

**T.C.
PAMUKKALE ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
KİMYA ANABİLİM DALI**

**KARBAZOL TÜREVİ YILDIZ ŞEKLİ İLETKEN
POLİMERLE MODİFİYE EDİLMİŞ ELEKTROTLARIN
BİYOSENSÖR PLATFORMU OLARAK KULLANIMLARI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

SİMGE DURUR

DENİZLİ, EYLÜL - 2018

**T.C.
PAMUKKALE ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
KİMYA ANABİLİM DALI**



**KARBAZOL TÜREVİ YILDIZ ŞEKLİ İLETKEN
POLİMERLE MODİFİYE EDİLMİŞ ELEKTROTLARIN
BİYOSENSÖR PLATFORMU OLARAK KULLANIMLARI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

SİMGE DURUR

DENİZLİ, EYLÜL - 2018

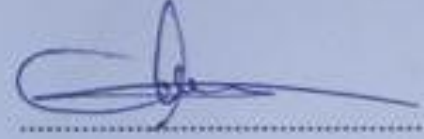
KABUL VE ONAY SAYFASI

Simge Durur tarafından hazırlanan "KARBAZOL TÜREVİ YILDIZ ŞEKLİ İLETKEN POLİMERLE MODİFİYE EDİLMİŞ ELEKTROTLARIN BİYOSENSÖR PLATFORMU OLARAK KULLANIMLARI" adlı tez çalışmasının savunma sınavı 17.09.2018 tarihinde yapılmış olup aşağıda verilen jüri tarafından oy birliği / oy çokluğu ile Pamukkale Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

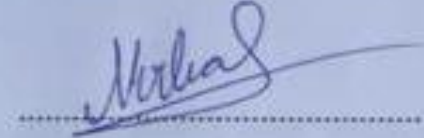
Jüri Üyeleri

İmza

Danışman
Prof. Dr. Metin AK



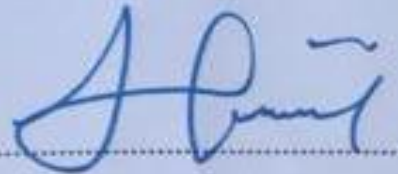
Üye
Doç. Dr. Nilgün KABAY
Pamukkale Üniversitesi



Üye
Doç. Dr. Fatih Mehmet EMEN
Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi



Pamukkale Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun 26/03/2018 tarih ve ..41/16.... sayılı kararıyla onaylanmıştır.



Prof. Dr. Uğur YÜCEL

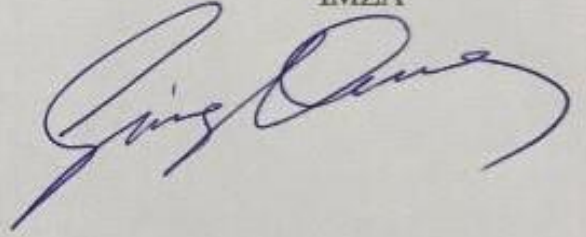
Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

Bu tez çalışması PAUBAP tarafından 2017FEBE011 nolu proje ile desteklenmiştir.

Bu tezin tasarımı, hazırlanması, yürütülmesi, araştırmalarının yapılması ve bulgularının analizlerinde bilimsel etiğe ve akademik kurallara özenle riayet edildiğini; bu çalışmanın doğrudan birincil ürünü olmayan bulguların, verilerin ve materyallerin bilimsel etiğe uygun olarak kaynak gösterildiğini ve alıntı yapılan çalışmalara atfedildiğine beyan ederim.

SİMGE DURUR

İMZA





Canımdan Çok Sevdığım Anneme ve Babama ...

ÖZET

**KARBAZOL TÜREVİ YILDIZ ŞEKLİ İLE İLETKEN POLİMERLE
MODİFİYE EDİLMİŞ ELEKTROTLARIN BİYOSENSÖR PLATFORMU
OLARAK KULLANIMLARI
YÜKSEK LİSANS TEZİ
SİMGE DURUR
PAMUKKALE ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
KİMYA ANABİLİM DALI**

(TEZ DANIŞMANI: PROF. DR. METİN AK)

DENİZLİ, EYLÜL - 2018

Biyosensörler, sağlık, kimya, biyoloji, çevre gibi çok farklı bilim alanlarında kolay algılama, spesifik ve yüksek hassasiyet gibi özellikleri sebebiyle büyük ilgi çeken araştırma konularından biridir. Diğer pahalı yöntemlere alternatif olarak kullanılan biyosensörler, yüksek tespit limiti ve seçicilik ile substratın varlığını yüksek hassasiyetle algılayabilmektedirler. Bu tez çalışmasında triazin merkezli, simetrik ve asimetrik olarak farklı sayıda karbazol türevleri ile fonksiyonlandırılmış olan yıldız şekilli polimerlerin, amperometrik enzim elektrotları ile biyosensör uygulaması çalışılmıştır.

