeren, bulunduğu çözeltiliden bağımsız ve sabit bir hücre potansiyeline sahip yarı-hücrelerdir. Elektrik direnci oldukça yüksek olduğu için üzerinden neredeyse hiç akım geçmez. En yaygın olarak kullanılan referans elektrotlar gümüş-gümüş klorür (Ag/AgCl) ve kalomel elektrotlardır (Şek. 2.10).



Şekil 2.10. Doymun Ag/AgCl ve doymun kalomel elektrotların şematik gösterimi [128]

2.11.5. Karşıt elektrot

Karşıt elektrot voltametrik ölçümlerde referans elektrodun korunması amacıyla kullanılır. Çalışma elektrodu üzerinde oluşan akım akışı, karşıt elektrot aracılığı ile sağlanır, böylece referans elektrodun yüzeyinden akım geçmesi önlenmiş olur. Karşıt elektrot reaksiyonla ilgisi olmayan ve sadece elektrokimyasal hücrede akımın taşınmasından sorumlu olan elektrottur. Akım karşıt elektrodun üzerinden geçtiği için soy metal olmaları gerekir. Bu yüzden daha çok platin, tantal, grafit veya tungsten çubukları kullanılır. Ayrıca bu elektrotların yüzey alanı çalışma elektrodunkine oranla en az 50 kat fazla olmalıdır. Voltametrik ölçümlerde en yaygın kullanılan karşıt elektrot platindir. Şekil 2.11’de yaygın olarak kullanılan platin karşıt elektrot örnekleri görülmektedir.



Şekil 2.11. Yaygın olarak kullanılan platin karşıt elektrotlar

2.11.6. Voltametrik analizleri etkileyen parametreler

2.11.6.1. Destek elektrolit-çözücü seçimi

Elektrokimyasal hücrede yer alan çözücü ve destek elektrolit kullanılan elektrotlar ile reaksiyona girmemelidir. Ayrıca, bu iki bileşen analit ile de tepkime vermemelidir. Bunun haricinde çözücü seçiminde dikkat edilmesi gereken parametreler elektriksel iletkenlik, çözme gücü, vizkozite, kolay bulunabilme, ucuz olma ve kolay saflaştırılabilme olarak sıralanabilir.

2.11.6.2. Ortam pH'sı

Organik moleküllerin elektrot yüzeyinde gerçekleşen tepkimelerin büyük çoğunluğunda H^+ üretilir ve ya tüketilir. Bu yüzden pH etkisi akım-potansiyel ilişkilerinde oldukça önemlidir. Voltametrik çalışmalarda bu etkinin meydana getireceği etkileri gidermek için çözeltilerin tamponlanması gerekir. Buna karşın, seçilecek tamponun çalışma aralığını daraltmayacak nitelikte olması gerekir.

2.11.6.3. Sıcaklık kontrolü

Sıcaklık, difüzyon katsayısını değiştirdiğinden dolayı ölçülen akımda değişimler olabilir. Sıcaklıktaki 10 °C'lik bir fark, difüzyon katsayısında %1-2 oranında değişikliğe neden olur. Bu nedenle oda sıcaklığı haricinde yapılan çalışmalarda sıcaklık değişimlerini en aza indirecek önlemler alınmalıdır.

2.11.6.4. Çözünmüş oksijenin giderimi

Elektrokimyasal ölçümlerde geniş bir aralıkta indirgenme piki vermesi ve güçlü bir yükseltgen olmasından dolayı, oksijen deneysel ölçümler sırasında bazı sorunların oluşumuna neden olur. Bu sorunlardan en önemlileri aşağıda listelenmiştir.

- a) O_2 'nin indirgenmesi ek olarak bir faradayik akıma sebep olur,
- b) O_2 'nin indirgenmesine ait pikler, geniş bir potansiyel aralığı kapladığı için ölçülen analite ait pik ile girişim yapar,
- c) Bazı analitler oksijen ile reaksiyona girme eğilimindedir. Örneğin, ağır metal iyonlarının varlığında metal oksitler oluşur ve analite ait piklerin gözlenmesine engel olur.

Bu gibi sebeplerden dolayı özellikle katodik bölgede gerçekleştirilen çalışmalarda, çözelti içerisinde çözünmüş halde bulunan O_2 'nin, çözeltilerden N_2 , He, CO_2 gibi inert bir gazın geçirilerek uzaklaştırılması gerekir. İnert gaz, geçirmesi süresi 2-30 dakika aralığında değişebilir. Oksijene ait pik tamamen kaybolana kadar gaz geçirme işlemine devam edilmelidir. Ayrıca çözelti içerisindeki inert ortamın kaybolmaması için çalışma süresince elektrokimyasal hücre girişlerinin kapalı tutulması gerekir.

2.11.6.5. Çözeltinin karıştırılması ve temas süresi

Bekleme basamağı esnasında çözeltiyi karıştırmak, analizi yapılacak maddenin elektrot yüzeyine ulaşma hızını artırır. Ancak karıştırmanın kontrol edilebilir bir hızda olması gerekir. Çözeltiye daldırılan elektrot yüzeyinde absorblanan analit için temas süresinin optimum koşulları belirlenmeli ve optimum koşullarda analit ölçümleri yapılmalıdır.

2.11.6.6. Elektrotlara yapılan ön işlemler

Katı elektrotlarda yüzey, adsorplanan maddeler ile kaplandığında, elektrotların bir gerilime maruz kalarak kendilerini yükselttiklerinde veya oksit tabakasıyla kaplandığında farklı iletkenlik özellikleri gösterebilir. Fakat tekrar edilebilirliğin sağlanması için her deneyden önce aynı yüzey halinin oluşturulması gerekmektedir. Bu amaçla, elektrotları standart hale getirebilmek için yapılan işlemlere ön işlem adı verilir. Ön işlem elektrodun cinsine ve analit çözelti bileşimine bağlı olarak çeşitlilik gösterir. Elektrot yüzeyine uygulanan ön işlemler; kimyasal [130], elektrokimyasal [131], hem kimyasal hem de elektrokimyasal [132] ve mekanik [133] şekilde olabilmektedir.

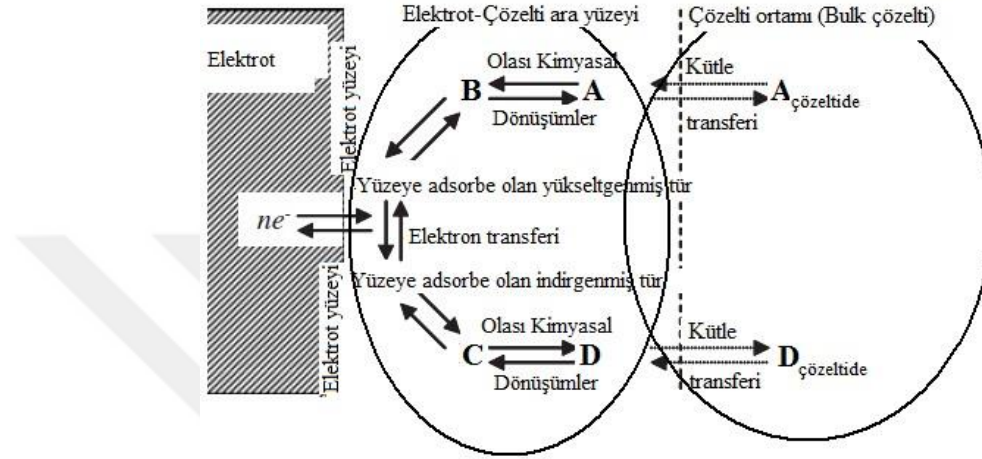
2.11.7. Voltametrizde akım çeşitleri ve elektron aktarımı

Voltametrik yöntemlerde kaynağına göre kapasitif akım ve faradayik akım olmak üzere iki farklı akım çeşidi vardır:

Kapasitif Akım: Voltametrik çalışmalarda kullanılan çözücü-destek elektrolit iyonlarının çalışma elektrodunun çevresinde bulunan kısımları uygulanan potansiyel sonucunda kapasitör davranışı sergiler. Bu kapasitörlerin elektriksel yüklenmesi sonucunda oluşan akım kapasitif akım olarak adlandırılır. Bazı kaynaklarca artık akım olarak adlandırılan bu akımın elektron transferine bir etkisi yoktur. Kapasitif akım kullanılan çözücü-elektrolit sisteminin çeşidi ve derişimine, sıcaklığa, çalışma elektrodunun cinsine ve yüzey alanına, pH ve tarama hızına bağlı olarak değişkenlik gösterebilmektedir. Elektroanalit yöntemler ile yapılan çalışmalarda kapasitif akımın minimum düzeyde olması istenir.

Faradayik Akım: Elektron aktarımı sonucunda oluşam akımdır. Elektroanalitik yöntemlerde değerlendirilen ve sonuçlarının sistem ile ilgili termodinamik ve ya kinetik bilgiler verdiği akım çeşididir.

Elektrokimyasal hücrede maddenin bir yerden başka bir yere hareket etmesine kütle aktarımı denir. Şekil 2.12’de görüldüğü gibi elektrot yüzeyinde ve elektrot-çözelti ara yüzeyinde elektron aktarımı sağlayacak türlerin bu bölgelere taşınmasını sağlayan kütle aktarım süreçleri bulunmaktadır. Elektrokimyasal hücrelerde kütle aktarımı elektriksel göç, karıştırma ve difüzyon olmak üzere üç yolla gerçekleşir.



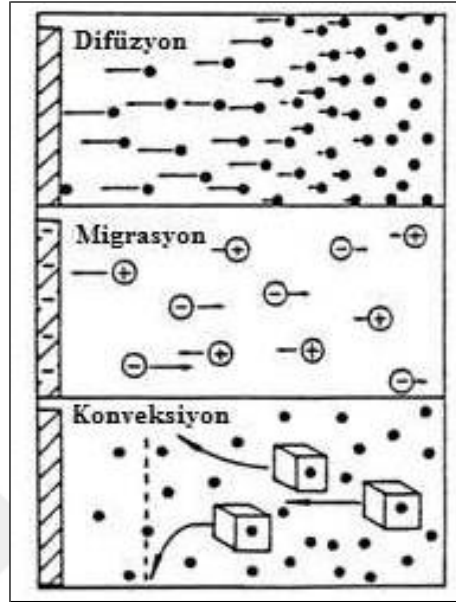
Şekil 2.12. Elektrokimyasal çalışmalarda pik şeklini ve pik akımını etkileyen olası sistem dönüşümleri [134]

Elektriksel Göç (Migrasyon): Elektrik alan etkisi altındaki yüklü taneciklerin hareketidir. Çalışma elektroduna uygulanan potansiyel sonucunda pozitif yüklü iyonların negatif yüklü elektroda ya da negatif yüklü iyonların pozitif yüklü elektroda yönelimi gerçekleşmektedir. Elektrokimyasal analiz yöntemlerinde elektriksel göç etkisi ile kütle aktarımı istenmeyen bir durumdur. Bunu engellemek amacıyla elektriksel göçü üzerine alacak derişimi 0,1-1 M arasında değişen elektrolitler çözeltiye eklenir.

Karıştırma (Konveksiyon): Çözeltide bulunan türlerin sıcaklık/yoğunluk farkına veya çözeltinin karıştırılması, elektrodun döndürülmesi, titreşim etkisine maruz bırakılması gibi bir mekanik hareket etkiyle sağlanan kütle aktarım türüdür. Genellikle bir sıvı yoğunluk farkı dolayısıyla doğal bir konveksiyon meydana getirirken, sıvının karıştırılması dıştan bir etki ile konveksiyon meydana getirir.

Difüzyon: Elektrotta tüketilen elektroaktif bileşenin ara yüzeyde azalan derişimini arttırmak üzere derişim farkından kaynaklanan, kendiliğinden gerçekleşen kütle aktarım türüdür. Difüzyon kütle aktarım çalışmalarında en çok çalışmanın olduğu kütle aktarım türüdür. Difüzyon ile taşınmanın hızı; sıcaklığa, tanecik boyutuna ve derişim farkına bağlı olmakla beraber hareket bölgelerindeki derişim farkı eşitlenene kadar devam eder.

Şekil 2.13'te elektrokimyasal bir hücre içerisinde difüzyon, migrasyon (göç) ve konveksiyon ile gerçekleşen kütle aktarımı şematik olarak gösterilmiştir.

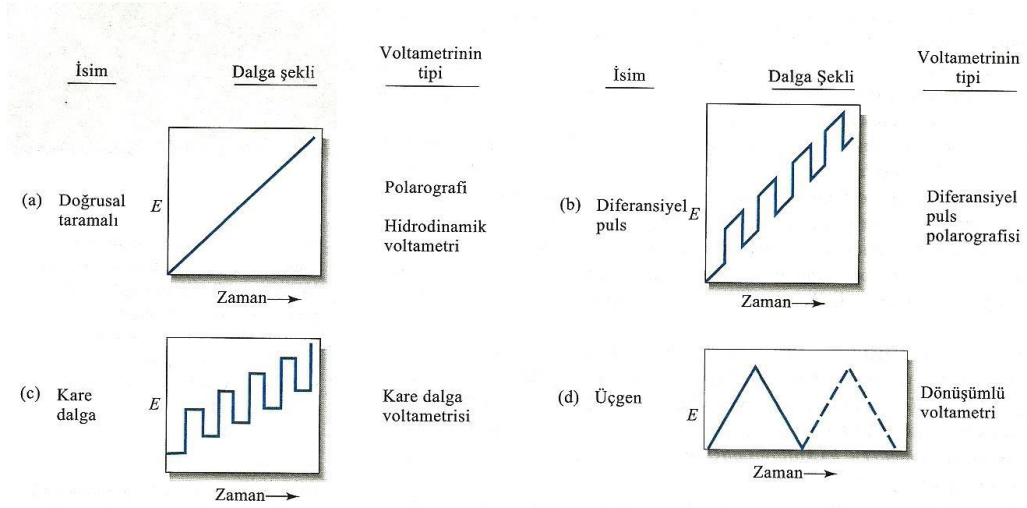


Şekil 2.13. Elektrokimyasal hücrede gerçekleşen kütle aktarım türleri

2.11.8. Voltametrik Teknikler

Voltametrik teknikler bir çalışma elektroduna uygulanan potansiyele (E) karşı elektrokimyasal hücreden geçen akım (i) gözlenmektedir. Voltametrde akım sinyalleri dikey eksenle gösterilirken elektrokimyasal hücreye uygulan potansiyel yatay eksenle gösterilmektedir ve moleküllerin gerilim uyarana verdiği akım değerlerinin grafiğe geçirilmesiyle voltamogram adı verilen akım sistem çıktıları elde edilmektedir.

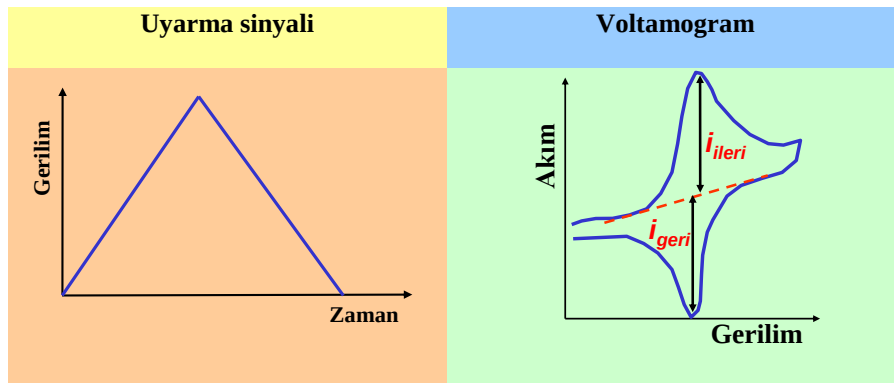
Voltametrik ölçümlerde elde edilen voltamogramların şekli genel olarak uygulanan potansiyele bağlıdır. Uygulanan potansiyel akım cevabını oluşturduğu için genel olarak uyarma sinyali olarak adlandırılır. Voltametrik çalışmalarda yaygın olarak kullanılan uyarma sinyalleri Şekil 2.14'teki gibi özetlenebilir. Voltametrik yöntemler uyarma sinyalinin türüne göre kendi içinde farklı gruplara ayrılır. Her bir grup farklı bir voltametri tipini oluşturur.



Şekil 2.14. Voltametrik çalışmalarda kullanılan uyarma sinyalleri ve gerçekleştirilebilecek farklı voltmetri tipleri

2.11.8.1. Dönüşümlü voltametri

Dönüşümlü voltametrde belirli bir başlangıç potansiyelinden başlanarak önceden belirlenmiş bir tarama hızında belirli bir potansiyele kadar tarama yapılır. Ulaşılan potansiyelden durmaksızın başlangıç potansiyeline doğru aynı tarama hızında ilk tarama yönüne ters şekilde tarama yapılır. Bu döngü istenilen sayıda tekrarlı olarak gerçekleştirilebilir [135]. Dönüşümlü voltametrde üçgen uyarma sinyali kullanılır. Şekil 2.15'te dönüşümlü voltametri için bir uyarma sinyali ve tersinir bir tepkime için bu uyarma sinyaline karşılık gelen hipotetik bir voltamogram görülmektedir.



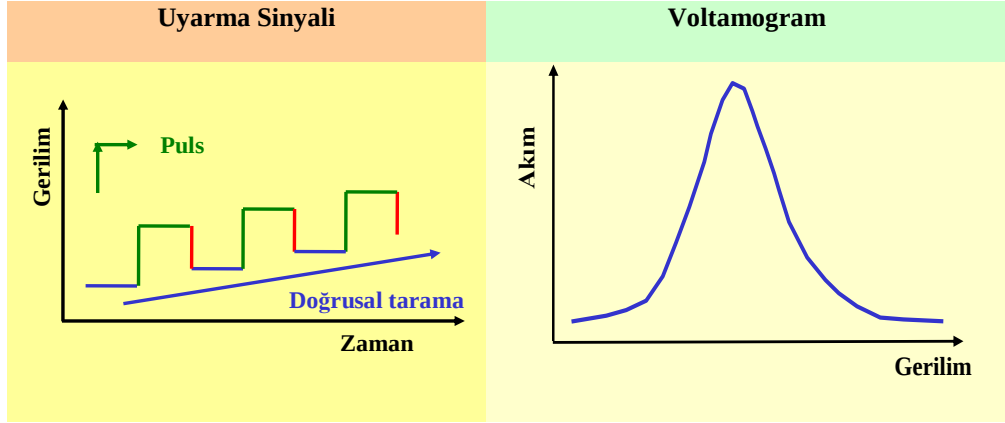
Şekil 2.15. Dönüşümlü voltametri için uyarma sinyali ve hipotetik tersinir bir tepkime için voltamogram

Dönüşümlü voltametri ölçümleri karıştırılmayan ve yeterli miktarda destek elektrolit içeren çözeltilerde gerçekleştirilir, bunun sonucunda da kütle aktarımı yalnızca difüzyonla gerçekleşir. İleri yöndeki gerilim taraması esnasında analitin elektrokimyasal tepkimesi sonucu oluşan ürün bazen geri yönde gerilim taraması esnasında elektrokimyasal tepkimeye girebilir. Bunun sonucunda da geri yöndeki tarama esnasında da akım oluşumu gözlenir. Şekil 2.15'te verilen voltamogram bu tür bir analite aittir. İleri ve geri yönde gerilim taraması esnasında elde edilen akımlar, I_{ileri} ve I_{geri} olarak adlandırılır.

Dönüşümlü voltametri, kantitatif çalışmalarda nadiren kullanılırken; redoks reaksiyonlarının incelenmesinde, reaksiyon mekanizmaları hakkında bilgi edinmede, reaksiyon sonucu oluşan ürünlerin özelliklerinin ve kararlılıklarının belirlenmesinde, Modifiye elektrotların hazırlanmasında ve modifiye edilmiş yüzeylerin karakterize edilmesinde sıkça kullanılır [136].

2.11.8.2. Diferansiyel puls voltametrisi

Diferansiyel puls voltametrisi hemen hemen bütün elektro aktif türlerin miktar tayinleri amacıyla oldukça sık kullanılan bir yöntemdir. Diferansiyel puls teknikleri ilk olarak Barker ve Jenkin tarafından 1952 yılında voltametrik çalışmalarda daha düşük tayin sınırına inilebilmek için önerildi. Bunun sonucu olarak faradayik ve faradayik akım arasındaki oran artırılarak tayin sınırında 10^{-8} M'a inme sağlandı. Bundan sonra ilerleyen yıllarda bu yöntem ticari hale gelerek çok yaygın bir şekilde kullanılmaya başlamıştır. Kısaca DPV olarak gösterilen differansiyel puls voltametrisi, elektro aktif olan organik ve anorganik tüm bileşenlerin eser miktarda analizinin yapılmasına olanak sağlayan kullanışlı bir tekniktir. DPV'de doğrusal bir potansiyel artışına göre ayarlanmış sabit büyüklükteki pulslar, çalışma elektroduna belli bir süre boyunca uygulanır. Akım, pulstan önce yani tam pulsun başladığı anda potansiyelde bir artma olmadan ve sonda pulsun bitimine yakın bir bölgede olmak üzere iki kez ölçülür. İki akım arasındaki fark, ΔI_{puls} bu iki akımın farkı olarak kaydedilir ve potansiyele karşı bu akım farklarının grafiğe geçirilmesiyle oluşan çıktıya diferansiyel puls voltamogramı denir. Diferansiyel puls voltametrosinde uygulanan uyarma sinyali ve bu uyarma sinyaline karşılık gelen hipotetik DPV voltamogramı Şekil 2.16'da gösterilmiştir.



Şekil 2.16. Diferansiyel puls voltametri için uyarma sinyali ve karşılık gelen hipotetik bir voltamogram

2.12. Modifiye Elektrotların Karakterizasyonu

Karakterizasyon, modifiye edilmiş bir yüzeyin özelliklerinin modifiye edilmemiş yüzey ile karşılaştırılarak meydana gelen farklılıkların belirlenmesi işlemidir. Karakterizasyon yöntemleri ile modifiye edilmiş yüzeylerdeki iletkenlik, elektron aktarım hızı, elektroaktivite, homojenlik, seçicilik, duyarlılık, pürüzlülük, hidrofilik-hidrofobik aktivite ve fonksiyonel gruplar gibi pek çok konuda bilgiler edinilebilir.

Karakterizasyon yöntemleri arasında en çok kullanılan teknikler elektrokimyasal ve spektroskopik karakterizasyon teknikleridir.

Bu amaçla yaygın olarak kullanılan elektrokimyasal yöntemler; dönüşümlü voltametri (CV) ve elektrokimyasal impedans spektroskopisidir (EIS). Bu yöntemlerin yanında, kunoamperometri ve kronokulometri gibi yöntemler de kullanılmaktadır.

Spektroskopik karakterizasyon yöntemleri arasında X ışınları fotoelektron spektroskopisi (XPS), taramalı elektron mikroskopisi (SEM), atomik kuvvet mikroskopisi (AFM), Raman spektroskopisi, infrared spektroskopisi ve geçirmeli elektron mikroskopisi (TEM) yer almaktadır. Tez kapsamında hazırlanan modifiye elektrotların karakterizasyonunda kullanılan yöntemler daha detaylı olarak irdelenmiştir.

2.12.1. Dönüşümlü voltametri

Dönüşümlü voltametri yöntemi, elektrokimyasal karakterizasyon yöntemleri arasında hızlı sonuç vermesi ve kolaylığı nedeniyle en çok kullanılan yöntemdir. Bu yöntem ile elektron aktarım hızı, yüzeyin iletkenliği gibi spesifik bilgiler elde edilebilir. Ayrıca elektrot yüzeyinde gerçekleşen kütle aktarım mekanizmasının difüzyon kontrollü

olup olmadığı, difüzyon katsayısı ve aktarılan elektron sayısı gibi pek çok parametre ile ilgili bilgilere ulaşılabilir. Dönüşümlü voltametri yöntemiyle modifiye elektronların karakterizasyonunda elektron aktarım hızı, yüzey yükü ve fonksiyonelliğin anlaşılabilmesi amacıyla $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-/4-}$ ve $\text{Ru}(\text{NH}_2)_6^{3+}$ redoks türleri kullanılır. Modifiye edilen ve edilmeyen elektrotlarla elde edilen voltamogramlar karşılaştırılarak modifikasyon sürecinin elektrodun elektron aktarım hızı ve yüzey yükü üzerine etkileri gözlemlenebilir.

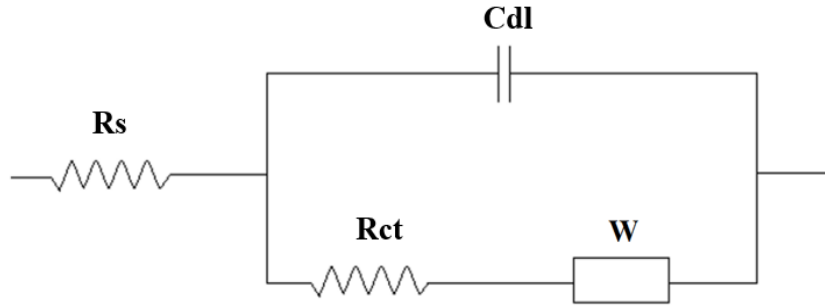
2.12.2. Elektrokimyasal *impedans spektroskopisi*

Elektrokimyasal impedans spektroskopisi (EIS) elektrokimyasal sistem ve yöntemlerin araştırılması için oldukça etkili bir yöntemdir. Bu yöntem frekans değişikliğine bağlı olarak yüzeyde gerçekleşen değişimlerin ve reaksiyonların incelenmesinde kullanılan oldukça hassas bilgiler veren bir tekniktir. Bu tekniğin uygulamadaki en önemli avantajı ölçüm sırasında denge durumunun bozulmamasıdır. Çünkü sabit bir potansiyelde doğru bir akım uygulanan sisteme, düşük genliğe sahip bir alternatif akım sinyali verilerek elektrokimyasal davranış ölçülür dolayısıyla sistemin denge durumu korunur. Oysa voltametrik tekniklerde elektrokimyasal sisteme bir gerilim uygulanıp, verdiği cevap ölçüldüğü için çoğunlukla sistem dengesi bozulur. EIS tekniğinin en önemli avantajlarından birisi de, modifiye edilmiş yüzeyin zarar görmeden karakterize edilebilmesidir [136].

İmpedans temelde yüksek frekanslar uygulanan sistemde meydana gelen kapasitif ve indüktif değişimlerden etkilenen direncin ölçümü prensibine dayanır. Elektriksel direnç, elektriksel akıma karşı bir devre elemanının gösterdiği mukavemettir. İmpedans ve direncin birbirine benzer olduğu nokta, impedans da direnç gibi elektrik akımına karşı bir devrenin gösterdiği direnç ile ölçülen değerdir. Aralarındaki fark ise impedansın direncin sahip olduğu basit özellikler ile sınırlandırılmamasıdır.

Elektrokimyasal impedans spektroskopisi deneysel verilerin doğruluğu, benzer olabileceği düşünülen bir model elektrik devresi ile özdeşleştirilerek kontrol edilir. İmpedans ölçümleri sonrasında elde edilen veriler çözelti direnci (R_s), yük-transfer direnci (R_{ct}), warburg elemanı (W) ve sabit faz elemanını (C_{dl}) içeren elektriksel eş devre modeli kullanılarak fit edilir (Şek. 2.17). Yük transfer direnci (R_{ct}) Nyquist diyagramında

yarım dairenin çapından elde edilir ve elektrot-elektrolit ara yüzeyinde elektron transferi hakkında oldukça önemli bilgiler verir.



Şekil 2.17. Bir EIS devresinin şematik gösterimi

EIS, Modifiye edilmiş elektrotların yüzeyde oluşan film yoğunluğu, elektron transfer kinetiği, iletkenliği ve dielektrik sabitleri gibi yüzey zellilikleri hakkında bilgi edinilebilen etkili bir yöntemdir.

2.12.3. İnfrared spektroskopisi

İnfrared spektroskopisi (IR), önemli yüzey karakterizasyon yöntemlerinden biridir. Bu teknik, moleküllerde bulunan fonksiyonel grupların, infrared ışınlarını (0,78-1000 μM dalga boyunda veya 12800-10 cm^{-1} dalga sayısında) absorplayarak daha yüksek enerjili titreşim ve dönme enerji seviyelerine uyarılmalarının lm ilkesine dayanır.

Dipol momentine sahip olmayan bazı moleküler bileşikler (O_2 , N_2 ve Cl_2) dışındaki bütün moleküllerin infrared absorpsiyonu vardır ve spektrumları alınabilir. İnfrared spektroskopisinde uyarmada kullanılan ışınların enerjileri dalga sayılarıyla ifade edilir. Organik bileşiklerin birçoğu bu teknikle tanımlanabilir. Optik izomeriye sahip bileşenler dışında hiçbir bileşiğin IR spektrumları aynı değildir. Bu yüzden teknik spesifik bilgiler verir ve nitel analizlerde sıklıkla kullanılır.

2.12.4. Taramalı elektron mikroskopisi

İnsan gözünün görme kapasitesi oldukça sınırlıdır ve çok ince ayrıntıları göremez. Bu nedenle elektrik ve optik sistemler birarada kullanılarak bu ince ayrıntıları görebilmeye olanak sağlayan cihazlar geliştirilmiştir. Taramalı elektron mikroskobu (SEM) bu amaçla geliştirilen cihazlardan biridir. SEM’de görüntünün alınabilmesi için numunenin yüzeyine yüksek gerilim ile hızlandırılmış elektronlar gönderilir. Elektron

demetinin numune yüzeyini taraması sırasında elektronlar ve numune atomları arasında girişimler meydana gelir ve bu girişim etkileri uygun bir algılayıcı ile toplanarak sinyal çoğaltıcılardan geçirildikten sonra bir katot ışınları tüpünün ekranına aktarılır. Modern teknolojinin yardımıyla algılayıcıdan gelen sinyaller dijital sinyallere çevrilerek SEM görüntüleri oluşturulur.

Sem analizleri pek çok alanda yüzey morfolojisinin belirlenmesi amacıyla yoğun olarak kullanılmaktadır. Modifiye elektrotların yüzey özelliklerinin incelenmesinde, modifikasyonun başarılı olup olmadığının belirlenmesinde, özellikle sentezlenen polimerlerin morfolojilerinin belirlenmesi ve modifiye elektrotların davranışlarının açıklanmasında yoğun olarak kullanılmaktadır.

2.12.5. Raman spektroskopisi

Raman spektroskopisi; moleküllerin yapıları, yüzey özellikleri ve yüzey reaksiyonları hakkında geniş ölçekte bilgiler vermesi nedeniyle kimyasal analizlerde oldukça sık kullanılır. Tekniğin genel prensibi; bir malzeme üzerine monokromatik bir ışın demeti gönderildiği zaman, ışın demetinin madde tarafından absorplanma, geçirilebilme ya da saçılma özelliğine dayanmaktadır. Hintli fizikçi C.V. Raman, 1928 yılında saçılan ışının ufak bir kısmının dalga boyunun gönderilen ışığın dalga boyundan farklı olduğunu saptamıştır. Ayrıca, saçılmaya neden olan moleküllerin kimyasal yapısının dalga boyunda kaymalara neden olduğunu keşfetmiştir. Bu keşfi sebebiyle 1931 yılında Nobel Fizik ödülünü kazanmıştır. Işığın saçılması esnasında enerjisinin büyük bir kısmı, madde ile etkileşen ışığın enerjisine eşit olur ve bu saçılma durumuna Rayleigh saçılması adı verilir. Rayleigh saçılmasında enerji kaybı olmadığı için foton ve molekül arasında gerçekleşen çarpışmanın esnek çarpışma olduğu varsayılır. Elastik saçılmaların yanı sıra saçılan ışığın az bir kısmı molekül ile etkileşime giren ışığın enerjisinden daha farklı enerjilere saçılım gösterir. Bu tür elastik yapıda olmayan saçılma olayına ise, “Raman Saçılması” adı verilir. Rayleigh saçılması sırasında Raman saçılmasına oranla 10^4 - 10^5 kat daha şiddetli bir ışık saçılımı söz konusudur. Raman saçılmasında saçılan ışığın enerjisinde, molekül ile etkileşime giren ışığına oranla oluşan fazlalık veya azlık, ışıkla etkileşen molekülün titreşim enerji düzeyleri arasındaki enerji farklarına eşittir. Bu sebeple Raman saçılmasının spektroskopik incelenmesi, moleküllerin titreşim enerji düzeyleri hakkında geniş bilgiler verir. Bu spektroskopik yöntem Raman spektroskopisi olarak adlandırılır. Bu yöntemde cihaza yerleştirilen numuneye lazer ışığı

gönderilir ve moleküller uyarılmış konuma geçerler. Uyarılmış konuma geçen bu moleküller titreşimler meydana getirirler. Işığın gönderildiği süre boyunca saçılan ışının (lazerin) spektrumu uygun bir görünür bölge spektrofotometre ile çoğunlukla 90°'lik açıda ölçülür. Böylece raman spektrumları oluşur. Raman spektroskopisi pek çok farklı alanda farklı amaçlar için kullanımı yanında modifiye elektrotların yüzey fonksiyonel gruplarının belirlenmesinde de yoğun olarak kullanılmaktadır.



3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler

Ürik asit (%99), serotonin kreatin sülfat monohidrat, dopamin hidroklorür (%99,99), 3,4-etilendioksitiyofen (≥ 97), pirol-3-karboksilik asit (≥ 96), lityum perklorat (%99,99), sodyum karbonat (susuz, %99,5), potasyum ferrisiyanür (%99), potasyum ferrosiyanür trihidrat (%99,5) ve hekzaaminorutenyum (III) klorür (%98) Sigma-Aldrich'ten temin edilmiştir. Potasyum dihidrojenfosfat (%99) Fluka'dan temin edilmiştir.

Gerçek numune analizleri için kullanılan kan serumları yerel bir hastaneden temin edilmiştir. İdrar örnekleri laboratuvar personelinden temin edilmiştir. Dopadren ampul (VEM) yerel kaynaklardan satın alınmıştır.

Çalışma elektrodu olarak kullanılan grafit temelli kalem uçları (Çap: 0,5 mm, HB, Tombow) yerel kırtasiyelerden temin edilmiştir. Deneylerde referans elektrot olarak Gamry marka doygun kalomel elektrot, karşıt elektrot olarak ise platin tel kullanılmıştır. Elektrokimyasal ölçümler borasilikat camdan özel olarak yapılmış 5 boyunlu elektrokimyasal hücrelerde gerçekleştirilmiştir.

3.2. Kullanılan Araç ve Gereçler

Elektrokimyasal çalışmalarda Autolab PGSTAT 100 ve CHI 660D model olmak üzere iki farklı potansiyostat-galvanostat kullanılmıştır. Bütün elektroanalitik ölçümler oda sıcaklığında gerçekleştirilmiştir.

Çözeltilerin hazırlanması için kullanılan ultra-saf su, Sartorius Marka (Sartorius-Arium Comfort I-1-UV-T) ultra-saf su sistemiyle elde edilmiştir. pH ölçümleri Radiometer (IONcheck45) marka pH-iyon metre ile gerçekleştirilmiştir. Stok çözelti hazırlama işlemlerinde ve elektrotların temizlenmesinde ultrasonik banyo kullanılmıştır. Karıştırma işlemleri manyetik karıştırıcı (Velp, Scientifica) ile, tartım işlemleri ise OHAUS marka analitik terazi ile gerçekleştirilmiştir.

Modifiye elektrotların taramalı elektron mikroskopisi (SEM) görüntüleri Zeiss-Ultraplus marka ULTRAFE-SEM cihazı kullanılarak elde edilmiştir. Raman spektrumlarının elde edilmesinde Senterra marka raman spektroskopi cihazı kullanılmıştır.

Modifiye elektrotların FTIR spektrumları, KBr pelletleri hazırlanması suretiyle Perkin Elmer Spektrum-100 marka cihaz ile elde edilmiştir.

3.3 Sensör Olarak Kullanılacak Modifiye Elektrotların Hazırlanması

3.3.1. Ürik asit tayini için modifiye elektrotların hazırlanması

Ürik asit tayini çalışmalarında sensör olarak aşırı yükseltgenmiş poli(3,4-etilen dioksitiyofen) ile modifiye edilmiş kalem ucu grafit elektrotlar kullanılmıştır. Bu elektrotlar, KUG elektrot yüzeyinde 3,4-etilendioksitiyofen'in (EDOT) elektrokimyasal olarak polimerleştirilmesi ile hazırlanmıştır. Bu amaçla, önce hacimce % 5'lik asetonitril içeren ultra saf su içerisinde 10 mM EDOT, 0,1 M LiClO₄ ve 0,1 M Na₂CO₃ çözülerek polimerizasyon çözeltisi hazırlanmıştır. Daha sonra, bu çözelti içerisinde KUG elektrot kullanılarak dönüşümlü voltametri yöntemiyle -0,3 ile +1,25 V gerilim aralığında 50 mVs⁻¹ tarama hızında 3 döngü gerilim taraması gerçekleştirilmiştir. Söz konusu gerilim taraması esnasında elektrokimyasal polimerizasyon sonucunda KUG elektrot yüzeyinde poli(3,4-etilendioksitiyofen) nanofiberlerin (PEDOT-nf) oluşumu gerçekleşmiştir.

PEDOT-nf/KUG elektrotlar elektrokimyasal davranışlarının iyileştirilmesi amacıyla sabit gerilimde 0,1 M fosfat tamponunda aşırı yükseltgenmiştir. Aşırı yükseltgeme çalışmaları neticesinde elde edilen elektrotlar AY-PEDOT-nf/KUG olarak gösterilmiştir. Elde edilen elektrotların ürik asit cevaplarının önemli derecede arttığı gözlenmiştir. Bu nedenle aşırı yükseltgeme koşulları detaylı bir şekilde optimize edilmiştir. Optimizasyon çalışmalarında analitik parametre olarak ürik asitin yükseltgenme pik akımı kullanılmıştır. İlk olarak aşırı yükseltgeme geriliminin etkisi incelenmiştir. Bu amaçla, PEDOT-nf/KUG elektrotlar 0,1 M fosfat tamponunda (pH 2) farklı gerilimlerde (1,1, 1,8, 1,9, 2, 2,1 ve 2,2 V) 60 s boyunca yükseltge işlemi uygulanmıştır. Aşırı yükseltgeme geriliminin optimizasyonundan sonra, aşırı yükseltgeme süresi optimize edilmiştir. Bu amaçla, hazırlanan elektrotlar, 0,1 M fosfat tamponunda 2 V'da farklı sürelerde (30, 60, 75, 90 ve 120s) tutulmuştur. Son olarak aşırı yükseltgeme işlemlerinin gerçekleştirildiği çözeltinin pH'sı optimize edilmiştir. Bu amaçla, aşırı yükseltgeme işlemi farklı pH'larda (2, 3, 4, 5, 6, 7,4 ve 8,5) gerçekleştirilmiştir. Bu optimizasyon çalışmaları sonucunda AY-PEDOT-nf/KUG elektrodun ürik asit cevabının aşırı yükseltgeme geriliminin 2 V, aşırı yükseltgeme

süresinin 60 s ve çözelti pH'sının 7,4 olduğunda en yüksek değerine ulaştığı belirlenmiştir.

3.3.2. Serotonin tayinine yönelik modifiye elektrotların hazırlanması

Serotonin tayini çalışmalarında sensör olarak poli(pirol-3-karboksilik asit) modifiye kalem ucu grafit elektrotlar kullanılmıştır. Bu elektrotlar, KUG elektrot yüzeyinde pirol-3-karboksilik asit (P3KA) monomerinin elektrokimyasal olarak polimerleştirilmesi ile hazırlanmıştır. Bu amaçla, önce ultra saf su içerisinde 20 mM P3KA, 0,1 M LiClO₄ ve 0,1 M Na₂CO₃ çözülerek polimerizasyon çözeltisi hazırlanmıştır. Daha sonra, bu çözelti içerisinde KUG elektrotla 0 ile +1,25 V gerilim aralığında 50 mVs⁻¹ tarama hızında 3 döngü gerilim taraması gerçekleştirilmiştir. Hazırlanan modifiye elektrotlar p(P3KA)/KUG olarak kodlanmıştır.

Polimer hazırlama koşulları dikkatli bir şekilde optimize edilmiştir. İlk olarak monomer derişiminin serotonin pik akımına etkisi incelenmiştir. Bu amaçla, farklı derişimlerde (10, 20, 30 ve 50 mM) P3KA içeren çözeltide p(P3KA)/KUG elektrotlar hazırlanmış ve serotonin pik akımına etkisi incelenmiştir. Optimum monomer derişimi bulunduktan sonra, elektropolimerizasyon için kullanılan döngü sayısı optimize edilmiştir. Bu amaçla, 20 mM P3KA monomeri içeren çözeltide farklı döngülerde (1, 2, 3, 4, 5, 7 ve 10) polimer oluşturulmuş ve serotonin pik akımına etkisi incelenmiştir.

3.3.3. Dopamin tayinine yönelik modifiye elektrotların hazırlanması

Dopamin tayini çalışmalarında sensör olarak, aşırı yükseltgenmiş KUG (AY-KUG) elektrotların poli(pirol-3-karboksilik asit) ile modifiye edilmesiyle hazırlanan elektrotlar kullanılmıştır. Bu elektrotlar, AY-KUG elektrot yüzeyinde pirol-3-karboksilik asit monomerinin elektrokimyasal olarak polimerleştirilmesi ile elde edilmiştir. Bu amaçla, ilk olarak AY-KUG elektrotlar hazırlanmış ve ultra saf su içerisinde 20 mM P3KA, 0,1 M LiClO₄ ve 0,15 M Na₂CO₃ çözülerek hazırlanan polimerizasyon çözeltisi içerisinde 0 ile +1,25 V gerilim aralığında 20 mVs⁻¹ 2 döngü gerilim taraması gerçekleştirilmiştir. Hazırlanan modifiye elektrotlar p(P3KA)/AY-KUG olarak isimlendirilmiştir.

Modifiye elektrotların hazırlanma koşulları detaylı şekilde optimize edilmiştir. Bu amaçla önce KUG elektrotlarının aşırı yükseltgeme koşulları optimize edilmiştir. Optimizasyon çalışmaları için hazırlanan tüm AY-KUG elektrotlara p(P3KA) polimeri

elektrokimyasal olarak kaplanmış ve dopamin ölçümleri diferansiyel puls voltametrisi kullanılarak gerçekleştirilmiştir. İlk olarak, aşırı yükseltgeme geriliminin etkisi, KUG elektrotların 0,1 M fosfat tamponunda (pH 8,5) farklı gerilimlerde (1,4, 1,5, 1,6, 1,7, 1,8, 1,9, 2, 2,1, ve 2,2 V) 60 s boyunca tutulmasıyla incelenmiştir. Aşırı yükseltgeme geriliminin optimizasyonundan sonra, aşırı yükseltgeme süresi optimize edilmiştir. Bu amaçla, KUG elektrotlar, 0,1 M fosfat tamponunda (pH 8,5) 1,9 V'da farklı sürelerde tutulmuştur. Son olarak aşırı yükseltgeme işlemlerinin gerçekleştirildiği çözeltinin pH'sı optimize edilmiştir. Aşırı yükseltgeme işlemi farklı pH'larda (2, 3, 4, 5, 6, 7,4, 8,5, 10 ve 13) gerçekleştirilmiştir.

KUG elektrotların aşırı yükseltgeme koşulları optimize edildikten sonra, p(P3KA)'ın polimerizasyon koşullarının optimizasyonuna geçilmiştir ve bu koşulların dopamin pik akımına etkisi incelenmiştir. Bu amaçla, ilk olarak farklı derişimlerde (10, 20, 30 ve 50 mM) P3KA monomeri içeren çözeltilerde modifiye elektrotlar hazırlanmış ve dopamin pik akımına etkisi incelenmiştir. Optimum monomer derişimi saptandıktan sonra, elektropolimerizasyon için kullanılan döngü sayısı optimize edilmiştir. Bu amaçla 20 mM P3KA monomerini içeren çözeltide farklı döngülerde (1, 2, 3, 5, 7 ve 10) p(P3KA)/AY-KUG elektrotlar hazırlanmış ve dopamin pik akımına etkisi incelenmiştir.

3.4. Hazırlanan Modifiye Elektrot Temelli Sensörlerin İlgili Türler Varlığında Elektrokimyasal Davranışlarının İncelenmesi

3.4.1. Ürik asit varlığında AY-PEDOT-nf/KUG elektrodun elektrokimyasal davranışının incelenmesi

Ürik asit stok çözeltisinin hazırlanması: Standart ürik asit çözeltileri, uygun miktarda ürik asidin ultra saf suda çözülmesiyle hazırlanmıştır. Çözünmeyi hızlandırmak için az miktarda NaOH ilave edilmiştir. Çözeltiler günlük olarak hazırlanmış ve +4 °C'de saklanmıştır.

Elektrokimyasal ölçümler: AY-PEDOT-nf/KUG elektrodunun elektrokimyasal davranışı CV ve DPV yöntemleriyle incelenmiştir. Bu amaçla, AY-PEDOT-nf/KUG elektrot kullanılarak 0,1 M fosfat tamponunda (pH 2) +0,25 ile +0,85 V gerilim aralığında ürik asit yokluğunda ve varlığında CV ve DPV ölçümleri gerçekleştirilmiştir. Aynı koşullarda KUG ve PEDOT-nf/KUG elektrotlarında elektrokimyasal davranışları incelenmiş ve AY-PEDOT-nf/KUG elektrot ile karşılaştırılmıştır.

3.4.2. Serotonin varlığında p(P3KA)/KUG elektrodun elektrokimyasal davranışının incelenmesi

Serotonin stok çözeltisinin hazırlanması: Serotonin kreatin sülfat monohidrat çözeltisi uygun miktarda tartılarak ultra-saf su ile hazırlanmıştır. Çözeltiler günlük olarak hazırlanmış ve kullanılmayan zamanlarda -20 °C’de muhafaza edilmiştir.

Elektrokimyasal ölçümler: p(P3KA)/KUG elektrodun elektrokimyasal davranışı CV ve DPV yöntemleriyle serotonin yokluğunda ve varlığında incelenmiştir. Bu amaçla, p(P3KA)/KUG elektrotu kullanılarak 0,1 M fosfat tamponunda (pH 5) +0,2 ile +0,8 V gerilim aralığında serotonin içeren ve içermeyen çözeltilerde CV ve DPV ölçümleri gerçekleştirilmiştir. Aynı koşullarda KUG elektrotların elektrokimyasal davranışları incelenmiş ve p(P3KA)/KUG elektrot ile karşılaştırılmıştır.

3.4.3 Dopamin varlığında p(P3KA)/AY-KUG elektrodun elektrokimyasal davranışının incelenmesi

Dopamin stok çözeltisinin hazırlanması: Dopamin hidroklorür uygun miktarda tartılmış ve ultra-saf su içerisinde çözülmüştür. Çözeltiler günlük olarak hazırlanmış ve +4 °C’de saklanmıştır.

Elektrokimyasal ölçümler: p(P3KA)/AY-KUG elektrodun elektrokimyasal davranışı CV ve DPV yöntemleriyle dopamin yokluğunda ve varlığında incelenmiştir. Bu amaçla, p(P3KA)/AY-KUG elektrot ile 0,1 M fosfat tamponunda, (pH 7,4) +0,2 ile +0,5 V arasında DOP varlığında ve yokluğunda CV ve DPV ölçümleri gerçekleştirilmiştir. Aynı koşullarda KUG, AY-KUG ve p(P3KA)/KUG elektrotların elektrokimyasal davranışları da incelenmiş ve p(P3KA)/AY-KUG elektrot ile karşılaştırılmıştır.

3.5. Biyolojik Türlerin Analizleri İçin Koşulların Optimizasyonu

3.5.1. Ürik asit tayini için analiz koşullarının optimizasyonu

Ürik asit tayini için AY-PEDOT-nf/KUG elektrotlar kullanılarak gerçekleştirilecek analiz çalışmalarında, sistemin performansını etkileyen parametreler (ölçüm ortamının pH’sı ve temas süresi) sırasıyla optimize edilmiştir. İlk olarak ölçüm ortamının pH’sının AY-PEDOT-nf/KUG elektrotların ürik asit yükseltgenmesindeki performansına etkisi incelenmiştir. Bu amaçla, ilk olarak farklı pH (2, 3, 4, 5, 6, 7,4 ve 8,5) değerlerine sahip

0,1 M fosfat tamponuna aynı miktarda ürik asit ilave edilerek AY-PEDOT-nf/KUG elektrotlarla +0,25 ile +0,85 V gerilim aralığında DPV ölçümleri gerçekleştirilmiştir. Daha sonra bir diğer önemli parametre olan temas süresinin optimizasyonu gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla, belirli miktarda ürik asit içeren 0,1 M fosfat tamponunda AY-PEDOT-nf/KUG elektrotlar farklı sürelerde (30, 60, 75, 90, 120, 150 ve 180 s) bekletilmiş ve DPV ölçümleri alınmıştır. Yapılan optimizasyonlar sonucunda en yüksek ürik asit pik akımı, elektrodun pH 2’de 180 s bekletildiğinde gözlenmiştir.

3.5.2. Serotonin tayini için analiz koşullarının optimizasyonu

Serotonin tayini için p(P3KA)/KUG elektrotlar kullanılarak gerçekleştirilecek analiz çalışmalarında, sistemin performansını etkileyen parametreler (ölçüm ortamının pH’sı ve temas süresi) sırasıyla optimize edilmiştir. İlk olarak ölçüm ortamının pH’sının p(P3KA)/KUG elektrotların serotonin indirgenmesindeki performansına etkisi incelenmiştir. Bu amaçla, farklı pH (2, 3, 4, 5, 6, 7,4 ve 8,5) değerlerine sahip 0,1 M fosfat tamponuna aynı miktarda serotonin ilave edilerek p(P3KA)/KUG elektrotlarla +0,70 ile -0,20 V gerilim aralığında DPV ölçümleri gerçekleştirilmiştir. Daha sonra bir diğer önemli parametre olan temas süresinin optimizasyonu gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla, belirli miktarda serotonin içeren 0,1 M fosfat tamponunda p(P3KA)/KUG elektrotlar farklı sürelerde (30, 60, 75, 90, 120, 150 ve 180 s) bekletilmiş ve DPV ölçümleri alınmıştır. Yapılan optimizasyonlar sonucunda en yüksek serotonin pik akımı, ölçüm ortam pH’sının 5 ve bekleme süresinin 90 s olduğunda elde edilmiştir.

3.5.3. Dopamin tayini için analiz koşullarının optimizasyonu

Dopamin tayini için p(P3KA)/AY-KUG elektrotlar kullanılarak gerçekleştirilecek analiz çalışmalarında, sistemin performansını etkileyen ölçüm ortamının pH’sı ve temas süresi sırasıyla optimize edilmiştir. İlk olarak ölçüm ortamının pH’sının p(P3KA)/AY-KUG elektrotların dopamin yükseltgenmesindeki performansına etkisi incelenmiştir. Bu amaçla, farklı pH (2, 3, 4, 5, 6, 7,4 ve 8,5) değerlerine sahip 0,1 M fosfat tamponuna aynı miktarda dopamin ilave edilerek p(P3KA)/AY-KUG elektrotlarla -0,20 ile +0,50 V gerilim aralığında DPV ölçümleri gerçekleştirilmiştir. Daha sonra bir diğer önemli parametre olan temas süresinin optimizasyonu gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla, belirli miktarda dopamin içeren 0,1 M fosfat tamponunda p(P3KA)/AY-KUG elektrotlar farklı

sürelerde (30, 60, 75, 90, 120, 150 ve 180 s) bekletilmiş ve DPV ölçümleri alınmıştır. Yapılan optimizasyonlar sonucunda en yüksek dopamin pik akımı, elektrodun dopamin içeren çözeltide pH 6'da 120 s bekletildiğinde elde edilmiştir.

3.6. Kalibrasyon Grafiklerinin Oluşturulması

Tayin çalışmalarında analizi yapılacak bileşenin hangi derişim aralığında doğrusallık gösterdiği oldukça önemlidir. Hazırlanan ölçüm sisteminin geniş doğrusallık aralığına sahip olması, sistemin en büyük avantajlarından biridir. Bu nedenle hazırlanan sistemin, mümkün olan en geniş derişim aralığında bileşen ile doğrusal ilişki göstermesi istenir. Bu amaçla, hazırlanan AY-PEDOT-nf/KUG, p(P3KA)/KUG ve p(P3KA)/AY-KUG modifiye elektrotların sırasıyla ürik asit, serotonin ve dopamin moleküllerinin tayininde hangi derişim aralığında doğrusallık gösterdiği, yapılan ölçümler sonucu elde edilen kalibrasyon eğrileri aracılığıyla incelenmiştir.

Ürik asidin AY-PEDOT-nf/KUG modifiye elektrot ile tayin çalışmasında, kalibrasyon eğrisi oluşturulması amacıyla, 0,01 μM ve 20 μM derişim aralığında farklı miktarda ürik asit içeren çözeltilerde elde edilen yükseltgenme pik akımları derişime karşı grafiğe geçirilmiştir.

p(P3KA)/KUG modifiye elektrodu kullanılarak serotonin tayininde kalibrasyon eğrisi oluşturmak amacıyla, 0,01 μM ve 1,0 μM derişim aralığında farklı miktarda serotonin içeren çözeltilerde elde edilen indirgenme pik akımları derişime karşı grafiğe geçirilmiştir.

Dopaminin p(P3KA)/AY-KUG modifiye elektrodu ile voltametrik tayininde 0,05 ile 15,0 μM derişim aralığında farklı miktarda dopamin içeren çözeltilerde elde edilen yükseltgenme pik akımları derişime karşı grafiğe geçirilmiştir.

3.7. Girişim Etkilerinin İncelenmesi

Biyolojik moleküller vücut sıvıları içerisinde birçok farklı tür ile birlikte bulunmaktadır. Bu türler analizi yapılacak bileşenin davranışını etkileyebilmektedir. Özellikle elektroanalitik çalışmalarda elektro-aktif türlerin varlığı analitin elektrokimyasal davranışını etkileyebilmektedir. Bu nedenle, girişim etkisi gösterebilecek elektro-aktif türlerin etkileri, bu türlerin varlığında ve yokluğunda

gerçekleştirilen ölçümlerle değerlendirilmelidir. Bu amaçla, sıklıkla girişim etkisi gösteren türlerin tayin edilecek türlere etkileri detaylıca incelenmiştir.

Ürik asitin tayinine yönelik hazırlanan AY-PEDOT-nf/KUG elektrotlar ile optimum koşullarda girişim çalışmaları gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla, ürik asit tayinlerinde sıklıkla girişim etkisi gösteren askorbik asit, dopamin ve serotonin moleküllerinin etkileri yapılan DPV ölçümleri ile belirlenmiştir. Bu türlerin karışımını içeren çözeltide modifiye elektrot ile ölçümler alınmış ve karışıma ürik asit ilave edilerek ölçümler tekrarlanmıştır. Ayrıca glukoz, üre, sitrik asit, KCl ve NaCl gibi daha nadirde olsa girişim yapabilen moleküllerin etkileri de incelenmiştir.

Serotonin tayininde girişim çalışmaları p(P3KA)/KUG elektrotlar kullanılarak yapılmıştır. Bu amaçla, serotonin tayininde yaygın olarak girişim etkisi gösteren ürik asit, dopamin ve askorbik asit moleküllerinin etkileri yapılan DPV ölçümleri ile belirlenmiştir. Belirli miktarda serotonin içeren çözeltide hazırlanan modifiye elektrotlar ile ölçümler alınmış ve çözeltiye bu türler ilave edilerek ölçümler tekrar edilmiştir. Ayrıca tartarik asit, sitrik asit, NaCl, KCl, glukoz ve ürenin serotonin pik akımına etkileri incelenmiştir.

Dopamin tayinine yönelik hazırlanan p(P3KA)/AY-KUG elektrotlar ile optimum koşullarda girişim çalışmaları yapılmıştır. Bu amaçla dopamin tayinlerinde sıklıkla girişim etkisi gösteren askorbik asit ve ürik asit moleküllerinin dopamin pik akımına etkileri DPV ölçümleri yapılarak incelenmiştir. Bu maksatla, belirli miktarda dopamin içeren çözeltide modifiye elektrotlar ile ölçümler alınmış ve çözeltiye bu türler eklenerek ölçümler tekrarlanmıştır. Ayrıca dopamin cevabına, tartarik asit, sitrik asit, KCl, NaCl, üre ve glukoz moleküllerin etkisi araştırılmıştır.

3.8. Gerçek Örnek Analizleri

Hazırlanan modifiye elektrotlar ile gerçek örneklerde incelenen analitin tayininin yapılması oldukça önemlidir. Çünkü gerçek örnekler oldukça fazla tür içerir ve bu türlerin varlığında analitin tayin edilmesi zorlaşır. Bu yüzden gerçek örneklerde incelenen analitin tayini hazırlanan yöntemin analite karşı yüksek seçicilik göstermesi beklenir. Bu amaçla hazırlanan AY-PEDOT-nf/KUG, p(P3KA)/KUG ve p(P3KA)/AY-KUG elektrotların kan serumu ve idrar örneklerinde sırası ile ürik asit, serotonin ve dopamin moleküllerinin tayinine yönelik uygulanabilirliği incelenmiştir.

Ürik asitin gerçek örneklerde uygulanabilirliğinin belirlenmesi amacıyla AY-PEDOT-nf/KUG elektrotlar ile kan serumu ve idrar örneklerinde ölçümler

gerçekleştirilmiştir. Kan serumu ve idrar örnekleri 0,1 M fosfat tamponunda (pH 2) sırası ile 400 ve 2000 kat seyreltilerek herhangi bir önışlem uygulanmadan ölçümelerde kullanılmıştır.

Serotoninin gerçek örneklerde belirlenmesi amacıyla kan serumu ve idrar örneklerinde p(P3KA)/KUG elektrotlar kullanılarak DPV ölçümleri yapılmıştır. Bu amaçla 0,1 M fosfat tamponunda (pH 5) kan serum örnekleri 10 kat, idrar örnekleri 1000 kat seyreltilmiş ve herhangi bir önışlem uygulanmadan ölçümelerde kullanılmıştır.

Dopaminin gerçek örneklerde tayinine yönelik yapılan çalışmada p(P3KA)/AY-KUG elektrotlar kullanılmıştır. Gerçek örnek analizleri için kan serumu ve ilaç örnekleri kullanılmıştır. Bu kapsamda, 0,1 M fosfat tmponunda (pH 6) kan serumu örneği 40 kat, ilaç örneği 1000 kat seyreltilmiş ve ölçümler başka bir önışlem uygulanmadan ölçümler gerçekleştirilmiştir.

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

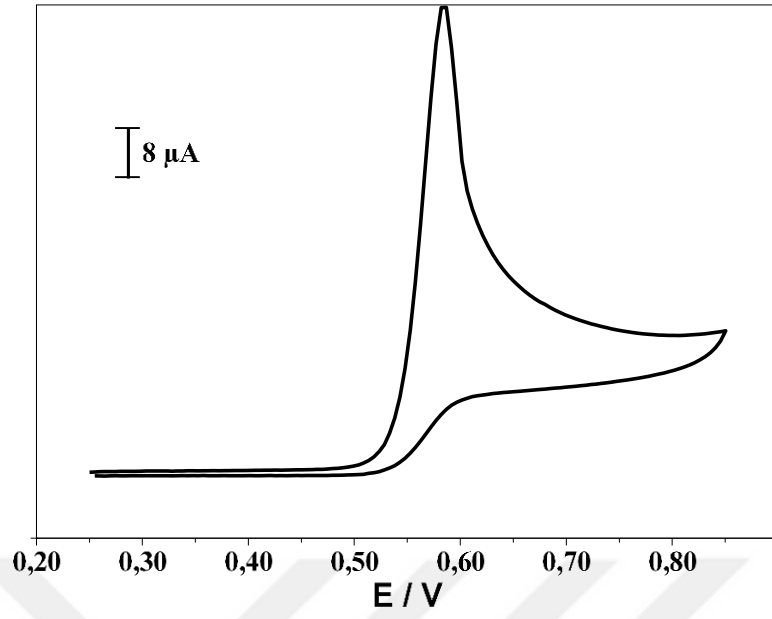
4.1. AY-PEDOT-nf/KUG Elektrot Temelli Ürik Asit Sensörü Geliştirilmesi

4.1.1. KUG elektrot ile ürik asitin elektrokimyasal davranışının incelenmesi

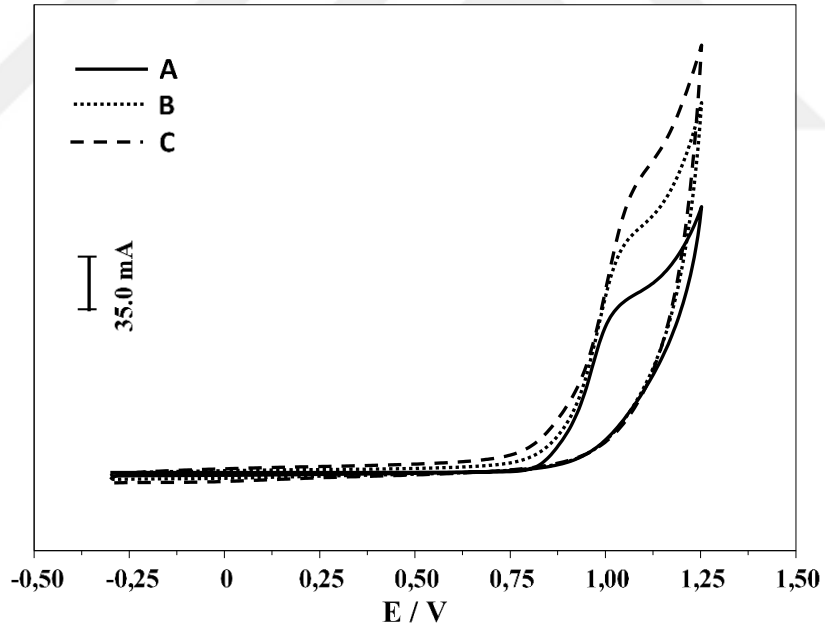
Modifiye elektrot temelli sensör çalışmalarında temel amaç, hedef molekülün elektrokimyasal davranışını iyileştirmek için uygun modifikasyon sürecinin oluşturulmasıdır. Modifikasyon sürecinin başarılı sayılabilmesi için, hedef molekülün elektrokimyasal davranışının modifiye edilmeyen elektroda göre daha iyi olması gerekmektedir. Bu nedenle öncelikli olarak, hedef moleküllerin modifiye edilmeyen elektrotlardaki elektrokimyasal davranışları belirlenmiştir. Bu amaçla, ürik asitin KUG elektrotlar kullanılarak 0,1 M fosfat tamponunda dönüşümlü voltametri yöntemiyle elektrokimyasal davranışı incelenmiştir (Şek. 4.1). Görüldüğü gibi ürik asit KUG elektrot yüzeyinde +0,58 V'da tersinmez bir yükseltgenme piki oluşturmuştur. KUG elektrot yüzeyine uygulanan modifikasyonların etkinliği aynı koşullarda alınan voltamogramların karşılaştırılmasıyla belirlenmiştir.

4.1.2. PEDOT-nf kaplı KUG elektrodun hazırlanması

KUG elektrodun polimerizasyon çözeltisinde alınan dönüşümlü voltamogramları Şekil 4.2'de verilmiştir. Görüldüğü gibi ileri yöndeki taramada EDOT monomeri KUG yüzeyinde +1,05 V'da tersinmez bir yükseltgenme piki oluşturmuştur. Buna karşın, geri yöndeki taramada herhangi bir pik gözlenmemiştir. İkinci ve üçüncü taramada yükseltgenme pikinin şiddetinin arttığı gözlenmiştir. Polimerizasyon sonunda elektrot yüzeyinde siyah bir filmin kaplandığı gözlenmiştir. Buradan KUG yüzeyinde PEDOT'un oluştuğu sonucuna varılmıştır. Elde edilen modifiye elektrotlar PEDOT-nf/KUG olarak kısaltılmıştır.



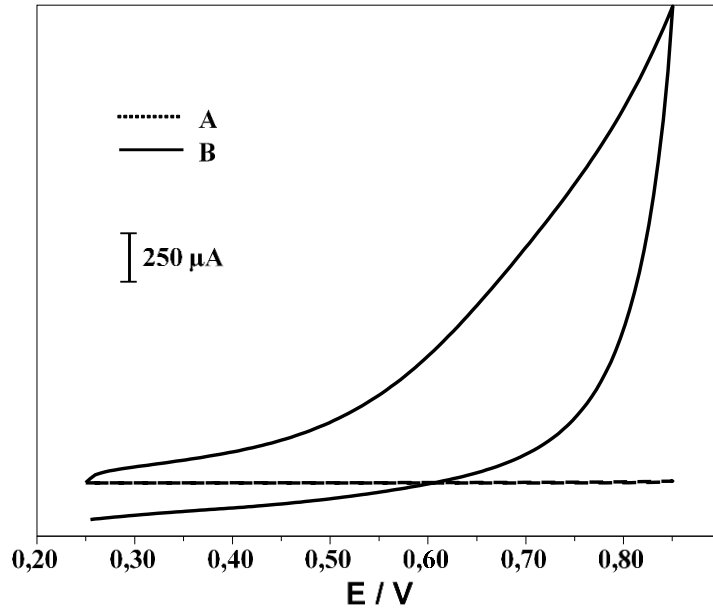
Şekil 4.1. Ürik asitin ($50 \mu\text{M}$) $0,1 \text{ M}$ fosfat tamponunda ($\text{pH } 2$) KUG elektrot ile elde edilen dönüşümlü voltamogramı. Tarama hızı: 50 mVs^{-1} , bekleme süresi: 60 s



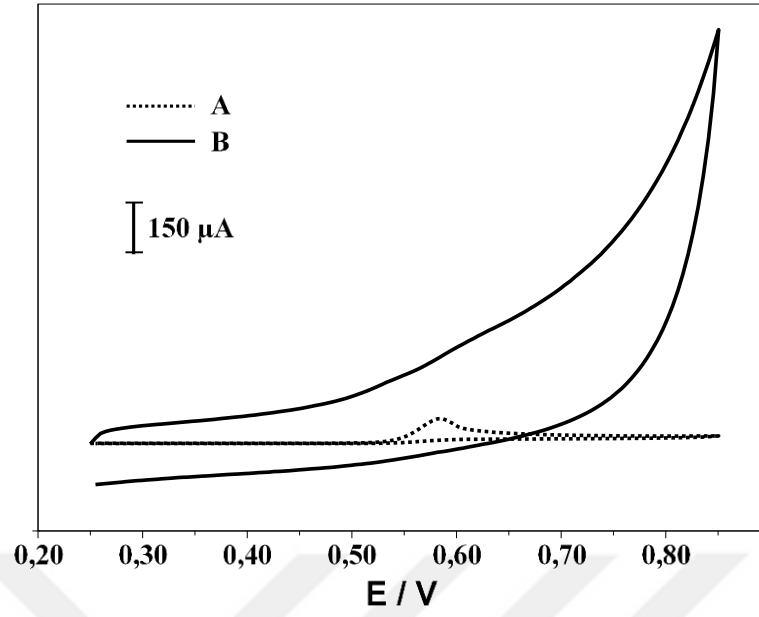
Şekil 4.2. KUG elektrodun hacimce % 5 asetonitril içeren saf su içerisinde 10 mM EDOT, $0,1 \text{ M}$ LiClO_4 ve $0,1 \text{ M}$ Na_2CO_3 varlığında elde edilen dönüşümlü voltamogramları. Tarama hızı: 50 mVs^{-1} , A: 1. Döngü, B: 2. Döngü, C: 3. Döngü

4.1.3. PEDOT-nf/KUG elektrotlarının elektrokimyasal davranışına aşırı yükseltgemenin etkisi

Hazırlanan PEDOT-nf/KUG elektrotların elektrokimyasal davranışı dönüşümlü voltametri yöntemi ile incelenmiş ve modifiye edilmeyen KUG elektrot ile karşılaştırılmıştır (Şek. 4.3). Görüldüğü gibi, KUG elektrodun dönüşümlü voltamogramında herhangi bir elektroaktivite mevcut değildir (Şek. 4.3A). Aynı şekilde PEDOT-nf/KUG elektrodun voltamogramında da herhangi bir yükseltgenme piki yer almamaktadır (Şek. 4.3B). Bu da çalışılan aralıkta, hazırlanan modifiye elektrodun elektroaktiviteye sahip olmadığını göstermektedir. Modifiye elektrotlar için bu durum elektroaktif türlerin elektrokimyasal özelliklerinin incelenmesi açısından son derece önemlidir. Çünkü modifiye elektrodun elektroaktivite göstermesi çalışma aralığını daraltır. Ayrıca, KUG ve PEDOT-nf/KUG elektrotların taban sinyalleri arasında önemli bir fark bulunmaktadır. Bu da PEDOT-nf/KUG elektrodun yüzey alanının KUG elektroda göre önemli derecede daha büyük olduğunu göstermektedir. PEDOT-nf/KUG elektrodun elektrokimyasal davranışı ürik asit içeren ortamda da incelenmiştir (Şek. 4.4). Görüldüğü gibi, ürik asit varlığında da benzer şekilde belirgin bir pik elde edilmemiştir (Şek. 4.4B). Bu da, PEDOT-nf/KUG elektrodun ürik asite cevap vermediğini göstermektedir. Bu ise istenmeyen bir durumdur.



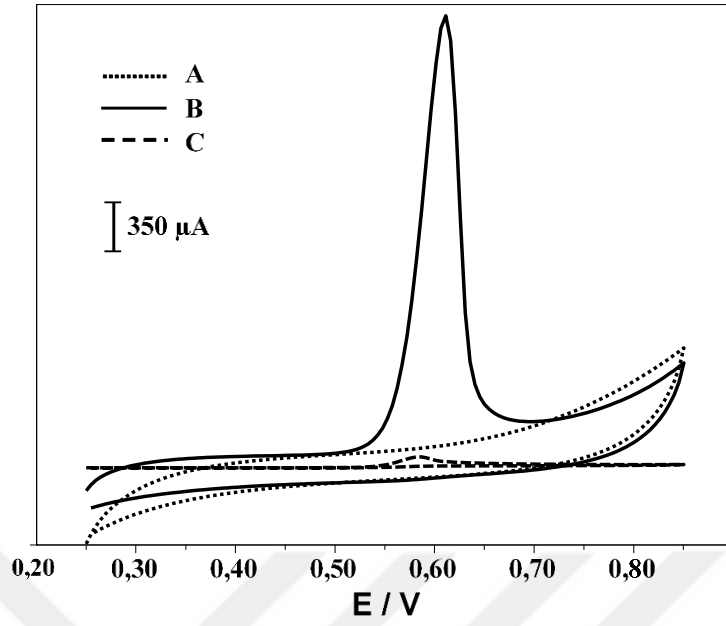
Şekil 4.3. KUG (A) ve PEDOT-nf/KUG (B) elektrodun 0,1 M fosfat tamponunda (pH 2) elde edilen dönüşümlü voltamogramları



Şekil 4.4. KUG (A) ve PEDOT-nf/KUG (B) elektrodun 50 μM ürik asit içeren 0,1 M fosfat tamponunda (pH 2) elde edilen dönüşümlü voltamogramları

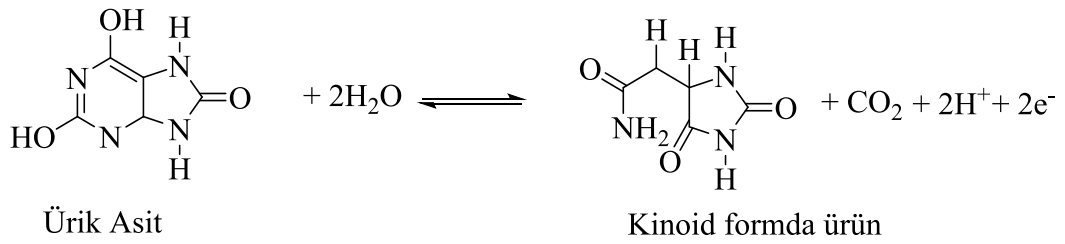
Literatürde iletken polimerlerin aşırı yükseltgendiğinde elektrokimyasal davranışlarında belirgin bir değişim olduğu pek çok kez rapor edilmiştir [137, 138]. Bu nedenle, hazırlanan PEDOT-nf/KUG elektrotlara aşırı yükseltgeme işlemi uygulanarak elektrokimyasal davranışları tekrar incelenmiştir. Elde edilen elektrotlar AY-PEDOT-nf/KUG olarak isimlendirilmiştir. AY-PEDOT-nf/KUG elektrodun elektrokimyasal davranışı ürik asit içeren ve içermeyen ortamda incelenmiş ve KUG elektrotlarla karşılaştırılmıştır (Şek. 4.5). AY-PEDOT-nf/KUG elektrot ürik asit içermeyen ortamda herhangi bir elektroaktivite göstermezken (Şek. 4.5A), ürik asit varlığında 0,611 V’da bir adet tersinmez yükseltgenme piki gözlenmiştir (Şek. 4.5B). Aynı koşullarda KUG elektrodun da 0,582 V’da ürik asite ait bir yükseltgenme piki verdiği gözlenmiştir (Şek. 4.5C). Her iki elektrodun ürik asit yükseltgenmesindeki etkinliği karşılaştırıldığında, AY-PEDOT-nf/KUG elektrodun ürik asit cevabı KUG elektroda göre yaklaşık 45 kat daha yüksek olduğu görülmüştür. Aşırı yükseltgeme işlemi uygulanan PEDOT-nf/KUG elektrodun ürik asite yüksek afinite gösterdiği belirlenmiştir. Bu sonuç, aşırı yükseltgeme işleminin PEDOT-nf/KUG elektrot için önemini göstermiştir. AY-PEDOT-nf/KUG modifiye elektrodunun ürik asite karşı olan yüksek elektroaktivitesi aşağıdaki sebeplerden kaynaklanabilir. Bunlardan biri, aşırı yükseltgeme işlemi sonucunda AY-PEDOT-nf/KUG elektrot yüzeyinde fonksiyonel grupların oluşmasıdır. Bu durum

literatürde daha önce gösterilmiş olup, PEDOT'un diğer iletken polimerlerin aksine farklı aşırı yükseltgeme özelliklerine sahip olduğu rapor edilmiştir [139]. Aşırı yükseltgeme işlemiyle PEDOT-nf/KUG yüzeyinde hidroksil ve karbonil gruplarının oluşması, ürik asitin adsorpsiyonunu arttırmıştır. Bunun sonucu olarak AY-PEDOT-nf/KUG elektrotlar, ürik asit molekülüne karşı oldukça seçici hale gelmiştir ve ürik asit yükseltgenme pik akımının artmasına sebep olmuştur. Bir diğer sebep ise, AY-PEDOT-nf/KUG modifiye elektrodunun ürik asite karşı yüksek afinitesi, bu modifiye elektrot ile ürik asit arasındaki hidrofobik etkileşimlerden kaynaklanmaktadır. PEDOT aşırı yükseltgeme işleminden sonra yapısında hidrofobik ve hidrofilik olmak üzere farkı bölgeye sahiptir [140, 141]. Bu kısımların miktarları PEDOT'un aşırı yükseltgeme derecesine bağlıdır. Hazırlanan AY-PEDOT-nf/KUG modifiye elektrotta aşırı yükseltgeme işlemi sonrasında oluşan hidrofobik kısımların miktarı, hidrofilik kısımlardan daha fazladır. Bu sonuç, AY-PEDOT-nf/KUG elektrot ile ürik asit arasındaki yüksek etkileşimin, hidrofobik etkileşimlerden kaynaklanmış olabileceğini göstermektedir. Bu durum, optimum ölçüm koşullarında (pH 2) ürik asit molekülünün temel olarak iyonize olmayan yapıda olmasından kaynaklanmaktadır ($pK_a=5.4$). Ürik asitin modifiye elektrot yüzeyinde göstermiş olduğu tersinmez yükseltgenmeye ait reksiyon mekanizması literatür çalışmalarına dayanılarak Şekil 4.6'da verilmiştir. Görüldüğü gibi, ürik asit 2 elektron ve 2 proton vererek yükseltgenmekte ve kinoid formda bir türe dönüşmektedir. Elde edilen akım bu tepkime sonucunda oluşmaktadır.

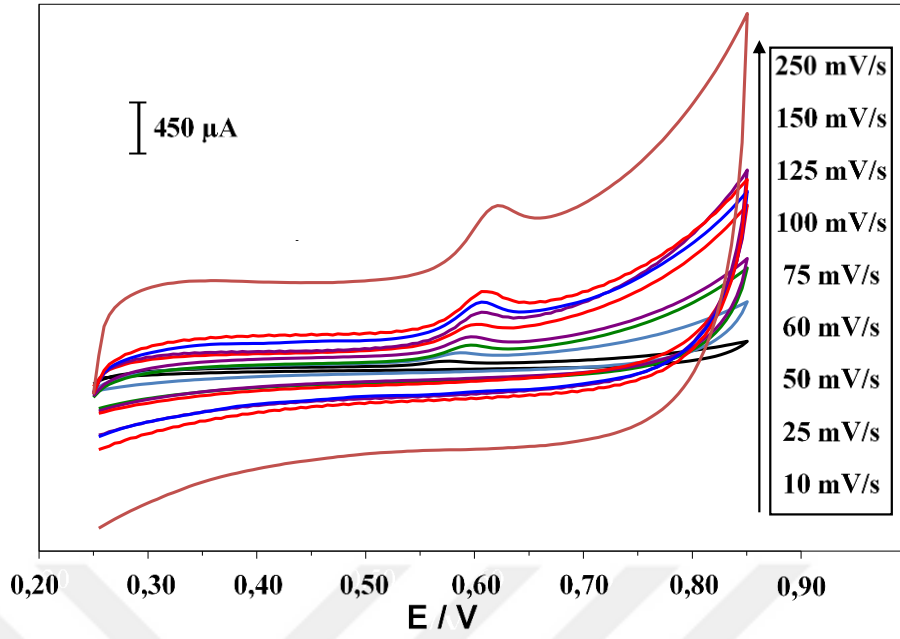


Şekil 4.5. AY-PEDOT-nf/KUG elektrodun ürik asit yokluğunda (A), AY-PEDOT-nf/KUG (B) ve KUG (C) elektrodun 50 μM ürik asit varlığında 0,1 M fosfat tamponunda (pH 2) elde edilen dönüşümlü voltamogramları

Ürik asitin elektrokimyasal reaksiyon mekanizmasının incelenmesi amacıyla, 25,0 μM ürik asit içeren çözelti içerisinde AY-PEDOT-nf/KUG elektrotlar ile farklı tarama hızlarında dönüşümlü voltametri ölçümleri gerçekleştirilmiştir (Şek. 4.7). Tarama hızı ve pik akımları arasında hesaplanan doğrusal ilişki, ürik asitin adsorpsiyon kontrollü reaksiyon mekanizmasına sahip olduğunu göstermektedir.

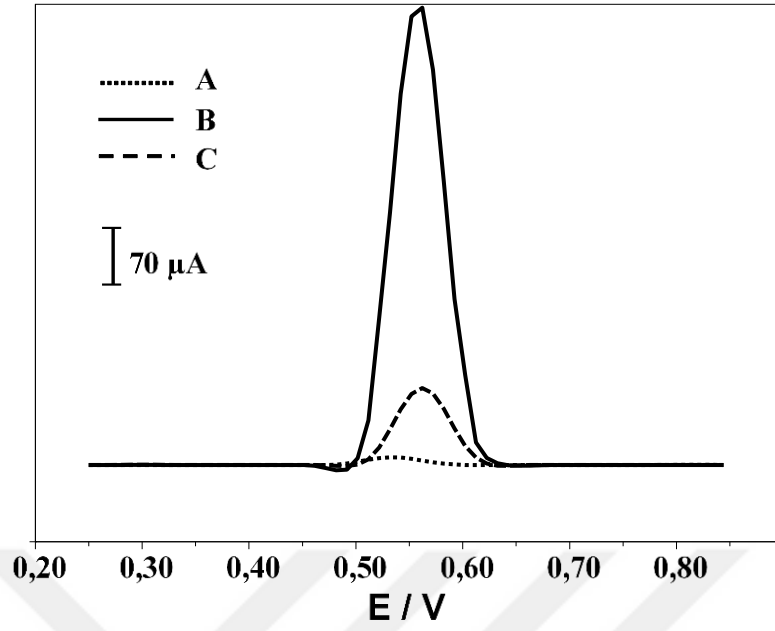


Şekil 4.6. Ürik asit molekülünün yükseltgenme mekanizması



Şekil 4.7. AY-PEDOT-nf/KUG elektrodun 25,0 μM ürik asit içeren fostat tamponunda (pH 2) farklı tarama hızlarında elde edilen dönüşümlü voltamogramları

Ayrıca ürik asitin elektrokimyasal yükseltgenmesinde AY-PEDOT-nf/KUG modifiye elektrodunun daha yüksek cevap verdiğini göstermek amacıyla, aşırı yükseltgeme işlemi uygulanmış polipirol nanofiber modifiye kalem ucu grafit elektrot (AY-PP-nf/KUG), hazırlanmıştır. Bu amaçla KUG, AY-PP-nf/KUG ve AY-PEDOT-nf/KUG elektrotlarının ürik asit yükseltgenme pik akım cevapları DPV yöntemi kullanılarak karşılaştırılmıştır (Şek. 4.8). Şekilde görüldüğü gibi AY-PEDOT-nf/KUG elektrot, modifiye edilmemiş KUG elektroda göre ürik asit molekülüne, yaklaşık 80 kat daha yüksek cevap vermiştir. Aynı zamanda AY-PP-nf/KUG elektrodun ürik asit yükseltgenmesine karşı olan aktivitesi, AY-PEDOT-nf/KUG elektroda göre 7 kat daha az olduğu görülmektedir. Bu durum, AY-PEDOT-nf/KUG elektrodun AY-PPy-nf/KUG elektroda göre oldukça yüksek iletkenliğe sahip olduğunu göstermektedir. Çünkü AY-PEDOT-nf diğer iletken polimerlere oranla aşırı yükseltgeme işlemine daha dayanıklıdır. Aşırı yükseltge işlemi hazırlanan modifiye polimer elektrodun yapısını bozmamış, daha iletken bir yapıya sahip olmasına neden olmuştur.



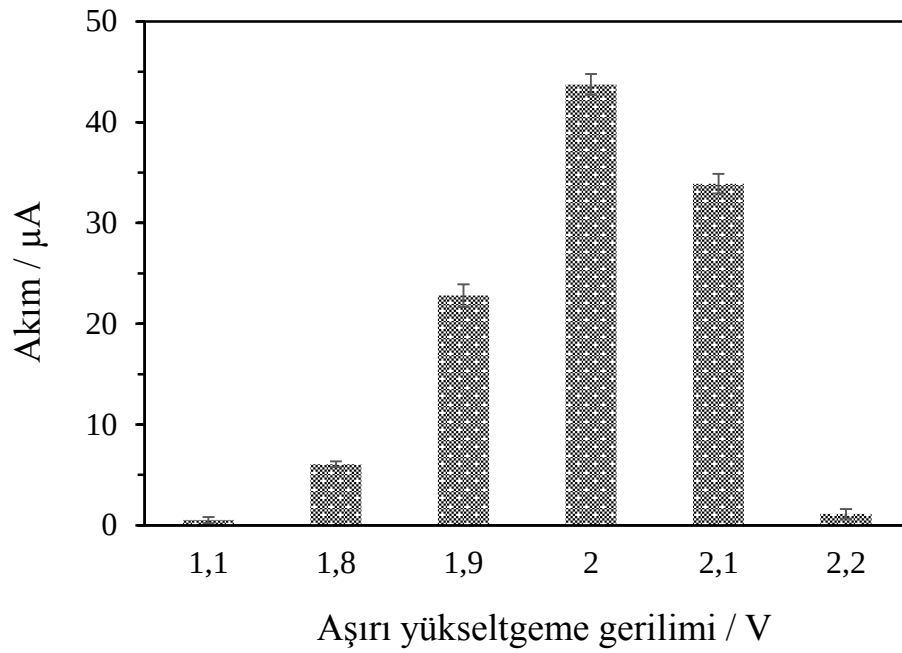
Şekil 4.8. KUG(A), AY-PEDOT/KUG (B) ve AY-PPy/KUG (C) elektrotlarının 5,0 μM ürik asit içeren fosfat tamponunda (pH 2) elde edilen diferansiyel puls voltamogramları (Bekleme süresi: 120 s; Karıştırma hızı: 250 rpm)

4.1.4. Aşırı yükseltgeme koşullarının optimizasyonu

Modifiye elektrotların ürik asit cevabını arttırabilmek için aşırı yükseltgeme sürecine etki eden parametreler; aşırı yükseltgeme gerilimi, aşırı yükseltgeme süresi ve aşırı yükseltgeme ortam pH'sı sırası ile optimize edilmiştir.

4.1.4.1. Aşırı yükseltgeme geriliminin optimizasyonu

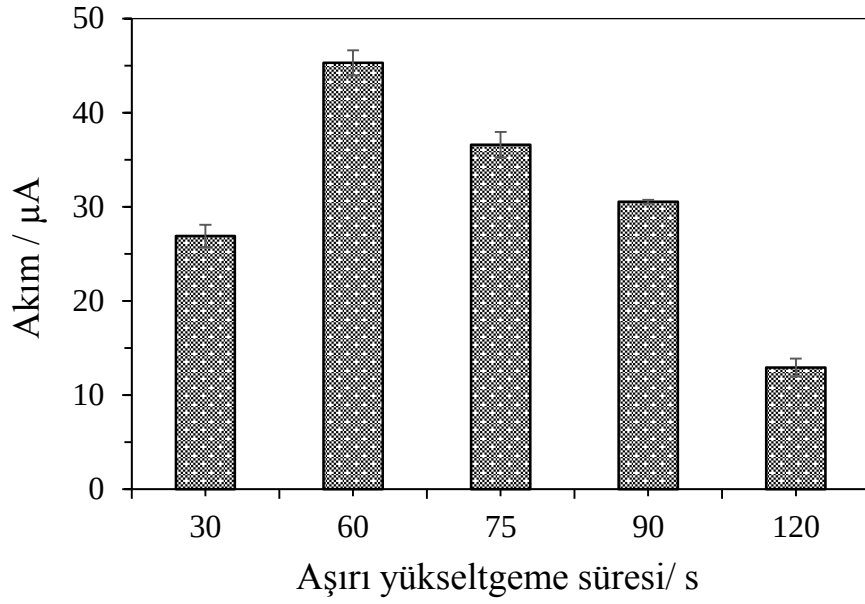
Aşırı yükseltgeme geriliminin AY-PEDOT-nf/KUG elektrotların ürik asit cevaplarına etkisinin incelenmesi amacıyla gerçekleştirilen çalışmada, PEDOT-nf/KUG elektrotlara farklı gerilim değerlerinde 60 saniye süreyle aşırı yükseltgeme işlemi uygulanmıştır. Bu şekilde hazırlanan elektrotlar kullanılarak 5,0 μM ürik asit içeren çözeltide diferansiyel puls voltametri ölçümleri gerçekleştirilmiştir. Farklı gerilim değerlerinde hazırlanan elektrotlarla elde edilen pik akımları Şekil 4.9'da verilmiştir. Görüldüğü gibi, uygulanan gerilim değeri 1,1 V'dan basamaklı olarak 2,0 V'a arttırıldığında akım değerinde önemli bir artış meydana gelmektedir. 2,0 V'dan itibaren gerilim artışı ile akım değerlerinin azaldığı gözlenmiştir. Bu nedenle optimum aşırı yükseltgeme gerilimi olarak 2,0 V seçilmiştir.