Bu tez kapsamında, literatürde ilk kez, farklı sayıda karbazol ve hidrazin ile fonksiyonlandırılmış triazin merkezli monomerler sentezlenmiştir. İçerdikleri karbazol sayısına göre CT1, CT2 ve CT3 olarak adlandırılan monomerlerin yapıları FT-IR ve ¹H-NMR spektroskopileri ile karakterize edilmiştir. Elektropolimerizasyon işlemi ile grafit elektrot yüzeyinde oluşturulan iletkin polimerler, gluteraldehit (GAL) ve Glukoz oksidaz (GOx) enzimi immobilize edilerek, modifiye elektrotlar oluşturulmuş ve amperometrik olarak glukoz tayini amacıyla kullanılmıştır. Bu amaçla hazırlanan sensör platformları karakterize edilmiş, gerçek örneklerle test edilerek biyosensör uygulamalarındaki kullanım potansiyelleri incelenmiştir.

ANAHTAR KELİMELEER:iletkin polimer, polikarbazol, biyosensör, triazin

ABSTRACT

USE OF CARBAZOLE DERIVED STAR-SHAPED CONDUCTIVE POLYMER AS A MODIFIED BIOSENSOR PLATFORM

**MSC THESIS
SİMGE DURUR**

**PAMUKKALE UNIVERSITY INSTITUTE OF SCIENCE
CHEMISTRY**

(SUPERVISOR:PROF.DR. METİN AK)

DENİZLİ, SEPTEMBER 2018

Biosensors have attracted great interest due to their easy detection, specificity and high sensitivity in many different scientific fields such as health, chemistry, biology and environment. Biosensors which are used as an alternative system to other expensive methods are able to sense the presence of substrate with a high limit of detection, high sensitivity and selectivity. In this thesis, enzyme electrodes based on star-shaped conductive polymers of symmetrical and asymmetrically functionalized triazine with different number of carbazole have been prepared for amperometric biosensor application.

In this thesis different numbers of carbazole and hydrazine functionalized triazine-based novel monomers have been synthesized for the first time. The structures of the monomers named as CT1, CT2 and CT3 according to their carbazole numbers have been characterized by FT-IR and ¹H-NMR spectroscopy. Conducting polymers of this monomers have been synthesized electrochemically on graphite electrode and sensor electrodes have been prepared by immobilization GOx via glutaraldehyde on conducting polymer modified electrode surfaces to amperometric detection of glucose. Biosensors platforms of modified enzyme electrodes have been tested with real samples and characterized to evaluate their potential to use in biosensor applications

KEYWORDS:conductive polymer,polycarbazole,biosensor, triazine

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖZET.....	i
ABSTRACT	ii
İÇİNDEKİLER	iii
ŞEKİL LİSTESİ.....	v
TABLO LİSTESİ	vii
SEMBOL LİSTESİ	viii
ÖNSÖZ.....	ix
1. GİRİŞ.....	1
2. İLETKEN POLİMERLER	2
2.1 İletken Polimer Sentez Yöntemleri	2
2.2 Elektrokimyasal Polimerizasyon	2
2.3 İletken Polimerlerin Uygulama Alanları	3
3. BİYOSENSÖR.....	4
3.1 Biyosensörlerin Çalışma Prensipleri	4
3.2 Enzim.....	4
3.2.1 Enzimlerin Sınıflandırılması.....	6
3.3 Biyosensörlerde Enzim İmmobilizasyonu.....	6
3.3.1 İmmobilizasyon Yöntemleri	7
3.3.1.1 Taşıyıcı Yüzeye Bağlanma	7
3.3.1.2 Çapraz Bağlanma	9
3.3.1.3 Tutuklama	10
3.4 Biyosensörlerde Glukoz Oksidazın Özellikleri	11
3.5 Biyosensörlerde Enzim Elektrotları	12
3.5.1 Enzim Elektrodunun Karakteristik Özellikleri	13
3.5.1.1 Enzim Elektrotunun Kararlılığı.....	13
3.5.1.2 Enzim Elektrotunun Seçiciliği	13
3.5.1.3 Enzim Elektrotunun Cevap Süresi	14
3.6 Amperometrik Enzim Elektrotları.....	14
3.6.1 Amperometrik Enzim Elektrot Sistemleri	14
3.6.2 Amperometrik Glukoz Elektrotları.....	16
4. DENEYSEL ÇALIŞMALAR	17
4.1 Kullanılan Kimyasal Maddeler, Cihazlar ve Teknikler.....	17
4.1.1 Kullanılan kimyasal maddeler	17
4.1.2 Kullanılan cihazlar	17
4.1.2.1 Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi (FT-IR)	17
4.1.2.2 Nükleer Manyetik Rezonans Spektroskopisi (NMR)	17
4.1.2.3 Biyosensör Çalışmasında Kullanılan Sistemler	18
4.1.2.4 Potensiyostat	18
4.2 Deneysel Prosedür	18
4.2.1 Monomer Sentezleri.....	18
4.2.1.1 CT1 [N-(4,6-dihidrazinil-1,3,5-triazin-2-il)-9-etil-9H-karbazol-3-amin] Sentezi	18
4.2.1.2 CT2 [N ² , N ⁴ -bis(9-etil-9H-karbazol-3-il)-6-hidrazinil-1,3,5-triazin-2,4-diamin] Sentezi.....	19
4.2.1.3 CT3 [N ² , N ⁴ , N ⁶ -tris(9-etil-9H-karbazol-3-il)-1,3,5-triazin-2,4,6-triamin] Sentezi.....	20

4.2.2	Elektrokimyasal Polimerizasyon	21
4.2.3	Enzim Elektrotlarının Hazırlanması	23
4.2.3.1	P(CT1)/GOx Enzim Sensörünün Hazırlanması	23
4.2.3.2	P(CT2)/GOx Enzim Sensörünün Hazırlanması Hata! Yer işareti tanımlanmamış.	
4.2.3.3	P(CT3-co-AK) Enzim Sensörünün Hazırlanması Hata! Yer işareti tanımlanmamış.	
4.2.3.4	Hazırlanan Enzim Sensörleri ile Ölçüm İlkesi.....	24
4.2.3.5	Sensörün Çalışılacağı Optimum pH Değerinin Saptanması ...	24
4.2.4	Enzim Sensörü Platformlarının Karakterizasyonu	24
4.2.4.1	Doğrusal Tayin Aralıkları	24
4.2.4.2	Analiz Sonuçlarının Tekrarlanabilirliği	25
4.2.4.3	Örnek Uygulama Analizleri	25
4.2.4.4	Girişimci Testi.....	25
5.	BULGULAR VE TARTIŞMA	26
5.1	Monomer Karakterizasyonu	26
5.1.1	CT1 Monomerine Ait FT-IR Spektrumu	26
5.1.2	CT2 Monomerine Ait FT-IR Spektrumu	28
5.1.3	CT3 Monomerine Ait FT-IR Spektrumu	30
5.1.4	CT1-a Monomerine Ait ¹ H NMR Spektrumu.....	31
5.1.5	CT2-a Monomerine Ait ¹ H NMR Spektrumu.....	32
5.1.6	CT3 Monomerine Ait ¹ H NMR Spektrumu.....	33
5.1.7	P(CT1)/GOx Sensör Platformunun Yüzey Morfolojisi	34
5.1.8	P(CT2) /GOx Sensör Platformunun Yüzey Morfolojisi	35
5.1.9	P(CT3-co AK)/GOx Sensör Platformunun Yüzey Morfolojisi ...	35
5.2	Sentezlenen Polimerlerin Elektrot Performans Çalışmaları	36
5.2.1	Elektrot Yüzeylerine Kaplanan Polimerin Optimizasyonu	36
5.2.1.1	Elektrot Yüzeylerine Kaplanan P(CT1) Polimerin Optimizasyonu.....	36
5.2.1.2	Elektrot Yüzeylerine Kaplanan P(CT2) Polimerin Optimizasyonu.....	37
5.2.1.3	Elektrot Yüzeyine Kaplanan P(CT3-co-AK) Polimer Oranının Optimizasyonu	38
5.2.2	Elektrotların Enzim Miktarı Optimizasyonu	39
5.2.2.1	P(CT1)/GOX, P(CT2)/GOX ve P(CT3-co-AK)/GOX Elektrotlarının Enzim Miktarı Optimizasyonu	39
5.3	Elektrotların pH Optimizasyonu.....	42
5.3.1	P(CT1)/GOx Sensör Platformu İçin pH Optimizasyonu	42
5.3.2	P(CT2) /GOx Sensör Platformu İçin pH Optimizasyonu	43
5.3.3	P(CT3-co-AK)/GOx Sensör Platformu İçin pH Optimizasyonu	44
5.4	Elektrotların Kalibrasyonu	45
5.4.1	P(CT1)/GOx Sensör Platformunun Kalibrasyonu	45
5.4.2	P(CT2) /GOx Sensör Platformu Kalibrasyonu	46
5.4.3	P(CT3-co-AK) /GOx Sensör Platformu Kalibrasyonu	47
5.5	Analiz Sonuçlarının Tekrarlanabilirliği.....	48
5.6	Girişimci Etkisi.....	50
5.7	Örnek Uygulama	52
6.	SONUÇ	55
7.	KAYNAK	59
8.	ÖZGEÇMİŞ.....	63

ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa

Şekil 2.1: Karbazolün polimerleşmesi	3
Şekil 3.1: Biyosensörün çalışma prensibi	4
Şekil 3.2: Katalizör mekanizması.	5
Şekil 3.3: Taşıyıcı yüzeye bağlı enzimin şematik gösterimi.....	7
Şekil 3.4: Çapraz bağlı enzimin şematik gösterimi.....	9
Şekil 3.5: Glutaraldehit'in kimyasal yapısı.....	10
Şekil 3.6: Tutuklanmış enzimlerin şematik gösterimi.....	10
Şekil 3.7: GOx reaksiyonunun şematik gösterimi	11
Şekil 3.8: a) I. nesil amperometrik elektrotlar, b) II. nesil amperometrik elektrotlar,	15
Şekil 4.1: CT1 maddesinin sentezi.....	19
Şekil 4.2: CT2 maddesinin sentezi.....	20
Şekil 4.3: CT3 maddesinin sentezi.....	21
Şekil 4.4: CT1'in elektrokimyasal polimerizasyonu	21
Şekil 4.5: CT2'nin elektrokimyasal polimerizasyonu	22
Şekil 4.6: CT3'ün AK ile elektrokimyasal kopolimerizasyonu.....	22
Şekil 5.1: CT1-a monomerine ait FT-IR spektrumu	26
Şekil 5.2: CT1 monomerine ait FT-IR spektrumu	27
Şekil 5.3: CT2-a monomerine ait FT-IR spektrumu	28
Şekil 5.4: CT2 monomerine ait FT-IR spektrumu	29
Şekil 5.5: CT3 monomerine ait FT-IR spektrumu	30
Şekil 5.6: CT1 maddesinin ¹ HNMR spektrumu.....	31
Şekil 5.7: CT2-a maddesinin ¹ HNMR spektrumu.....	32
Şekil 5.8: CT3 maddesinin ¹ HNMR spektrumu	33
Şekil 5.9: a) Grafit elektrodun SEM görüntüsü, b) P(CT1) polimeri kaplanmış grafit elektrodun SEM görüntüsü, c) P(CT1)/GOx SEM görüntüsü.....	34
Şekil 5.10: a) Grafit elektrodun SEM görüntüsü, b) P(CT2) polimeri kaplanmış grafit elektrodun SEM görüntüsü, c) P(CT2)/GOx SEM görüntüsü.....	35
Şekil 5.11: a) Grafit elektrodun SEM görüntüsü, b) P (AK) polimeri kaplanmış grafit elektrodun SEM görüntüsü c) P (CT3-co-AK) polimeri kaplanmış grafit elektrodun SEM görüntüsü, d) P (CT3-co-AK)/GOx SEM görüntüsü.....	36
Şekil 5.12: P(CT1)'in CV Grafiği.....	37
Şekil 5.13: P(CT2)'in CV Grafiği.....	38
Şekil 5.14: P(CT3-co-AK)'nın CV Grafiği.....	39
Şekil 5.15: P(CT1) /GOx enzim elektrotunun değişen enzim miktarına karşı vermiş olduğu akım değerlerinin grafiği.....	40
Şekil 5.16: P(CT2) /GOx enzim elektrotunun değişen enzim miktarına karşı vermiş olduğu akım değerlerinin grafiği	41
Şekil 5.17: P(CT3-co-AK) /GOx enzim elektrotunun değişen enzim miktarına karşı vermiş olduğu akım değerlerinin grafiği	42

Şekil 5.18: P(CT1/GOx) enzim sensörünün pH grafiği	43
Şekil 5.19: P(CT2/GOx) Enzim Sensörünün pH Grafiği.....	44
Şekil 5.20: P(CT3-co-AK) /GOx Enzim Sensörünün pH Grafiği.....	45
Şekil 5.21: P(CT1/GOx) Enzim Elektrotunun Kalibrasyon Eğrisi	46
Şekil 5.22: P(CT2/GOx) Enzim Elektrotunun Kalibrasyon Eğrisi	47
Şekil 5.23: P(CT3-co-AK/GOx) Enzim Elektrotunun Kalibrasyon Eğrisi.....	48
Şekil 5.24: P(CT1) /GOx'a Ait Tekrarlanabilirlik Grafiği	49
Şekil 5.25: P(CT2) /GOx'a Ait Tekrarlanabilirlik Grafiği	49
Şekil 5.26: P(CT3-co-AK)'a Ait Tekrarlanabilirlik Grafiği	50



TABLO LİSTESİ

Sayfa

Tablo 5.1 . P(CT1)/GOx Enzim Sensörüne Girişim Etkisi.....	51
Tablo 5.2 . P(CT2) /GOx Enzim Sensörüne Girişim Etkisi.....	51
Tablo 5.3. P(CT3-co-AK) /GOx Enzim Sensörüne Girişim Etkisi.....	52
Tablo 5.4 . P(CT1)/GOx İçin Enzim Sensörü Ve Spektrofotometrik Yöntem Kullanılarak İki Farklı Örnekte Glukoz Analizi	53
Tablo 5.5 . P(CT2)/GOx İçin Enzim Sensörü Ve Spektrofotometrik Yöntem Kullanılarak İki Farklı Örnekte Glukoz Analizi	53
Tablo 5.6 . P(CT3-co-AK)/GOx İçin Enzim Sensörü Ve Spektrofotometrik Yöntem Kullanılarak İki Farklı Örnekte Glukoz Analizi.....	54
Tablo 5.7. Sensör Platformlarının Özellikleri	Hata! Yer işareti tanımlanmamış.