Şekil 4.9. Farklı gerilimlerde aşırı yükseltgenmiş AY-PEDOT-nf/KUG elektrotların 0,1 M fosfat tamponunda (pH 2) elde edilen 5,0 µM ürik asite ait yükseltgenme pik akımları

4.1.4.2. Aşırı yükseltgeme süresinin optimizasyonu

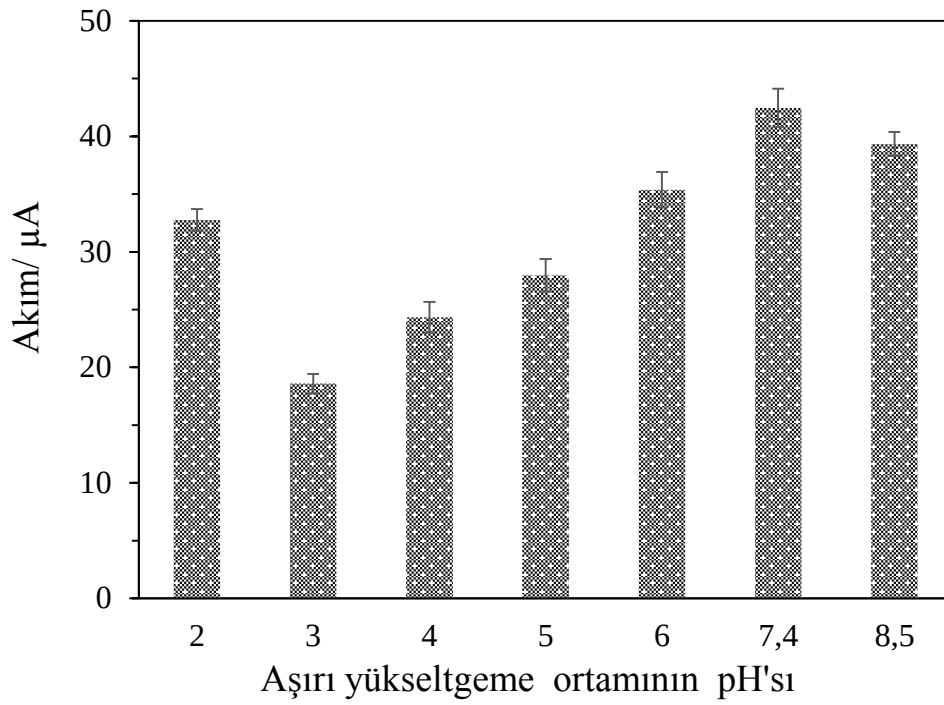
Aşırı yükseltgeme geriliminin optimizasyonundan sonra, aşırı yükseltgeme süresinin optimizasyonu gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla, PEDOT-nf/KUG elektrotlar 2,0 V'da farklı sürelerde tutularak aşırı yükseltgeme işlemi uygulanmıştır. Bu şekilde hazırlanan elektrotlar kullanılarak 5,0 µM ürik asit içeren çözeltide diferansiyel puls ölçümleri gerçekleştirilmiştir. Elde edilen akım değerleri Şekil 4.10'da verilmiştir. Görüldüğü gibi, aşırı yükseltgeme 2,0 V'da 30, 60, 75, 90 ve 120 saniye boyunca gerçekleştirilmiştir. 60 saniye boyunca uygulanan aşırı yükseltgeme işleminde, ürik asit yükseltgenme pik akımının en yüksek olduğu ve bu değerden sonra yükseltgenme pik akım değerlerinin giderek azaldığı belirlenmiştir. Bu nedenle, optimum aşırı yükseltgeme süresi olarak 60 saniye seçilmiştir.



Şekil 4.10. Farklı sürelerde aşırı yükseltgeme işlemi uygulanmış PEDOT-nf/KUG elektrotlar kullanılarak 0,1 M fosfat tamponunda (pH 2) 5,0 μ M ürik asit varlığında elde edilen yükseltgenme pik akımları

4.1.4.3. Aşırı yükseltgeme ortam pH'sının optimizasyonu

Aşırı yükseltgeme geriliminin ve uygulanma süresinin optimizasyonundan sonra, aşırı yükseltgeme işleminin yapıldığı ortamın pH'sı optimize edilmiştir. Ortam pH'sının etkisi, PEDOT-nf/KUG elektrotlara 2,0 V gerilimde 60 saniye süresince farklı pH'daki fosfat tamponlarında (2, 3,3 4, 5, 6, 7,4 ve 8,5) aşırı yükseltgeme işlemi uygulanarak incelenmiştir. Bu şekilde hazırlanan modifiye elektrotlar kullanılarak 5,0 μ M ürik içeren çözeltide diferansiyel puls ölçümleri gerçekleştirilmiştir. Elde edilen pik akım değerleri Şekil 4.11'de verilmiştir. Görüldüğü gibi, uygulanan aşırı yükseltgeme işleminde, ürik asit yükseltgenme pik akımı pH 3'ten başlayarak artmakta ve 7,4'te en yüksek değerine ulaşmaktadır. Daha yüksek pH'da bu cevapların düştüğü gözlenmiştir. Bu nedenle pH 7,4 aşırı yükseltgeme pH'sı olarak seçilmiştir.



Şekil 4.11. Farklı pH değerlerinde aşırı yükseltgenmiş PEDOT-nf/KUG elektrotlar kullanılarak 0,1 M fosfat tamponunda elde edilen 5,0 μM ürik asite ait yükseltgenme pik akımları

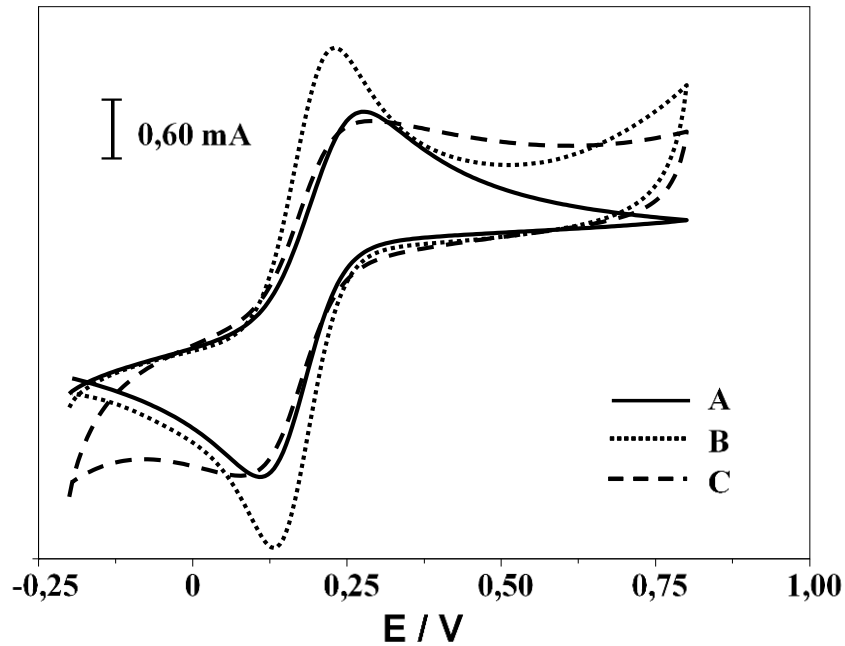
4.1.5. PEDOT-nf/KUG ve AY-PEDOT-nf/KUG elektrotların karakterizasyon çalışmaları

PEDOT-nf/KUG, AY-PEDOT-nf/KUG elektrotların karakterizasyonu amacıyla dönüşümlü voltametri, elektrokimyasal impedans spektroskopisi, infrared spektroskopisi, Raman spektroskopisi ve taramalı elektron mikroskopi analizleri gerçekleştirilmiştir.

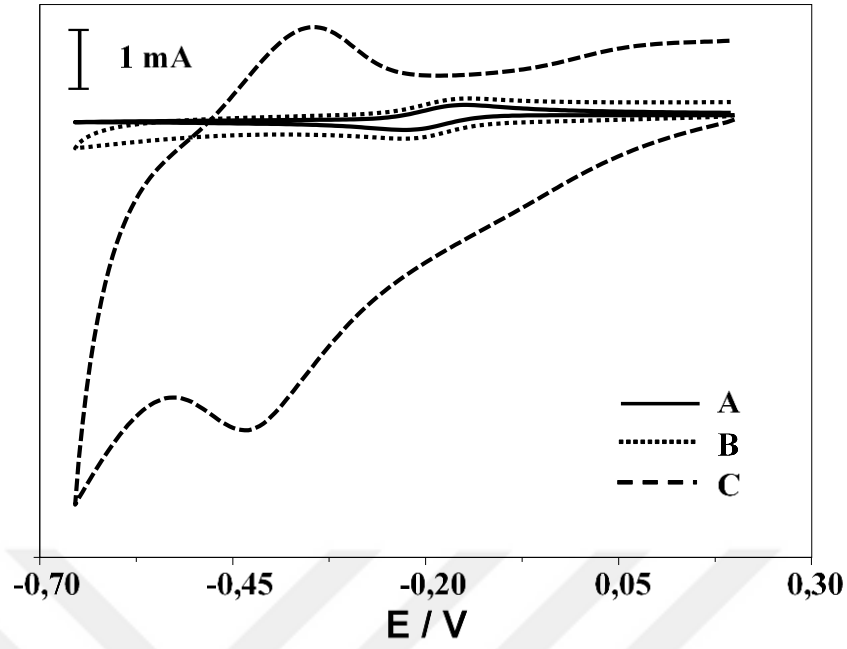
4.1.5.1 Modifiye elektrotların dönüşümlü voltametri ölçümleri

Elektrokimyasal karakterizasyon çalışmaları 0,1 M KCl içeren 2,5 mM $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-/4-}$ ve 1,0 mM $\text{Ru}(\text{NH}_3)_6^{3+}$ çözeltileri içerisinde dönüşümlü voltametri yöntemi kullanılarak gerçekleştirilmiştir. 2,5 mM $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-/4-}$ içeren çözelti içerisinde KUG, PEDOT-nf/KUG ve AY-PEDOT-nf/KUG elektrotlar ile elde edilen voltamogramlar Şekil 4.12’de gösterilmektedir. Elde edilen voltamograma göre; KUG elektrot kullanıldığında $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-/4-}$ redoks çifti için yükseltgenme ve indirgenme pik gerilim değerleri sırasıyla +0.278 V ve +0,110 V olarak belirlenmiş ve ΔE_p değeri 0,168 V olarak bulunmuştur (Şek. 4.12A). PEDOT-nf/KUG’de ise bu yükseltgenme ve indirgenme pik

gerilim değerleri sırasıyla +0,231 V ve +0,132 V olarak bulunmuş ve ΔE_p değeri 0,099 V olarak hesaplanmıştır (Şek. 4.12B). ΔE_p değerinin kalem ucu elektrot yüzeyinde PEDOT-nf'nin varlığında düşmesi, modifiye elektrotta elektron transferinin daha kolay gerçekleştiğini göstermektedir. Pik akımlarının artması ise PEDOT-nf varlığında elektrot yüzey alanının arttığını göstermektedir. AY-PEDOT-nf'nin $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-/4-}$ çözeltisi içerisinde elektrokimyasal davranışı incelendiğinde ΔE değeri 0,206 V olarak hesaplanmış ve elektron aktarım hızının azaldığı görülmüştür (Şek. 4.12C). Dönüşümlü voltametri ölçümleri pozitif yüklü $\text{Ru}(\text{NH}_3)_6^{3+}$ redoks molekülü varlığında tekrarlanmıştır. KUG varlığında indirgenme ve yükseltgenme pik gerilim değerleri sırasıyla -0,226 V ve -0,148 V olarak belirlenmiştir (Şek. 4.13A). PEDOT-nf ile modifiye edilen KUG elektrot ile alınan voltamogram incelendiğinde, redoks davranışlarının boş KUG elektrot ile hemen hemen aynı olduğu görülmektedir. (Şek. 4.13B). Buna karşın, AY-PEDOT-nf/KUG varlığında yükseltgenme ve indirgenme piklerinin oldukça farklı özellik gösterdiği ve sırası ile -0,452 V ve -0,350 V gerilim değerlerine kaydığı görülmektedir (Şek. 4.13C). Elde edilen voltamogramda pik akım değerlerinin önemli derecede arttığı görülmektedir. Bu sonuç, aşırı yükseltgeme işlemi sonucunda PEDOT-nf/KUG elektrot yüzeyinde negatif fonksiyonel grupların oluştuğunu ve AY-PEDOT-nf/KUG yüzeyinin PEDOT-nf/KUG elektroda nazaran negatif yüklü fonksiyonel grup içerdiğini göstermektedir.



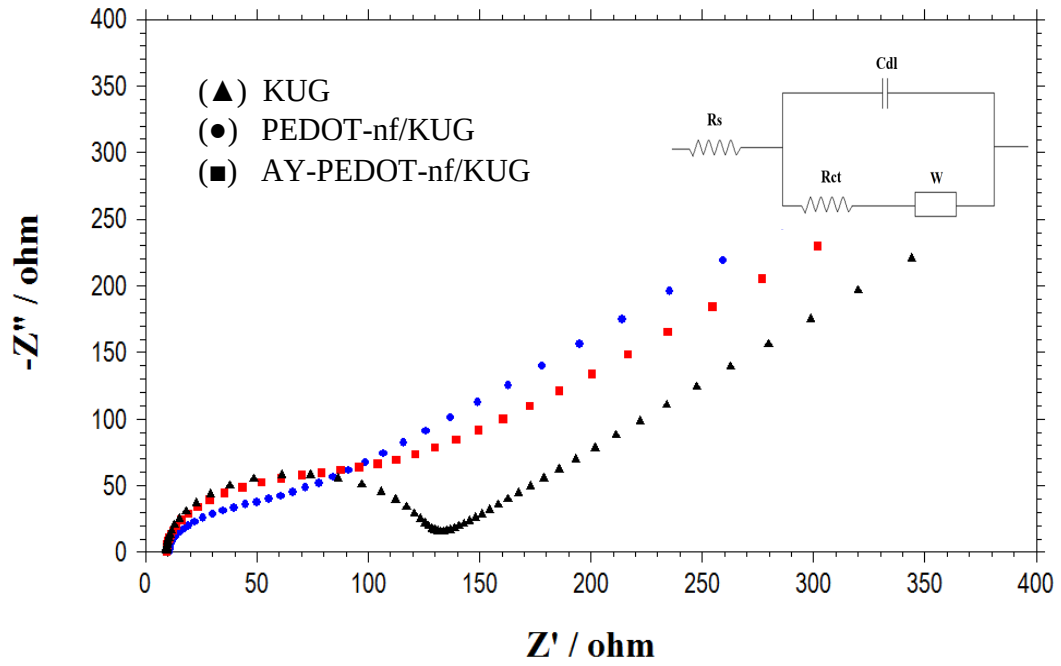
Şekil 4.12. (A) KUG, (B) PEDOT-nf/KUG ve (C) AY- PEDOT-nf/KUG elektroda ait 0,1 M KCl ve 2,5 mM $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-/4-}$ içeren çözelti içerisindeki davranışlarının voltamogramları



Şekil 4.13. (A) KUG, (B) PEDOT-nf/KUG ve (C) AY- PEDOT-nf/KUG elektroda ait 0,1 M KCl ve 1,0 mM $\text{Ru}(\text{NH}_3)_6^{3+}$ içeren çözelti içerisindeki davranışlarının voltamogramları

4.1.5.2. Modifiye elektrotların elektrokimyasal impedans spektroskopisi ölçümleri

KUG, PEDOT-nf/KUG ve AY-PEDOT-nf/KUG elektrotların elektron aktarım özellikleri elektrokimyasal empedans spektrokopi (EIS) yöntemi kullanılarak incelenmiştir. 5 mM $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-/4-}$ ve 0,1 M KCl içeren sulu çözeltide gerçekleştirilen ölçümler sonucunda elde edilen Nyquist diyagramları Şekil 4.14'te verilmiştir. Elektrotlar için empedans devre elamanlarının eş değer devreye fit edilmiş değerleri ise Çizelge 4.1'de verilmiştir. EIS ölçümleri sonucunda, KUG, PEDOT-nf/KUG ve AY-PEDOT-nf/KUG elektrotların yük-transfer dirençleri sırasıyla 114,5 Ω , 42 Ω ve 91,51 Ω olarak bulunmuştur. PEDOT-nf/KUG elektrodun yük-transfer direncinin KUG elektrot ile kıyaslandığında azaldığı gözlenmektedir. Bu sonuç, PEDOT-nf/KUG elektrodunun elektron transfer aktarımını arttırdığını göstermektedir. Buna karşılık, AY-PEDOT-nf/KUG elektrodun yük-transfer direncinin, PEDOT-nf/KUG elektrot ile kıyaslandığında arttığı gözlenmiştir. Aşırı yükseltgeme işlemi elektron transfer aktarımını azaltmıştır. Elde edilen sonuçlar modifiye elektrotların $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-/4-}$ redoks çiftini içeren çözeltide alınan dönüşümlü voltamogramları ile tutarlıdır. Sonuç olarak, hazırlanan PEDOT-nf ve aşırı yükseltgeme işlemi uygulanmış PEDOT-nf'in, boş kalem ucu elektrodun elektrokimyasal davranışını önemli ölçüde değiştirdiği söylenebilir.



Şekil 4.14. KUG, PEDOT-nf/KUG ve AY-PEDOT-nf/KUG'nin 0,1 M KCl ve 5 mM $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-/4-}$ içeren sulu çözeltide empedans ölçümleriyle elde edilen Nyquist diyagramları

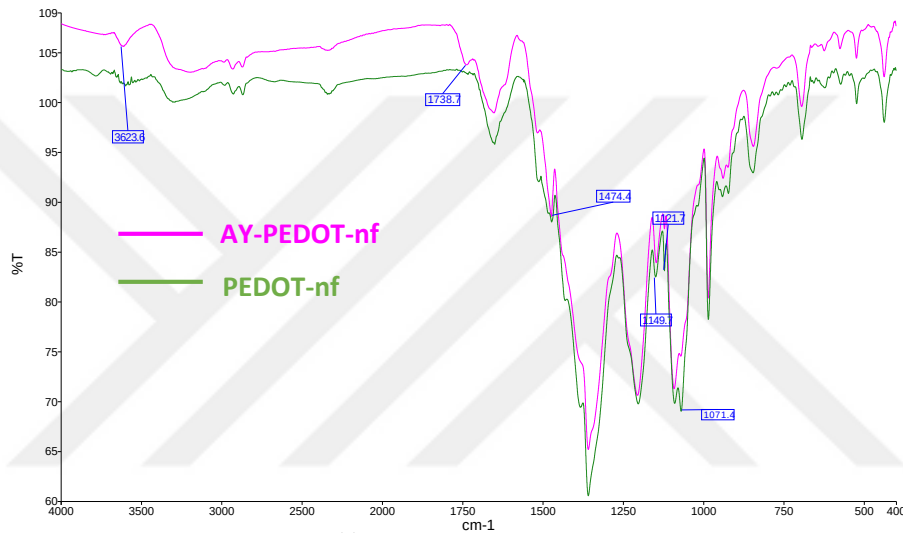
Çizelge 4.1. Elektrotlar için empedans devre elamanlarının eş değer devreye fit edilmiş değerleri

Elektrot	R_s (Ω)	R_{ct} (Ω)	C_{dl} (F)	W
KUG	9,337	114,5	$1,89 \times 10^{-6}$	0,005096
PEDOT-nf/KUG	10,69	42	0,0006208	0,008183
AY-PEDOT-nf/KUG	9,932	91,51	0,0002999	0,005498

4.1.5.3. Modifiye elektrotların FTIR ölçümleri

Aşırı yükseltgeme işleminin elektrot yüzeyinde farklılığa neden olup olmadığının incelenmesi amacıyla PEDOT-nf/KUG ve AY-PEDOT-nf/KUG elektrotların FTIR ölçümleri gerçekleştirilmiştir. Ölçümler sonucu alınan spektrumlarda, PEDOT-nf/KUG ve AY-PEDOT-nf/KUG elektrotlar arasında küçük farklılıklar olduğu görülmektedir. (Şek. 4.14). PEDOT-nf/KUG ve AY-PEDOT-nf/KUG elektrotların FTIR ölçümlerinde; $631,31\text{-}694,06\text{ cm}^{-1}$, $846,00\text{-}844,47\text{ cm}^{-1}$ ve $984,89\text{-}985,21\text{ cm}^{-1}$ değerlerindeki pikler C-S-C gerilmesini göstermektedir [142, 143]. Bu ölçümlerde; $1203,43\text{-}1205,76$, $1148,81\text{-}1147,30\text{ cm}^{-1}$, $1089,83\text{-}1091,71$ ve $1069,66\text{-}1070,12\text{ cm}^{-1}$ değerlerindeki pikler etilendioksi grubundaki C-O-C moleküllerinin titreşimini göstermektedir [142-144]. Ayrıca; $1513,14\text{-}1514,29$ ve $1473,07\text{-}1470,30\text{ cm}^{-1}$ değerlerindeki pikler tiyofen halkalarının gerilmesini göstermektedir [143]. FTIR spektrumlarında $1359,03\text{-}1358,87$

cm^{-1} değerindeki pik C-C ve C=C kinoid yapıların titreşim gerilim değerlerini göstermektedir (Şek. 4.15). Ayrıca 1650,93-1651,19 cm^{-1} değerindeki pik aşırı yükseltgeme işleminden dolayı polimer yapısındaki C=O gruplarının varlığını göstermektedir [143]. 1740,2 cm^{-1} değerinde yeni pikin oluşumu aşırı yükseltgeme işleminden sonra gözlemlenmiştir (Şek. 4.15). Bu pik halkalı esterlerin karbonil gruplarının gerilmesinden meydana gelmektedir. Bu durum, aşırı yükseltgeme işlemi süresince EDOT'un etilendioksi grupları üzerinde lakton gruplarının oluşumunu göstermektedir [139].



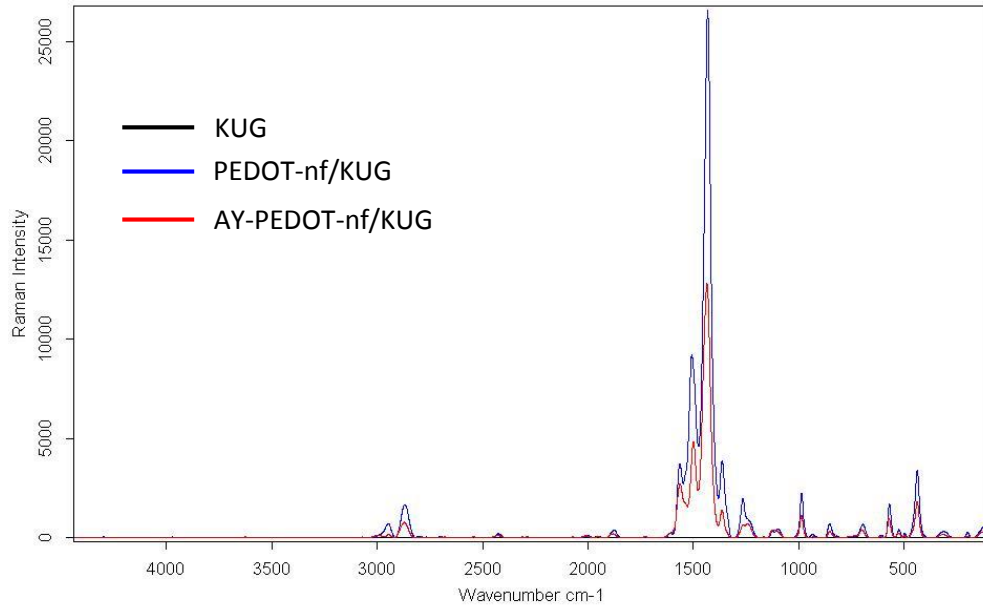
Şekil 4.15. PEDOT-nf/KUG ve AY- PEDOT-nf/KUG elektrotlara ait FTIR spektrumları

4.1.5.4. Modifiye elektrotların Raman spektroskopisi ölçümleri

Modifiye elektrotlar ve boş KUG elektrotların kimyasal yapılarındaki değişikliğin incelenmesi amacıyla Raman spektrumları alınmıştır. PEDOT-nf/KUG, AY- PEDOT-nf/KUG ve KUG elektrotların raman spektrumları Şekil 4.16'da gösterilmiştir. Raman spekturumları incelendiğinde boş KUG elektrodun kayda değer bir pik vermediği görülmektedir. Buna karşılık; PEDOT-nf ve AY-PEDOT-nf modifiye elektrotlara ait aromatik C=C bağının simetrik gerilimi sırasıyla 1432,79 ve 1435,80 cm^{-1} değerlerinde gözlenmektedir. PEDOT-nf için 1432,79 cm^{-1} 'de gözlenen pik değeri, AY-PEDOT-nf /KUG elektrodu için 1435,80 cm^{-1} 'e kaymıştır. Aşırı yükseltgeme işlemi sonrasında bu pikin yoğunluğu önemli derecede azalmıştır. Bun durum, aşırı yükseltgeme işleminden sonra konjugasyonda meydana gelen değişikliklerden kaynaklanmaktadır. PEDOT-nf/AY-PEDOT-nf için 1564,77-1563,79; 1363,91-1364,87 ve 1265,43-1264,42 cm^{-1}

değerlerinde görülen pikler sırasıyla antisimetrik $C_{\alpha}-C_{\alpha}$ gerilimini, $C_{\beta}-C_{\beta}$ gerilim deformasyonunu ve $C_{\alpha}-C_{\alpha}$ zincirler arası gerilim titreşimlerini göstermektedir. 1563,79 cm^{-1} deki pikin şiddetinde az miktarda artış ve aşırı yükseltgeme işleminden dolayı bu pikte kayma gözlenmiştir. Bu sonuç, PEDOT-nf yüzeyinde aşırı yükseltgeme işleminin gerçekleştiğini göstermektedir [145]. PEDOT-nf/AY-PEDOT-nf polimerlerinin Raman spektrumlarındaki 986,64-987,70 ve 570,08-571,93 cm^{-1} değerindeki pikler oksitilen halka deformasyonundan kaynaklanmaktadır [146].

Sonuç olarak, FTIR ve Raman spektrumlarına dayanarak aşırı yükseltgeme işleminden sonra PEDOT-nf yapısında oksijen içeren grupların oluştuğu söylenebilir.

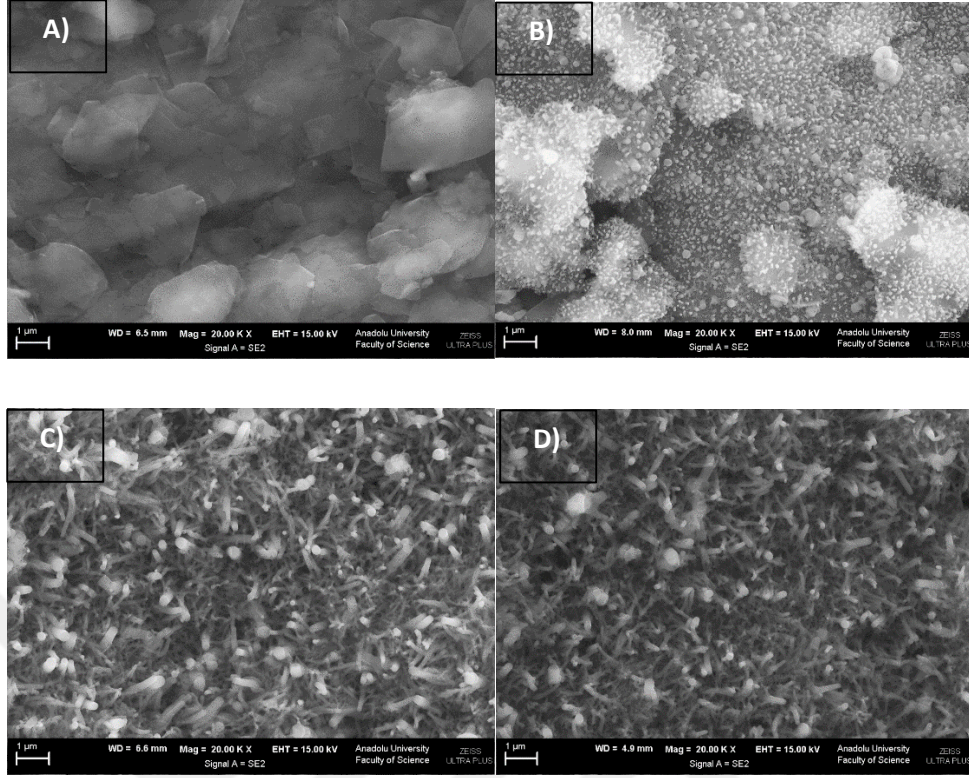


Şekil 4.16. KUG, PEDOT-nf/KUG ve AY-PEDOT-nf/KUG elektrotların Raman spektrumları

4.1.5.5. Modifiye elektrotların SEM analizleri

KUG, PEDOT-nf/KU ve AY-PEDOT-nf/KUG elektrotlarının yüzey morfolojileri SEM yöntemi kullanılarak incelenmiştir (Şek. 4.17). Şekil 4.17A'da görüldüğü üzere KUG yüzeyi, grafit tabakalarının rastgele dağılımından dolayı pürüzlü bir yapıya sahiptir. EDOT monomerinin elektrokimyasal polimerizasyon sonucunda KUG elektrot yüzeyinde PEDOT polimer yapısını oluşturduğu görülmektedir (Şek. 4.17B). PEDOT; asetonitril içeren ortamda hazırlandığında, yapısında karnabahar şeklinde fiberlerin oluştuğu gözlenmiştir. [139, 147]. Ayrıca polipirrolün polimerizasyonunda destek

elektrolit olarak LiClO_4 ve Na_2CO_3 karışımı kullanıldığı zaman, polimerin nanofiber yapıda oluştuğu daha önceki çalışmalarda rapor edilmiştir. Polipirolün karbonat iyonları ile katkılандığı elektrokimyasal polimerizasyonda, elektroaktivitesini kaybettiği literatürde yer almaktadır [148, 149]. Benzer şekilde karbonat iyonları ile katkılanmış PEDOT polimerizasyon boyunca elektro aktivite göstermez. Oysa polimer zincirlerinin büyümesi, polimer-elektrot arayüzeyinde kontrol edilebilmektedir. Bu ara yüzeyde oluşan yeni EDOT birimleri, polimer zincirlerinin büyümesine ve daha büyük PEDOT filminin oluşumuna sebep olmaktadır. Bu durum, polimer zincirlerinin çarpraz bağlanmasını engellemektedir. KUG elektrot yüzey yapısı nedeniyle, belirli bir polimerizasyon zamanından sonra yüzeyde PEDOT nanofiberlerinin oluşumu durmaktadır. Yani elektrot yüzeyi tamamen polimerle kaplanmış olmakta ve polimer yüzeyde grafit yüzeyden bağımsız olarak oligomer yapıların oluşumu başlamaktadır. Oluşan bu oligomer yapılar yüzeyin aktivitesini engelleyerek, yüzeyin elektriksel iletkenliğini düşürmektedir. Elektrot materyalinin parafilm gibi iletken olmayan kısımlar içerdіği durumlarda oluşan polipirol nanofiber yapısı daha önceki çalışmalarda rapor edilmiştir [148, 149]. KUG elektrot yapısında silikon dioksit gibi iletken olmayan bileşenler içermektedir. Bu iletken olmayan bileşenler PEDOT nanofiberlerinin oluşumunda pay sahibidir. Nano fiberlerin daha fazla oluşumu ve büyümesi polimerizasyon işlemindeki döngü sayısının artırılması ile gerçekleşmektedir (Şek. 4.17C). Elektrokimyasal polimerizasyon sonucu elde edilen nanofiberler 80-100 nM çapında ve fırça yapısında oluştuğu görülmektedir. Oluşan nanofiberler filmler arasındaki boşlukların oldukça az olduğu şekilde rahatlıkla görülmektedir. Bu sonuçlar neticesinde PEDOT-nf'nin KUG elektrodun yüzeyinde oluşturulması yüzey alanını arttırmıştır. Yüzey alanındaki bu artış, hazırlanan modifiye elektrodun ürik asit molekülüne olan hassasiyetini önemli derecede arttırmıştır. Ayrıca KUG elektrot yüzeyinde oluşan PEDOT-nf polimerinin aşırı yükseltgendiği koşullarda elde edilen AY-PEDOT-nf/KUG elektrotların da SEM görüntüleri alınmıştır. Aşırı yükseltgeme işleminin modifiye elektrodun morfolojisine olan etkisi incelenmiştir (Şek. 4.17D). Sonuç olarak, aşırı yükseltgeme işleminin, PEDOT-nf yüzey morfolojisinde önemli bir değişikliğe sebep olmadığı gözlenmiştir.

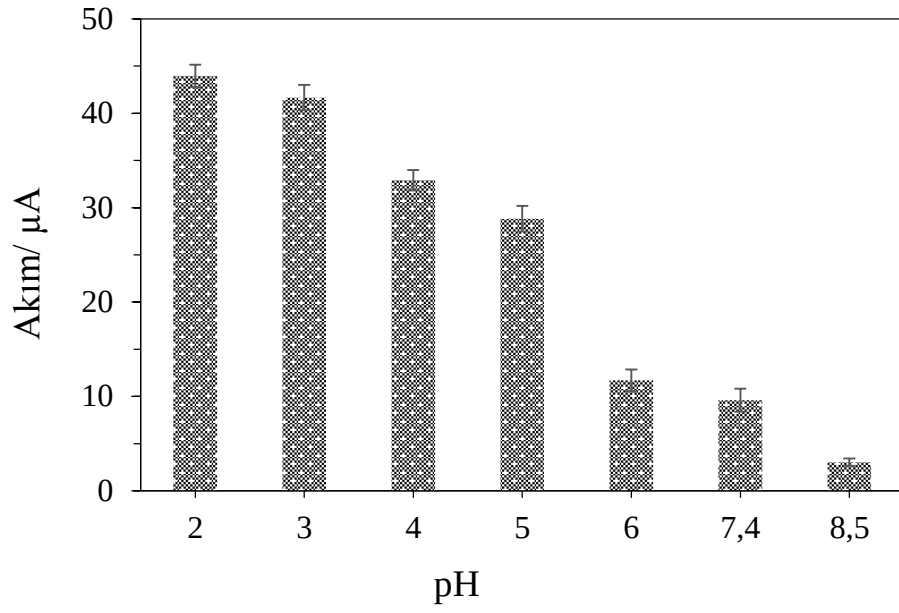


Şekil 4.17. KUG (A), 3 döngü ile hazırlanan PEDOT-nf/KUG (B), 20 döngü ile hazırlanan PEDOT-nf/KUG (C) ve 2V gerilim değerinde 60 saniye aşırı yükseltgeme ile hazırlanan AY-PEDOT-nf/KUG (D) elektrotlarının SEM görüntüleri

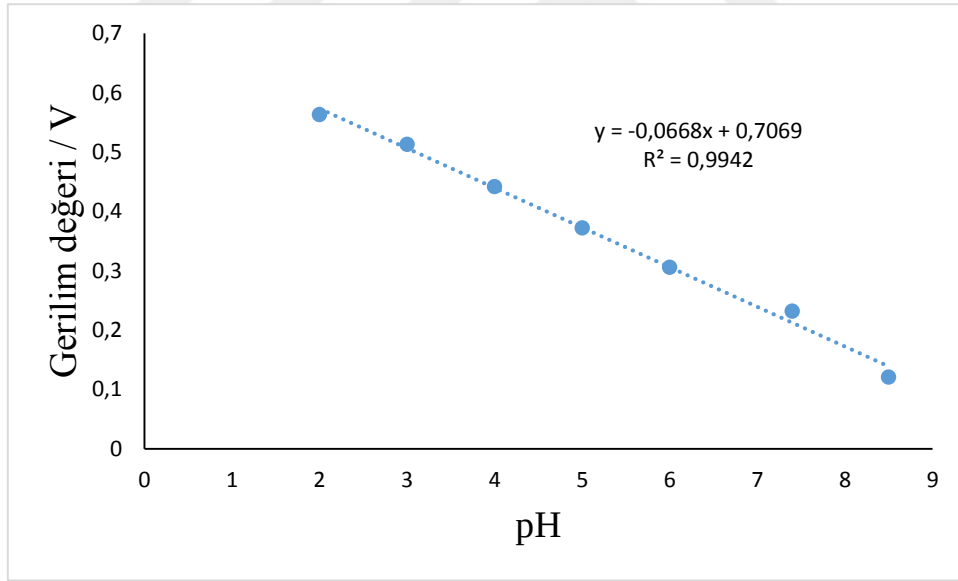
4.1.6. Ürik asit tayini için analiz koşullarının optimizasyonu

4.1.6.1. Ölçüm ortamının pH'sının optimizasyonu

AY-PEDOT-n/KUG elektrotların elektrokimyasal davranışları ürik asit varlığında farklı pH'larda DPV yöntemiyle incelenmiştir. Bu amaçla farklı pH'lardaki (2, 3, 4, 5, 6, 7,4, ve 8,5) fosfat tamponlarında ürik asit yükseltgenme pik akımları ölçülerek grafiğe geçirilmiştir (Şek. 4.18). Ölçüm pH'nın 2 olduğu durumda ürik asit yükseltgenme pik akımının en yüksek değerde olduğu ve pH'nın artmasıyla beraber bu cevabın giderek azaldığı gözlenmiştir. Bu nedenle ürik asit tayini için en uygun pH değerinin 2 olduğuna karar verilmiştir.



Şekil 4.18. AY-PEDOT-nf/KUG elektrotların farklı pH değerlerinde elde edilen 5,0 μM ürik asite ait yükseltgenme pik akımları (Bekleme süresi: 60 s)



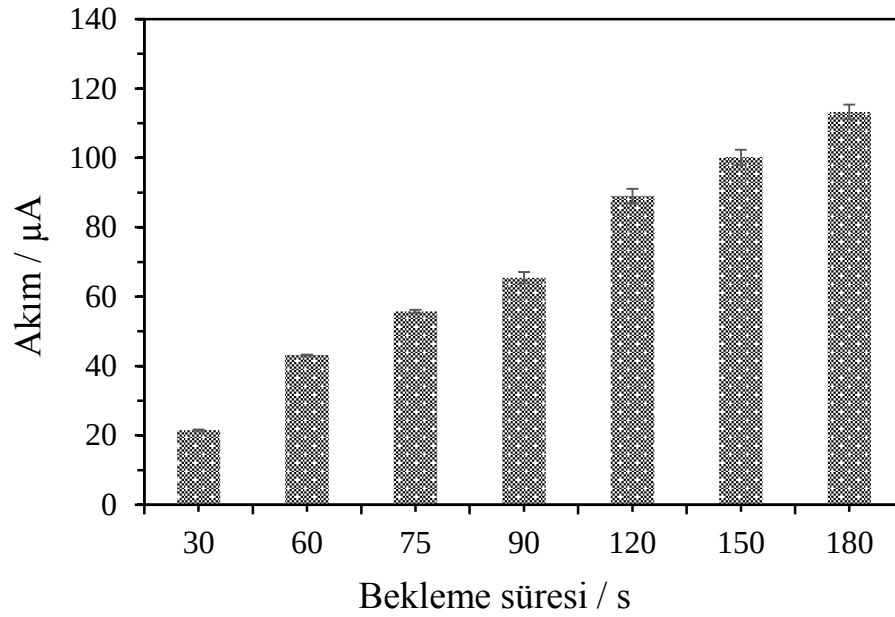
Şekil 4.19. AY-PEDOT-nf/KUG elektrotlar ile farklı pH değerlerinde elde edilen ürik asite ait yükseltgenme pik gerilimleri

Ürik asit yükseltgenme pik gerilimleri ölçüm ortam pH'sına karşı grafiğe geçirilmiştir (Şek. 4. 19). Grafikte görüldüğü üzere, pik akımları ile pH arasındaki ilişki doğrusallık göstermektedir. Elde edilen doğrunun eğimi 0,0668 V olarak hesaplanmıştır.

Bu değer, ürik asitin yükseltgenmesinde eşit sayıda elektron ve proton yer aldığını belirtmektedir.

4.1.6.2. Temas süresinin optimizasyonu

Ölçüm ortam pH'sının optimizasyonundan sonra temas süresinin optimizasyonuna geçilmiştir. Bu amaçla, AY-PEDOT-nf/KUG elektrotlar 5,0 μM ürik asit içeren fosfat tamponunda (pH 2) farklı sürelerde (30, 60, 75, 90, 120 ve 180 s) bekletilmiş ve DPV ölçümleri gerçekleştirilmiştir. Elde edilen ürik asit yükseltgenme pik akımları temas sürelerine karşı grafiğe geçirilmiştir (Şek. 4.20). Ürik asit yükseltgenme pik akımının temas süresiyle doğru orantılı olarak arttığı gözlenmiştir. Bu nedenle ölçümün, mümkün olan en kısa sürede ve en hassas şekilde yapılabilmesi amacıyla optimum bekleme süresi olarak 180 saniye seçilmiştir.