SEMBOL LİSTESİ

ACN	:	Asetonitril
Ag/AgCl	:	Gümüş/Gümüş Klorür elektrodu
c.v	:	Varyasyon katsayıları
CV	:	Dönüşümlü Voltametri
GA	:	Glutaraldehit
Glu	:	Glukoz
GOx	:	Glukoz oksidaz
Med	:	Medyatör
Pt	:	Platin Elektrot
S.D	:	Standart Sapma Değeri
S	:	Substrat
E	:	Enzim
CT1-a	:	[N-(4,6-dikloro-1,3,5-triazin-2-il)-9-etil-9H-karbazol-amin]
CT1	:	[N-(4,6-dihidrazinil-1,3,5-triazin-2-il)-9-etil-9H-karbazol-3- amin]
CT2-a	:	[N ² , N ⁴ -bis(9-etil-9H-karbazol-3-il)-6-hidrazinil-1,3,5-triazin-2,4-diamin]
CT2	:	[N ² , N ⁴ -bis(9-etil-9H-karbazol-3-il)-6-hidrazinil-1,3,5-triazin-2,4-diamin]
CT3	:	[N ² , N ⁴ ,N ⁶ -tris(9-etil-9H-karbazol-3-il)-1,3,5-triazin-2,4,6-triamin]
BFEE	:	Boron trifluorit dietil eterat
THF	:	Tetrahidrofuran
AK	:	3-Amino-9-etilkarbazol
Ea	:	Katalizlenmemiş reaksiyonun aktivasyon enerjisi
Ea'	:	Katalizlenmiş reaksiyonun aktivasyon enerjisi
ΔG	:	Reaksiyonun serbest enerjisindeki değişim
pH	:	Hidrojenin gücü
SEM	:	Taramalı Elektron Mikroskopu

ÖNSÖZ

Tez çalışmalarım boyunca öncelikle bilgisiyle, desteğiyle, mesleki tecrübeleriyle bizlere her konuda destek olan ve bu meslek hayatına atacağımız yeni adımlara bizleri hazırlayan saygıdeğer danışman hocam Prof. Dr. Metin AK'a, tez kapsamında çalışılan maddelerin sentezinde bilgisini, tecrübelerini ve yardımlarını esirgemeyen Dr. Öğretim Üyesi Erhan KARATAŞ 'a teşekkürlerimi sevgi ve saygıyla sunarım.

Pamukkale Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümünde üniversite hayatım boyunca katkılarını gördüğüm tüm değerli hocalarıma teşekkür ederim.

Ayrıca yüksek lisansım boyunca mesleğimi iyi bir şekilde öğrenmemi, meslek ahlakına sahip olmamı, her iyi ve kötü zamanlarımızda yol gösteren, sevgisini, dostluğunu ve desteğini asla esirgemeyen Dr. Tuğba Soğancı'ya,

Üniversite hayatımı her daim anlamlı ve güzel dostluklarla taçlandıran dostlarım Yasin Abdüloğlu, Buğra Dayı, Duygu Ataman ve İPAL ekibi üyelerine, kalbimden kalbini asla esirgemeyen, her basamağı omuz omuza, yan yana aştığım, en değerli parçalarımın biri olan OGÜN GÜMÜŞAY'a ayrı ayrı teşekkürü bir borç bilirim.

Son olarak hayatım boyunca ve bunun gibi her uzun ve her meşakkatli yolda beni kanatlarının altında yaşatan canım annem HATİCE DURUR ve canım babam NECATİ DURUR'a, kardeşim, yol arkadaşım UYGAR GÖRKEM DURUR'a, başarıyı gururla onlara armağan eder, teşekkür ederim.

Simge DURUR

1. GİRİŞ

Bilim dünyasında farklı çalışma alanlarında temel olan polimerler, çağımızın değişen koşullarına birçok konuda katkı sağlamaktadır. Polimerler birçok alana uygun farklı özellikleriyle karşımıza çıkmaktadır. Elektriksel özellikleri bakımından iletken polimerler öne çıkan polimer çeşitlerinden biridir. Geniş uygulama alanlarına sahip iletken polimerler, ışık yayan diyotlar (LED) (Chen ve diğ. 2009; Zhu ve diğ. 2014) ve elektrokromik cihazlar (ECD'ler) (Güzel ve diğ. 2015; Ak ve diğ. 2006) ve süperkapasitörler dahil olmak üzere, geniş yelpazedeki teknolojik alanlarda kullanılmaktadır (Payne ve diğ. 2010; Krishnakumar ve diğ. 2011)