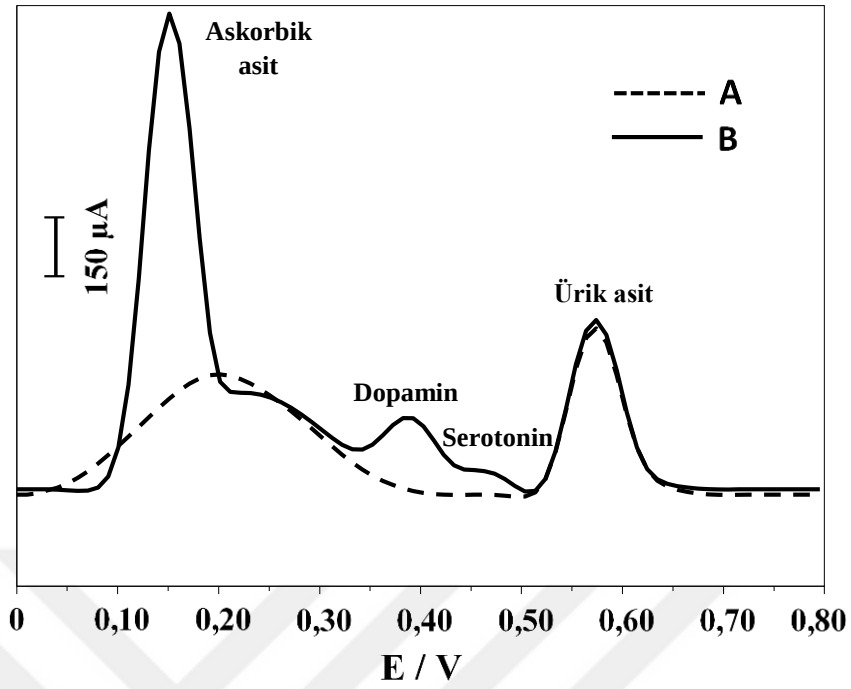


Şekil 4.20. AY-PEDOT-nf/KUG elektrotlar ile pH 2'de farklı bekleme sürelerinde elde edilen 5,0 μM ürik asite ait yükseltgenme pik akımları

4.1.7. Ürik asit tayininde elektro-aktif türlerin etkilerinin incelenmesi

Biyolojik kökenli moleküller vücut sıvıları içerisinde birçok farklı tür ile birlikte bulunmaktadır. Bu nedenle ilk olarak, tayini yapılacak molekülün bu türler varlığında ölçümleri yapılarak pik akımına etkileri incelenmelidir. Çünkü ölçüm ortamında bulunan diğer aktif türlerin varlığı ürik asitin elektrokimyasal davranışını etkileyebilmektedir. Bu

nedenle, girişim yapabilecek elektroaktif türlerin etkileri, bu türlerin varlığında ve yokluğunda gerçekleştirilen voltmetrik ölçümlerle belirlenmiştir. Bu amaçla ürik asit tayinlerinde sıklıkla girişim etkisi gösteren askorbik asit, serotonin ve dopamin moleküllerin etkileri yapılan DPV ölçümleri ile belirlenmiştir. Belirli miktarda ürik asit içeren çözeltiye 500,0 μM askorbik asit, 0,5 μM dopamin ve 0,5 μM serotonin içeren karışım eklenerek ölçümler gerçekleştirilmiştir. Eklenen türlerin yokluğunda (Şek. 4.21A) ve varlığında (Şek. 4.21B) 5 μM ürik asit içeren fosfat tamponunda (pH 2) alınan voltamogramlar Şekil 4.21’de verilmiştir. Askorbik asit, dopamin, serotonin ve ürik asit moleküllerinin yükseltgenme pikleri sırasıyla +0,151 V, +0,390 V, +0,471 V ve +0,574 V olarak belirlenmiştir. Görüldüğü üzere, AY-PEDOT-nf/KUG bu maddelerin yükseltgenme gerilimlerini oldukça başarılı bir şekilde ayırmıştır. Ürik asit ve askorbik asidin yükseltgenme gerilimleri arasında 0,423 V’luk bir gerilim farkı elde edilmiştir. Bu değerin literatürde elde edilen diğer değerlerle karşılaştırıldığında oldukça yüksek olduğu görülmüştür. Ayrıca bu moleküller dışında daha nadir de olsa girişim etkisi gösterebilen diğer türlerin etkisi incelenmiştir (Çizelge 4.2). Özellikle yaygın olarak girişim etkisi gösteren türlerin varlığında 1,0 μM ürik asitin yükseltgenme pik akımının değişmediği gözlenmiştir. Bu sonuçlar, AY-PEDOT-nf/KUG’nin kan serumu ve idrar örneklerinde bazı girişim yapan maddelerin varlığında ürik asit tayininde kullanılabileceğini gösterir.



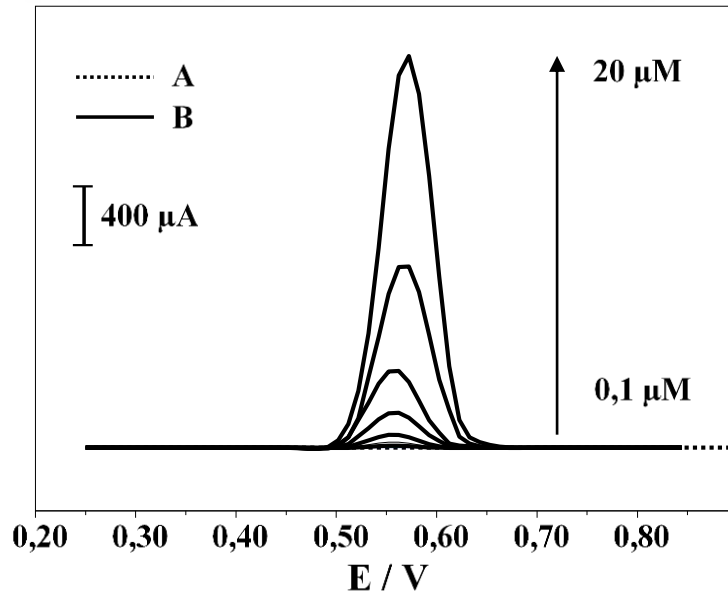
Şekil 4.21. 500,0 µM askorbik asit, 0,5 µM dopamin ve 0,5 µM serotonin karışımının ürik asit yokluğunda (A) ve 5,0 µM ürik asit varlığında (B) fosfat tamponunda (pH 2) AY-PEDOT-nf/KUG ile gerçekleştirilen DPV ölçümleri

Çizelge 4.2. Ürik asit yükseltgenme pik akımına girişim etkisi incelenen türlerin maksimum izin verilen derişimleri ve bu türlerin varlığında yüzdece pik akımı değışimleri

Girişim etkisi incelenen türler	Girişim etkisine izin verilen maksimum derişim / µM	$*YAD = \left(\frac{I_{p2} - I_{p1}}{I_{p1}} \right) \times \%100$
Askorbik asit	2000	3,65
Dopamin	50	-1,15
Serotonin	10	2,85
Glukoz	2000	2,11
Üre	2000	-2,57
Sitrik asit	1500	3,98
KCl	1500	-3,14
NaCl	1500	1,98
*YAD: Yüzdece akım değışımi. I_{p1}: 1,0 µM ürik asitin girişim yapan türler yokluğundaki yükseltgenme pik akımı. I_{p2}: 1,0 µM ürik asitin girişim yapan türler varlığundaki yükseltgenme pik akımı.		

4.1.8. Analitik parametrelerin belirlenmesi

Ürik asitin AY-PEDOT-nf/KUG ile tayin edilmesinde doğrusal aralık, tayin sınırı, tekrarlanabilirlik ve kararlılık gibi analitik parametreler belirlenmiştir. Kalibrasyon eğrisi oluşturulması amacıyla 0,01 ve 20,0 μM aralığında farklı miktarlarda ürik asit içeren çözeltilerden elde edilen yükseltgenme pik akımları derişime karşı grafiğe geçirilmiştir. Artan ürik asit derişimiyle gerçekleştirilen ölçümlerde elde edilen voltamogramlar Şekil 4.22’de gösterilmiştir. Yapılan hesaplamalar sonucunda ürik asit kalibrasyon grafiği 0,9948 doğrusal regrasyon katsayısıyla (R^2), $I_p (\mu\text{A}) = 14,23 C_{\text{ürik asit}} (\mu\text{M}) + 0,50$ eşitliğine sahip doğrusal bir ilişki göstermiştir. Tayin sınırı 0,0013 μM olarak belirlenmiştir ($S/N=3$). Bu çalışmada elde edilen doğrusal aralık ve tayin sınırı literatürde daha önce yapılan çalışmalar ile karşılaştırılmıştır (Çizelge 4.3). AY-PEDOT-nf/KUG elektrot ile gerçekleştirilen çalışmada, literatürde bulunan bazı çalışmalara oranla 1000 kat daha düşük derişimde tayin sınırı elde edilmiştir [140, 141]. Bu sonuçlar; ürik asitin voltametrik yöntemler kullanılarak yapılan tayininde, AY-PEDOT-nf/KUG modifiye elektrodun daha önceki çalışmalarda kullanılan modifiye PEDOT elektrotlarına göre üstün elektrokimyasal özelliklere sahip olduğunu göstermektedir [150].



Şekil 4.22. AY-PEDOT-nf/KUG elektrotlar ile 0,1 ve 20,0 μM derişim aralığında farklı miktarda ürik asit içeren çözeltilerde elde edilen difarensiyel puls voltamogramları. A: AY-PEDOT-nf/KUG elektrodun taban sinyalini göstermektedir

AY-PEDOT-nf/KUG elektrotların tekrar üretilebilirlik çalışmalarının gerçekleştirilmesi amacıyla, her ölçüm için yeni modifiye elektrot kullanılmıştır. Ayrıca on adet yeni elektrot hazırlanarak 1,0 μM ürik asit içeren çözeltide DPV ölçümleri gerçekleştirilmiştir. Ölçümler sonucu, modifiye elektrotlar ile ölçülen pik akımlarının standart sapması %4,2 bulunmuştur (N: 10). Bu sonuç, AY-PEDOT-nf/KUG elektrotların yüksek kararlılıkta tekrar üretilebilir olduğunu göstermiştir.

Çizelge 4.3. Hazırlan yöntem ile hesaplanan gözlenebilirlik sınırı ve doğrusal ölçüm aralığı parametrelerinin daha önce literatürde rapor edilen yöntemler ile kıyaslanması

Modifiye elektrot	Doğrusal ölçüm aralığı (μM)	Gözlenebilirlik sınırı (μM)	Kaynak
^a GCE-CNTs-NFs	4,0 – 400,0	1,0	[151]
^b GCE-PEL	1,0 – 60,0	0,05	[152]
^c GCE-Fe ₃ O ₄ @CNT-N	2,5 – 85,0	0,047	[153]
^d GCE-p(L-Met)	0,02 - 0,1	0,0074	[154]
^e EGPE	0,5 – 35,0	0,02	[155]
^f GCE-CNNS-GO	10,0 - 200	0,228	[156]
^g GCE-MWCNTs-CS-AuNPs	2,0 – 15,0	0,46	[157]
^h AY-PEDOT-nf/KUG	0,01 – 20,0	0,0013	Bu çalışmada

a: Camsı karbon elektrot-karbon nanotüp ve nanofiber

b: Camsı karbon elektrot-polielektrolit

c: Camsı karbon elektrot - Fe₃O₄ nanopartikül-N-katkılı karbon nanotüp

d: Camsı karbon elektrot -poli(L-methioin)

e: Pullanmış halde grafit kağıt elektrot

f: Camsı karbon elektrot – grafit oksit katkılı grafitik karbon nitrit tabakası

g: Camsı karbon elektrot –çok duvarlı karbon nanotüp-kitosan-altın nanopartikül

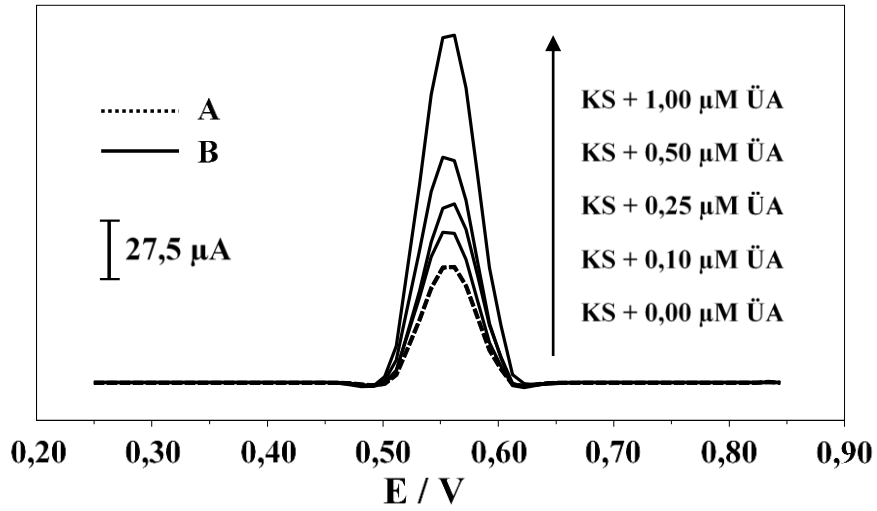
h: Aşırı yükseltgenmiş poly(3,4-etilendioksitiyofen) nanofiber/ kalem ucu grafit

AY-PEDOT-nf/KUG elektrotların kararlılıklarının belirlenebilmesi amacıyla bir dizi ölçüm gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla, hazırlanan modifiye elektrotlar desikatör içerisinde 80 gün bekletilmiş ve ürik asit ölçümleri yapılmıştır. Bu ölçümler sonucunda

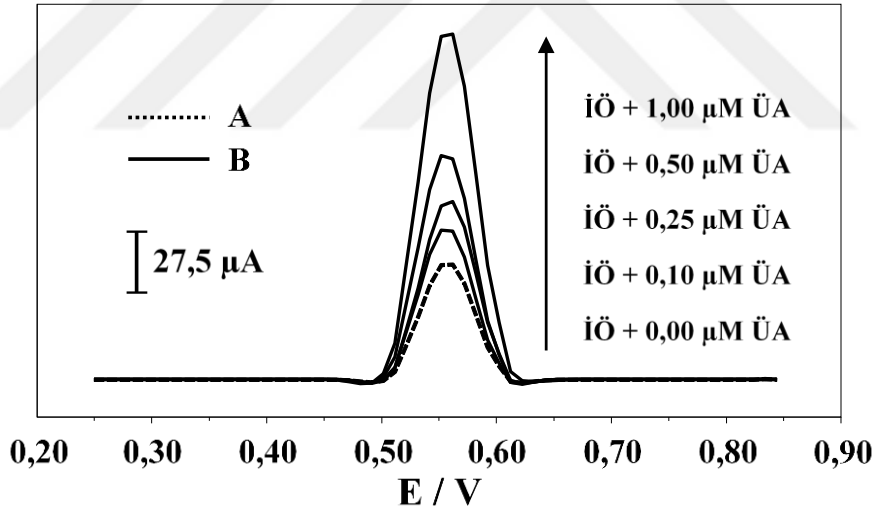
80 gün bekletilmiş AY-PEDOT-nf/KUG elektrodun asıl cevabının %94'ünü koruduğu belirlenmiştir. Bu sonuç AY-PEDOT-nf/KUG elektrodun oldukça yüksek kararlılığa sahip olduğunu göstermektedir.

4.1.9. Gerçek örneklerde ürik asit tayini

Tayini yapılan molekülün gerçek örnekler içerisinde analizi oldukça önemlidir. Çünkü gerçek örneklerde molekülün tayini, hazırlanan yöntemin moleküle karşı ne kadar seçici olduğunu göstermektedir. Bu amaçla, hazırlanan AY-PEDOT-nf/KUG elektrotların ürik asitin tayinine yönelik uygulanabilirliği, kan serumu ve idrar örnekleri içeren çözeltilerde değerlendirilmiştir. Gerçek örnekler 0,1 M fosfat tamponunda (pH 2) seyreltilip herhangi bir ön işlem uygulamadan ölçümlerde kullanılmıştır. 400 kat seyreltilen kan serumlarının DPV voltamogramları Şekil 4.23A'da gösterilmiştir. Bu voltamogramda +0,562 V değerinde ürik asitin yükseltgenme piki görülmektedir. Bu yükseltgenme pikinin şiddeti birbiri ardına eklenen standart ürik asit çözeltileri varlığında artmıştır. Bu da örneklerde ürik asit varlığını kanıtlamaktadır (Şek. 4.23B). Ayrıca bir diğer önemli vücut sıvısı olan idrar örneklerinde modifiye elektrotların uygulanabilirliği incelenmiştir. Bu amaçla, 2000 kat seyreltilmiş idrar örneğinden belirli bir miktar eklenerek AY-PEDOT-nf/KUG elektrodun aktivitesi incelenmiştir (Şek. 4.24). Çalışılan örneklerdeki ürik asit miktarları standart ekleme yöntemiyle belirlenmiştir (Çizelge 4.4). Kan serumu örneklerinde belirlenen ürik asit miktarları 283,0 mM (4,771mg dL⁻¹) ile 387,0 mM (6,523 mg dL⁻¹) derişim aralığındadır. Bu miktarlar, ürik asitin normal sınırları (2,0-8,5 mg dL⁻¹) içerisinde yer almaktadır [20]. Ayrıca çalışılan kan serumu örneklerinde elde edilen sonuçların doğruluğunu kanıtlamak için aynı örneklerin yerel bir hastanede fotometrik yöntemle analiz edilmiştir (Çizelge 4.4). Her iki metot ile elde edilen ürik asit derişimleri birbirine oldukça yakındır. Ayrıca, geri kazanım çalışmaları da gerçekleştirilmiştir (Çizelge 4.5). Görüldüğü gibi AY-PEDOT-nf/KUG elektrotlarla kan serumu örneklerinde gerçekleştirilen geri kazanım deneylerinde elde edilen değerler %104-107 aralığındadır. Bu sonuçlar hazırlanan modifiye elektrodun ürik asit tayininde güvenli bir şekilde kullanılabileceğini göstermektedir.



Şekil 4.23. AY-PEDOT-nf/KUG elektrotlar ile belirli miktarda kan serumu içeren fosfat tamponunda (pH 2) ürik asit standartları eklenmeden (A) ve artan derişimlerde ürik asit standartları eklenerek (B) elde edilen diferansiyel puls voltamogramları (Bekleme süresi 120s, karıştırma hızı 250 rpm)



Şekil 4.24. AY-PEDOT-nf/KUG elektrotlar ile belirli miktarda idrar örneği içeren fosfat tamponunda (pH 2) ürik asit standartları eklenmeden (A) ve artan derişimlerde ürik asit standartları eklenerek (B) elde edilen diferansiyel puls voltamogramları (Bekleme süresi 120s, karıştırma hızı 250 rpm)

Çizelge 4.4. Kan serumu ve idrar örneklerinde tespit edilen ürik asit derişimleri ve gözlenen bağıl hataları

Örnek	^a [Ürik asit] / μM	^b [Ürik asit] / μM	E_r / %
KS-A	0,286	0,304 ($\pm 0,021$)	6,29
KS-B	0,274	0,283 ($\pm 0,019$)	3,28
KS-C	0,399	0,367 ($\pm 0,023$)	-8,02
İÖ-A	----	1,102 ($\pm 0,028$)	----
İÖ-B	----	2,748 ($\pm 0,032$)	----
İÖ-C	----	1,178 ($\pm 0,029$)	----
^a Hastanede fotometrik yöntemle elde edilen sonuçlar ^b AY-PEDOT-nf/KUG elektrotları kullanılarak voltametrik yöntemle elde edilen sonuçlar E_r : Bağıl hata			

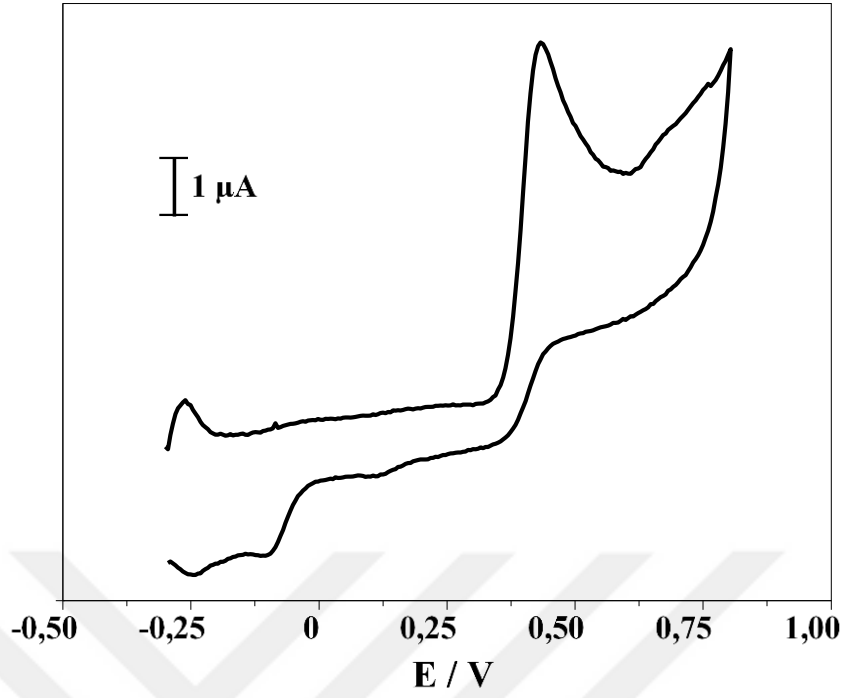
Çizelge 4.5. Kan serumu örnekleriyle gerçekleştirilen geri kazanım deney sonuçları

Örnek	[Ürik asit] _{eklenen} / μM	[Ürik asit] _{bulunan} / μM	[Ürik asit] _{geri} kazanım %
Kan Serumu	---	0,104 ($\pm 0,021$)	---
	0,050	0,156 ($\pm 0,026$)	104,0
	0,100	0,211 ($\pm 0,024$)	107,0
	0,200	0,315 ($\pm 0,019$)	105,5

4.2. p(P3KA)/KUG Elektrot Temelli Serotonin Sensörü Geliştirilmesi

4.2.1. KUG elektrot ile serotoninin elektrokimyasal davranışının incelenmesi

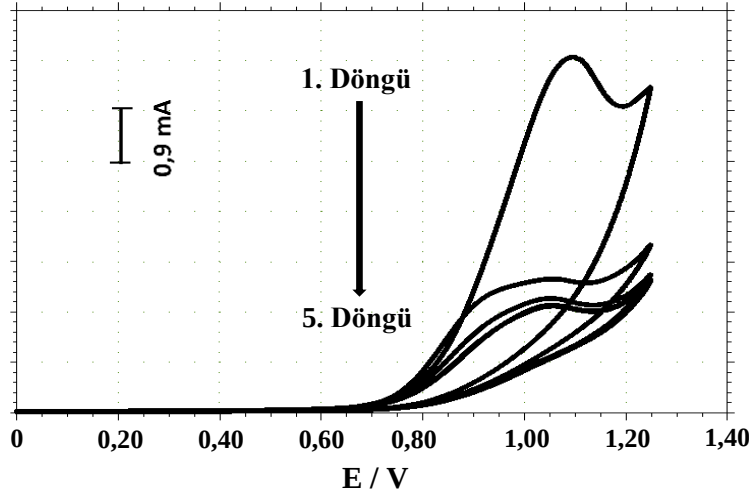
Serotonin KUG elektrot kullanılarak 0,1 M fosfat tamponunda (pH 5) dönüşümlü voltametri yöntemiyle elektrokimyasal davranışı incelenmiştir (Şek. 4.25). Görüldüğü gibi, serotonin KUG elektrot yüzeyinde +0,410 V'da bir yükseltgenme piki oluşturmıştır. Ayrıca voltamogramda -0,121 ve -0,25 V'da iki adet indirgenme piki yer almaktadır. Pik potansiyelleri arasındaki fark (0,531 V) incelendiğinde gözlenen yükseltgenmenin tersinmez olduğu sonucuna varılmıştır.



Şekil 4.25. Serotoninin (5 μM) 0,1 M fosfat tamponunda (pH 5) KUG elektrot ile alınan dönüşümlü voltamogramı (Tarama hızı: 50 mVs^{-1} , bekleme süresi: 60 s)

4.2.2. p(P3KA) modifiye KUG elektrodun hazırlanması

KUG elektrodun polimerizasyon çözeltisinde alınan dönüşümlü voltamogramı Şekil 4.26'da verilmiştir. Görüldüğü gibi ileri yönde gerçekleşen taramada P3KA monomeri +1,08 V'da tersinmez bir yükseltgenme piki oluşturmuştur. Ancak geri yöndeki taramada herhangi bir pik gözlenmemiştir. Yükseltgenme pik değeri sonraki döngülerde daha katodik potansiyellere kaymış ve pik akım değerleri önemli ölçüde azalmıştır. Polimerizasyon işlemi sonunda elektrodun yüzeyinde siyah bir filmin oluştuğu gözlenmiştir. Buradan KUG elektrot yüzeyinde P3KA'nın polimerleştiği sonucuna varılmıştır. Elde edilen modifiye elektrotlar p(P3KA)/KUG olarak kodlanmıştır.

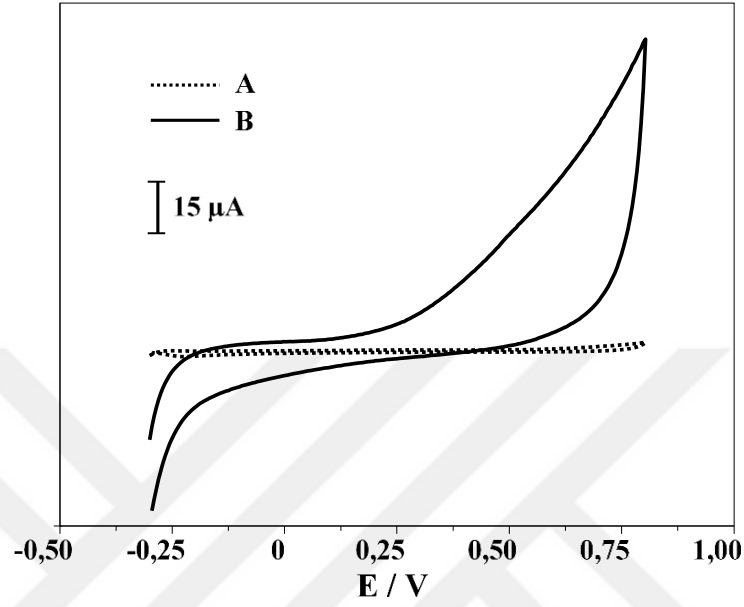


Şekil 4.26. KUG elektrodun saf su içerisinde 20 mM P3KA, 0,1 M LiClO₄ ve 0,1 M Na₂CO₃ varlığında elde edilen dönüşümlü voltamogramları (Tarama hızı: 20 mVs⁻¹)

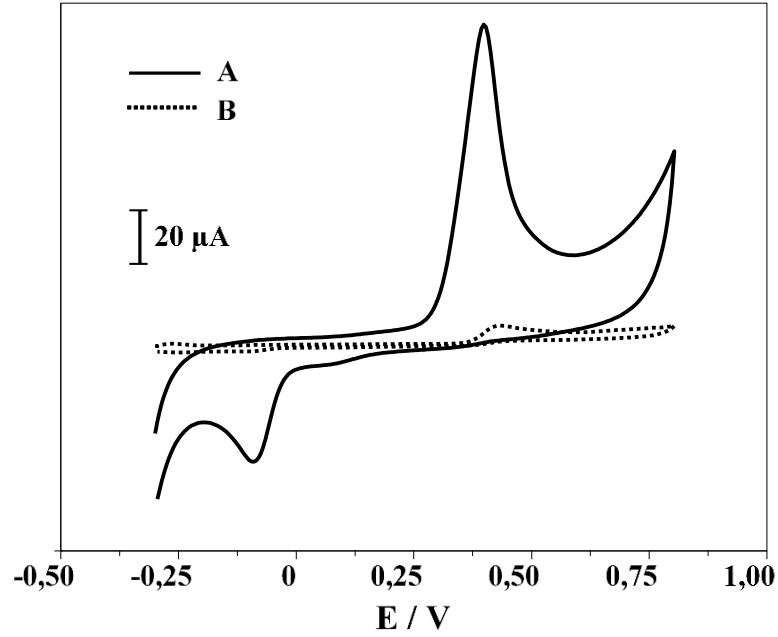
4.2.3. p(P3KA)/KUG elektrodun elektrokimyasal davranışının incelenmesi

Elde edilen p(P3KA)/KUG elektrotların elektrokimyasal davranışları fosfat tamponu içerisinde incelenmiş ve KUG elektrot ile karşılaştırılmıştır. Bu kapsamda, p(P3KA)/KUG ve KUG elektrotların dönüşümlü voltametri ölçümleri -0,3 ile +0,8 V potansiyel aralığında 0,1 M fosfat tamponunda (pH 5) gerçekleştirilmiştir (Şek. 4.27). Görüldüğü gibi, KUG elektrodun dönüşümlü voltamogramında herhangi bir elektroaktivite mevcut değildir (Şek. 4.27A). Aynı şekilde p(P3KA)/KUG elektrodun voltamogramında da herhangi bir yükseltgenme piki yer almamaktadır (Şek. 4.27B). Bu sonuç çalışılan aralıkta, p(P3KA)/KUG elektrodun elektroaktivite göstermediğini belirtmektedir. Ayrıca, KUG ve p(P3KA)/KUG elektrotların taban sinyalleri arasında önemli bir fark bulunmaktadır. Bu da p(P3KA)/KUG elektrodun yüzey alanının KUG elektroda göre önemli derecede daha büyük olduğunu göstermektedir. KUG ve p(P3KA)/KUG elektrotların elektrokimyasal davranışları serotonin içeren çözelti içerisinde de incelenmiştir (Şek. 4.28). Serotonin p(P3KA)/KUG elektrot varlığında +0,400 V'da bir adet yükseltgenme, -0,090 V'da bir adet indirgenme piki oluşturmuştur. Her iki pik arasında gözlenen potansiyel farkı (0,490 V) serotoninin tersinmez yükseltgenmeye uğradığını göstermektedir. Burada, -0,090 V'da gözlenen pikin serotoninin yükseltgenmesi sonucu oluşan türün su ile tepkimesi sonucu oluşan türün indirgenmesine ait olduğu söylenebilir. Her iki elektrodun serotonin yükseltgenmesindeki etkinliği karşılaştırıldığında, p(P3KA)/KUG elektrot ile elde edilen serotonin pik akımı

KUG elektrotla elde edilene göre yaklaşık 30 kat daha yüksek olduğu görülmüştür. Bu sonuç, p(P3KA)/KUG elektrodun serotonin molekülüne karşı yüksek afiniteye sahip olduğunu göstermektedir.

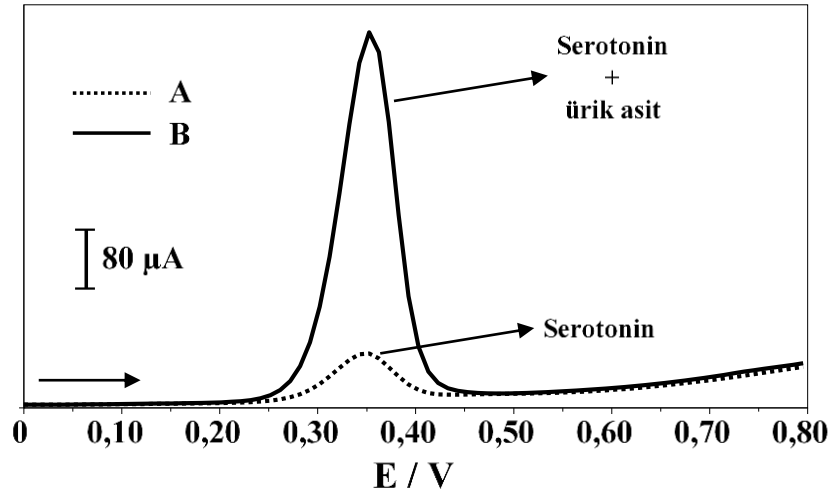


Şekil 4.27. KUG (A) ve p(P3KA)/KUG (B) elektrotların 0,1 M fosfat tamponunda (pH 5) elde edilen dönüşümlü voltamogramları

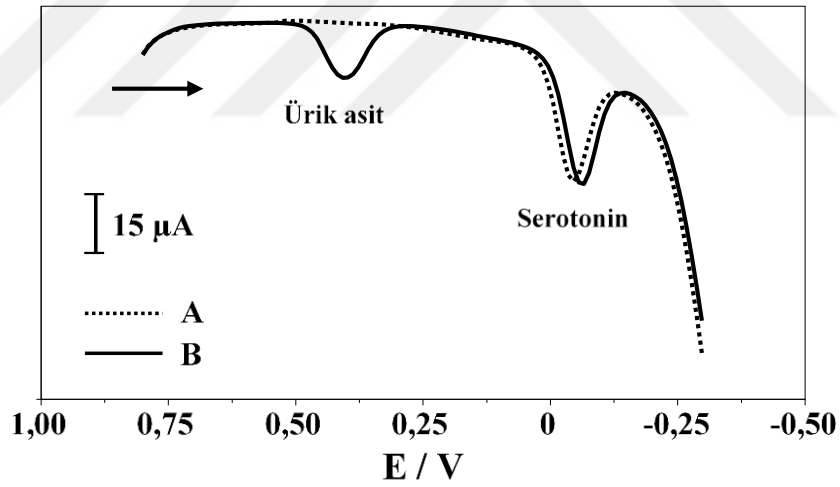


Şekil 4.28. p(P3KA)/KUG (A) ve KUG (B) elektrotlarının fosfat tamponunda (pH 5) 5,0 μ M serotonin varlığında elde edilen dönüşümlü voltamogramları

Hazırlanan sensör sistemi ile hassas bir şekilde kan serumu ve idrar örneklerinde analitin tayininin yapılabilmesi oldukça önemlidir. Çünkü bu örnekler yüksek miktarda ürik asit gibi girişim etkisi gösterebilen elektroaktif bir bileşen içermektedir. Bu amaçla hazırlanan sensör sistemi ile ürik asit varlığında serotoninin elektrokimyasal davranışı 0 ile +0,80 V gerilim aralığında DPV yöntemiyle incelenmiştir (Şek. 4.29). Bu kapsamda 1 μ M serotonin içeren çözeltide p(P3KA)/KUG elektrotlar ile ölçümler gerçekleştirilmiş ve 0,350 V'da bir adet yükseltgenme piki gözlenmiştir (Şek. 4.29A). Bu çözeltiye 50 μ M ürik asit ilave edilerek ölçümler tekrarlanmış ve serotonine ait yükseltgenme pikinde belirgin bir artış meydana gelmiştir (Şek. 4.29B). Bu da ürik asitin serotonin ile aynı gerilim değerinde yükseltgendiğini göstermektedir. Bu sonuç, serotoninin ürik asit içeren herhangi bir örnekte yükseltgenme piki kullanılarak tayininin mümkün olmadığını göstermektedir. Bu nedenle dönüşümlü voltametri ölçümlerinde belirlenen indirgenme pikinin analitik parametre olarak kullanılması düşünülmüştür. Bu kapsamda serotoninin elektrokimyasal davranışı ürik asit yokluğunda ve varlığında +0,80 ile -0,3 V gerilim aralığında DPV yöntemiyle incelenmiştir. Bunun için ilk olarak 1 μ M serotonin içeren çözeltide ölçümler alınmış ve -0,061 V'da serotonine ait bir adet indirgenme piki belirlenmiştir (Şek. 4.30A). Bu çözeltiye 50 μ M ürik asit eklenerek tekrar ölçümler alınmış ve iki adet indirgenme piki gözlenmiştir. Bu pikler 0,407 ve -0,061 V gerilim değerlerinde gözlenmiş ve sırasıyla ürik asit ve serotonine ait olduğu saptanmıştır (Şek. 4.30B). Görüldüğü üzere hazırlanan modifiye elektrot ile katodik yönde gerçekleştirilen taramada serotonin ve ürik asit pikleri oldukça iyi bir şekilde ayrılmıştır. Bu sonuç, indirgenme piki kullanılarak yüksek miktarda ürik asit içeren örneklerde bile kolaylıkla serotoninin tayininin gerçekleştirilebileceğini göstermektedir. Elde edilen sonuçlardan yola çıkılarak, söz konusu indirgenme piki kullanılarak serotoninin vücut sıvılarında tayinine yönelik bir voltametrik analiz yöntemi geliştirilmesine çalışılmıştır.



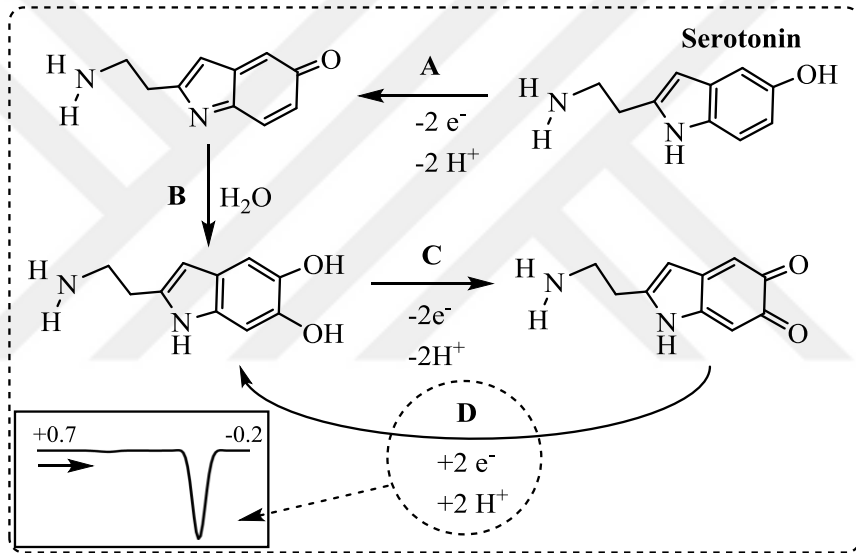
Şekil 4.29. p(P3KA)/KUG elektrotların 1,0 μM serotonin içeren fosfat tamponunda (pH 5) ürik asit yokluğunda (A) ve 50,0 μM ürik asit varlığında (B) 0 ile 0,80 V gerilim aralığında anodik yönde gerilim taramasıyla elde edilen diferansiyel puls voltamogramları. Ok: Gerilim taramasının yönünü göstermektedir



Şekil 4.30. p(P3KA)/KUG elektrotların 1,0 μM serotonin içeren fosfat tamponunda (pH 5) ürik asit yokluğunda (A) ve 50,0 μM ürik asit varlığında (B) 0,80 ile -0,30 V gerilim aralığında katodik yönde gerilim taramasıyla elde edilen diferansiyel puls voltamogramları. Ok: Gerilim taramasının yönünü göstermektedir

Daha önceki açıklamalarda da belirtildiği üzere serotoninin yükseltgenme piki ile ürik asit pikini birbirinden ayırmak mümkün değildir. Bu nedenle serotoninin yüksek seçicilikte belirlenebilmesi amacıyla indirgenme piki üzerinden voltametrik çalışmalara devam edilmiştir. Serotonin yükseltgendiğinde 2-(2-aminoetil)-5H-indol-5-on formuna

dönüşür (Şek. 4.31A). Ancak bu form, kararlı olmadığı için su ile reaksiyona girerek 2-(2-aminoetil)-1H-indol-5,6-diol ara ürününe dönüşür (Şek. 4.31B). Bu ara ürünün elektrokimyasal yükseltgenmesi ile 2-(2-aminoetil)-1H-indol-5,6-dion oluşur (Şek. 4.31C). Bu molekül elektrokimyasal indirgenme ile tekrar 2-(2-aminoetil)-1H-indol-5,6-diol ara ürününe dönüşür (Şek. 4.31D). Serotoninin voltametrik ölçümleri ile elde edilen piki bu dönüşüm ile alakalıdır. Bu nedenle diğer moleküllerin girişim etkisi ortadan kaldırmak için 2-(2-aminoetil)-1H-indol-5,6-dion molekülünün elektroanalitik sinyali kullanılmıştır. Serotonin molekülünün tüm dönüşümleri fosfat tamponunda (pH 5) +0,7 ile -0,2 V gerilim aralığında katodik gerilim taraması esnasında meydana gelmektedir (Şek. 4.31).

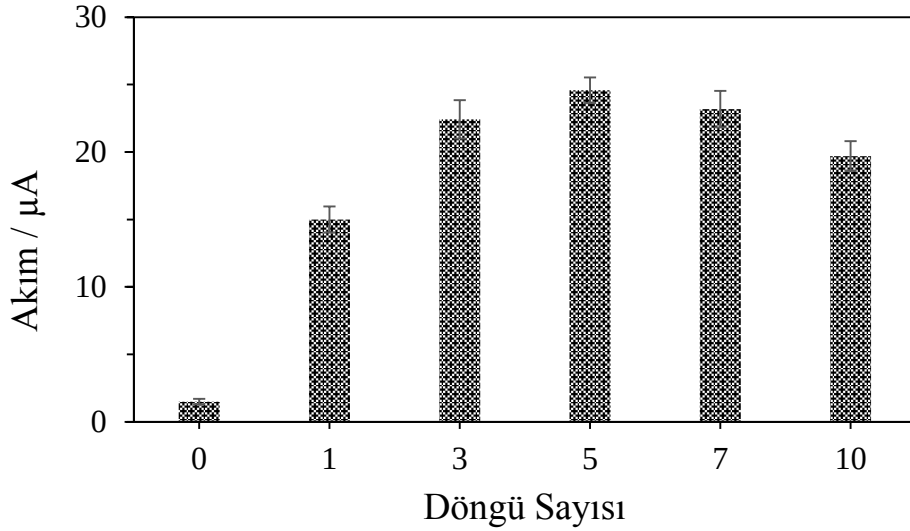


Şekil 4.31. p(P3KA)/KUG elektrot ile 5,0 μM serotonin içeren fosfat tamponunda (pH 5) 0,70 ile -0,20 V gerilim aralığında katodik yönde gerilim taraması esnasında gerçekleşen dönüşümleri

4.2.4. Elektropolimerizasyon döngü sayısının optimizasyonu

Elektropolimerizasyonda kullanılan döngü sayısının hazırlanan p(P3KA)/KUG elektrodun serotonin yükseltgenmesindeki etkinliğine etkisi araştırılmıştır. Bu amaçla, 20 mM P3KA içeren çözeltide farklı döngülerde (1, 2, 3, 5, 7 ve 10) p(P3KA)/KUG elektrotlar hazırlanmış ve serotonin pik akımları ölçülmüştür (Şek 4.32). Görüldüğü gibi, KUG elektrot varlığında elde edilen pik akımı (0,6133 μA) p(P3KA) varlığında ilk döngüden itibaren önemli oranda artmaktadır. Buna karşın, 3 döngü ile hazırlanan p(P3KA)/KUG elektrotlarla elde edilen serotonin pik akımları 5 döngü ile hazırlanan

elektroda oldukça yakındır. Bu nedenle optimum döngü sayısı 3 olarak belirlenmiştir. Serotonin pik akımı en yüksek değerine 5 döngü ile hazırlanan p(P3KA)/KUG elektrotlar varlığında ulaşmıştır.



Şekil 4.32. Farklı döngülerde hazırlanan p(P3KA)/KUG elektrotlarla elde edilen 5 µM serotonine ait pik akımları

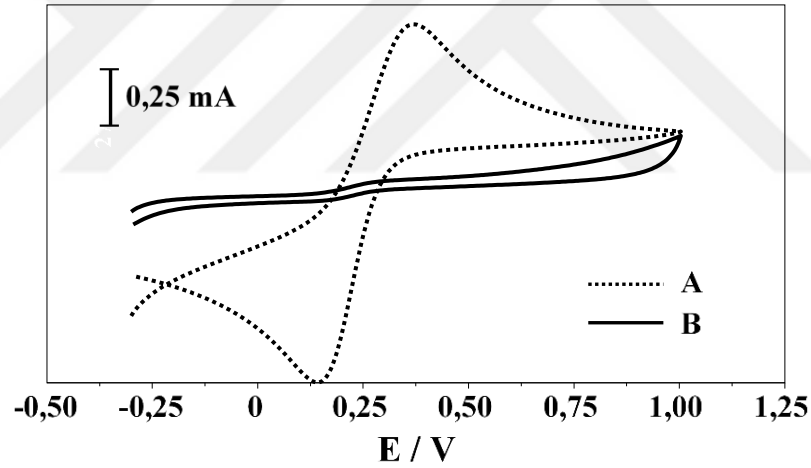
4.2.5. p(P3KA)/KUG elektrotların karakterizasyonu

Elektrokimyasal polimerizasyon ile hazırlanan p(P3KA)/KUG elektrotların karakterizasyonu dönüşümlü voltametri, elektrokimyasal impedans spektroskopisi ve taramalı elektron mikroskopisi analizleriyle gerçekleştirilmiştir.