Tıbbi alanda öne çıkan biyosensör çalışmaları tanı ve proses kontrollerinde pratik, doğruluğu kesin uygulamaları ile karşımıza çıkmaktadır. Triazin ile modifiye edilen moleküller, son zamanlarda araştırma odağı haline gelmiştir (Guzel ve diğ. 2016; Ak ve Toppare 2009; Ak ve diğ. 2013; Karataş ve Uçan 2017). Bu tür yapılar tarafından oluşturulan yıldız şekilli polimer türevleri, polimer yapısına bazı özel avantajlar sağlamıştır. Lineer polimerler ile yıldız şekilli polimerler karşılaştırıldığında, yıldız şekilli polimerler elektrokromik özellikleri ve elektrokimyasal kararlılık konuları bakımından daha üstün özelliklere sahiptir (Güzel ve diğ. 2017; Karataş ve diğ. 2017). Bu nedenle, yıldız şeklindeki triazin türevlerinin sentezi, son dönemde dikkat çeken çalışmalar arasına girmeye başlamıştır. (Tugba Soganci ve diğ. 2018). (Tugba Soganci, Rukiye Ayrancı ve diğ. 2018)

2. İLETKEN POLİMERLER

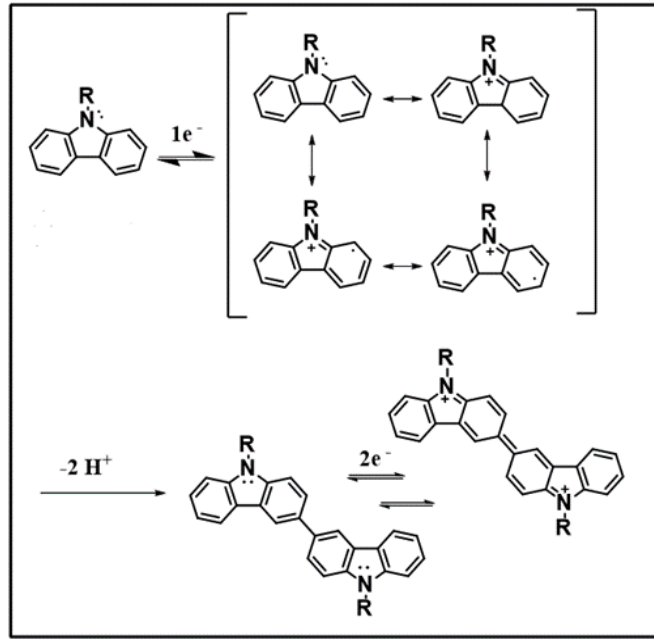
2.1 İletken Polimer Sentez Yöntemleri

İletken polimerler, piroliz, katalitik polimerizasyon, elektrokimyasal polimerizasyon, kimyasal polimerizasyon gibi birçok yöntem kullanılarak sentezlenebilmektedir. Günümüzde bu yöntemlerin en yaygın kullanılanları kimyasal polimerizasyon ve elektrokimyasal polimerizasyon yöntemleridir.

2.2 Elektrokimyasal Polimerizasyon

Elektrokimyasal polimerizasyon, polimerizasyon işleminin basit, hızlı, tekrarlanabilir ve polimer kalınlığının kontrolünün sağlanabildiği bir polimerizasyon yöntemidir.

Konjuge yapıya sahip olan polimerler için elektrokimyasal polimerizasyon işlemi iki basamakta gerçekleşir (**Şekil 2.1**). Bu basamaklardan ilki radikal katyonu halinde bulunan monomerin, bir nötr monomer ile birleşip ikinci yükseltgenme sonrası iki proton kaybederek nötral dimer oluşturmaktır. İkinci basamak ise, nötral dimer oluştuktan sonra, nötral dimerin oluşmasını sağlayan iki protonu kaybeden iki katyon radikalinin birbirine bağlanmasıdır. Bu iki basamak gerçekleştikten sonra potansiyel uygulanmasına devam edilmesi sonucu nötral dimer yükseltgenerek çalışma elektrodu üzerinde birikmektedir. Elektrokimyasal yöntemle sentezlenen tüm polimerler yükseltgenme metodu ile sentezlenir ancak nötral hale geçiş yapmaktadır. İletken polimerlerin sentez çeşitleri kıyaslandığında; sentezlenen polimerlerin yapısal olarak aynı olduğu ancak polimer morfolojilerinin farklı olduğu belirlenmiştir.



Şekil 2.1: Karbazolün polimerleşmesi

2.3 İletken Polimerlerin Uygulama Alanları

İletken polimerler optik ve elektrokimyasal özelliklerinden dolayı birçok alanda etkin olarak kullanılmaktadırlar (Fried 1995; Pratt 1996). Bu özellikleri onların farklı alanlardaki kullanım potansiyellerinin araştırılmasına sebep olmuştur. İletken polimerler anti statik kaplama malzemesi, bilgisayarlar da elektromanyetik koruyucu, ışık saçan diotlar (LED/OLED), radar algılama sistemleri, süper kapasitör gibi birçok alanda kendilerine yer bulabilmişlerdir. Tıbbi alanda kullanımlarından bahsetmemiz gerekirse, iletken polimerler biyosensör uygulamalarında kullanılmış, şeker gibi yapıların kandaki derişiminin belirlenmesinde yer almış ve bu yöntemin basit, seçici ve tekrarlanabilir bir yöntem olması sebebiyle bu alanda son yıllarda sıklıkla kullanılmıştır.