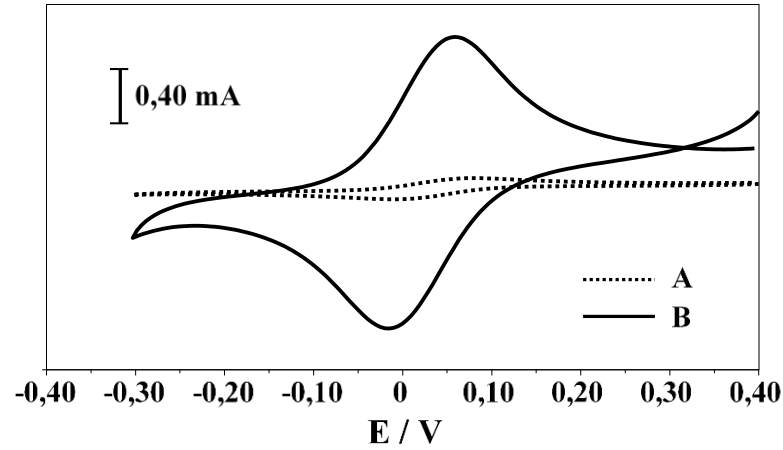
4.2.5.1. Modifiye elektrotların dönüşümlü voltametri ölçümleri

Hazırlanan p(P3KA)/KUG elektrodun yüzey fonksiyonelliğini incelemek amacıyla KUG ve p(P3KA)/KUG elektrotların 0,1 M KCl çözeltisinde $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-/4-}$ ve $\text{Ru}(\text{NH}_3)_6^{3+}$ redoks türleri varlığında dönüşümlü voltamogramları alınmıştır. Elde edilen sonuçlar Şekil 4.33 ve Şekil 3.34'te verilmiştir. KUG elektrot ile gerçekleştirilen CV ölçümünde sırasıyla $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-/4-}$ redoks çiftinin yükseltgenme ve indirgenmesine ait olan +0,37 ve +0,15 V'da iki pik gözlenmiştir (Şek. 4.33A). Buna karşılık, p(P3KA)/KUG elektrot ile alınan voltamogramda $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-/4-}$ redoks çifti için +0,32 ve +0,19 V potansiyel değerlerinde iki adet yayvan pik gözlenmiştir (Şek. 4.33B). Üstelik p(P3KA)/KUG ile gerçekleştirilen ölçümlerde pik akım değerlerinin önemli ölçüde azaldığı görülmüştür. Bu

durumun, modifiye elektrot yüzeyinde yer alan karboksilik asit gruplarının $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-/4-}$ redoks çiftini itmesinden kaynaklandığı düşünülmektedir. Ayrıca, p(P3KA)/KUG ve KUG elektrotların yüzey özelliklerinin incelenmesi amacıyla dönüşümlü voltametri ölçümleri $\text{Ru}(\text{NH}_3)_6^{3+}$ içeren çözelti içerisinde de gerçekleştirilmiştir. KUG elektrot ile alınan ölçümlerde indirgenme ve yükseltgenme pikleri sırasıyla -0,009 ve +0,081 V'da gözlenmiştir (Şek. 4.34A). Buna karşın, p(P3KA)/KUG ile yapılan ölçümlerde bu pikler sırasıyla -0,010 ve +0,051 V gerilim değerlerinde elde edilmiştir (Şek. 4.34B). Üstelik pik akımları modifiye elektrodun kullanımıyla önemli derecede artmıştır. Bu da yine yüzeyde yer alan karboksilik asit gruplarının pozitif yüklü $\text{Ru}(\text{NH}_3)_6^{3+}$ molekülünü elektrostatik olarak çekmesinden kaynaklanmaktadır. p(P3KA)/KUG modifiye elektrodunun $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-/4-}$ ve $\text{Ru}(\text{NH}_3)_6^{3+}$ çözeltileri içerisindeki davranışlarına bakıldığında p(P3KA) yapısında bulunan karboksilik asit fonksiyonel gruplarından dolayı yüzeyin negatif yüklendiği söylenebilir.



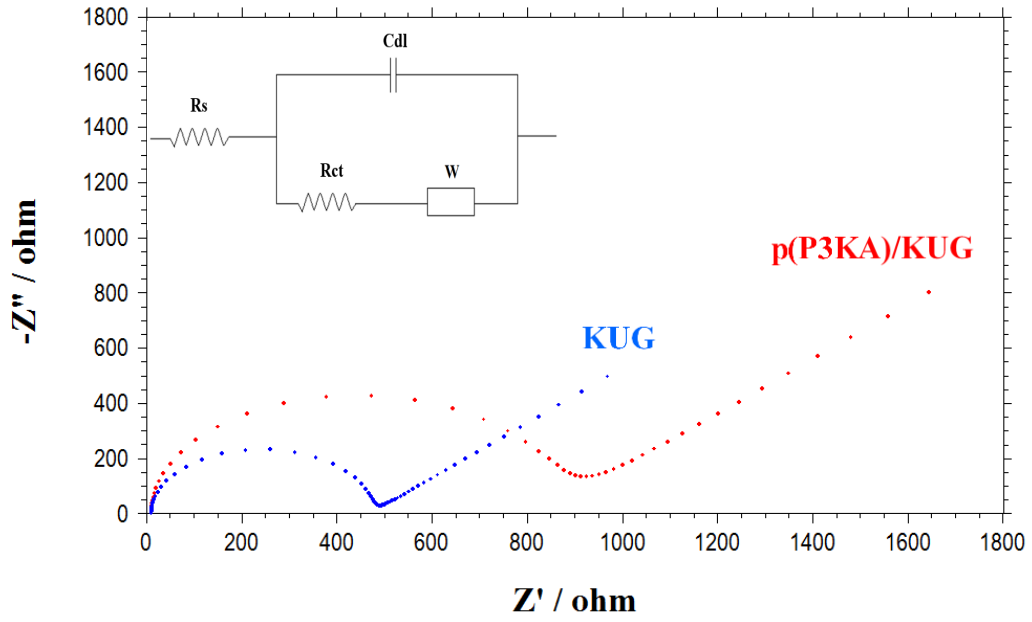
Şekil 4.33. KUG (A) ve p(P3KA)/KUG (B) elektrotlar kullanılarak 0,1 M KCl çözeltisinde 2,5 mM $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-/4-}$ varlığında elde edilen dönüşümlü voltamogramlar



Şekil 4.34. KUG (A) ve p(P3KA)/KUG (B) elektrotlar kullanılarak 0,1 M KCl çözeltisinde 1,0 mM $\text{Ru}(\text{NH}_3)_6^{3+}$ varlığında elde edilen dönüşümlü voltamogramlar

4.2.5.2. Modifiye elektrotların elektrokimyasal impedans spektroskopi ölçümleri

p(P3KA)/KUG ve KUG elektrotlarının elektron aktarım özelliklerinin incelenmesi amacıyla elektrokimyasal empedans spektroskopisi kullanılmıştır. 5 mM $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-/4-}$ ve 0,1 M KCl içeren 0,1 M fosfat tamponunda (pH 7,4) KUG ve p(P3KA)/KUG elektrotlar ile gerçekleştirilen ölçümlerde elde edilen Nyquist diyagramları Şekil 4.35'te gösterilmiştir. Elde edilen veriler çözelti direnci (R_s), yük-transfer direnci (R_{ct}), Warburg elemanı (W) ve sabit faz elemanını (C_{dl}) içeren elektriksel eş devre modeli kullanılarak fit edilmiştir. Bu bileşenlerin değerleri Çizelge 4.6'da verilmiştir. R_{ct} , Nyquist diyagramında yarım dairenin çapından elde edilir ve elektrot-elektrolit ara yüzeyinde elektron transferi hakkında bilgi verir. KUG ve p(P3KA)/KUG elektrotların yük-transfer dirençleri sırasıyla 462 Ω ve 835 Ω olarak elde edilmiştir. Yük-transfer dirençleri, karşılaştırıldığında KUG elektroda göre modifiye elektrotta bir artış gözlenmiştir. Bu artış, p(P3KA) yapısında bulunan karboksilik asit grupları ve $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-/4-}$ redoks çifti arasında meydana gelen elektrostatik itmeden dolayı elektron transferinin azalması ile açıklanabilir.



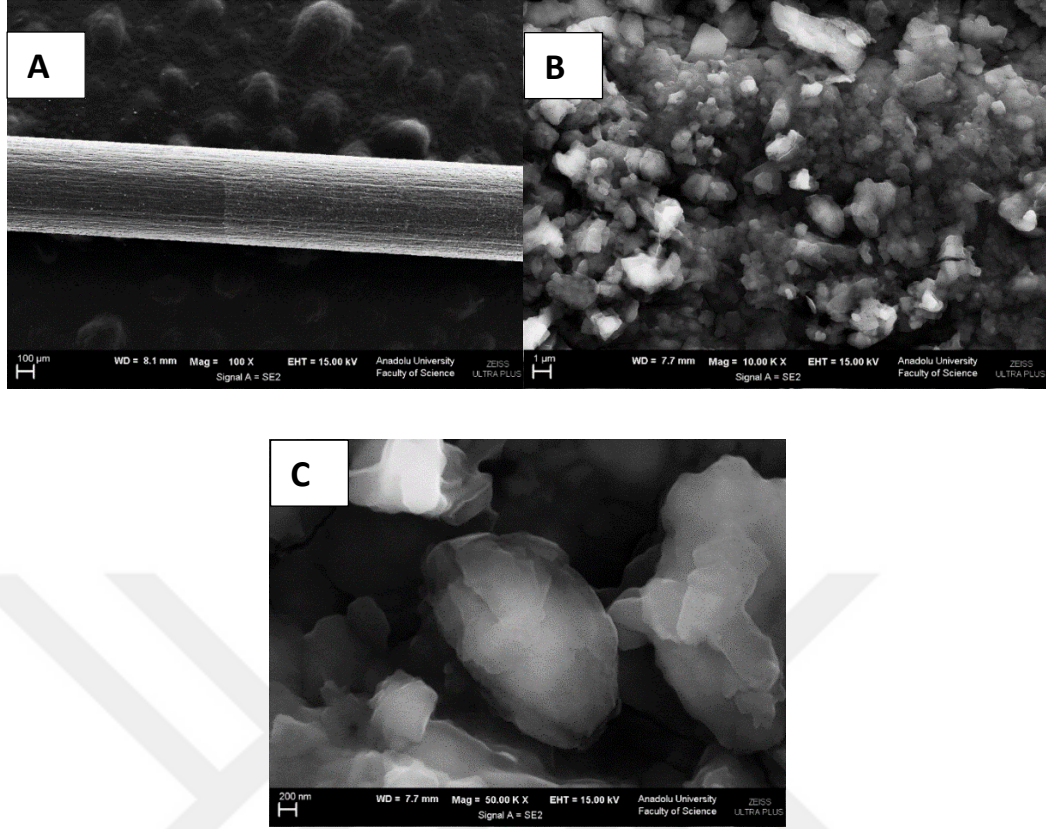
Şekil 4.35. KUG ve p(P3KA)/KUG elektrotlar kullanılarak 0,1 M KCl ve 5,0 mM $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-/4-}$ içeren fosfat tamponunda (pH 7,4) elde edilen Nyquist diyagramları

Çizelge 4.6. Elektrotlar için empedans devre elamanlarının eş değer devreye fit edilmiş değerleri

Elektrot	R_s (Ω)	R_{ct} (Ω)	C_{dl} (F)	W
KUG	10,7	462	$9,949 \times 10^{-7}$	0,005096
p(P3KA)/KUG	10,28	835,9	$1,053 \times 10^{-5}$	0,003522

4.2.5.3. Modifiye elektrotların SEM görüntüleri

KUG ve p(P3KA)/KUG elektrotların yüzey morfolojileri taramalı elektron mikroskopisi (SEM) kullanılarak incelenmiştir (Şek. 4.36). KUG elektrot yüzeyinde oluşan p(P3KA) filmi Şekil 4.36A'da kolaylıkla görülebilmektedir. Daha yüksek büyütme oranına sahip SEM görüntüleri p(P3KA) filminin karnıbahar yapısında olduğunu göstermektedir (Şek. 4.36B-C). p(P3KA) filminin varlığı KUG elektrodun yüzey alanının artmasına neden olmuştur. Bu durum hazırlanan elektrodun serotonine karşı hassasiyetinin artmasını açıklamaktadır. Daha önce gerçekleştirilen bir çalışmada, aynı polimerizasyon koşullarında pirol-3-karboksilik asit yerine pirol kullanılmış ve elde edilen polimerin nanofiber yapıda olduğu rapor edilmiştir [158]. Bu sonuçlar, pirol-3-karboksilik asit'te yer alan karboksilik asit grubunun polimerizasyonda doğrudan yer almamasına karşın, oluşan polimerin morfolojik özelliklerini değiştirdiğini göstermektedir.



Şekil 4.36. p(P3KA)/KUG elektrodun farklı büyütme oranlarında alınmış SEM görüntüleri (A:100X, B:10000X ve C:50000X)

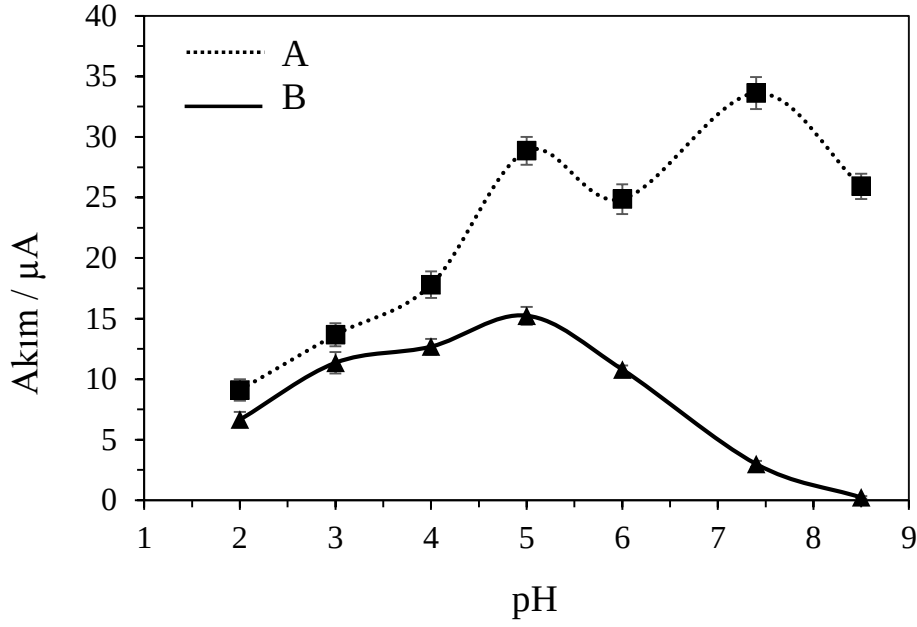
4.2.6. Serotonin tayini için analiz koşullarının optimizasyonu

p(P3KA)/KUG elektrotlar kullanılarak serotonin tayinine yönelik geliştirilen voltametrik yöntemi etkileyen parametreler sırasıyla optimize edilmiştir.

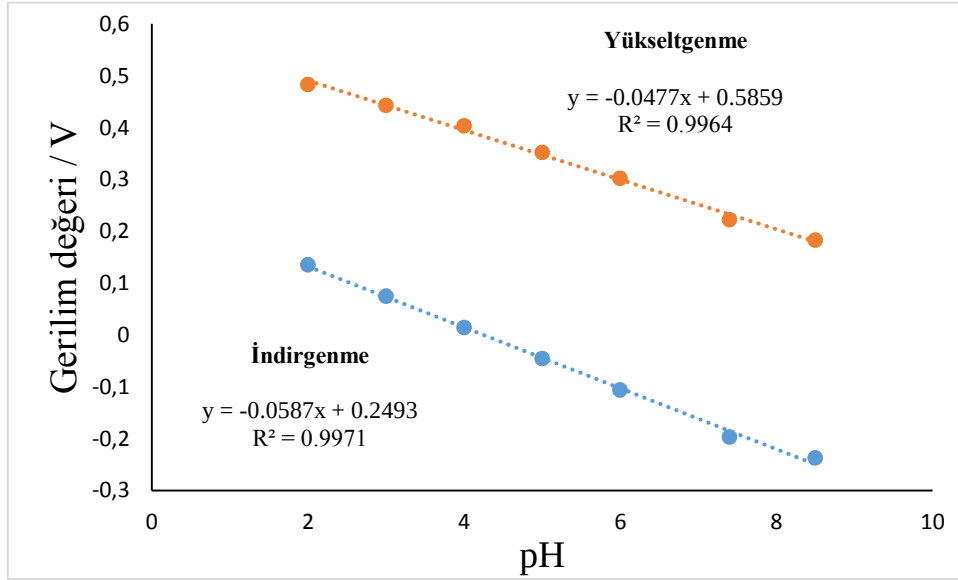
4.2.6.1. Ölçüm çözelti pH'sının optimizasyonu

p(P3KA)/KUG elektrotların elektrokimyasal davranışları belirli miktarda serotonin içeren farklı pH değerindeki tamponlarda DPV yöntemiyle incelenmiştir. Bu amaçla farklı pH'lardaki (2, 3, 4, 5, 6, 7,4 ve 8,5) fosfat tamponlarında serotonin indirgenme ve yükseltgenme pik akımları ölçülerek grafiğe geçirilmiştir (Şek. 4.37). Serotonin yükseltgenme pik akımları artan pH değerleri ile kademeli olarak artmıştır (Şek. 4.37A). Serotonin indirgenme pik akımları, artan pH değerleri ile pH 5'e kadar kadar artış göstermiş, bu pH'dan yüksek değerlere gidildikçe ise pik akımlarında kayda değer oranda

düşme gözlenmiştir (Şek. 4.37B). Geliştirilen voltametrik yöntemde analitik sinyal olarak indirgenme piki seçildiği için optimal ölçüm ortam pH'sı 5 olarak seçilmiştir.



Şekil 4.37. p(P3KA)/KUG elektrotlar ile farklı pH değerlerinde elde edilen 5,0 µM serotonine ait yükseltgenme (A) ve indirgenme (B) pik akımları (Bekleme süresi: 60 s)

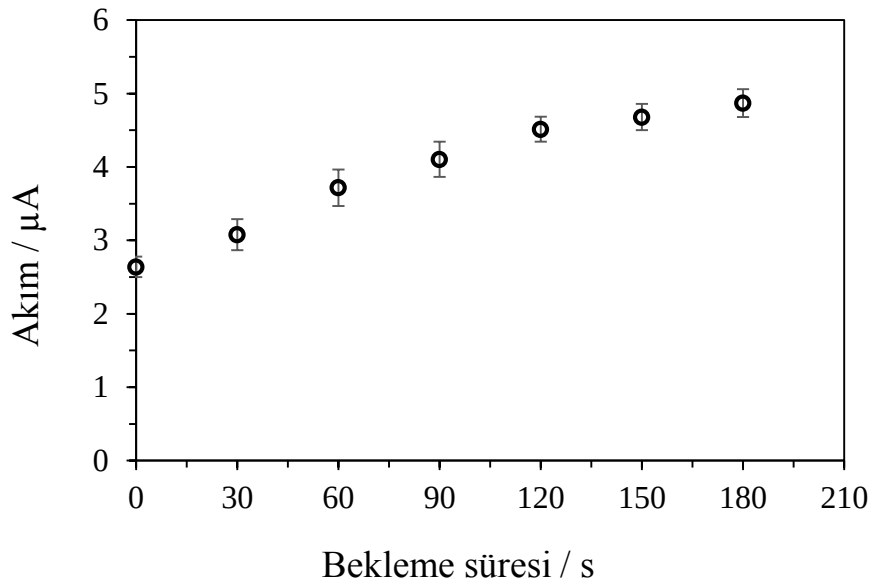


Şekil 4.38. p(P3KA)/KUG elektrotlar ile farklı pH değerlerinde elde edilen serotonine ait yükseltgenme ve serotonin yükseltgenmesi esnasında oluşan ürünün pik gerilimleri

Serotonin yükseltgenme ve indirgenme ölçümleri farklı değerdeki pH ortamlarında yapılan ölçümler ile incelenmiştir. Elde edilen pik akımları ortam pH'sına karşı grafiğe geçirilmiştir (Şek. 4.38). Grafikte görüldüğü gibi yükseltgenme ve indirgenme pik gerilimleri ile pH arasında doğrusal bir ilişki gözlenmiştir. Ayrıca elde edilen eğrilerin eğimleri yükseltgenme ve indirgenme için sırasıyla 0,0477 ve 0,0587 V olarak hesaplanmıştır. Bu eğim değerleri serotoninin yükseltgenmesinde ve indirgenmesinde eşit sayıda elektron ve protonun yer aldığını belirtmektedir.

4.2.6.2 Temas süresinin optimizasyonu

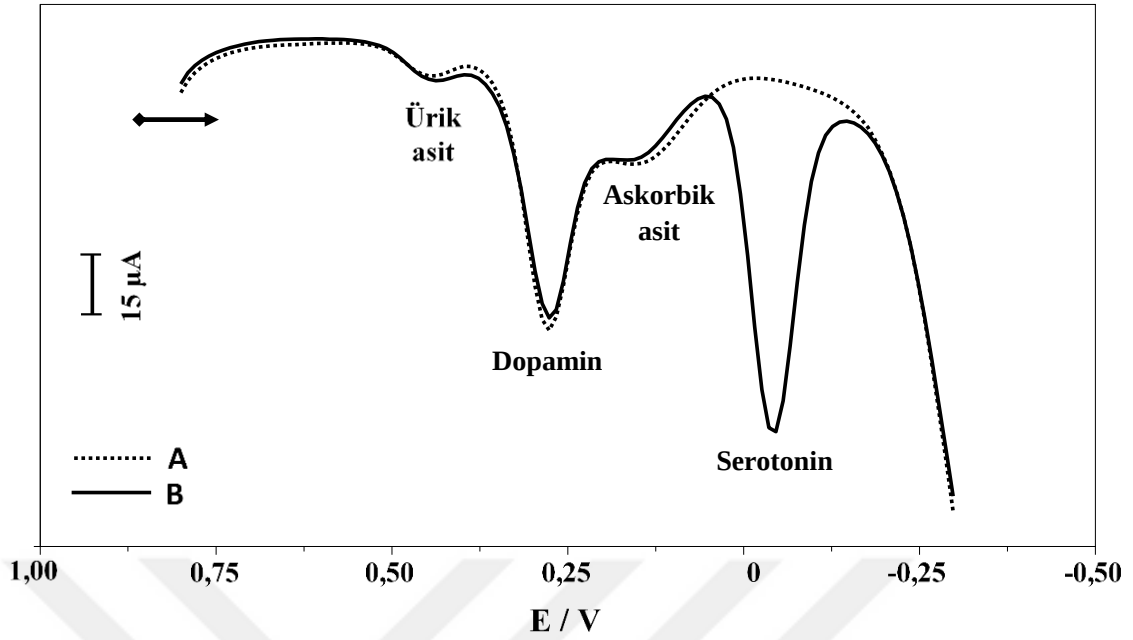
Ölçüm ortam pH'sı optimize edildikten sonra temas süresinin optimizasyonuna geçilmiştir. Bu amaçla p(P3KA)/KUG elektrotlar, 1,0 μ M serotonin içeren ortamda farklı sürelerde (30, 60, 90, 120, 150 ve 180 s) bekletilmiş ve DPV ölçümleri gerçekleştirilmiştir. Elde edilen serotonin indirgenme pik akımları temas süresine karşı grafiğe geçirilmiştir (Şek. 4.39). Serotonin indirgenme pik akımının, temas süresinin 90 saniye olduğunda en yüksek değerine ulaştığı gözlenmiştir. Bu değerden sonra serotonin indirgenme pik akımında kayda değer bir yükselme olmamıştır. Bu nedenle, ölçümün mümkün olan en kısa sürede yapılabilmesi amacıyla optimum temas süresi olarak 90 saniye seçilmiştir.



Şekil 4.39. p(P3KA)/KUG elektrotları ile farklı bekleme sürelerinde yapılan ölçümlerde elde edilen 1,0 μ M serotoninin indirgenme pik akımları (pH 5)

4.2.7. Serotonin tayininde elektro-aktif türlerin etkilerinin incelenmesi

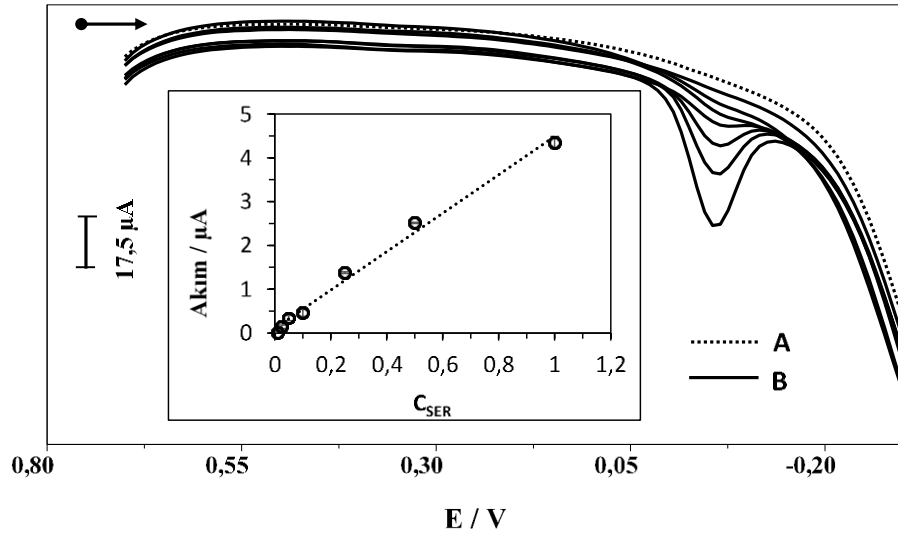
Vücut sıvıları içerisinde az miktarda bulunan biyolojik kökenli moleküllerin tayininin yapılabilmesi oldukça zordur. Çünkü bu sıvılar içerisinde oldukça yüksek miktarda ürik asit, askorbik asit ve dopamin gibi girişim etkisi gösterebilecek elektroaktif molekül bulunmaktadır. Bu nedenle serotonin tayini için tasarlanacak sensör sisteminin oldukça seçici olması gerekmektedir. Bu amaçla hazırlanan p(P3KA)/KUG elektrotların serotonine karşı olan seçiciliği, ortamda yüksek girişim etkisi gösterebilen bu türlerin varlığında ve yokluğunda serotonin ölçümleri yapılarak incelenmiştir (Şek. 3.40). İlk olarak vücut sıvılarında bulunması muhtemel türler olan askorbik asit, ürik asit ve dopaminin serotonin tayinine etkisi araştırılmıştır. Bu amaçla, bu türleri içeren bir karışım (500,0 μ M askorbik asit, 5,0 μ M ürik asit ve 5,0 μ M dopamin) hazırlanmış ve DPV ölçümleri alınmıştır (Şek. 4.40A). Bu karışımın üzerine 5,0 μ M serotonin ilave edilerek ölçümler tekrarlanmıştır (Şek. 4.40B). Görüldüğü üzere, serotonin içermeyen çözeltide 0,448, 0,276 ve 0,154 V'da sırasıyla ürik asit, dopamin ve askorbik asite ait üç adet indirgenme piki gözlenmiştir. Serotonin içeren çözeltide ise bu üç pike ilave olarak -0,046 V'da dördüncü bir indirgenme piki gözlenmiştir. Buradan, p(P3KA)/KUG elektrodun bu türler varlığında serotonine ait indirgenme pikini oldukça başarılı bir şekilde ayırdığı söylenebilir. Bu sonuç, p(P3KA)/KUG elektrodun serotonine karşı yüksek seçiciliğe sahip olduğunu göstermektedir. Bu da hazırlanan modifiye elektrotlar ile yüksek girişim etkisi gösteren bu türler varlığında serotonin tayininin kolaylıkla yapılabileceğini göstermektedir. Serotonin indirgenme pik akımının; 40 kat dopamin, 100 kat ürik asit ve 1000 kat askorbik asit derişiminin varlığında etkilenmediği bulunmuştur. Ayrıca girişim etkisi gösterebilecek farklı elektroaktif türlerin serotonin pik akımına etkisi incelenmiştir. Bu amaçla; tartarik asit (1000,0 μ M), sitrik asit (1000,0 μ M), NaCl (2000,0 μ M), KCl (2000,0 μ M), glukoz (2000,0 μ M) ve üre (2000,0 μ M) varlığında ölçümler gerçekleştirilmiştir. Elde edilen veriler sonucunda serotonin pik akımının, bu türlerin varlığından etkilenmediği görülmüştür. Sonuç olarak, hazırlanan p(P3KA)/KUG elektrodun kan serumu ve idrar örneklerinde büyük oranda girişim etkisi gösteren türler varlığında serotonin tayininde kullanılabileceği söylenebilir.



Şekil 4.40. p(P3KA)/KUG elektrotlar ile 500,0 μM askorbik asit, 5,0 μM dopamin ve 5,0 μM ürik asit içeren fosfat tamponunda (pH 5) serotonin yokluğunda (A) ve 5,0 μM serotonin varlığında (B) elde edilen diferansiyel puls voltamogramları

4.2.8. Analitik parametrelerin belirlenmesi

Serotoninin p(P3KA)/KUG elektrotlar ile tayine yönelik geliştirilen yöntemin analitik parametreleri (doğrusal aralık, gözlenebilme sınırı, tekrarlanabilirlik ve kararlılık) yapılan ölçümler ile belirlenmiştir. İlk olarak 0,01 μM ve 1,0 μM derişim aralığında farklı miktarlarda serotonin içeren çözeltilerde elde edilen indirgenme pik akımları derişime karşı grafiğe geçirilmiştir (Şek. 4.41). Elde edilen kalibrasyon eğrisinde 0,9917 doğrusal regrasyon katsayısına (R^2), $I_p (\mu\text{A}) = (4,40 \pm 0,12) C_{\text{SER}} (\mu\text{M}) + (0,10 \pm 0,02)$ sahip doğrusal bir ilişki gözlenmiştir. Elde edilen doğrunun denklemi yukarıdaki gibi verilebilir. p(P3KA)/KUG elektrodun taban sinyali kullanılarak $S/N=3$ kuralına göre gözlenebilme sınırı 0,0025 μM olarak hesaplanmıştır. Bu çalışmada elde edilen doğrusal aralık ve tayin sınırı daha önce literatürde rapor edilen çalışmalarla karşılaştırılmış ve bu çalışmalar ile uyumlu olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.7).



Şekil 4.41. p(P3KA)/KUG elektrotlar ile 0,01 μM ile 1,0 μM derişim aralığında farklı miktarda serotonin içeren çözeltilerde elde edilen diferansiyel puls voltamogramları. A: p(P3KA)/KUG elektrodun serotonin içermeyen ortamda elde edilen diferansiyel puls voltamogramını göstermektedir

Çizelge 4.7. Hesaplanan gözlenebilme sınırı ve doğrusal ölçüm aralığının daha önce yayımlanan yöntemlerle kıyaslanması

Elektrot	Doğrusal ölçüm aralığı (μM)	Gözlenebilme sınırı (μM)	Kaynak
^a GCE-PEDOT-SWCNT	0,1 – 10,0	0,03	[159]
^b GCE-rGO/PANI-AuNPs	0,2 – 10,0	0,0117	[160]
^c FTO-PEDOT-PSS	1,7 - 138	0,23	[161]
^d GCE- Ni(OH) ₂ -CNT	0,008-10	0,003	[162]
^e GCE-G-g-PLA-Pd	0,1-100	0,08	[163]
^f GCE-ERGO-P	0,1-300	0,03	[76]
^g p(P3CA)/KUG	0,01-1,0	0,0025	Bu çalışmada

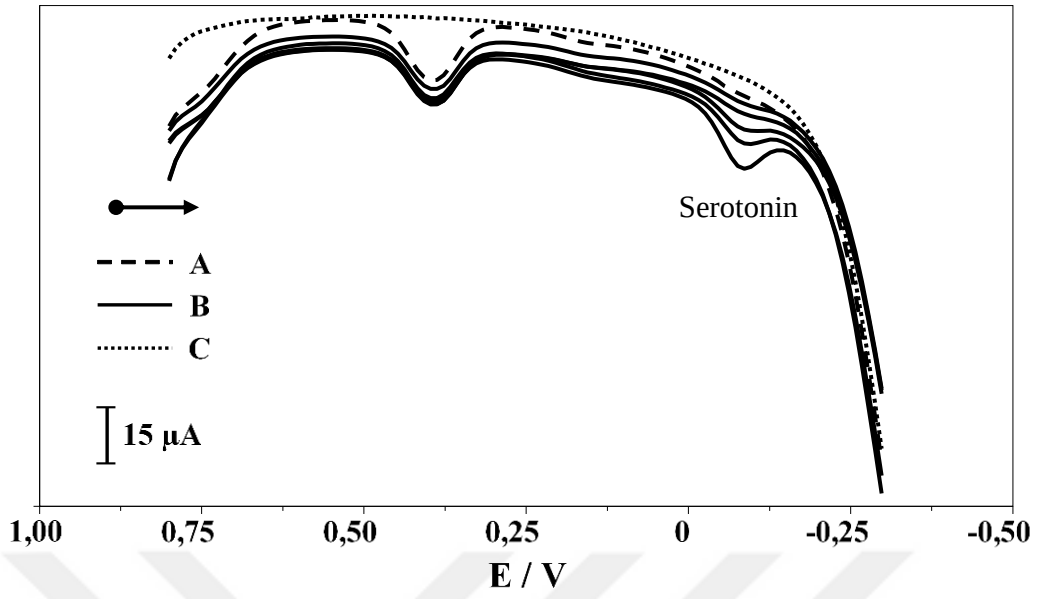
a: Camsı karbon elektrot – polietilendioksitiyofen- tek duvarlı karbon nanotüp
b: Camsı karbon elektrot – indirgenmiş grafenoksit-polianilin altın nanopartikül
c: Flor katkılı kalay oksit - poli etilen dioksi tiyofen-poli(sodyum 4-sitrensülfonat)
d: Camsı karbon elektrot - Ni(OH)₂-karbon nanotüp
e: Camsı karbon elektrot – grafen oksit dokulu poli(laktik asit) paladyum nanopartikül
f: Camsı karbon elektrot – elektrokimyasal olarak indirgenmiş grafen oksit-porfirin
g: Poli(pirrol-3-karboksilik asit) - kalem ucu grafit

p(P3KA)/KUG elektrotların kararlılığı oda koşullarında bir seri modifiye elektrot hazırlanarak incelenmiştir. Bu amaçla hazırlanan elektrotlar desikatör içerisinde 6 ay

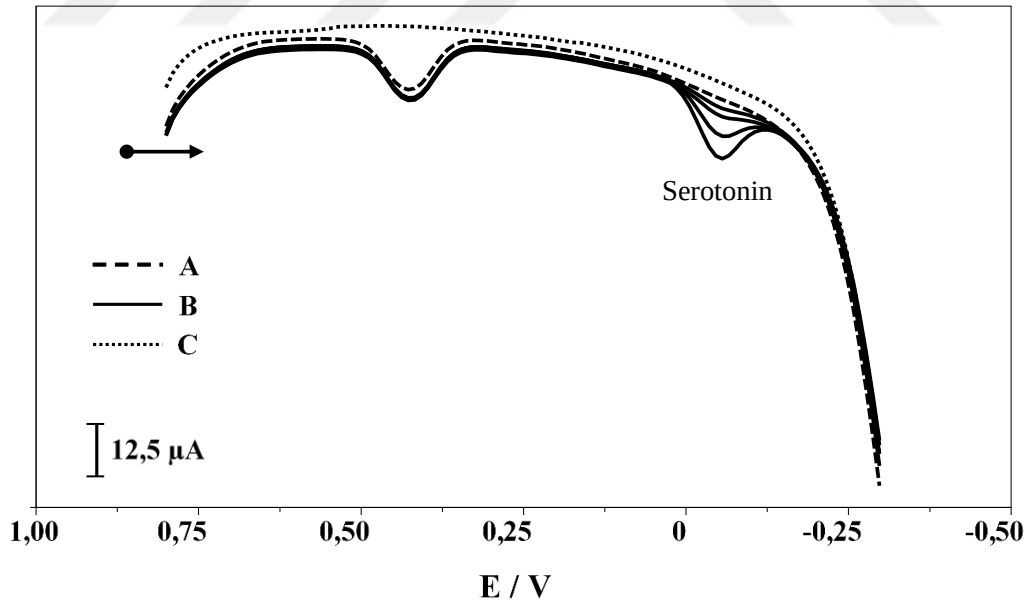
bekletilmiş ve serotonin ölçümleri DPV yöntemi kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Bu ölçümler sonucunda, hazırlanmasının üzerinden 6 ay geçmesine rağmen p(P3KA)/KUG elektrotların serotonine karşı verdiği asıl cevabının %96'sını koruduğu saptanmıştır. Ayrıca p(P3KA)/KUG elektrotların tekrar üretilebilirliklerinin değerlendirilmesi amacıyla yapılan her bir ölçümde yeni hazırlanan elektrotlar kullanılmıştır. Bu amaçla on adet yeni elektrot hazırlanmış ve 1 µM serotonin içeren çözeltide DPV ölçümleri gerçekleştirilmiştir. Yapılan ölçümler sonucunda pik akımlarındaki standart sapma %3,8 olarak hesaplanmıştır. Bu da p(P3KA)/KUG elektrodun aynı hassasiyette tekrar üretilebilir olduğunu ispatlamaktadır.

4.2.9. Gerçek örneklerde serotonin tayini

Hazırlanan p(P3KA)/KUG modifiye elektrotların serotonin tayinine yönelik uygulanabilirliği, kan serumu ve idrar örneklerinde yapılan ölçümler ile belirlenmiştir. Gerçek örnek analizleri için örnekler 0,1 M fosfat tamponunda (pH 5) seyreltilip herhangi bir ön işlem uygulamadan ölçümlerde kullanılmıştır. Şekil 4.42 ve Şekil 4.43 sırasıyla 10 kat seyreltilmiş kan serumu ve 1000 kat seyreltilmiş idrar örneğinde elde edilen diferansiyel puls voltamogramlarını göstermektedir. Kan serumu örneği ile gerçekleştirilen ölçüme ait voltamogramda +0,395, +0,159 ve -0,074 V potansiyel değerlerinde üç adet indirgenme piki elde gözlenmiştir. Bu piklerin sırasıyla ürik asit, askorbik asit ve serotonine ait olduğu bulunmuştur (Şek. 4.42). İdrar örneği ile yapılan ölçüme ait voltamogramda +0,427 ve -0,052 V potansiyel değerlerinde gözlemlenen iki indirgenme piki sırasıyla ürik asit ve serotonine aittir (Şek. 4.43). Serotonin ile ilişkili pik akımı, analiz ortamında standart serotonin çözeltilerinin ilave edilmesi ile artış göstermiştir. Bu durum gerçek örneklerde serotonin varlığını doğrulamaktadır.



Şekil 4.42. p(P3KA)/KUG elektrotlar ile belirli miktarda kan serumu içeren fosfat tamponunda (pH 5) serotonin standartları eklenmeden (A) ve artan derişimlerde serotonin standartları eklenerek (B) elde edilen diferansiyel puls voltamogramları. C: p(P3KA)/KUG elektrodun fosfat tamponunda elde edilen diferansiyel puls voltamogramını göstermektedir (Bekleme süresi 90s, karıştırma hızı 250 rpm)



Şekil 4.43. p(P3KA)/KUG elektrotlar ile belirli miktarda idrar örneği içeren fosfat tamponunda (pH 5) serotonin standartları eklenmeden (A) ve artan derişimlerde serotonin standartları eklenerek (B) elde edilen diferansiyel puls voltamogramları. C: p(P3KA)/KUG elektrodun fosfat tamponunda alınan diferansiyel puls voltamogramını göstermektedir (Bekleme süresi 90s, karıştırma hızı 250 rpm)

Çalışılan örneklerdeki serotonin miktarı standart ekleme yöntemiyle belirlenmiştir. Kan serumu ve idrar örneklerinde sırasıyla 0,287 ve 0,613 μM serotonin varlığı saptanmıştır. Kan serumu ve idrar örneklerinde gerçekleştirilen geri kazanım çalışmaları Çizelge 4.8’de verilmiştir.

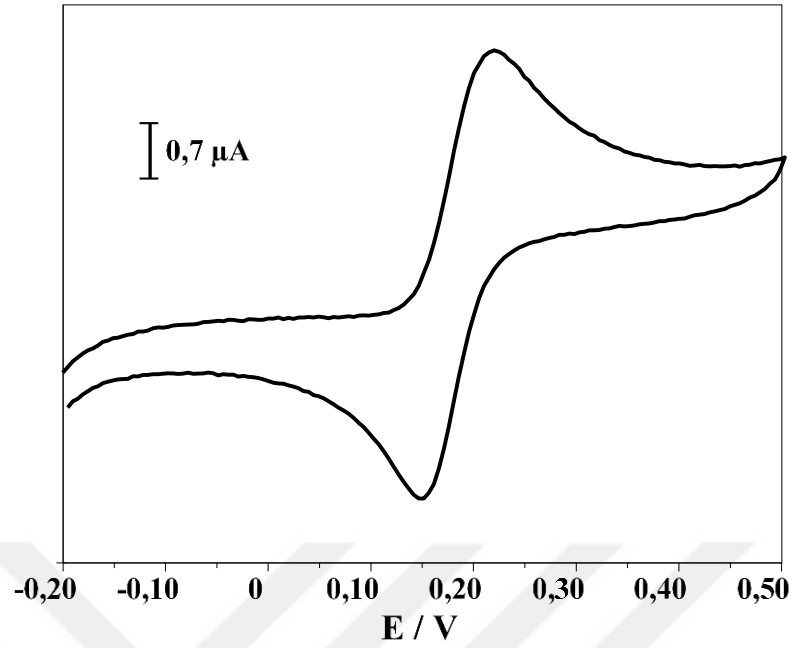
Çizelge 4.8. Kan serumu ve idrar örneklerinde tespit edilen serotonin derişimleri ve geri kazanım oranları

Örnek	[Başlangıç] / μM	[Eklenen] / μM	[Bulunan] / μM	% [Geri kazanım]
Kan Serumu	0,287 ($\pm 0,025$)	---	0,287 ($\pm 0,025$)	---
		1,00	1,264 ($\pm 0,031$)	97,7
		2,00	2,245 ($\pm 0,028$)	97,9
		4,00	4,310 ($\pm 0,035$)	100,6
İdrar Örneği	0,613 ($\pm 0,041$)	----	0,613 ($\pm 0,041$)	---
		1,00	1,587 ($\pm 0,037$)	97,4
		2,00	2,489 ($\pm 0,052$)	93,8
		4,00	4,501 ($\pm 0,056$)	97,2

4.3. Dopamin Tayini İçin p(P3KA) Modifiye AY-KUG Elektrotların Hazırlanması

4.3.1. KUG elektrot ile dopaminin elektrokimyasal davranışının incelenmesi

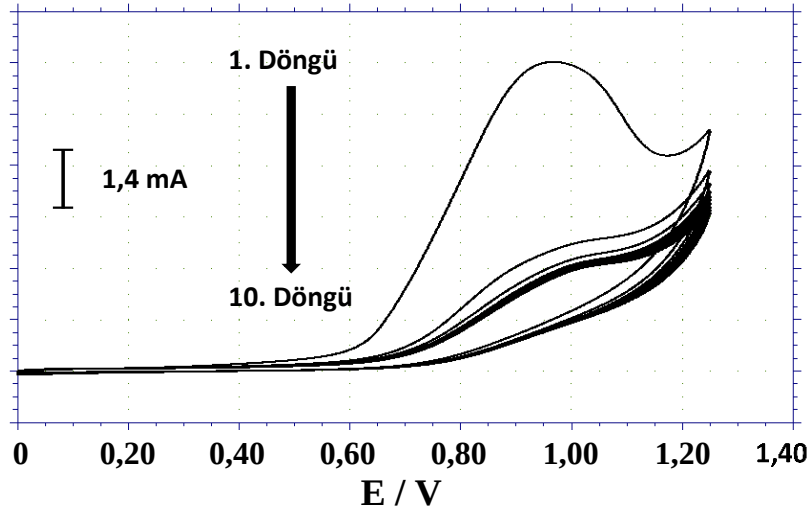
İlk olarak, hedef molekül olan dopaminin KUG elektrot kullanılarak elektrokimyasal davranışı incelenmiştir. Bu amaçla, dopaminin 0,1 M fosfat tamponunda (pH 5) dönüşümlü voltametri ölçümleri gerçekleştirilmiştir (Şek. 4.44). Görüldüğü gibi, dopamin KUG elektrot yüzeyinde +0,21 V’da bir adet yükseltgenme ve +0,15 V’da bir adet indirgenme piki oluşturmuştur. Pik potansiyelleri arasında gözlenen potansiyel fark (0,06 V) ve yükseltgenme pik akımının indirgenme pik akımına oranı (≈ 1) dopaminin tersinir bir yükseltgenme gösterdiğini belirtmektedir.



Şekil 4.44. Dopaminin (5 μM) 0,1 M fosfat tamponunda (pH 5) KUG elektrot ile alınan dönüşümlü voltamogramı

4.3.2. p(P3KA) modifiye AY-KUG elektrodun hazırlanması

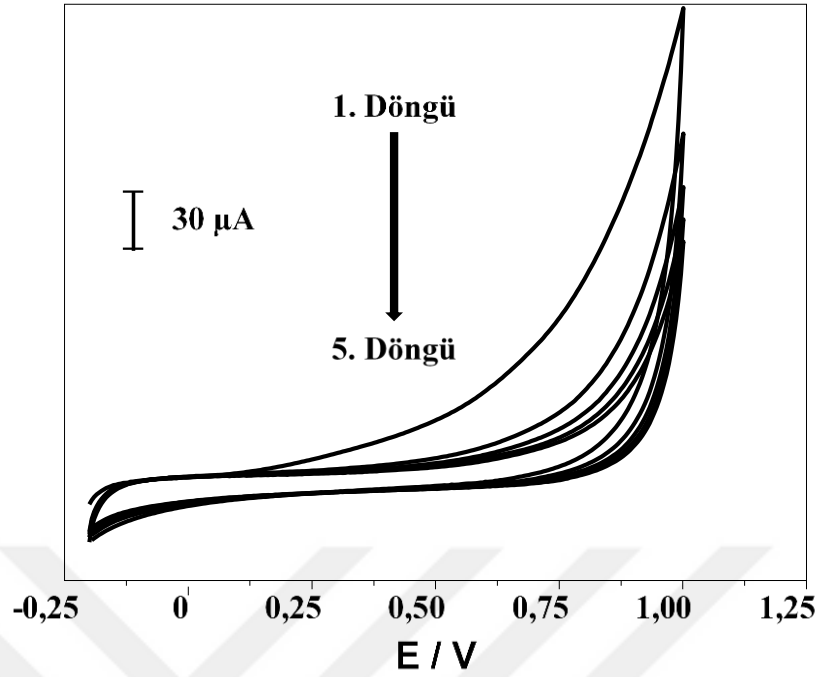
Modifiye elektrotların hazırlanması iki aşamada gerçekleştirilmiştir. İlk aşamada KUG elektrotlar 0,1 M fosfat tamponunda (pH 8,5) 45 saniye süresince 1,9 V'da gerilim uygulanarak aşırı yükseltgenmiş ve bu elektrotlar AY-KUG olarak adlandırılmıştır. İkinci aşamada ise P3KA monomerinin KUG elektrot yüzeyinde elektrokimyasal polimerizasyonu gerçekleştirilmiştir. AY-KUG elektrodun polimerizasyon çözeltisinde alınan dönüşümlü voltamogramı Şekil 4.45'te verilmiştir. Voltamogramdan görüldüğü üzere ileri yönde gerçekleşen taramada P3KA monomeri +0,97 V'da tersinmez bir yükseltgenme piki oluşturmuştur. Bu pik ilk döngüde AY-KUG elektrot yüzeyinde P3KA monomerinin yükseltgendiğini göstermektedir. Ancak geri yöndeki taramada herhangi bir pik gözlenmemiştir. Yükseltgenme piki sonraki döngülerde daha katodik potansiyellere kaymış ve pik akım değerleri giderek azalmıştır. Polimerizasyon işlemi sonunda elektrodun yüzeyinde siyah bir filmin oluştuğu gözlenmiştir. Buradan AY-KUG elektrot yüzeyinde P3KA'nın polimerleşerek poli(pirrol-3-karboksilik asit) p(P3KA) oluşturduğu sonucuna varılmıştır. Elde edilen modifiye elektrotlar p(P3KA)/AY-KUG olarak kısaltılmıştır.



Şekil 4.45. AY-KUG elektrodun saf su içerisinde 20,0 mM P3KA, 0,1 M LiClO₄ ve 0,15 M Na₂CO₃ varlığında elde edilen dönüşümlü voltamogramları (Tarama hızı: 20 mVs⁻¹)

4.3.3. p(P3KA)/KUG elektrodun elektrokimyasal davranışının incelenmesi

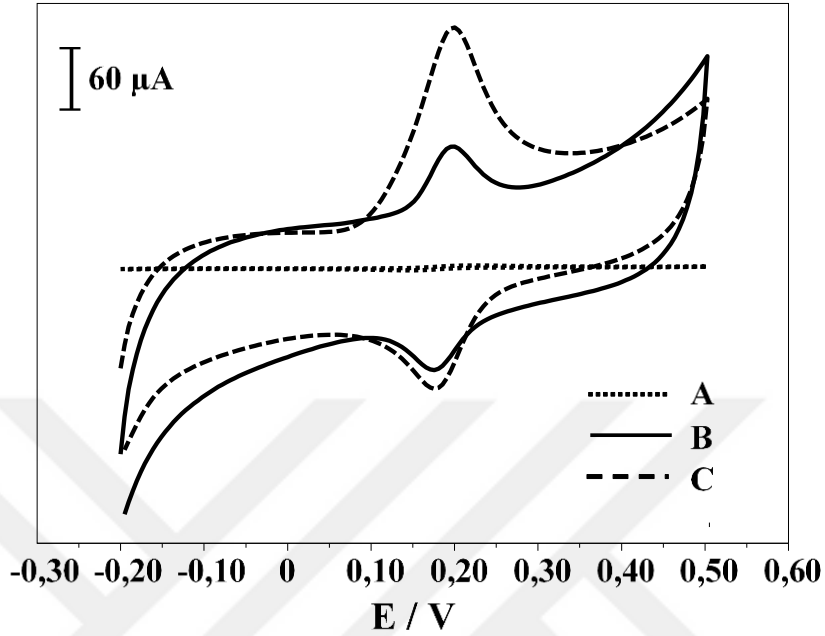
AY-KUG elektrot yüzeyinde P3KA monomeri polimerleştirilerek elde edilen p(P3KA)/AY-KUG elektrotların elektrokimyasal davranışları fosfat tamponu içerisinde incelenmiştir. Bu amaçla hazırlanan p(P3KA)/AY-KUG elektrodun dönüşümlü voltametri ölçümleri -0,3 V ve +1,0 V potansiyel aralığında 0,1 M fosfat (pH 7,4) çözeltisi içerisinde gerçekleştirilmiştir (Şek. 4.46). Modifiye elektrot ilk döngüde yüksek taban sinyali göstermiştir. Buradan modifiye elektrot yüzeyinde polimerizasyona katılmamış oligomerlerin bulunduğu ve bu oligomerlerin yükseltgenmesi sonucunda yüksek taban sinyallerinin oluştuğu sonucuna varılmıştır. Bu arka plan akımı döngü sayısının artışıyla önemli bir biçimde azalmıştır. Sonuç olarak, elektroaktif moleküllerin elektrokimyasal davranışlarının incelenmesi için çalışılan aralıkta elektroaktivite göstermeyen p(P3KA)/AY-KUG elektrotlar hazırlanmıştır.



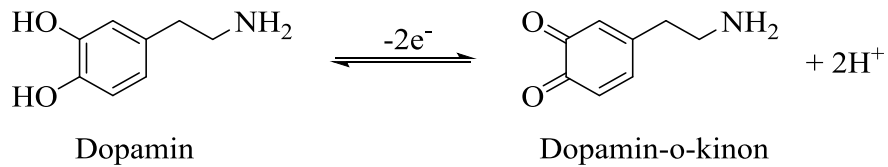
Şekil 4.46. p(P3KA)/AYKUG elektrodun fosfat tamponu (pH 7,4) içerisinde elde edilen dönüşümlü voltamogramı (Tarama hızı: 50 mVs⁻¹)

KUG, p(P3KA)/KUG ve p(P3KA)/AY-KUG elektrotların elektrokimyasal davranışları dopamin içeren çözelti içerisinde de incelenmiştir (Şek. 4.47). Dopamin yükseltgenme gerilimi KUG, p(P3KA)/KUG ve p(P3KA)/AY-KUG elektrotlarda sırasıyla 0,220, 0,192 ve 0,198 V olarak bulunmuştur. İndirgenme gerilimleri ise sırasıyla 0,148, 0,175 ve 0,176 V olarak belirlenmiştir. Dopamin yükseltgenme ve indirgenme gerilimleri arasındaki fark her üç elektrot için sırasıyla 0,072, 0,017 ve 0,022 V olarak belirlenmiştir. Yükseltgenme ve indirgenme pik akımlarının oranı sırasıyla 1,07, 1,28 ve 2,15 olarak belirlenmiştir. Buradan dopaminin KUG elektrotta tersinir bir yükseltgenme gösterdiği, p(P3KA)/KUG ve p(P3KA)/AY-KUG elektrotlar varlığında yarı-tersinir bir davranış gösterdiği söylenebilir. Elektrotların dopamin yükseltgenmesindeki etkinliği karşılaştırıldığında, p(P3KA)/AY-KUG elektrot ile elde edilen dopamin pik akımının p(P3KA)/KUG ve KUG elektrotlarla elde edilen pik akımlarına göre oldukça yüksek olduğu görülmüştür. Bu sonuç hazırlanan modifiye elektrodun dopamine karşı oldukça yüksek duyarlılığa sahip olduğunu göstermektedir. Literatür çalışmalarına dayanarak dopaminin elektrot yüzeyinde Şekil 4.48’de uğradığı dönüşümler gösterilmiştir. Dopamin iki elektron ve iki proton vererek diol yapısından kinon yapısına dönüşmüştür. Bu

dönüşüm esnasında oluşan akım değeri dopamin tayinine yönelik geliştirilen yöntemde analitik parametre olarak kullanılmıştır.



Şekil 4.47. KUG (A), p(P3KA)/KUG (B) ve p(P3KA)/AY-KUG (C) elektrotlarının 5,0 μM dopamin varlığında 0,1 M fosfat tamponunda (pH 6) elde edilen dönüşümlü voltamogramları



Şekil 4.48. Dopaminin yükseltgenme reaksiyonu

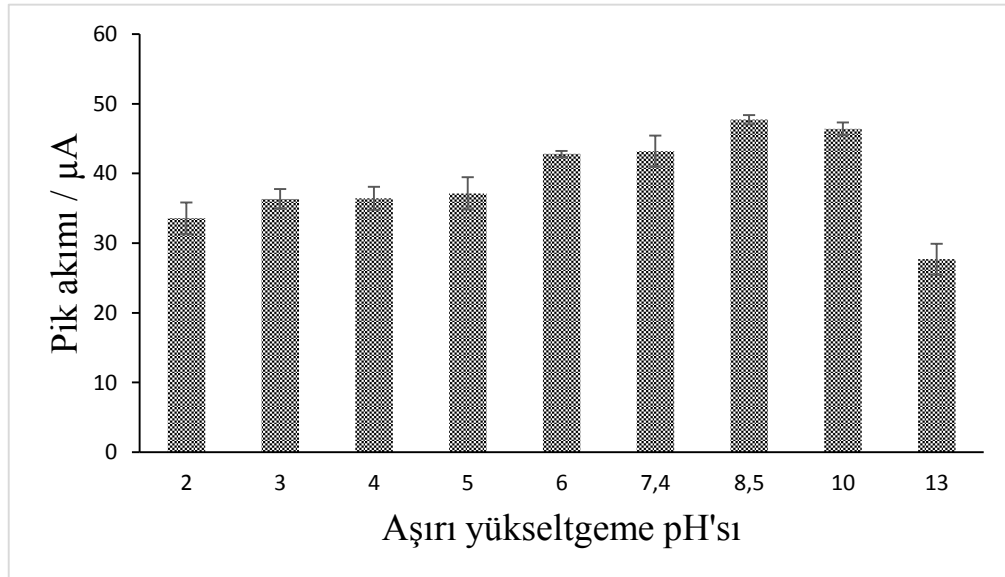
Dopamin tayininde voltametrik çalışmalar yükseltgenme piki üzerinden gerçekleştirilmiştir. Dopamin sulu çözelti ortamında iki elektron vererek dopamin-o-kinon yapısına dönüşür. Ölçümlerde elde edilen dopamin yükseltgenme piki bu dönüşüm esnasında meydana gelmektedir.

4.3.4 KUG elektrotların aşırı yükseltgeme koşullarının optimizasyonu

AY-KUG elektrotların hazırlanmasında aşırı yükseltgeme sürecine etki eden aşırı yükseltgeme gerilimi, aşırı yükseltgeme süresi ve aşırı yükseltgeme ortam pH'sı gibi parametreler sırası ile optimize edilmiştir.

4.3.4.1. Aşırı yükseltgeme geriliminin optimizasyonu

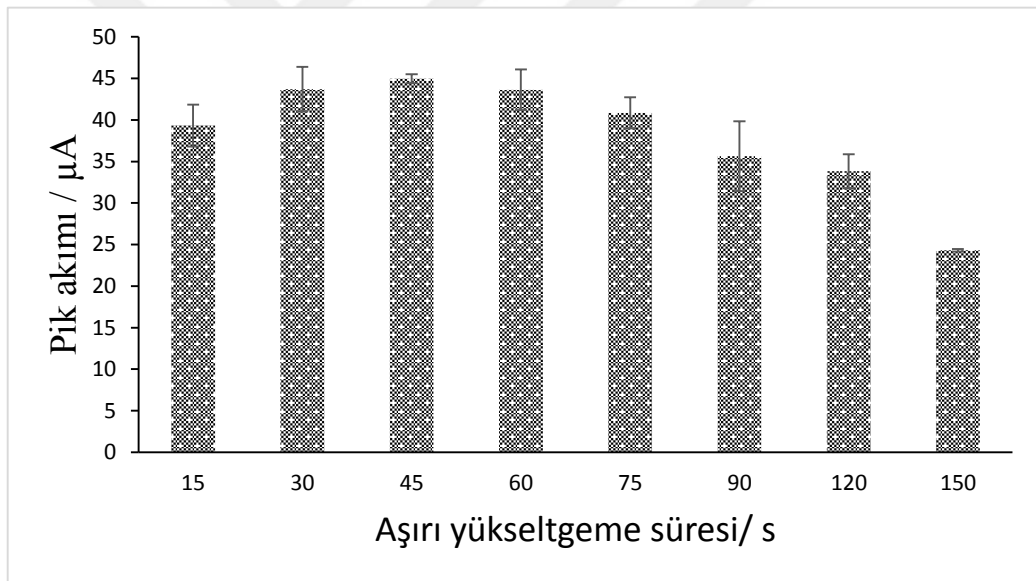
p(P3KA)/AY-KUG elektrotlarının hazırlanmasında farklı gerilim değerinde aşırı yükseltgemeye tabi tutulmuş KUG elektrotlar kullanılmış ve elde edilen elektrodun dopamin yükseltgenmesindeki etkinliği incelenmiştir. Bu amaçla, KUG elektrotlara fosfat tamponunda farklı gerilim değerlerinde (1,4, 1,5, 1,6, 1,7, 1,8, 1,9, 2, 2,1 ve 2,2 V) 60 saniye süreyle aşırı yükseltgeme işlemi uygulanmıştır. Bu elektrotlar kullanılarak p(P3KA)/AY-KUG hazırlanmış ve 5,0 μ M dopamin içeren çözeltide diferansiyel puls ölçümleri gerçekleştirilmiştir. Ölçümler sonucu elde edilen dopamin yükseltgenme pik akımları uygulanan gerilim değerlerine karşı grafiğe geçirilmiştir (Şek. 4.49). Dopamin pik akımları, aşırı yükseltgeme gerilimin artması ile artmış ve gerilim değeri 1,9 V'a geldiğinde en yüksek değerine ulaşmıştır. Bu gerilim değerinden sonra dopamin pik akımları gerilim artışı ile azalmıştır. Bu nedenle KUG elektrotlar için optimum aşırı yükseltgeme gerilimi olarak 1,9 V seçilmiştir.



Şekil 4.49. Farklı gerilimlerde aşırı yükseltgemenmiş KUG elektrotlar kullanılarak hazırlanan p(P3KA)/AY-KUG elektrotların 0,1 M fosfat tamponunda (pH 6) elde edilen 5,0 μ M dopamine ait yükseltgenme pik akımları

4.3.4.2 Aşırı yükseltgeme süresinin optimizasyonu

Modifiye elektrot hazırlanmasında kullanılan KUG elektrotların, aşırı yükseltgeme geriliminin optimizasyonundan sonra, uygulanan gerilim süresinin optimizasyonu gerçekleştirilmiştir. Gerilim uygulama süresinin, p(P3KA)/AY-KUG elektrotların dopamin pik akımlarına etkisinin incelenmesi amacıyla gerçekleştirilen çalışmada, KUG elektrotlar fosfat tamponunda 1,9 V'da farklı sürelerde (15, 30, 45, 60, 75, 90, 120 ve 150 s) aşırı yükseltgenmiş ve p(P3KA)AY-KUG elektrotlar hazırlanmıştır. Hazırlanan elektrotlarla 5,0 μ M dopamin içeren çözeltide diferansiyel puls ölçümleri gerçekleştirilmiştir. Elde edilen akım değerleri Şekil 4.50'de verilmiştir. Dopamin yükseltgenme pik akımının, aşırı yükseltgeme süresinin 45 s olduğunda en yüksek değere ulaştığı belirlenmiştir. Bu nedenle, modifiye elektrodun hazırlanmasında kullanılan KUG elektrotlar için optimum aşırı yükseltgeme süresi olarak 45 saniye seçilmiştir.

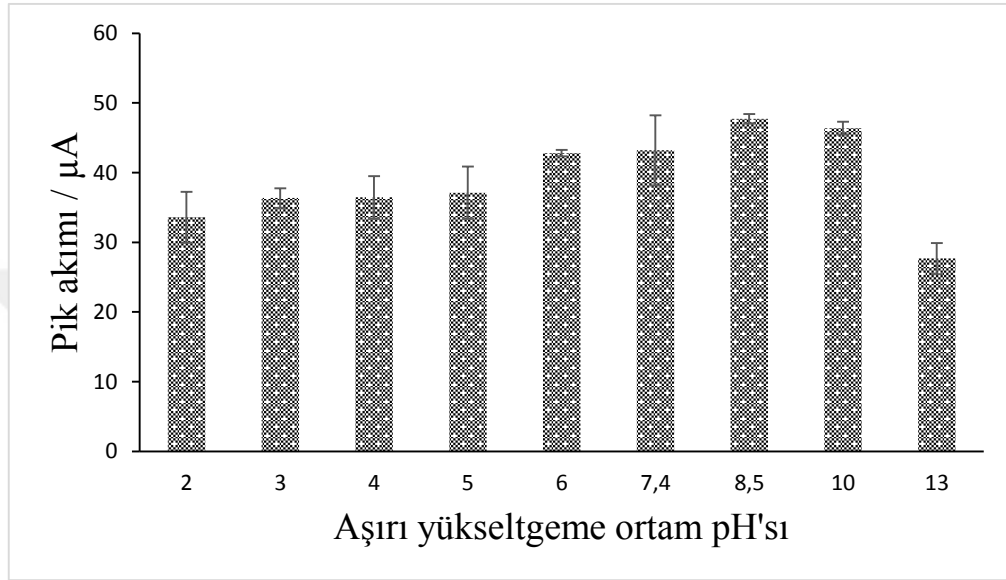


Şekil 4.50. Farklı sürelerde 1,9 V'da aşırı yükseltgenmiş KUG elektrotlar kullanılarak hazırlanan p(P3KA)/AY-KUG elektrotların 0,1 M fosfat tamponunda (pH 6) 5,0 μ M dopamin varlığında elde edilen yükseltgenme pik akımları

4.3.4.3. Aşırı yükseltgeme ortam pH'sının optimizasyonu

Modifiye elektrotların hazırlanmasında kullanılan KUG elektrotların, aşırı yükseltgeme işleminde en son olarak ortam pH'sının etkisi incelenmiştir. Bu kapsamda, KUG elektrotlara farklı pH değerlerinde (2, 3, 4, 5, 6, 7,4, 8,5, 10 ve 13) 1,9 V'da 45 saniye süresince aşırı yükseltgeme işlemi uygulanmıştır. Bu şekilde hazırlanan elektrotlar

p(P3KA) ile modifiye edilerek 5,0 μ M dopamin içeren çözeltide diferansiyel puls voltametri ölçümleri gerçekleştirilmiştir. Elde edilen pik akım değerleri Şekil 4.51’de verilmiştir. Görüldüğü gibi, dopamin yükseltgenme pik akımları, ortam pH’sının 2 ile 8,5 olduğu aralıkta giderek artmış ve en yüksek değerine pH 8,5’te ulaşmıştır. Bu nedenle, bu pH değeri optimum değer olarak seçilmiştir.



Şekil 4.51. Farklı pH değerlerinde aşırı yükseltgenmiş KUG elektrotlar ile hazırlanan modifiye elektrotlar kullanılarak 0,1 M fosfat tamponunda (pH 6) 5,0 μ M dopamin varlığında elde edilen yükseltgenme pik akımları

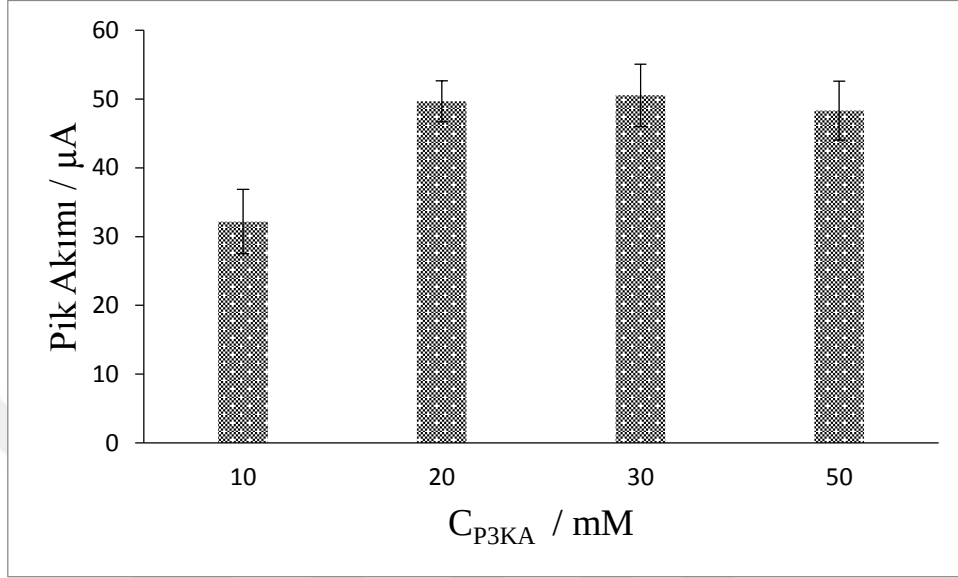
4.3.5. p(P3KA) hazırlama koşullarının optimizasyonu

Elde edilen p(P3KA)/AY-KUG elektrotların dopamine karşı duyarlılıklarını arttırabilmek için P3KA’nın AY-KUG elektrot yüzeyinde elektrokimyasal polimerizasyonuna etki eden monomer derişimi, destek elektrolit derişimi ve polimerizasyon döngü sayısı gibi parametreler optimize edilmiştir.

4.3.5.1. Monomer derişiminin optimizasyonu

p(P3KA)/AY-KUG elektrodunun hazırlanması için elektrokimyasal polimerizasyonda kullanılan P3KA derişiminin dopamin pik akımına etkisi incelenmiştir. Bu amaçla, farklı derişimlerde P3KA içeren (10, 20, 30 ve 50 mM) polimerizasyon çözeltilerinde hazırlanan modifiye elektrotlar ile dopamin ölçümleri gerçekleştirilmiş ve elde edilen pik akımları grafiğe geçirilmiştir (Şek. 4.52). P3KA derişimi 20 mM

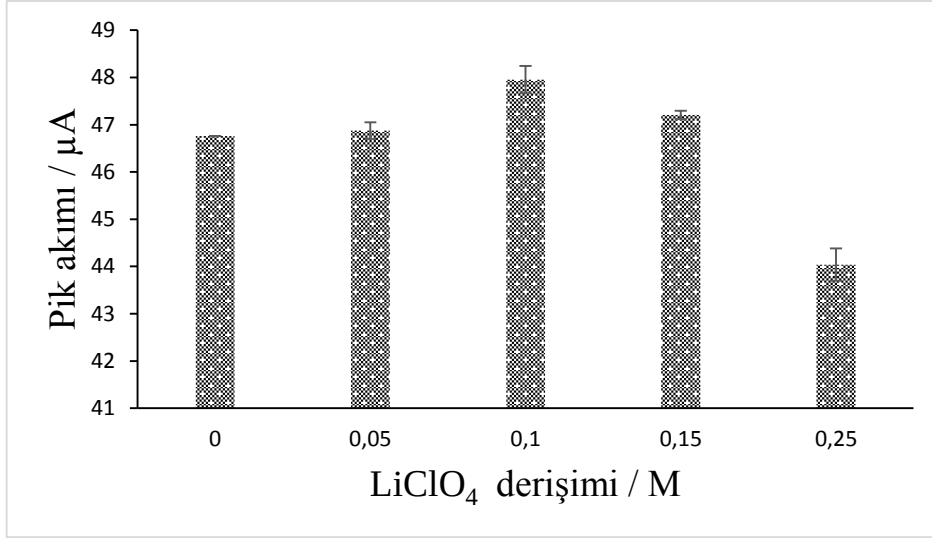
olduğunda dopamin pik akımının yüksek olduğu ve derişim arttıkça pik akımında kayda değer değışimin olmadığı tespit edilmiştir. Bu nedenle, polimerizasyon çözeltisi hazırlanmasında optimum P3KA derişimi 20 mM olarak seçilmiştir.



Şekil 4.52. Farklı derişimlerde P3KA monomeri içeren polimerizasyon çözeltisinde hazırlanan p(P3KA)/AY-KUG elektrotlar ile fosfat tamponunda (pH 7,4) elde edilen 5,0 μM dopaminin yükseltgenme pik akımları

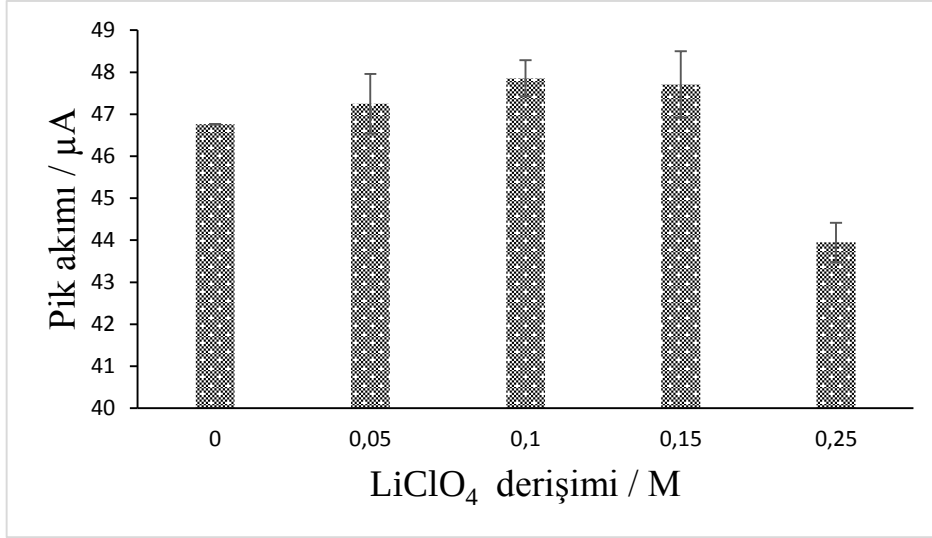
4.3.5.2. Destek elektrolit miktarının optimizasyonu

Polimerizasyon çözeltisi hazırlanmasında kullanılan destek elektrolit olarak Na_2CO_3 ve LiClO_4 karışımı kullanılmıştır. Bu tuzların derişimleri sırası ile optimize edilmiştir. İlk olarak LiClO_4 derişimi sabit tutularak (0,1 M), Na_2CO_3 derişimi değıştirilerek polimerizasyon gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla, farklı derişimlerde Na_2CO_3 kullanılarak hazırlanan polimerizasyon çözeltileri içerisinde p(P3KA)/AY-KUG elektrotları hazırlanmış ve DPV ölçümleri ile dopamin yükseltgenme pik akımları belirlenmiştir (Şek. 4.53). Elde edilen sonuçlara göre 0,15 M Na_2CO_3 derişimine kadar dopamin yükseltgenme pik akımlarının arttığı ve bu değıerden sonra ise pik akımlarının azaldığı saptanmıştır. Bu nedenle, optimum Na_2CO_3 derişimi 0,15 M olarak seçilmiştir.



Şekil 4.53. Farklı miktarda Na₂CO₃ içeren ortamda hazırlanan modifiye elektrotlar kullanılarak 5,0 μM dopamin içeren fosfat tamponunda (pH 7,4) elde edilen yükseltgenme pik akımları (C_{LiClO₄}: 0,1 M)

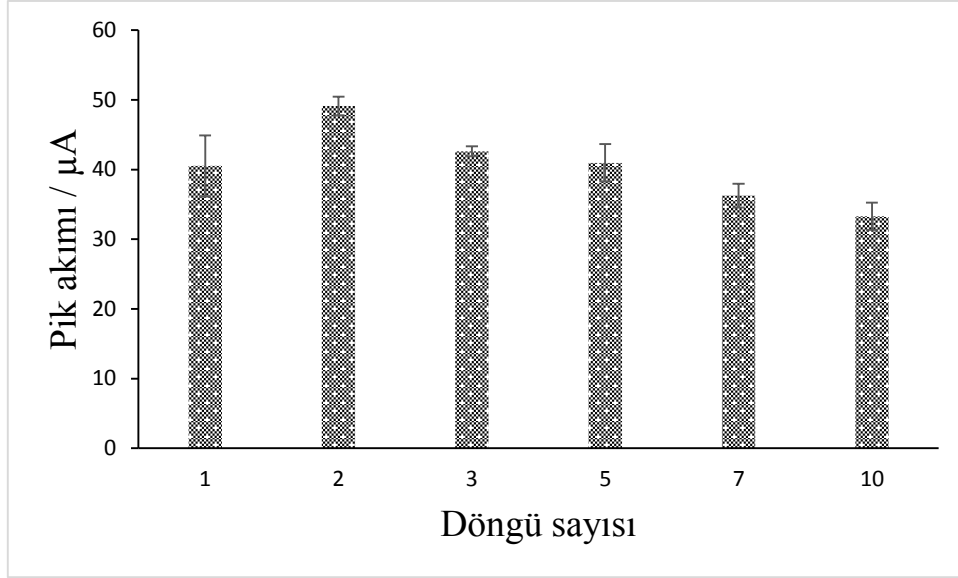
Polimerizasyon çözeltisinde kullanılan diğer destek elektrolitin (LiClO₄) derişimi Na₂CO₃ derişimi sabit tutularak incelenmiştir. Bu amaçla farklı derişimlerde LiClO₄ destek elektroliti kullanılarak hazırlanan polimerizasyon çözeltisi içerisinde p(P3KA)/AY-KUG elektrotlar hazırlanmış ve bu elektrotlar ile belirli miktarda dopamin içeren çözeltelerde DPV ölçümleri gerçekleştirilmiştir. Ölçümler sonucu elde edilen dopamin yükseltgenme pik akımları LiClO₄ destek elektrolitinin derişimine karşı grafiğe geçirilmiştir (Şek. 4.54). Elde edilen sonuçlara göre 0,10 M LiClO₄ derişimine kadar dopamin yükseltgenme pik akımının arttığı, bu değerden sonra ise akım cevaplarının kısmen düştüğü gözlenmiştir. Bu nedenle, 0,10 M LiClO₄ derişimi optimum olarak seçilmiştir.



Şekil 4.54. Farklı miktarda LiClO₄ içeren ortamda hazırlanan modifiye elektrotlar ile 5,0 μM dopamin içeren fosfat tamponunda (pH 7,4) elde edilen yükseltgenme pik akımları

4.3.5.3. P3KA döngü optimizasyonu

Modifiye elektrotların hazırlanmasında kullanılan döngü sayısının dopamin yükseltgenmesine etkisi incelenmiştir. Bu amaçla, 20 mM P3KA monomerini içeren polimerizasyon çözeltisinde farklı döngülerde (1, 2, 3, 5, 7 ve 10) hazırlanan p(P3KA)/AY-KUG elektrotlar ile dopamin içeren ortamda DPV ölçümleri gerçekleştirilmiştir (Şek. 4.55). Dopamin yükseltgenme pik akımları incelendiğinde en yüksek cevapların 2 döngü sayısı ile hazırlanan p(P3KA)/AY-KUG elektrotlar ile elde edildiği görülmektedir. Bu döngü sayısından sonraki döngü sayılarıyla hazırlanan modifiye elektrotların dopamin pik akımlarında önemli derece azalma belirlenmiştir. Bu nedenle, p(P3KA)/AY-KUG modifiye elektrotların hazırlanması amacıyla optimum döngü sayısı olarak 2 döngü seçilmiştir.



Şekil: 4.55. Farklı döngülerde hazırlanan p(P3KA)/AY-KUG elektrotlarla elde edilen 5,0 µM dopamine ait pik akım değerleri

4.3.6. p(P3KA)/AY-KUG elektrotların karakterizasyonu

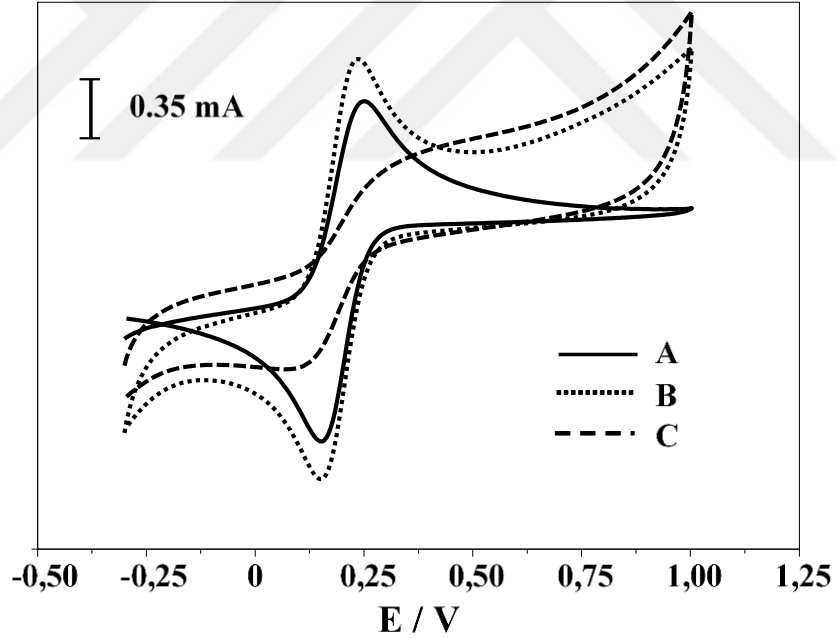
AY-KUG ve p(P3KA)/AY-KUG elektrotların karakterizasyonu dönüşümlü voltametri, elektrokimyasal impedans spektroskopisi ve taramalı elektron mikroskopisi analizleriyle gerçekleştirilmiştir.

4.3.6.1. Modifiye elektrotların dönüşümlü voltametri ölçümleri

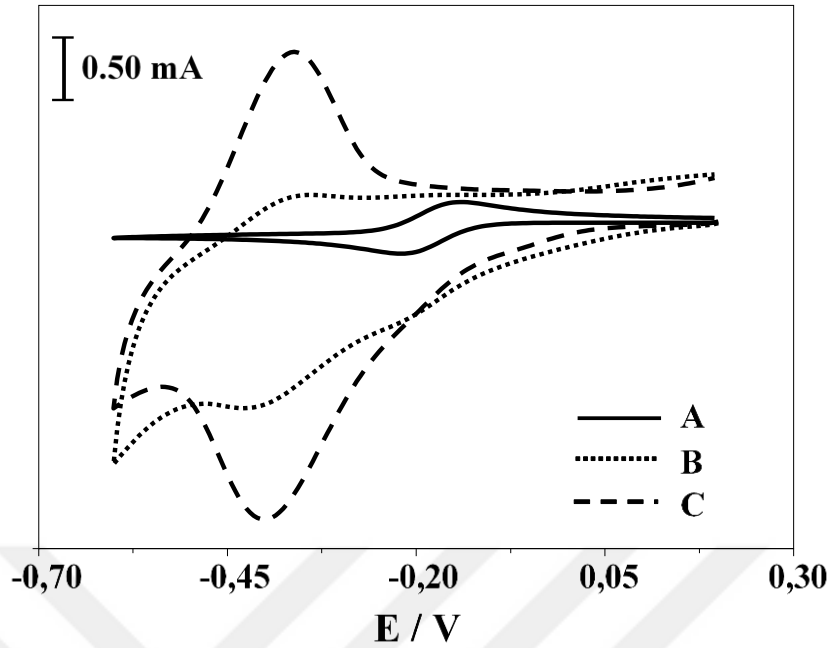
Yüzey özelliklerinin incelenmesi amacıyla modifiye edilen elektrotlar ile elektrokimyasal ölçümler yapılmış ve modifiye edilmemiş elektrotlarla karşılaştırılmıştır. Bu kapsamda, KUG, AY-KUG ve p(P3KA)/AY-KUG elektrotların elektrokimyasal davranışları 2,5 mM $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-/4-}$ ve 1,0 mM $\text{Ru}(\text{NH}_3)_6^{3+}$ redoks türlerini içeren 0,1M KCl çözeltisinde dönüşümlü voltametri ile incelenmiştir. KUG ve AY-KUG elektrotlar ile gerçekleştirilen dönüşümlü voltamogramda KUG için, +0,250 ve +0,153 V değerlerinde AY-KUG elektrot için, +0,240 ve +0,149 V değerlerinde iki pik gözlenmiştir. Bu pikler sırasıyla $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-/4-}$ redoks çiftinin yükseltgenme ve indirgenmesini göstermektedir (Şek. 4.56A-B). Buna karşın, p(P3KA)/AY-KUG elektrot ile alınan voltamogramda $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-/4-}$ redoks çifti için sırasıyla +0,365 ile +0,097 V potansiyel değerlerinde sırasıyla yükseltgenme ve indirgenmeyi gösteren iki adet yayvan pik elde edilmiştir (Şek. 4.56C). Üstelik p(P3KA)/AY-KUG ile gerçekleştirilen ölçümlerde pik akım değerlerinde gözle görülür bir düşüş olmuştur. Bunun sebebi, modifiye elektrot yüzeyinde yer alan

karboksilik asit gruplarının $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-/4-}$ redoks çiftini elektrostatik itmesinden kaynaklı olduğu düşünülmektedir.

Dönüşümlü voltametri ölçümleri pozitif yüklü $\text{Ru}(\text{NH}_3)_6^{3+}$ redoks molekülü varlığında da tekrarlanmıştır. Bu amaçla, KUG ve AY-KUG elektrotlar ile alınan ölçümlerde yükseltgenme ve indirgenme pikleri sırasıyla KUG için -0,156 V ve -0,208 V değerlerinde, AY-KUG için -0,367 ve -0,400 V değerlerinde elde edilmiştir (Şek. 4.57A-B). Buna karşın, p(P3KA)/AY-KUG elektrot ile gerçekleştirilen ölçümlerde yükseltgenme ve indirgenme pikleri sırasıyla -0,363 ve -0,400 V değerlerinde elde edilmiştir (Şek. 4.57C). Ayrıca modifiye elektrodun kullanılmasıyla pik akımları büyük ölçüde artmıştır. Bu da yine yüzeyde yer alan karboksilik asit gruplarının pozitif yüklü $\text{Ru}(\text{NH}_3)_6^{3+}$ molekülünü elektrostatik olarak çekmesinden kaynaklanmaktadır. Bu sonuç, p(P3KA)/AY-KUG elektrodun yüzeyinde karboksilik asit fonksiyonel gruplarının bulunmasından dolayı modifiye elektrot yüzeyinin negatif yüklendiğini göstermektedir.