3. BİYOSENSÖR

3.1 Biyosensörlerin Çalışma Prensibi

Biyolojik olaylardaki biyokimyasal değişimleri algılayan, biyolojik olayın teşhisine imkân tanıyan ölçüm sistemlerine biyosensör denmektedir. Biyosensör sistemleri elektrokimyasal ve biyokimyasal olmak üzere iki çevirici sisteme sahiptir. Biyokimyasal çevirici kısım analit ile etkileşerek analiti tanıır. Etkileşmenin sonucunda biyokimyasal ürün ortaya çıkar ve elektrokimyasal çevirici tarafından sayısal veriye dönüştürülür (**Şekil 3.1**). Bu tanımdan yola çıkarak nitel ve nicel analizler yapabilen çoklu sistemler biyosensör olarak adlandırılmıştır (Ak 2006; Dubois ve diğ. 1997; Hazer ve Kurt 1995; Kang ve diğ. 2001; Saçak 2006) (Remziye Olgac, 2017)

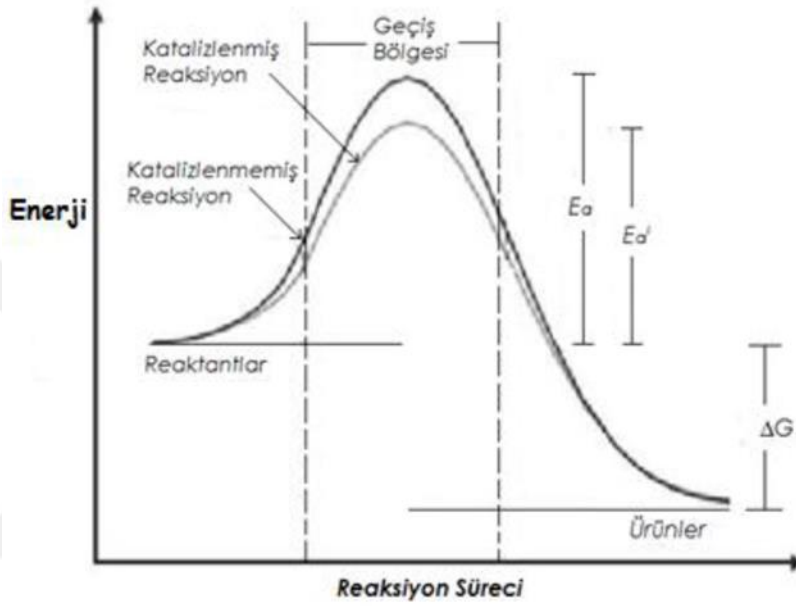


Şekil 3.1: Biyosensörün çalışma prensibi

3.2 Enzim

Yüzden fazla aminoasidin birleşmesiyle oluşan proteinlere enzim denir. Enzimatik reaksiyonlar, substrat enzime bağlanmadan gerçekleşmez. Enzimler birden fazla substrat ile ürün oluşturabilecekleri gibi tek bir substratla da reaksiyon ürünü oluşturabilirler.

Kimyasal reaksiyonların bir kısmı kendiliğinden gerçekleşirken, bir kısmı belirli bir enerji bariyerini geçemediğinden katalizlenmesi gerekmektedir. Katalizörler, kimyasal maddelerin başka maddelere dönüşmesi sırasında gerekli olan enerji seviyesini azaltan moleküllerdir (Şekil 3.2). Bir başka deyişle katalizörler, aktif bir geçiş kompleksi oluşturarak bu enerji seviyesini azaltıp ürün oluşumunu sağlarlar (İlanes 2008).



Şekil 3.2: Katalizör mekanizması

Canlı organizmalardaki birçok biyokimyasal reaksiyon, biyokatalizör sınıfına giren enzimler tarafından sağlanır. Metabolitik olaylarda (yapım, yıkım, hidroliz, elektron aktarımları vs.) enzimler büyük rol oynar ve kimyasal katalizörlerle kıyaslandığında katalitik güçleri daha üstündür. Enzimler sadece canlı ortamda değil (in vivo) yapay koşullarda da (in vitro) aktivite gösterirler. Bu özellik onları laboratuvar ortamında, yapay koşullarda belirlenen şartlar sağlandığında etkin olarak kullanılmasını sağlamaktadır (Kuzu 2008).

3.2.1 Enzimlerin Sınıflandırılması

Enzimler, reaksiyon tiplerine göre Uluslararası Biyokimya Ve Moleküler Biyoloji Biriminin (IUBMB) İsimlendirme Komitesi'nin tarafında 6 grupta sınıflandırılmıştır. Bunlar;

Oksidoredüktazlar: Oksidasyon-redüksiyon temelli reaksiyonları katalize eden enzimlerdir.

Transferazlar: Hidrojen dışında bir donörden (bir atomun veya atom grubunun) bir akseptöre aktarılmasını katalizleyen enzimlerdir.

Hidrolazlar: Kimyasal bağların su varlığında hidrolizini katalizleyen enzimlerdir.