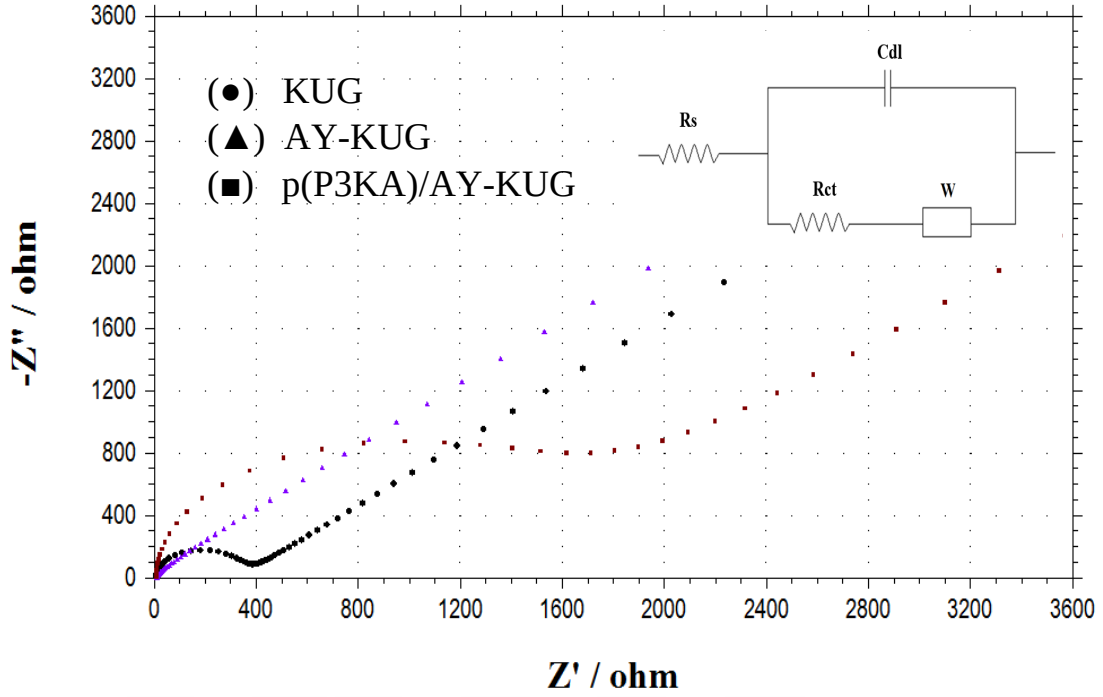
Şekil 4.56. (A) KUG, (B) AY-KUG ve (C) p(P3KA)/AY-KUG elektrolarına ait 0,1M KCl çözeltisinde 2,5 mM $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-/4-}$ varlığında elde edilen dönüşümlü voltamogramlar



Şekil 4.57. (A) KUG, (B) AY-KUG ve (C) p(P3KA)/AY-KUG elektrolarına ait 0,1M KCl çözeltisinde 1,0 mM $\text{Ru}(\text{NH}_3)_6^{3+}$ varlığında elde edilen dönüşümlü voltamogramlar

4.3.6.2. Modifiye elektrodun elektrokimyasal impedans spektroskopisi ölçümleri

KUG, AY-KUG ve p(P3KA)/AY-KUG elektrotların elektron aktarım özellikleri elektrokimyasal empedans spektroskopisi (EIS) kullanılarak incelenmiştir. 5 mM $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-/4-}$ ve 0,1 M KCl içeren 0,1 M fosfat tamponunda (pH 7,4) bu elektrotlar ile gerçekleştirilen ölçümlerde elde edilen Nyquist diyagramları Şekil 4.58’de verilmiştir. Elde edilen empedans ölçümleri, çözelti direnci (R_s), yük-transfer direnci (R_{ct}), Warburg elemanı (W) ve sabit faz elemanı (C_{dl}) bileşenlerini içeren eş devre modeli kullanılarak fit edilmiştir (Çizelge 4.9). KUG, AY-KUG ve p(P3KA)/AY-KUG elektrotların yük-transfer dirençleri sırasıyla 334,7 Ω , 38,49 Ω ve 1480 Ω olarak hesaplanmıştır. p(P3KA)/AY-KUG elektrodun yük-transfer direnci, KUG elektrodunki ile karşılaştırıldığında oldukça artmıştır. Bu durum, p(P3KA) yapısında bulunan karboksilik asit fonksiyonel grupları ile $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-/4-}$ redoks çiftini arasında gerçekleşen elektrostatik itmeden kaynaklanmaktadır.



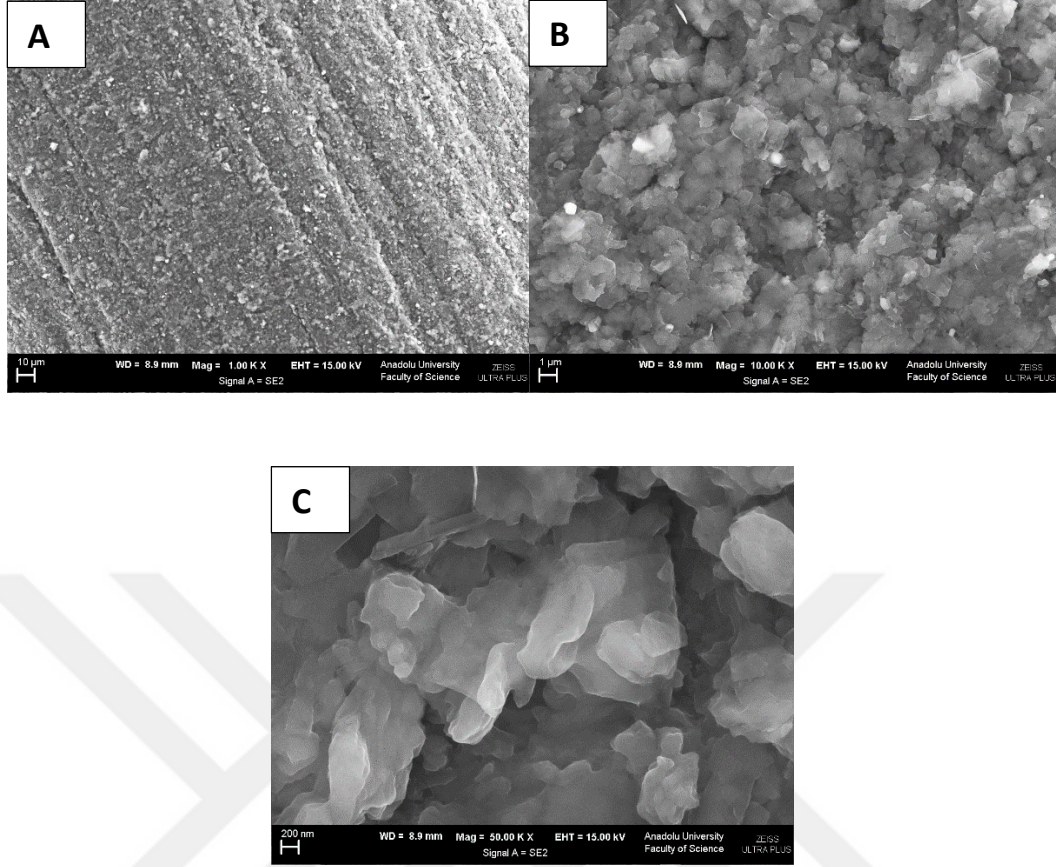
Şekil 4.58. KUG, AY-KUG ve p(P3KA)/AY-KUG elektrotların 0,1 M KCl ve 5,0 mM $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-/4-}$ içeren fosfat tamponundaki (pH 7,4) empedans ölçümleriyle elde edilen Nyquist diyagramları

Çizelge 4.9. Elektrotlar için empedans devre elemanlarının eş değer devreye fit edilmiş değerleri

Elektrot	R_s (Ω)	R_{ct} (Ω)	C_{dl} (F)	W
KUG	9,292	334,7	$1,108 \times 10^{-6}$	0,0009402
AY-KUG	9,853	38,49	$9,267 \times 10^{-5}$	0,002798
p(P3KA)/AY-KUG	9,621	1480	$8,613 \times 10^{-5}$	0,001314

4.3.6.3. Modifiye elektrodun SEM görüntüleri

p(P3KA)/AY-KUG elektrodun yüzey morfolojisi taramalı elektron mikroskopisi (SEM) ile incelenmiştir (Şek. 4.59). AY-KUG yüzeyindeki p(P3KA) filmi Şekil 4.59A'da görülmektedir. Daha yüksek büyütme oranına sahip SEM görüntüleri p(P3KA) filminin karnıbahar yapısında olduğunu göstermektedir (Şek. 4.59B-C). Bu sonuç, AY-KUG elektrodun yüzey alanının p(P3KA) filmi varlığında oldukça arttığını göstermektedir. Yüzey alanının artması ile elektrot bazı moleküllere karşı daha hassas hale gelmiştir.

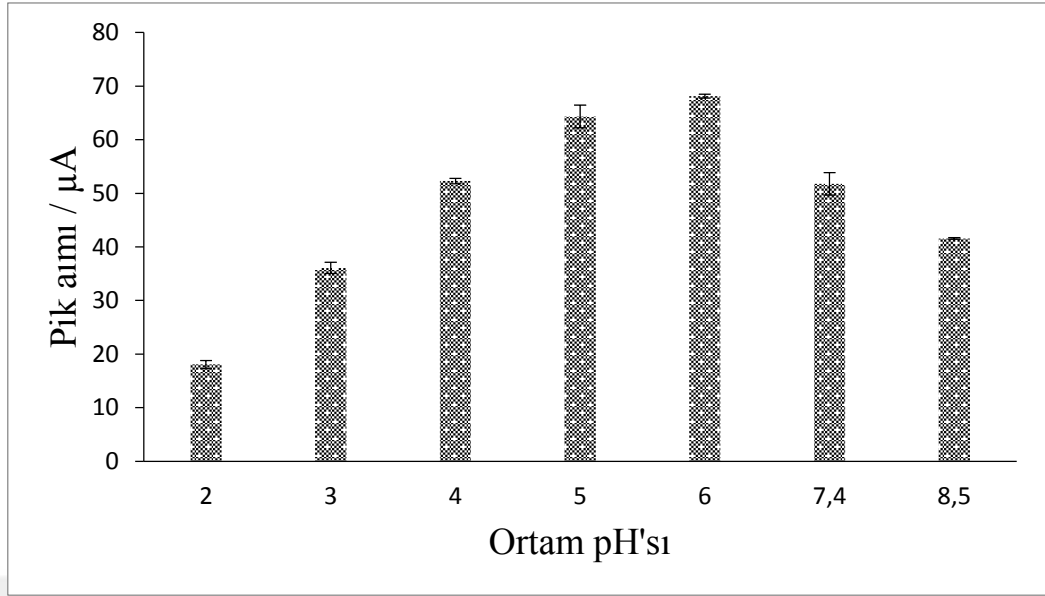


Şekil 4.59. p(P3KA)/AY-KUG elektrodunun farklı büyütme oranlarında alınan SEM görüntüleri (A: 1,5X, B: 10000X ve C: 50000X)

4.3.7 Dopamin tayini için analiz koşullarının optimizasyonu

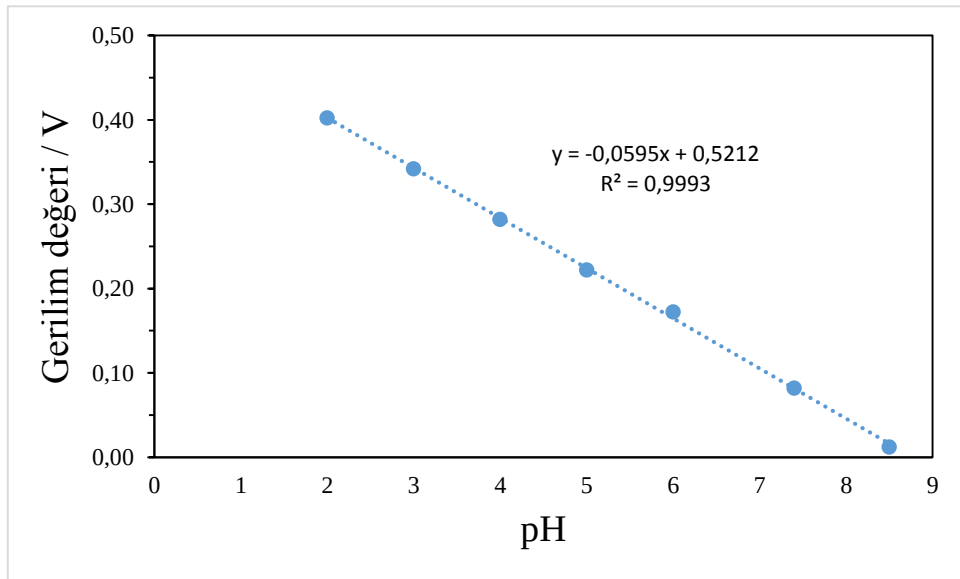
4.3.7.1. Ölçüm çözelti pH'sının optimizasyonu

p(P3KA)/AY-KUG elektrodun dopamin duyarlılığını arttırmak için, elektrotların dopamin yükseltgenmesindeki etkinliğine analiz ortam pH'sının etkisi incelenmiştir. Bu amaçla, farklı pH'lardaki (2, 3, 4, 5, 6, 7,4 ve 8,5) fosfat tamponlarında dopaminin yükseltgenme pik akımları ölçülerek grafiğe geçirilmiştir (Şek. 4.60). Dopamin yükseltgenme pik akımlarının, pH değerinin 2'den itibaren kademeli olarak arttırılmasıyla arttığı gözlenmiştir. Yükseltgenme pik akımları pH 6'da en yüksek değerine ulaşmış ve bu değerden sonra pH artışı ile belirgin bir şekilde azalmıştır.



Şekil 4.60. p(P3KA)/AY-KUG elektrotlar kullanılarak farklı pH değerlerinde elde edilen 5,0 µM dopamine ait yükseltgenme pik akımları (Bekleme süresi: 60 s)

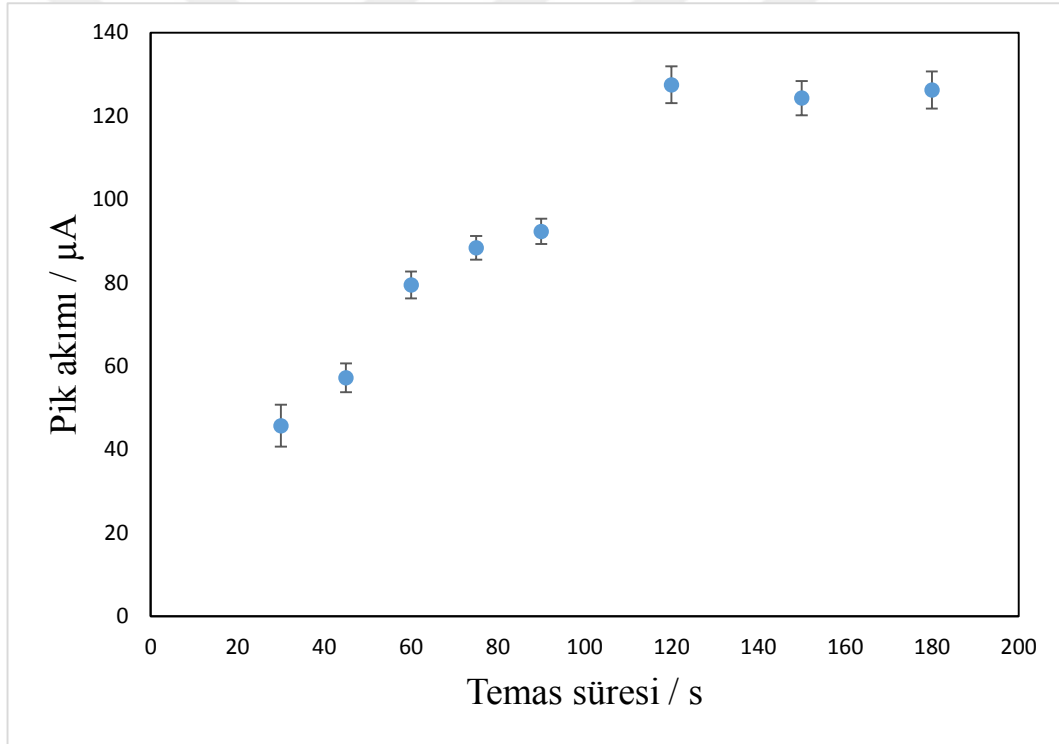
Dopamin yükseltgenme pik gerilimleri ölçüm ortam pH'sına karşı grafiğe geçirilmiştir (Şek. 4.61). Görüldüğü gibi, yükseltgenme pik gerilimleri ile pH arasında doğrusal bir ilişki elde edilmiştir. Elde edilen doğrunun eğimi 0,0595 V olarak hesaplanmıştır. Bu değer, dopamin yükseltgenmesinde eşit miktarda elektron ve proton yer aldığını göstermektedir.



Şekil 4.61. p(P3KA)/AY-KUG elektrotlar ile farklı pH değerlerinde elde edilen dopamine ait yükseltgenme pik gerilimleri (Bekleme süresi: 60 s)

4.3.7.2. Temas süresi optimizasyonu

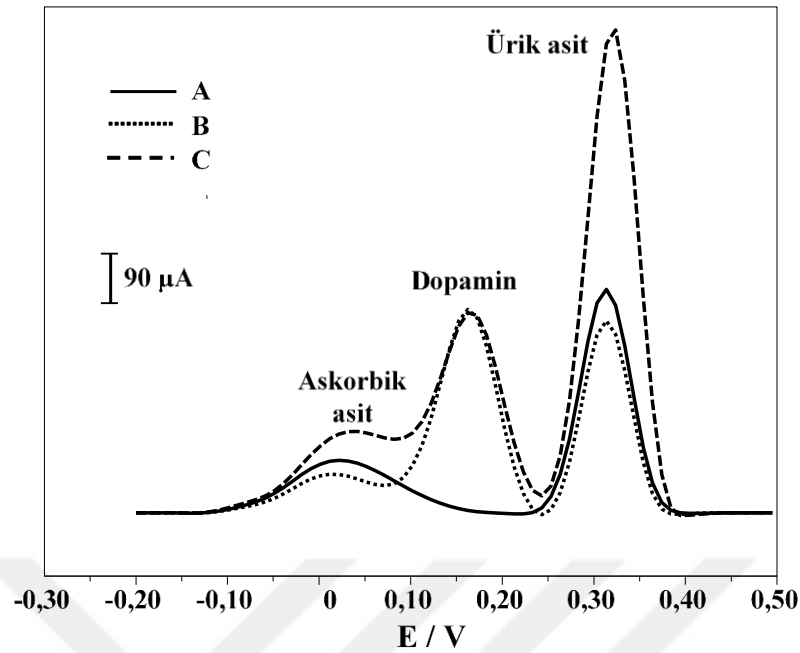
p(P3KA)/AY-KUG elektrodun dopamin duyarlılığını etkileyen parametrelerden biri olan ölçüm ortam pH'sının optimizasyonundan sonra temas süresinin optimizasyonuna geçilmiştir. Bu kapsamda, p(P3KA)/AY-KUG elektrotlar, 5,0 μM dopamin içeren fosfat tamponunda (pH 6) farklı sürelerde (30, 45, 60, 75, 90, 120, 150 ve 180 s) bekletilmiş ve DPV ölçümleri gerçekleştirilmiştir. Elde edilen dopamin yükseltgenme pik akımları temas süresine karşı grafiğe geçirilmiştir (Şek 4.62). Dopamin yükseltgenme pik akımı temas süresinin artmasıyla belirgin bir şekilde artış göstermiştir. Bu artış temas süresi 120 s olduğunda en yüksek değerine ulaşmıştır. Bu zamandan sonra temas süresinin artmasıyla pik akımlarında kayda değer bir artış meydana gelmemiştir. Bu nedenle bekleme süresi olarak 120 s seçilmiştir.



Şekil 4.62. p(P3KA)/AY-KUG elektrotları kullanılarak fosfat tamponunda (pH 6) farklı bekleme sürelerinde gerçekleştirilen ölçümlerde elde edilen 5,0 μM dopamine ait yükseltgenme pik akımları

4.3.8. Dopamin tayininde elektro-aktif türlerin etkilerinin incelenmesi

Vücut sıvıları içerisinde az miktarda bulunan biyolojik kökenli moleküllerin tayininin yapılabilmesi için analite karşı oldukça seçici özellik gösteren yöntemlerin kullanılması gerekmektedir. Çünkü bu sıvılar içerisinde oldukça yüksek miktarda ürik asit ve askorbik asit gibi girişim etkisi gösteren elektroaktif moleküller bulunmaktadır. Bu elektroaktif türlerin varlığının dopaminin elektrokimyasal davranışına etkisinin incelenmesi amacıyla, p(P3KA)/AY-KUG elektrotlar hazırlanarak yüksek girişim etkisi gösterebilen bu türler varlığında ve yokluğunda dopamin ölçümleri gerçekleştirilmiştir (Şek. 4.63). Bu kapsamda ilk olarak, 500,0 μM askorbik asit ve 5,0 μM ürik asit karışımını içeren fosfat tamponunda (pH 6) DPV ölçümleri gerçekleştirilmiştir. Görüldüğü üzere 0,022 ve 0,314 V'da iki adet yükseltgenme piki gözlenmiştir (Şek. 4.63A). Bu yükseltgenme pikleri sırasıyla askorbik asit ve ürik asite aittir. Daha sonra askorbik sit ürik asit karışımını içeren çözeltiye 1 μM dopamin ilave edilerek ölçümler tekrarlanmış ve 0,021, 0,164 ve 0,314 V'da 3 adet yükseltgenme piki gözlenmiştir. Bu pikler sırasıyla askorbik asit, dopamin ve ürik asite aittir (Şek. 4.63B). Görüldüğü gibi p(P3KA)/AY-KUG elektrodu askorbik asit ve ürik asit içeren çözelti içerisinde dopamin yükseltgenme pikini ayırmayı başarmıştır. Ayrıca çözeltideki ürik asit miktarı artırılarak (15,0 μM) ölçümler alınmış ve girişim etkisi detaylıca araştırılmıştır (Şek. 4.63C). Voltamogramda görüldüğü üzere dopamin yükseltgenme piki, ürik asit derişiminin artmasından etkilenmemiştir. Bu sonuç p(P3KA)/AY-KUG elektrodun dopamine karşı yüksek seçiciliğe sahip olduğunu göstermektedir ve bu türler varlığında kolaylıkla dopamin tayini için kullanılabileceğini kanıtlamaktadır. Ayrıca nadiren de olsa girişim etkisi gösterebilen farklı türlerin etkisi incelenmiştir. Bu amaçla; Tartarik asit (1000 μM), sitrik asit (1000 μM), NaCl (2000 μM), KCl (2000 μM), glukoz (2000 μM), üre (2000 μM) varlığında dopamin pik akımı incelenmiştir. Sonuç olarak dopaminin voltametrik cevabında kayda değer bir değişim gerçekleşmemiştir. Bu sonuçlar, önerilen modifiye elektrot ile kan serumu ve idrar örneklerinde bazı girişim yapan türlerden bağımsız olarak dopamin tayini yapılabilceğini göstermiştir.



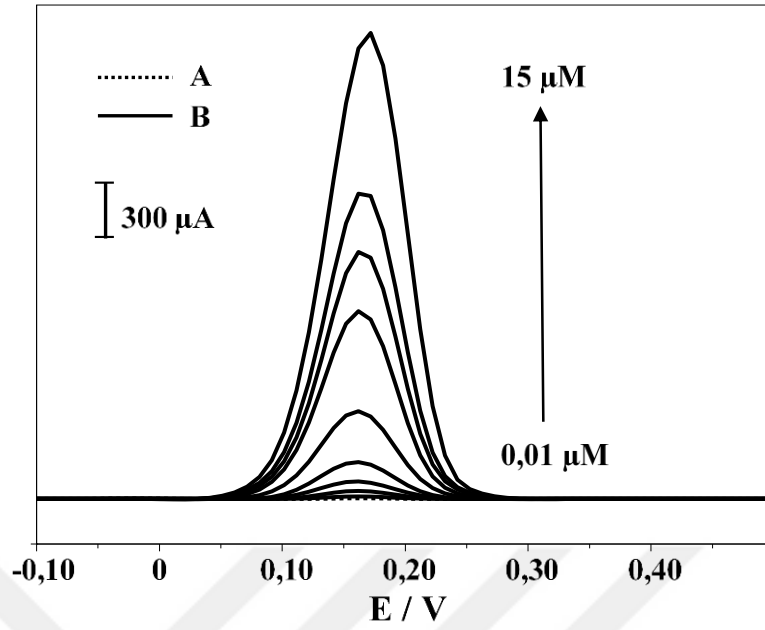
Şekil 4.63. p(P3KA)/AY-KUG elektrotlar ile 500,0 µM askorbik asit ve 5,0 µM ürik asit karışımını içeren fosfat tamponunda (pH 6) dopamin yokluğunda (A) ve 5,0 µM dopamin varlığında (B) elde edilen diferansiyel puls voltamogramları. C: 500,0 µM askorbik asit ve 15,0 µM ürik asit ve 5,0 µM dopamin karışımının diferansiyel puls voltamogramını göstermektedir.

4.3.9. Analitik parametrelerin belirlenmesi

p(P3KA)/AY-KUG elektrotlar ile dopamin tayinine yönelik hazırlanan sensörün analitik parametreleri (doğrusallık aralığı, gözlenebilme sınırı, tekrar üretilebilirlik ve kararlılık) gerçekleştirilen ölçümler ile belirlemiştir. İlk olarak 0,01 ile 15,0 µM derişim aralığında dopamin içeren çözeltilerde p(P3KA)/AY-KUG elektrotlar ile ölçümler gerçekleştirilmiş (Şek. 4.64) ve elde edilen pik akımları derişime karşı grafiğe geçirilmiştir. Elde edilen kalibrasyon eğrisinde 0,9946 doğrusal regrasyon katsayısına (R^2) sahip doğrusal bir ilişki saptanmıştır. Elde edilen doğrunun denklemi aşağıdaki gibi verilebilir,

$$I_p (\mu A) = (17,234) C_{DOP} (\mu M) + 2,8977 \quad (4.1)$$

p(P3KA)/AY-KUG elektrodun taban sinyali kullanılarak S/N= 3 kuralına göre gözlenebilme sınırı 0,00217 µM olarak hesaplanmıştır. Elde edilen doğrusal aralık ve gözlenebilme sınırı gibi analitik parametreler daha önce yapılan çalışmalarla karşılaştırılmıştır (Çiz. 4.10). Çizelgede görüldüğü üzere, bu çalışmada elde edilen doğrusal aralık ve tayin sınırı literatür çalışmalarıyla uyumludur.



Şekil 4.64. p(P3KA)/AY-KUG elektrot kullanılarak fosfat tamponunda (pH 6) dopamin içermeyen (A) ve artan derişimlerde dopamin içeren (B) koşullarda elde edilen diferansiyel puls voltamogramları

Çizelge 4.10. p(P3KA)/AY-KUG elektrot kullanılarak dopamin tayini için geliştirilen voltametrik yöntemin analitik parametrelerinin literatür çalışmaları ile kıyaslanması

Elektrot	Doğrusal ölçüm aralığı (µM)	Gözlenebilme sınırı (µM)	Kaynak
^a ITO-AuNPs	10,0 – 900,0	34,50	[164]
^b CPE-CuO	2,0 – 20,0	0,055	[165]
^c GCE-s-GR	0,2 – 20,0	0,002	[166]
^d GCE-GO	1,0 – 15,0	0,270	[167]
^e GCE-ERGO/P	0,1 – 500,0	0,035	[76]
^f GCE-WO ₃ NPs	0,1 – 600,0	0,240	[168]
^g GCE-RGO/ZnO	3,0 – 330,0	1,080	[169]
^h p(P3KA)/AY-KUG	0,01 – 15,0	0,00217	Bu çalışmada

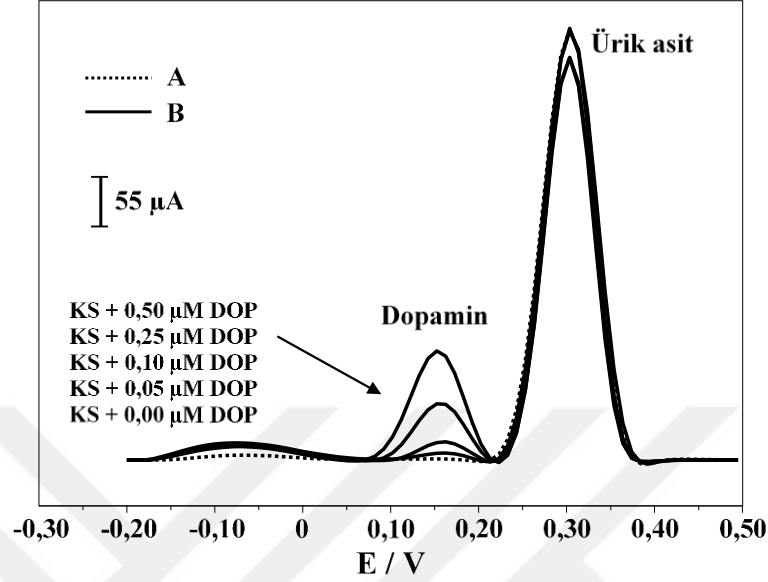
a: İndiyum kalay oksit - altın nanopartikül
b: Karbon pasta elektrot - bakır oksit
c: Camsı karbon elektrot - sülfolanmış grafen
d: Camsı karbon elektrot – grafen oksit
e: Camsı karbon elektrot – elektrokimyasal indirgenmiş grafen oksit/porfirin
f: Camsı karbon elektrot – tungsten (III) oksit nanopartikül
g: Camsı karbon elektrot – indirgenmiş grafen oksit/çinko oksit
h: Poli-pirol-3-karboksilik asit – aşırı yükseltgenmiş kalem ucu grafit

p(P3KA)/AY-KUG elektrotların kararlılığı oda koşullarında bir seri modifiye elektrot hazırlanarak incelenmiştir. Bu amaçla hazırlanan elektrotlar desikatör içerisinde 90 gün bekletilmiş ve dopamin ölçümleri gerçekleştirilmiştir. Bu ölçümler sonucunda, hazırlanmasının üzerinden 90 gün geçmesine rağmen p(P3KA)/AY-KUG elektrotların dopamine karşı verdiği asıl cevabının %95'ini koruduğu saptanmıştır. Ayrıca p(P3KA)/AY-KUG elektrotların tekrar üretilebilirlik çalışmaları amacıyla yapılan her bir ölçümde yeni hazırlanan elektrotlar kullanılmıştır. Bu amaçla on adet yeni elektrot hazırlanmış ve 5 μ M dopamin içeren çözeltide DPV ölçümleri gerçekleştirilmiştir. Yapılan ölçümler sonucunda pik akımlarındaki standart sapma %1,5 olarak hesaplanmıştır. Bu da p(P3KA)/AY-KUG elektrotların aynı hassasiyette tekrar üretilebilir olduğunu ispatlamaktadır.

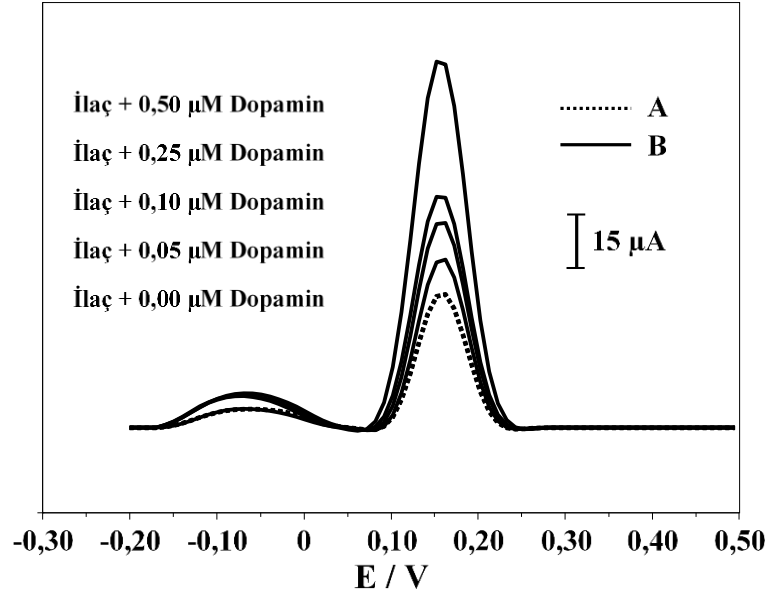
4.3.10. Gerçek örneklerde dopamin tayini

Bir sensör için tayin edilecek molekülün gerçek örnekler içerisinde analizi oldukça önemlidir. Çünkü gerçek örneklerde molekülün tayini, hazırlanan yöntemin moleküle karşı ne kadar seçici olduğunu göstermektedir. Hazırlanan p(P3KA)/AY-KUG elektrotların dopaminin tayinine yönelik uygulanabilirliği, kan serumu ve ilaç örnekleri içeren çözeltielerde araştırılmıştır. Bu çerçevede, gerçek örnekler 0,1 M fosfat tamponunda (pH 6) seyreltilip herhangi bir ön işlem uygulamadan ölçümlerde kullanılmıştır. 400 kat seyreltilen kan serumlarının DPV voltamogramları Şekil 4.65A'da gösterilmektedir. Bu voltamogramda +0,156 V değerinde dopaminin yükseltgenme piki görülmektedir. Bu yükseltgenme piki birbiri ardına eklenen standart dopamin çözeltileri ile aynı yükseltgenme potansiyelinde artış göstermektedir ve bu dopaminin varlığını kanıtlamaktadır (Şek. 4.65B). İki farklı kan serumu örneğiyle gerçekleştirilen standart ekleme deneylerinde dopamin miktarı sırasıyla 0,227 μ M (%BSS: 1,95) ve 0,180 μ M (%BSS: 1,93) olarak bulunmuştur. Ayrıca dopamin içeren ilaç örneklerinde modifiye elektrotların uygulanabilirliği incelenmiştir (Şek. 4.66). Dopamin içerdiği bilinen ilaç örneğinden belirli bir miktar eklenerek p(P3KA)/AY-KUG elektrodun aktivitesi incelenmiştir (Şek. 4.66A). Elde edilen yükseltgenme piki eklenen standart dopamin çözeltileriyle artış göstermektedir ve bu dopamin varlığını doğrulamaktadır (Şek. 4.66B). Söz konusu örnekteki dopamin miktarı 39,1 mg/mL olarak bulunmuştur. Üretici firma tarafından ilaçtaki dopamin derişimi 40,0 mg/mL (200mg/5mL) olarak belirtilmiştir. Elde

edilen sonuçlar Dopadren içerisindeki dopamin miktarının önerilen yöntemle % 2,37 hata ile başarılı şekilde belirlenebildiğini göstermiştir.



Şekil 4.65. p(P3KA)/AY-KUG elektrotlar ile belirli miktarda kan serumu içeren fosfat tamponunda (pH 6) dopamin eklenmeden (A) ve artan derişimlerde dopamin eklenerek (B) elde edilen diferansiyel puls voltamogramları



Şekil 4.66. p(P3KA)/AY-KUG elektrotlar ile belirli miktarda ilaç örneği içeren fosfat tamponunda (pH 6) dopamin standartları eklenmeden (A) ve artan derişimlerde dopamin standartları eklenerek (B) elde edilen diferansiyel puls voltamogramları

Çizelge 4.11. Kan serumu örneklerinde tespit edilen dopamin derişimleri ve belirlenen bağıl hata oranları

Örnek	[Dopamin] / μM	E_r / %
KS-A	0,227	1,95
KS-B	0,180	1,93
E _r : Bağıl hata		

5. SONUÇLAR

Bu tez çalışmasında elektrokimyasal yöntemlerle hazırlanan AY-PEDOT-nf/KUG, p(P3KA)/KUG ve p(P3KA)/AY-KUG modifiye elektrotların sırası ile biyolojik öneme sahip ürik asit, serotonin ve dopamin tayini için elektrokimyasal sensör olarak kullanımları araştırılmıştır. Kalem ucu grafit elektrot ticari olarak kolay bulunabilme, ucuz olma ve tek kullanımlık olma gibi özelliklere sahip olmasından dolayı çalışma elektrodu olarak tercih edilmiştir. Hazırlanan tüm modifiye elektrotların karakterizasyonları CV, EIS ve SEM yöntemleri kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Ayrıca AY-PEDOT-nf/KUG elektrodun karakterizasyonu için FT-IR ve Raman spektroskopisi yöntemleri de kullanılmıştır. Modifiye elektrotlarla söz konusu analitlerin tayininde elektrokimyasal yöntem olarak DPV kullanılmıştır. Modifiye elektrotların söz konusu analitlere karşı verdiği akım cevabını etkileyebilecek olan parametreler incelenerek optimum koşullar belirlenmiştir.

Tez çalışmasının ilk kısmında ürik asit için yüksek seçicilik özelliği gösterecek modifiye elektrot temelli bir sensör sistemi hazırlanması incelenmiştir. Bu amaçla ilk olarak; 10 mM EDOT, 0,1 M LiClO₄ ve 0,1 M Na₂CO₃ içeren %5'lik asetonitril çözeltisi içerisinde PEDOT-nf/KUG elektrotlar hazırlanmıştır. Sonrasında bu elektrotları ürik asit molekülüne daha seçici hale getirebilmek amacıyla aşırı yükseltgeme işlemi uygulanmıştır. Aşırı yükseltgeme koşulları detaylı olarak incelendiğinde, fosfat tamponunda (pH 7,4) 60 saniye boyunca 2 V gerilim değerinde gerçekleştirilen aşırı yükseltgeme sonrasında elde edilen modifiye elektrotlar ile yapılan ölçümlerde en yüksek ürik asit pik akımlarına ulaşıldığı belirlenmiştir. AY-PEDOT-nf/KUG elektrotlar ile gerçekleştirilen ürik asit DPV ölçümleri sonucunda, elektrotların 0,01 μ M – 20,0 μ M derişim aralığında (R^2 : 0,9948) ürik asite karşı doğrusal cevap verdiği saptanmıştır. Ürik asit için gözlenebilme sınırı ise, 0,0013 μ M olarak tespit edilmiştir. Yüksek girişim etkisi gösterebilen askorbik asit, serotonin ve dopamin gibi moleküllerinin pikleri, analit olan ürik asit pikinden hazırlanan modifiye elektrot temelli sensör sistemi ile başarılı bir şekilde ayrılmıştır. Bununla birlikte, AY-PEDOT-nf/KUG elektrodu ile gerçekleştirilen ölçümlerde ürik asit ve askorbik asit arasında +0,423 V değerinde bir pik ayrımı gözlenmiş ve bu ayrımın literatürdeki en yüksek pik ayrımlarından birisi olduğu görülmüştür. Ayrıca AY-PEDOT-nf/KUG elektrot ile kan serumu ve idrar örneklerinde birçok girişim etkisi gösteren tür varlığında ürik asit tayini başarılı bir şekilde

gerçekleştirilmiştir. Bu çalışma sonucunda elde edilen veriler SCI kapsamında taranan “Analytica Chimica Acta” isimli uluslararası dergide yayınlanmıştır [170].

Tez çalışmasının ikinci kısmında, p(P3KA) modifiye kalem ucu grafit elektrot yüzeyine kullanılarak yeni bir serotonin sensörü geliştirilmiştir. Hazırlanan sensör sistemi ile amaç gerçek örneklerde serotoninin tayinini yapmak olduğu için, bu örneklerde bulunan girişim etkisi gösterebilen bazı moleküllerin varlığında ölçümler gerçekleştirilmiştir. İlk olarak, kan serumu ve idrar gibi örneklerde yüksek miktarda bulunan ürik asit molekülün etkisi incelenmiştir. Gerçekleştirilen ölçümler sonucunda, ürik asit ve serotonin hemen hemen aynı gerilimde yükseltgendiği bulunmuştur. Bu da serotonin tayini için yükseltgenme pikinin kullanılamayacağını göstermektedir. Bu nedenle serotoninin seçici tayini için analitik sinyal olarak serotoninin yükseltgenmesi esnasında elektrot yüzeyinde oluşan ara ürünün indirgenme piki kullanılmıştır. Ölçümler anodik tarama yerine katodik gerilim taraması ile gerçekleştirilmiştir. Bu koşullarda ürik asit ve serotonin için farklı gerilim değerlerinde iki adet pik elde edilmiştir. Pik potansiyelleri arasındaki fark 0,468 V olarak ölçülmüştür. Bu sayede, hazırlanan p(P3KA)/KUG elektrot ile ürik asit içeren herhangi bir örnek içerisinde serotonin tayininin oldukça kolay şekilde gerçekleştirilebileceği görülmüştür. p(P3KA)/KUG modifiye elektrodu ile serotonin için gerçekleştirilen DPV ölçümleri sonucunda, modifiye elektrodun 0,01 μ M – 1,0 μ M derişim aralığında (R^2 : 0,9917) doğrusallık gösterdiği bulunmuştur. Serotonin için gözlenebilme sınırı $S/N= 3$ formülü kullanılarak 2,5 nM olarak hesaplanmıştır. Bu sonuç, p(P3KA)/KUG modifiye elektrodunun serotonine karşı yüksek afiniteye sahip olduğunu göstermektedir. Serotonin pik akımının 40 kat dopamin, 100 kat ürik asit ve 1000 kat askorbik asit varlığında etkilenmediği bulunmuştur. Ayrıca tartarik asit (1000 μ M), sitrik asit (1000 μ M), NaCl (2000 μ M), KCl (2000 μ M), glukoz (2000 μ M) ve üre (2000 μ M) gibi farklı türlerin girişim etkisi incelenmiş ve serotoninin voltametrik cevabında kayda değer bir değişim gözlenmemiştir. Ayrıca geliştirilen sensör ile kan serumu ve idrar örneklerinde girişim yapan türlerden bağımsız olarak serotonin tayini gerçekleştirilmiştir. Bu basamakta elde edilen veriler SCI kapsamında taranan “Sensors and Actuators B: Chemical” isimli uluslararası bir dergide yayınlanmıştır [171].

Tez çalışmasının son kısmında analizi gerçekleştirilen bir diğer biyolojik molekül dopamindir. Bu amaçla, ilk olarak kalem ucu grafit elektrotlara fosfat tamponunda (pH 8,5) 45 saniye 1,9 V’da gerilim uygulanarak aşırı yükseltgeme işlemi uygulanmış ve

sonrasında modifikasyona geçilmiştir. Modifikasyon işlemi 20 mM P3KA, 0,1 M LiClO₄ ve 0,15 M Na₂SO₄ içeren sulu çözeltide 0 ile 1,25 V gerilim aralığında 20 mVs⁻¹ tarama hızında gerilim taraması ile gerçekleştirilmiştir. Bu işlemler sonucunda dopamine karşı yüksek hassasiyet gösteren modifiye elektrot temelli yeni bir sensör elde edilmiştir. p(P3KA)/AY-KUG elektrodun dopamine karşı 0,05 µM - 15 µM derişim aralığında (R²: 0,9946) doğrusallık gösterdiği belirlenmiştir. Dopamin için gözlenebilme sınırı 2.17 nM (S/N= 3) olarak hesaplanmıştır. Ayrıca, p(P3KA)/AY-KUG elektrokimyasal sensörü kullanarak kan serumu ve ilaç örneklerinde dopaminin tayini başarı ile gerçekleştirilmiştir. Bu sonuçlar, hazırlanan p(P3KA)/AY-KUG elektrodun dopamin tayini için oldukça hassas ve seçici bir sensör olarak kullanılabileceğini göstermiştir.

Özellikle hastalıkların teşhisinde biyolojik kökenli moleküllerin hızlı ve doğru şekilde analizleri klinik uygulamalar için büyük önem taşımaktadır. Klinik laboratuvarlarında söz konusu moleküllerin tayini klasik yöntemlerle yapılmakta ve bu analizler uzun zaman almaktadır. Buna karşın, elektrokimyasal sensörler ile ön işlemlere ihtiyaç duyulmadan daha ucuz ve hızlı şekilde biyolojik moleküllerin analizleri gerçekleştirilebilmektedir. Ayrıca, mikro-elektrotların kullanılmasıyla elektrokimyasal sensör sistemleri çok küçük boyutlara getirilerek analizin daha kolay gerçekleştirilmesi sağlanabilmektedir. Bu kapsamda hazırlanan modifiye elektrot temelli sensörlerin minyatürize edilerek taşınabilir cihazlara dönüştürülmesi mümkündür. Hazırlanan modifiye elektrot temelli sensörlerin cihaz sistemleriyle kombine edilerek ürik asit, serotonin ve dopamin moleküllerinin tayinleri için hızlı, kolay ve ucuz analiz sistemlerinin geliştirilmesine öncülük edeceği kanısındayız.

KAYNAKLAR

- [1] Dryhurst, G. (1977). 3 - Purines, in *Electrochemistry of Biological Molecules.*, Academic Press., 71-185.
- [2] Dutt, V.E. and Mottola, H. (1974). Determination of uric acid at the microgram level by a kinetic procedure based on a pseudo-induction period. *Analytical Chemistry.*, 12, 1777-1781.
- [3] Zen, J.M., Chen, I.L. and Shih, Y. (1998). Voltammetric determination of serotonin in human blood using a chemically modified electrode. *Analytica Chimica Acta.*, 369(1-2), 103-108.
- [4] Wang, Z.H., Liang, Q.L., Wang, Y.M. and Luo, G.A. (2003). Carbon nanotube-intercalated graphite electrodes for simultaneous determination of dopamine and serotonin in the presence of ascorbic acid. *Journal of Electroanalytical Chemistry.*, 540, 129-134.
- [5] Tsierkezos, N.G., Othman, S.H, Ritter, U., Hafermann, L., Knauer, A., Köhler J.M., Downing, C. And McCarthy, E.K. (2016). Electrochemical analysis of ascorbic acid, dopamine, and uric acid on nobel metal modified nitrogen-doped carbon nanotubes. *Sensors and Actuators B: Chemical.*, 231, 218-229.
- [6] Maruyama, W., Abe, T., Tohgi, H. and Naoi, M. (1999). An endogenous MPTP-like dopaminergic neurotoxin, N-methyl (R) salsolinol, in the cerebrospinal fluid decreases with progression of Parkinson's disease. *Neuroscience letters.*, 262, 13-16.
- [7] Mo, J.-W. and Ogorevc, B. (2001). Simultaneous measurement of dopamine and ascorbate at their physiological levels using voltammetric microprobe based on overoxidized poly (1, 2-phenylenediamine)-coated carbon fiber. *Analytical chemistry.*, 73, 196-1202.
- [8] Wang, H.Y., Sun, Y. And Tang, B. (2002). Study on fluorescence property of dopamine and determination of dopamine by fluorimetry. *Talanta.*, 57(5), 899-907.
- [9] Yang, S., Zhang, Z., Zhao, J. and Jiang, H. (2014). Raman spectroscopy study of the effect of urea, uric acid and creatinine on steric configuration of bovine hemoglobin using SERS-active BN nanosheets/Ag nanoparticles hybrids. *Materials Letters.*, 131, 78-81.

- [10] Nics, L., Hahn, A., Zeiliger, M., Vranka, C., Ungersboeck, J., Hausler, S., Wagner, K.H., Lanzenberger, R., Wadsak, W. and Mitterhauser, M. (2012). Quantification of the radio-metabolites of the serotonin-1A receptor radioligand [carbonyl-¹¹C]WAY-100635 in human plasma: An HPLC-assay which enables measurement of two patients in parallel. *Applied Radiation and Isotopes*, 70(12), 2730-2736.
- [11] Hows, M.E., Lacroix, L., Heidbreder, C., Organ, A.J. and Shah A.J. (2004). High-performance liquid chromatography/tandem mass spectrometric assay for the simultaneous measurement of dopamine, norepinephrine, 5-hydroxytryptamine and cocaine in biological samples. *Journal of neuroscience methods*, 138, 123-132.
- [12] Ribeiro, F.W.P., Cordoso A.S., Portela, R.R., Lima, J.E.S., Machado, A.S., Neto, P.L., De Souza, D. and Correia, A.N. (2008). Electroanalytical Determination of Promethazine Hydrochloride in Pharmaceutical Formulations on Highly Boron-Doped Diamond Electrodes Using Square-Wave Adsorptive Voltammetry. *Electroanalysis*, 20, 2031-2039.
- [13] Gupta, V.K., Jain, R., Radhaphari, K., Jadon, K. and Agarwal, S. (2011). Voltammetric techniques for the assay of pharmaceuticals—a review. *Analytical biochemistry*, 408, 179-196.
- [14] Gerard, M., Chaubey, A. and Malhotra, B.D. (2002). Application of conducting polymers to biosensors. *Biosensors and Bioelectronics*, 17, 345-359.
- [15] Sharma, S.K., Suman., Pundir, C.S., Sehgal, N. and Kumar, A. (2006). Galactose sensor based on galactose oxidase immobilized in polyvinyl formal. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 119, 15-19.
- [16] Hurst, S.J., Lytton-Jean, A.K. and Mirkin, C.A. (2006). Maximizing DNA loading on a range of gold nanoparticle sizes. *Analytical chemistry*, 78, 8313-8318.
- [17] Lytton-Jean, A.K. and Mirkin, C.A. (2005). A thermodynamic investigation into the binding properties of DNA functionalized gold nanoparticle probes and molecular fluorophore probes. *Journal of the American Chemical Society*, 127, 12754-12755.
- [18] Yi, N. and Abidian, M. (2015). Conducting polymers and their biomedical applications. *Biosynthetic Polymers for Medical Applications*, 243-250.

- [19] Álvarez-Lario, B. and Macarrón-Vicente, J. (2010). Uric acid and evolution. *Rheumatology*, 49, 2010-2015.
- [20] Jacobs, D.S., Kasten, B.L. and Demott, W.R. (1996). Laboratory test handbook. *Lexi-Comp Inc.*, Cleveland, OH.
- [21] Daoussis, D. and Kitas, G.D. (2011). Uric acid and cardiovascular risk in rheumatoid arthritis. *Rheumatology (Oxford, England)*, 50, 1354-1355.
- [22] Ashtari, F., Bahar, M., Aghaei, M. and Zahed, A. (2013). Serum uric acid level in patients with relapsing-remitting multiple sclerosis. *Journal of Clinical Neuroscience*, 20, 676-678.
- [23] Pagana, K.D. (2013). Mosby's manual of diagnostic and laboratory tests. *Elsevier Health Sciences*.
- [24] Franse, L.V., Pahor, M., Bari, M.D., Shorr, R.I., Wan, J.Y., Somes, G.W. and Applegate, W.B. (2000). Serum uric acid, diuretic treatment and risk of cardiovascular events in the systolic hypertension in the elderly program (SHEP). *Journal of Hypertension*, 18, 1149-1154.
- [25] Anker, S., Levya, F., Poole-Wilson, P.A. and Coats, A.J.S. (1998). Uric acid as independent predictor of impaired prognosis in patients with chronic heart failure. *Journal of the American College of Cardiology*, 31, 54-155.
- [26] Costa, A., Igual, I., Bedini, J., Quint, L. and Conget, I. (2002). Uric acid concentration in subjects at risk of type 2 diabetes mellitus: Relationship to components of the metabolic syndrome. *Metabolism: Clinical and Experimental*, 51, 372-375.
- [27] Temerk, Y. and Ibrahim, H. (2016). A new sensor based on In doped CeO₂ nanoparticles modified glassy carbon paste electrode for sensitive determination of uric acid in biological fluids. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 224, 868-877.
- [28] Zuo, Y., Yang, Y., Zhu, Z., He, W. and Aydin, Z. (2011). Determination of uric acid and creatinine in human urine using hydrophilic interaction chromatography. *Talanta*, 83, 1707-1710.
- [29] Kand'ár, R., P. Drábková, and Hampl, R. (2011). The determination of ascorbic acid and uric acid in human seminal plasma using an HPLC with UV detection. *Journal of Chromatography B: Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences*, 879, 2834-2839.

- [30] Wu, F., Huang, Y. and Li, Q. (2005). Animal tissue-based chemiluminescence sensing of uric acid. *Analytica Chimica Acta.*, 536, 107-113.
- [31] Zhang, T., Sun, X. and Liu, B. (2011). Synthesis of positively charged CdTe quantum dots and detection for uric acid. *Spectrochimica Acta - Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy.*, 79, 1566-1572.
- [32] Hamzah, H.H., Zain, Z.M., Musa, N.L.W., Lin, Y.C. and Trimbee, E. (2013). Spectrophotometric Determination of Uric Acid in Urine Based-Enzymatic Method Uricase with 4-Aminodiphenylamine Diazonium Sulfate (Variamine Blue RT Salt). *Journal of Analytical Bioanalytical Techniques.*, 7, 2-11.
- [33] Moghadam, M.R., Dadfarnia, S., Shabani, A.M.H. and Shahbazikhah, P. (2011). Chemometric-assisted kinetic–spectrophotometric method for simultaneous determination of ascorbic acid, uric acid, and dopamine. *Analytical biochemistry.*, 410, 289-295.
- [34] Fanguy, J.C. and Henry, C.S. (2002). The analysis of uric acid in urine using microchip capillary electrophoresis with electrochemical detection. *Electrophoresis.*, 23, 767-773.
- [35] Muñoz, J.A., López-Mesas, M. and Valiente, M. (2010). Development and validation of a simple determination of urine metabolites (oxalate, citrate, uric acid and creatinine) by capillary zone electrophoresis. *Talanta.*, 81, 392-397.
- [36] Jiang, Y., Wang, A. Kan, and J. (2007). Selective uricase biosensor based on polyaniline synthesized in ionic liquid. *Sensors and Actuators, B: Chemical.*, 124, 529-534.
- [37] Akyilmaz, E., Sezgintürk, M.K. and Dinçkaya, E. (2003). A biosensor based on urate oxidase-peroxidase coupled enzyme system for uric acid determination in urine. *Talanta.*, 61, 73-79.
- [38] Liang, Z., Zhai, H., Chen, Z., Wang, H., Wang, S., Zhou, Q. and Huang, X. (2016). A simple, ultrasensitive sensor for gallic acid and uric acid based on gold microclusters/sulfonate functionalized graphene modified glassy carbon electrode. *Sensors and Actuators B: Chemical.*, 224, 915-925.
- [39] Alipour, E., Majidi, M.R., Saadatirad, A., Golabi, S.M. and Alizadeh, A.M. (2013). Simultaneous determination of dopamine and uric acid in biological samples on the pretreated pencil graphite electrode. *Electrochimica Acta.*, 91, 36-42.

- [40] Oukil, D., Aitout, R., Makhloufi, L., Pillier, F. and Saidani B. (2014). Electrochemical synthesis of polypyrrole films doped by ferrocyanide ions onto iron substrate: Application in the electroanalytical determination of uric acid. *Sensors and Actuators B: Chemical.*, 204, 203-210.
- [41] Revin, S.B. and John, S.A. (2012). Highly sensitive determination of uric acid in the presence of major interferents using a conducting polymer film modified electrode. *Bioelectrochemistry.*, 88, 22-29.
- [42] Noh, H.-B., Revin, S.B. and Shim, Y.B. (2014). Voltammetric analysis of anti-arthritis drug, ascorbic acid, tyrosine, and uric acid using a graphene decorated-functionalized conductive polymer electrode. *Electrochimica Acta.*, 139, 315-322.
- [43] Jacobs, B.L. (1984). Hallucinogens, neurochemical, behavioral, and clinical perspectives: *Raven Pr.*
- [44] Peroutka, S.J. (1991). Serotonin receptor subtypes: *Basic and clinical aspects.* Wiley-Liss., 15, 65-80.
- [45] Wilkinson, L. and Dourish, C. (1991). Serotonin and animal behavior. Serotonin receptor subtypes: *Basic and clinical aspects.*, 15, 147-210.
- [46] Erspamer, V. and Boretti, G. (1951). Identification and characterization, by paper chromatography, of enteramine, octopamine, tyramine, histamine and allied substances in extracts of posterior salivary glands of octopoda and in other tissue extracts of vertebrates and invertebrates. *Archives internationales de pharmacodynamie et de thérapie.*, 88, 296-302.
- [47] Gwaltney-Brant, S.M., Albrechtsen, J.C. and Khan, S.A. (2000). 5-Hydroxytryptophan toxicosis in dogs: 21 cases (1989-1999). *Journal of the American Veterinary Medical Association.*, 216, 1937-1940.
- [48] Tyce, G.M. (1990). Origin and metabolism of serotonin. *Journal of cardiovascular pharmacology.*, 16, 1-7.
- [49] Brodie, B.B. and Shore, P.A. (1957). A concept for a role of serotonin and norepinephrine as chemical mediators in the brain. *Annals of the New York Academy of Sciences.*, 66, 631-642.
- [50] Zen, J.-M., Chen, I.L. and Shih, Y. (1998). Voltammetric determination of serotonin in human blood using a chemically modified electrode. *Analytica Chimica Acta.*, 369, 103-108.

- [51] Kema, I.P., de Vries, E.G. and Muskiet, F.A. (2000). Clinical chemistry of serotonin and metabolites. *Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications.*, 747, 33-48.
- [52] Blundell, J.E. (1992). Serotonin and the biology of feeding. *The American journal of clinical nutrition.*, 55, 155-159.
- [53] Grahame-Smith, D.G. (1968). The carcinoid syndrome. *The American journal of cardiology.*, 21, 376-385.
- [54] Vanhoutte, P.M. (1985). Serotonin and the cardiovascular system: *Raven Pr.*
- [55] Wymenga, A.N.M., van der Graaf, W.T., Kema, I.P., de Vries, E.G. and Mulder, N.H. (1999). Effects of peripheral stem-cell or bone-marrow reinfusion on peripheral serotonin metabolism. *The Lancet.*, 353, 293-294.
- [56] Costedio, M.M., Hyman, N. and Mawe, G.M. (2007). Serotonin and its role in colonic function and in gastrointestinal disorders. *Diseases of the colon & rectum.*, 50, 376-388.
- [57] Crowell, M.D. (2004). Role of serotonin in the pathophysiology of the irritable bowel syndrome. *British journal of pharmacology.*, 141, 1285-1293.
- [58] Keszthelyi, D., Troost, F. and Masclee, A. (2009). Understanding the role of tryptophan and serotonin metabolism in gastrointestinal function. *Neurogastroenterology & Motility.*, 21, 1239-1249.
- [59] Kema, I.P., de Vries, E.G. and Muskiet, F.A.J. (2000). Clinical chemistry of serotonin and metabolites. *The Lancet.*, 353, 293-294.
- [60] Anderson, G.M., Stevenson, J.M. and Cohen, D.J. (1987). Steady-state model for plasma free and platelet serotonin in man. *Life sciences.*, 41, 1777-1785.
- [61] Anderson, G.M. and Young, J.G. (1981). Applications of liquid chromatographic-fluorometric systems in neurochemistry. *Life sciences.*, 28, 507-517.
- [62] Anderson, G.M., Feibel, F.C. and Cohen, D.J. (1987). Determination of serotonin in whole blood, platelet-rich plasma, platelet-poor plasma and plasma ultrafiltrate. *Life sciences.*, 40, 1063-1070.
- [63] Tonelli, D., Gattavecchia, E. and Gandolfi, M. (1982). Thin-layer chromatographic determination of indolic tryptophan metabolites in human urine using Sep-Pak C 18 extraction. *Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications.*, 231, 283-289.

- [64] Engbaek, F. and Voldby, B. (1982). Radioimmunoassay of serotonin (5-hydroxytryptamine) in cerebrospinal fluid, plasma, and serum. *Clinical chemistry.*, 28, 624-628.
- [65] Hindberg, I. (1984). An improved specific and sensitive radioenzymatic method for determination of serotonin concentrations in biological fluids (radioenzymatic serotonin method). *Scandinavian journal of clinical & laboratory investigation.*, 44, 47-51.
- [66] Chauveau, J., Fert, V., Morel, A.M. and Delaage, M.A. (1991). Rapid and specific enzyme immunoassay of serotonin. *Clinical chemistry.*, 37, 1178-1184.
- [67] Goodwin, B.L., Ruthven, C.R.J., Weg, M.W. and Sandler, M. (1975). A specific assay for urinary 5-hydroxyindole-3-acetic acid by gas chromatography. *Clinica Chimica Acta.*, 62, 439-442.
- [68] Baba, S., Utoh, M., Horie, M. and Mori, Yukio. (1984). Revised method for the quantitative determination of 5-hydroxytryptamine in human plasma by gas chromatography—mass spectrometry—selected ion monitoring. *Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications.*, 307, 1-9.
- [69] Mumtaz, M., Narasimhachari, N., Friedel, R.O., Pandey, G.. and Davis, J.M. (1982). Evaluation of fluorometric assay methods for serotonin in platelets. Plasma and whole blood samples by comparison with GC-MS-SIM Technique. *Research communications in chemical pathology and pharmacology.*, 36, 45-60.
- [70] Schumacher, F., Chakraborty, S., Kleuser, B., Gulbins, E., Schwerdtle, T., Aschner, M. and Bornhorst, J. (2015). Highly sensitive isotope-dilution liquid-chromatography–electrospray ionization–tandem-mass spectrometry approach to study the drug-mediated modulation of dopamine and serotonin levels in *Caenorhabditis elegans*. *Talanta.*, 144, 71-79.
- [71] Naccarato, A., Gionfriddo, E., Sindona, G. and Tagarelli, A. (2014). Development of a simple and rapid solid phase microextraction-gas chromatography–triple quadrupole mass spectrometry method for the analysis of dopamine, serotonin and norepinephrine in human urine. *Analytica Chimica Acta.*, 810, 17-24.
- [72] Islam, J., Shirakawa, H., Nguyen, T., Aso, H. and Komai, M. (2016). Simultaneous analysis of serotonin, tryptophan and tryptamine levels in common fresh fruits and vegetables in Japan using fluorescence HPLC. *Food Bioscience.*, 13, 56-59.

- [73] Draganac, P.S., Steindel, S. and Trawick, W.G. (1980). Liquid-chromatographic separation of urinary 5-hydroxy-3-indoleacetic acid, with measurement at 254 nm. *Clinical chemistry.*, 26, 910-912.
- [74] Anderson, G.M., Hall, L.M., Yang, J.X. and Cohen, D.J. (1992). Platelet dense granule release reaction monitored by high-performance liquid chromatography-fluorometric determination of endogenous serotonin. *Analytical biochemistry.*, 206, 64-67.
- [75] Wang, F., Chi, C., Yu, B. and Ye, B. (2015). Simultaneous voltammetric determination of dopamine and uric acid based on Langmuir–Blodgett film of calixarene modified glassy carbon electrode. *Sensors and Actuators B: Chemical.*, 221, 1586-1593.
- [76] Han, H.S., Chen, J.H., Sun, X., Su, Z.B., Xing, H.T., Hu, S.R., Weng, W., Guo, H.X., Wu, W.B. and He, Y.S. (2015). Electrochemical biosensor for simultaneous determination of dopamine and serotonin based on electrochemically reduced GO-porphyrin. *Sensors and Actuators B: Chemical.*, 190, 886-895.
- [77] Xue, C., Wang, X., Zhu, W., Han, Q., Zhu, C., Hong, J., Zhou, X. and Jiang, H. (2014). Electrochemical serotonin sensing interface based on double-layered membrane of reduced graphene oxide/polyaniline nanocomposites and molecularly imprinted polymers embedded with gold nanoparticles. *Sensors and Actuators B: Chemical.*, 196, 57-63.
- [78] Cesarino, I., Galesco, H.V. and Machado, S.A.S. (2014). Determination of serotonin on platinum electrode modified with carbon nanotubes/polypyrrole/silver nanoparticles nanohybrid. *Materials Science and Engineering: C.*, 40, 49-54.
- [79] Song, M.-J., Kim, S., Min, N.K. and Jin, J.H. (2014). Electrochemical serotonin monitoring of poly(ethylenedioxythiophene):poly(sodium 4-styrenesulfonate)-modified fluorine-doped tin oxide by predeposition of self-assembled 4-pyridylporphyrin. *Biosensors and Bioelectronics.*, 52, 411-416.
- [80] Wightman, R.M., May, L.J. and Michael, A.C. (1988). Detection of dopamine dynamics in the brain. *Analytical Chemistry.*, 60, 769A-793A.
- [81] Chen, P.-Y., Vittal, R., Nien, P.C. and Ho, K.C. (2009). Enhancing dopamine detection using a glassy carbon electrode modified with MWCNTs, quercetin, and Nafion®. *Biosensors and Bioelectronics.*, 24, 3504-3509.

- [82] Sharma, N. and Richman, E. (2005). Parkinson's Disease and the Family. *Harvard University Press*.
- [83] Redgrave, P. and Gurney, K. (2006). The short-latency dopamine signal: a role in discovering novel actions? *Nat Rev Neurosci.*, 7, 967-975.
- [84] Merims, D. and Giladi, N. (2008). Dopamine dysregulation syndrome, addiction and behavioral changes in Parkinson's disease. *Parkinsonism and Related Disorders.*, 14, 273-280.
- [85] Jääskeläinen, S.K., Lindholm, P., Valmunen, T., Pesonen, U., Taiminen, T., Virtanen, A., Lamusuo, S., Forssell, H., Hagelberg, N., Hietala, J. and Pertovaara, A. (2014). Variation in the dopamine D2 receptor gene plays a key role in human pain and its modulation by transcranial magnetic stimulation. *PAIN.*, 155, 2180-2187.
- [86] Champe, P. and Harvey, R. (1994). Nucleotid Metabolism In: *Biochemistry. Lippincott's Illustrated Reviews.*, Lippincott Company.
- [87] Gottås, A., Ripel, A., Boix, F., Vindenes, Morland, J. and Oiestad, E.L. (2015). Determination of dopamine concentrations in brain extracellular fluid using microdialysis with short sampling intervals, analyzed by ultra high performance liquid chromatography tandem mass spectrometry. *Journal of Pharmacological and Toxicological Methods.*, 74, 75-79.
- [88] Rithesh Raj, D., Prasanth, S., Vineeshkumar, T.V. and Sudarsanakumar, C. (2016). Surface plasmon resonance based fiber optic dopamine sensor using green synthesized silver nanoparticles. *Sensors and Actuators B: Chemical.*, 224, 600-606.
- [89] Wang, H.Y., Hui, Q.S., Xu, L.X., Jiang, J.G. and Sun, Y. (2003). Fluorimetric determination of dopamine in pharmaceutical products and urine using ethylene diamine as the fluorogenic reagent. *Analytica Chimica Acta.*, 497, 93-99.
- [90] Li, Y., Liu, J., Liu, M., Yu, F., Zhang, L., Tang, H., Ye, B.C. and Lai, L. (2016). Fabrication of ultra-sensitive and selective dopamine electrochemical sensor based on molecularly imprinted polymer modified graphene@carbon nanotube foam. *Electrochemistry Communications.*, 64, 42-45.
- [91] Gorczyński, A., Pakulski, D., Szymanska, M., Kubicki, M., Bulat, K., Luczak, T. and Patoniak, V. (2016). Electrochemical deposition of the new manganese(II)

- Schiff-base complex on a gold template and its application for dopamine sensing in the presence of interfering biogenic compounds. *Talanta.*, 149, 347-355.
- [92] Lete, C., Lupu, S., Lakard, B., Hihn, J.Y. and Campo, F.J. (2015). Multi-analyte determination of dopamine and catechol at single-walled carbon nanotubes – Conducting polymer – Tyrosinase based electrochemical biosensors. *Journal of Electroanalytical Chemistry.*, 744, 53-61.
- [93] Gopalan, A.I., Lee, K.P., Manesh, K.M., Santhosh, P., Kim, J.H. and Kang, J.S. (2007). Electrochemical determination of dopamine and ascorbic acid at a novel gold nanoparticles distributed poly(4-aminothiophenol) modified electrode. *Talanta.*, 71, 1774-1781.
- [94] Lan, D. and Zhang, L. (2015). Electrochemical synthesis of a novel purine-based polymer and its use for the simultaneous determination of dopamine, uric acid, xanthine and hypoxanthine. *Journal of Electroanalytical Chemistry.*, 757, 107-115.
- [95] Gerard, M., Chaubey, A. and Malhotra, B. (2002). Application of conducting polymers to biosensors. *Biosensors and Bioelectronics.*, 17, 345-359.
- [96] Guimard, N.K., Gomez, N. and Schmidt, C.E. (2007). Conducting polymers in biomedical engineering. *Progress in Polymer Science.*, 32, 876-921.
- [97] Deng, P., Xu, Z. and Feng, Y. (2014). Acetylene black paste electrode modified with graphene as the voltammetric sensor for selective determination of tryptophan in the presence of high concentrations of tyrosine. *Materials Science and Engineering: C.*, 35, 54-60.
- [98] Patrascu, D., David, I., David, V., Mahailciuc, C., Stamatina, I., Ciurea, J., Nagy, L., Nagy, G. and Ciucu, A.A. (2011). Selective voltammetric determination of electroactive neuromodulating species in biological samples using iron(II) phthalocyanine modified multi-wall carbon nanotubes paste electrode. *Sensors and Actuators B: Chemical.*, 156, 731-736.
- [99] Aydın, A. (2002). Pirolün Elektrokimyasal Polimerizasyonuna Organik Asit Etkilerinin İncelenmesi. *Yüksek Lisans Tezi. Anadolu Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü.*
- [100] Inzelt, G. (2012). Conducting polymers: a new era in electrochemistry. *Springer Science & Business Media.*

- [101] Goto, H., Yoeyama, H., Togashi, F., Ohta, R., Tsujimoto, A., Kita, Eiji. and Ohshima, K. (2008). Preparation of conducting polymers by electrochemical methods and demonstration of a polymer battery. *Journal of Chemical Education.*, 85, 1067.
- [102] Parvin, M.H., Pirnia, M. and Arjomandi, J. (2015). Electrochemical synthesis, in situ spectroelectrochemistry of conducting indole-titanium dioxide and zinc oxide polymer nanocomposites for rechargeable batteries. *Electrochimica Acta.*, 185, 276-287.
- [103] Riedel, D., Wehlus, T., Reusch, T.C.G. and Brabec, C.J. (2016). Polymer-based scattering layers for internal light extraction from organic light emitting diodes. *Organic Electronics.*, 32, 27-33.
- [104] Kirchmeyer, S. and Reuter, K. (2015). Scientific importance, properties and growing applications of poly (3, 4-ethylenedioxythiophene). *Journal of Materials Chemistry.*, 15, 2077-2088.
- [105] Dietrich, M., Heinze, J., Heywang, G. and Jonas, F. (1994). Electrochemical and spectroscopic characterization of polyalkylenedioxythiophenes. *Journal of Electroanalytical Chemistry.*, 369, 87-92.
- [106] Groenendaal, L., Jonas, F., Freitag, D., Pielartzik, H. and Reynolds, J.R. (2000). Poly (3, 4-ethylenedioxythiophene) and its derivatives: past, present, and future. *Advanced Materials.*, 12, 481-494.
- [107] Macaya, D.J., Nikolou, M., Takamatsu, S., Mabeck, J.T., Owens, R.M. and Malliaras, G.G. (2007). Simple glucose sensors with micromolar sensitivity based on organic electrochemical transistors. *Sensors and Actuators B: Chemical.*, 123, 374-378.
- [108] Kiilerich-Pedersen, K., Poulsen, C.R., Jain, T. and Rozlosnik, N. (2011). Polymer based biosensor for rapid electrochemical detection of virus infection of human cells. *Biosensors and Bioelectronics.*, 28, 386-392.
- [109] Green, R.A., Lovell, N.H. and Poole-Warren, L.A. (2010). Impact of co-incorporating laminin peptide dopants and neurotrophic growth factors on conducting polymer properties. *Acta Biomaterialia.*, 6, 63-71.
- [110] Lin, J.M., Su, Y.L., Chang, W.T., Su, W.Y. and Cheng, S.H. (2014). Strong adsorption characteristics of a novel overoxidized poly(3,4-

- ethylenedioxythiophene) film and application for dopamine sensing. *Electrochimica Acta.*, 149, 65-75.
- [111] Cui, H.-F., Bai, Y.F., Wu, W.W., He, X. and Luong, J.H.T. (2016). Modification with mesoporous platinum and poly(pyrrole-3-carboxylic acid)-based copolymer on boron-doped diamond for nonenzymatic sensing of hydrogen peroxide. *Journal of Electroanalytical Chemistry.*, 766, 52-59.
- [112] Lu, Y., Wang, X., Wang, M., Kong, L. and Zhao, J. (2015) 1,10-phenanthroline metal complex covalently bonding to poly-(pyrrole-3-carboxylic acid)-coated carbon: An efficient electrocatalyst for oxygen reduction. *Electrochimica Acta.*, 180, 86-95.
- [113] Janmanee, R., Baba, A., Phanichphant, S., Sriwichai, S., Shinbo, K., Kato, K. and Kaneko, F. (2012). In situ electrochemical-transmission surface plasmon resonance spectroscopy for poly (pyrrole-3-carboxylic acid) thin-film-based biosensor applications. *ACS Applied Materials & Interfaces.*, 4, 4270-4275.
- [114] Shi, W., Cao, H., Song, C., Jiang, H., Wang, J., Jiang, S., Tu, J. and Ge, D. (2010). Poly(pyrrole-3-carboxylic acid)-alumina composite membrane for affinity adsorption of bilirubin. *Journal of Membrane Science.*, 353, 151-158.
- [115] Roy, C.J., Leprince, L., De Boulard, A., Landoulsi, J., Callegari, V., Jonas, A.M. and Champagne, S.D. (2011). Electrosynthesis of pyrrole 3-carboxylic acid copolymer films and nanotubes with tunable degree of functionalization for biomedical applications. *Electrochimica Acta.*, 56, 3641-3648.
- [116] Diamond, D. (1998). Principles of chemical and biological sensors. Wiley.
- [117] Yari, A. and Derki, S. (2016). New MWCNT-Fe₃O₄@PDA-Ag nanocomposite as a novel sensing element of an electrochemical sensor for determination of guanine and adenine contents of DNA. *Sensors and Actuators B: Chemical.*, 227, 456-466.
- [118] Noh, H.B., Won, M.S. and Shim, Y.B. (2014). Selective nonenzymatic bilirubin detection in blood samples using a Nafion/Mn–Cu sensor. *Biosensors and Bioelectronics.*, 61, 554-561.
- [119] Li, Y., Song, H., Zhang, L., Zuo, P., Ye, B., Yao, J. and Chen, W. (2016). Supportless electrochemical sensor based on molecularly imprinted polymer modified nanoporous microrod for determination of dopamine at trace level. *Biosensors and Bioelectronics.*, 78, 308-314.

- [120] Eggins, B.R. (2002). Chemical sensors and biosensors. *Chinchester: John Wiley & Sons*.
- [121] O'Mullane, A.P. (2013). Electrochemistry, in Reference Module in Chemistry, Molecular Sciences and Chemical Engineering. *Elsevier*.
- [122] Sanghavi, B.J. and Srivastava, A.K. (2011). Adsorptive stripping differential pulse voltammetric determination of venlafaxine and desvenlafaxine employing Nafion–carbon nanotube composite glassy carbon electrode. *Electrochimica Acta.*, 56, 4188-4196.
- [123] Bard, A.J., Faulkner, L.R., Leddy, J. and Zoski, C.G. (1980). Electrochemical methods: fundamentals and applications..*Wiley New York*, 2.
- [124] Skoog, D.A., Holler, F.J. and Crouch, S.R. (2007). Instrumental analysis. *Cengage Learning India*.
- [125] Zuman, P. and Brezina, M. (1962). Polarographic Analysis in Pharmacy. Progress in Polarography. Vol. P. Zuman, IM Kolthoff. *New York, Gntersence Publishers*.
- [126] Bond, A.M. (1980). Modern polarographic methods in analytical chemistry. *CRC Press*. Vol. 4.
- [127] Creager, S. (2007). 3 - Solvents and Supporting Electrolytes, in Handbook of Electrochemistry. *Elsevier Amsterdam*., 57-72.
- [128] Diltemiz, S.E. (2010). Aletli Analiz Laboratuvarı. *T.C. Anadolu Üniversitesi Yayınları*., Eskişehir, 289.
- [129] Özcan, A. and Şahin,Y. (2011). A novel approach for the determination of paracetamol based on the reduction of N-acetyl-p-benzoquinoneimine formed on the electrochemically treated pencil graphite electrode. *Analytica chimica acta.*, 2011. 685, 9-14.
- [130] Higuchi, E., Otsuka, H., Chiku, M. and Inoue, H. (2014). Effect of pretreatment on the surface structure of a Co(OH)₂ electrode. *Journal of Power Sources.*, 248, 762-768.
- [131] Ye, Z., Wen, Y., Li, K. and Ye, B. (2014). Study of the voltammetric behavior of jatrorrhizine and its sensitive determination at electrochemical pretreatment glassy carbon electrode. *Talanta.*, 126, 38-45.
- [132] Trouillon, R., Einaga, Y. and Gijs, M.A.M. (2014). Cathodic pretreatment improves the resistance of boron-doped diamond electrodes to dopamine fouling. *Electrochemistry Communications.*, 47, 92-95.

- [133] Han, S.H., Kim, B.J. and Park, J.S. (2015). Surface modification of plastic substrates via corona-pretreatment and its effects on the properties of carbon nanotubes for use of flexible transparent electrodes. *Surface and Coatings Technology.*, 271, 100-105.
- [134] Çorbacıoğlu, F. (2013). Kondanse 1, 4-Dihidropiridin Türevlerinin Antioksidan Kapasitelerinin Elektrokimyasal Yöntemle İncelenmesi. *Yüksek Lisans Tezi.*, Hacettepe Üniversitesi.
- [135] McCord, J.M. and Fridovich, I. (1969). Superoxide dismutase an enzymic function for erythrocuprein (hemocuprein). *Journal of Biological chemistry.*, 244, 6049-6055.
- [136] Bard, A., Faulkner, L.R. (2001). Electrochemical Methods: Fundamentals and Applications. *John Wiley & Sons.*, New York.
- [137] Yang, J., Cho, M., Pang, C. and Lee, Y. (2015). Highly sensitive non-enzymatic glucose sensor based on over-oxidized polypyrrole nanowires modified with Ni(OH)₂ nanoflakes. *Sensors and Actuators B: Chemical.*, 211, 93-101.
- [138] Do, P.T., Do, P.Q., Nguyen, H.B., Nguyen, T.H., Pham, H.V. and Tran, Q.H. (2014). A highly sensitive electrode modified with graphene, gold nanoparticles, and molecularly imprinted over-oxidized polypyrrole for electrochemical determination of dopamine. *Journal of Molecular Liquids.*, 198, 307-312.
- [139] Lin, J.M., Su, Y.L., Chang, W.T., Su, W.Y. and Cheng, S.H. (2014). Strong adsorption characteristics of a novel overoxidized poly(3,4-ethylenedioxythiophene) film and application for dopamine sensing. *Electrochimica Acta.*, 149, 65-75.
- [140] Kumar, S.S., Mathiyarasu, J., Phani, K.L., Jain, Y.K. and Vegnaraman, V. (2005). Determination of uric acid in the presence of ascorbic acid using poly(3,4-ethylenedioxythiophene)-modified electrodes. *Electroanalysis.*, 17, 2281-2286.
- [141] Sekli-Belaidi, F., Temple-Boyer, P. and Gros, P. (2010). Voltammetric microsensor using PEDOT-modified gold electrode for the simultaneous assay of ascorbic and uric acids. *Journal of Electroanalytical Chemistry.*, 647, 159-168.
- [142] Zhang, K., Xu, J., Zhu, X., Lu, L., Duan, X., Hu, D., Dong, L., Sun, H., Gao, Y. and Wu, Yao. (2015). Poly(3,4-ethylenedioxythiophene) nanorods grown on graphene oxide sheets as electrochemical sensing platform for rutin. *Journal of Electroanalytical Chemistry.*, 739, 66-72.

- [143] Hsu, C.F., Zhang, L., Peng, H., Sejdic, J.T. and Kilmatian, P.A. (2008). Free radical scavenging properties of polypyrrole and poly(3,4-ethylenedioxythiophene). *Current Applied Physics.*, 8, 316-319.
- [144] Selvaganesh, S.V., Mathiyarasu, J., Phani, K.L.N. and Yegnaraman, V. (2007). Chemical synthesis of PEDOT–Au nanocomposite. *Nanoscale Research Letters.*, 2, 546-549.
- [145] Sakamoto, S., Okumura, M., Zhao, Z. and Furkawa, Y. (2005). Raman spectral changes of PEDOT-PSS in polymer light-emitting diodes upon operation. *Chemical Physics Letters*, 412, 395-398.
- [146] Teng, C., Lu, X., Zhu, Y., Wan, M. and Jiang, L. (2013). Polymer in situ embedding for highly flexible, stretchable and water stable PEDOT:PSS composite conductors. *RSC Advances.*, 3, 7219-7223.
- [147] Láng, G.G., Ujvari, M., Bazso, F., Vesztergon, S. and Ujhelyi, F. (2012). In situ monitoring of the electrochemical degradation of polymer films on metals using the bending beam method and impedance spectroscopy. *Electrochimica Acta.*, 73, 59-69.
- [148] Ge, D., Wang, J., Wang, Z. and Wang, S. (2002). Electrochemical synthesis of polypyrrole nanowires on composite electrode. *Synthetic Metals.*, 132, 93-95.
- [149] Wang, J., Mo, X., Ge, D., Tian, Y., Wang, Z. and Wang, S. (2006). Polypyrrole nanostructures formed by electrochemical method on graphite impregnated with paraffin. *Synthetic Metals.*, 156, 514-518.
- [150] Sekli-Belaidi, F., Evrard, D. and Gros, P. (2011). Evidence of an EC' mechanism occurring during the simultaneous assay of ascorbic and uric acids on poly(3,4-ethylenedioxythiophene) modified gold microsensor. *Electrochemistry Communications.*, 13, 423-425.
- [151] Zhang, H., Zhang, J. and Zheng, J. (2015). Electrochemical behavior of modified electrodes with carbon nanotubes and nanofibers: Application to the sensitive measurement of uric acid in the presence of ascorbic acid. *Measurement: Journal of the International Measurement Confederation.*, 59, 177-183.
- [152] Prakash, S., Chakrabarty, T., Rajesh, A.M. and Shahi, V.K. (2012). Investigation of polyelectrolyte for electrochemical detection of uric acid in presence of ascorbic acid. *Measurement: Journal of the International Measurement Confederation.*, 45, 500-506.

- [153] Fernandes, D.M., Costa, M., Pereira, C., Baeza, B.B., Ramos, I.R., Ruiz, A.G. and Freire, C. (2014). Novel electrochemical sensor based on N-doped carbon nanotubes and Fe₃O₄ nanoparticles: Simultaneous voltammetric determination of ascorbic acid, dopamine and uric acid. *Journal of Colloid and Interface Science.*, 432, 207-213.
- [154] Ojani, R., Alinezhad, A. and Abedi, Z. (2013). A highly sensitive electrochemical sensor for simultaneous detection of uric acid, xanthine and hypoxanthine based on poly(L-methionine) modified glassy carbon electrode. *Sensors and Actuators, B: Chemical.*, 188, 621-630.
- [155] Cai, W., Lai, T., Du, H. and Ye, J. (2014). Electrochemical determination of ascorbic acid, dopamine and uric acid based on an exfoliated graphite paper electrode: A high performance flexible sensor. *Sensors and Actuators, B: Chemical.*, 193, 492-500.
- [156] Zhang, H.Q. (2014). Concentration on limonitic iron ore by multi-grade magnetic roasting-low intensity magnetic separation. *Advanced Materials Research.*, 933, 125-131.
- [157] Nancy, T.E.M. and Kumary, V.A. Synergistic electrocatalytic effect of graphene/nickel hydroxide composite for the simultaneous electrochemical determination of ascorbic acid, dopamine and uric acid. *Electrochimica Acta.*, 133, 233-240.
- [158] Peteu, S., Peiris, P., Gebremichael, E. and Bayachou, M. (2010). Nanostructured poly(3,4-ethylenedioxythiophene)–metalloporphyrin films: Improved catalytic detection of peroxynitrite. *Biosensors and Bioelectronics.*, 25, 1914-1921.
- [159] Li, J. and Lin, X. (2007). Simultaneous determination of dopamine and serotonin on gold nanocluster/overoxidized-polypyrrole composite modified glassy carbon electrode. *Sensors and Actuators, B: Chemical.*, 124, 486-493.
- [160] Xue, C., Wang, X., Zhu, W., Han, Q., Hong, J., Zhou, X. and Jiang, H. (2014). Electrochemical serotonin sensing interface based on double-layered membrane of reduced graphene oxide/polyaniline nanocomposites and molecularly imprinted polymers embedded with gold nanoparticles. *Sensors and Actuators, B: Chemical.*, 196, 57-63.
- [161] Jiang, X. and Lin, X. (2005). Overoxidized polypyrrole film directed DNA immobilization for construction of electrochemical micro-biosensors and

- simultaneous determination of serotonin and dopamine. *Analytica Chimica Acta.*, 537, 145-151.
- [162] Han, H.S., You, J.M., J H. and Jeon, S. (2013). Synthesis of graphene oxide grafted poly(lactic acid) with palladium nanoparticles and its application to serotonin sensing. *Applied Surface Science.*, 284 438-445.
- [163] Jin, J.H. and Brolo, A.G. (2007). Protoporphyrin-modified gold surfaces for the selective monitoring of catecholamines. *Electrochimica Acta.*, 52, 3863-3869.
- [164] González, A.J., Pardave, M.P., Avendario, S.C., Oca, M.G.M., Silva, M.T.R. and Romo, M.R. (2013). Gold nanoparticles modified-ITO electrode for the selective electrochemical quantification of dopamine in the presence of uric and ascorbic acids. *Journal of Electroanalytical Chemistry.*, 706, 69-75.
- [165] Reddy, S., Kumara Swamy, B.E. and Jayadevappa, H. (2012). CuO nanoparticle sensor for the electrochemical determination of dopamine. *Electrochimica Acta.*, 61, 78-86.
- [166] Li, S.-J., He, J.Z., Zhang, M.J., Zhang, R.X., Lv, X.L., Li, S.H. and Pang, H. (2013). Electrochemical detection of dopamine using water-soluble sulfonated graphene. *Electrochimica Acta.*, 102, 58-65.
- [167] Gao, F., Cai, X., Wang, X., Gao, C., Liu, s., Gao, F. and Wang, Q. (2013). Highly sensitive and selective detection of dopamine in the presence of ascorbic acid at graphene oxide modified electrode. *Sensors and Actuators B: Chemical.*, 186, 380-387.
- [168] Anithaa, A.C., Lavanya, N., Asokan, K. and Sekar, C. (2015). WO₃ nanoparticles based direct electrochemical dopamine sensor in the presence of ascorbic acid. *Electrochimica Acta.*, 167, 294-302.
- [169] Zhang, X., Zhang, Y.C. and Ma, L.X. (2016). One-pot facile fabrication of graphene-zinc oxide composite and its enhanced sensitivity for simultaneous electrochemical detection of ascorbic acid, dopamine and uric acid. *Sensors and Actuators B: Chemical.*, 227, 488-496.
- [170] Özcan, A. and İlkbay, S. (2015). Preparation of poly(3,4-ethylenedioxythiophene) nanofibers modified pencil graphite electrode and investigation of over-oxidation conditions for the selective and sensitive determination of uric acid in body fluids. *Analytica Chimica Acta.*, 891, 312-320.

- [171] Özcan, A. and İlkbaş, S. (2015). Poly(pyrrole-3-carboxylic acid)-modified pencil graphite electrode for the determination of serotonin in biological samples by adsorptive stripping voltammetry. *Sensors and Actuators B: Chemical.*, 215, 518-524.



ÖZGEÇMİŞ

Adı-Soyadı : Salih İLKBAŞ
Yabancı dil : İngilizce
Doğum Yeri ve Yılı : Fatih/İSTANBUL, 1989
E-Posta : silkbas1@gmail.com

Eğitim ve Mesleki Geçmişi:

2013, Anadolu Üniversitesi Fen Fakültesi Kimya Bölümü

Yayınları ve Bilimsel Faaliyetleri:

Özcan, A. and **İlkbaş, S.** (2015), Poly(pyrrole-3-carboxylic acid)-modified pencil graphite electrode for the determination of serotonin in biological samples by adsorptive stripping voltammetry, Sensors and Actuators B: Chemical, 215, 518-524.

Özcan, A. and **İlkbaş, S.** (2015), Preparation of poly(3,4-ethylenedioxythiophene) nanofibers modified pencil graphite electrode and investigation of over-oxidation conditions for the selective and sensitive determination of uric acid in body fluids, Analytica Chimica Acta, 891, 312-320.