Liyazlar: Kimyasal bağların hidrolitik ve oksidatif olmayan ayrılma reaksiyonlarını katalizler.

İzomerazlar: Molekül içinde değişiklik yaparak onun uzayda dizilişini değiştiren enzimlerdir.

Ligazlar: Enerji kullanarak substrat moleküllerinin birbirine bağlanmasını sağlayan enzimlerdir.

3.3 Biyosensörlerde Enzim İmmobilizasyonu

Biyosensör çalışmaları geliştikçe, enzimlerin ömrü, aktivite kaybı ve stabilitesiyle ilgili sorunlar da ortaya çıkmıştır. İdeal biyosensörlerde bunların dışında cevap süresinin kısıtlılığı ve tek kullanımlık cihaz tasarımlarının artması gibi durumlar söz konusu olmaktadır. İmmobilizasyon teknikleri, bu sorunları çözmek için geliştirilmiştir. Enzim sensörünün performansı, iletken yüzeye yapılan enzim immobilizasyonu yöntemini doğrudan etkilemektedir (Ahuja 2007). Enzimin etkili şekilde yüzeyde tutunabilmesi için immobilizasyon yöntemi;

- Çevirici yüzey üzerindeki enzim kararlı bir şekilde tutunmalı,

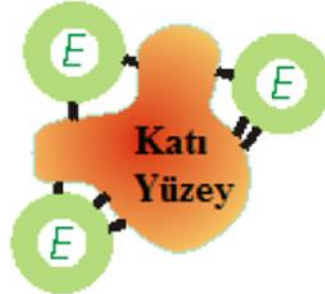
- Enzim spesifik ve biyolojik özelliklerini etkilememeli
- Biyouyumlu ve kimyasal olarak inert olması gerekir.

Enzim immobilizasyonu yapılırken, enzim denatürasyonu en az olacak şekilde ve uygulanan immobilizasyon yöntemi kimyasal yapıyı değiştirmeyip enzimin aktivitesinde kayba neden olmamalıdır.

3.3.1 İmmobilizasyon Yöntemleri

3.3.1.1 Taşıyıcı Yüzeye Bağlanma

Taşıyıcı yüzeye bağlanma, bilinen en eski enzim immobilizasyon yöntemidir. Bu yöntemde taşıyıcı enzim yüzeyinin özelliği, enzim miktarını ve immobilize edilmiş enzim aktivitesini doğrudan etkilemektedir. **Şekil 3.3**'te taşıyıcı yüzeye bağlanma ile immobilizasyon yöntemi şematize edilmiştir.



Şekil 3.3: Taşıyıcı yüzeye bağlı enzimin şematik gösterimi

Taşıyıcı yüzey kararlaştırılırken enzimlerin aşağıdaki özelliklerine dikkat edilir;

- Yüzey Alanı
- Kimyasal Bileşim
- Partikül büyüklüğü
- Hidrofilik ve hidrofobik grupların molar oranı

Enzim aktivitesinin yüksekliği, hidrofilik grupların fazlalığı ve enzim miktarındaki artış ile doğru orantılıdır. Enzim immobilizasyonu ile taşıyıcı yüzey arasında genellikle selüloz, poliakrilamid jel, dekstran gibi maddeler kullanılır (Goel 1994). Taşıyıcı yüzeyin bağlanma yöntemleri bağlanma çeşitlerine göre çeşitlilik gösterir.

Fiziksel Adsorbsiyon

Fiziksel adsorbsiyon metodu, enzim proteinin taşıyıcı üzerinde fiziksel adsorbsiyonunu temel alır. Fiziksel adsorbsiyon, ne enzim molekülünü ne de aktif bölgeyi etkilemeyen hem ucuz hem de kolaylıkla uygulanabilen bir immobilizasyon yöntemidir. Ancak bu yöntemin en büyük dezavantajı, enzim ve taşıyıcı arsında olan bağ kuvvetlerinin zayıf olup platformda birbirinden ayrılmasıdır. Fiziksel adsorbsiyon için çalkalamak ve karıştırma banyosunda bekletmek, reaktörde bekletmek ve elektro-boşalım kullanılan teknikler arasında yer alır. Fiziksel adsorbsiyon tekniğinin temel avantajı ise kimyasal bir bağlanma söz konusu olmaması ve aktivasyonun da minimum enerji ile gerçekleşmesidir. Eğer bu yöntemde kimyasal bağlanmanın etkisi görülseydi enzim proteinine zararı olabilirdi. Kimyasal bağlanma hidrojen bağları, çoklu tuz köprüleri ve Van der Waal's kuvvetlerinin oluşmasını etkileyerek ortamda pH, sıcaklık ve iyonik kuvvet değişikliklerine yol açar ve taşıyıcı yüzey/enzim ilişkisinde desorbsiyona neden olur. Bir diğer yandan fiziksel adsorbsiyon yöntemi diğer maddelerin enzim gibi kullanılabilirliğinden çok spesifik bir özellik taşımamaktadır (Goel 1994).

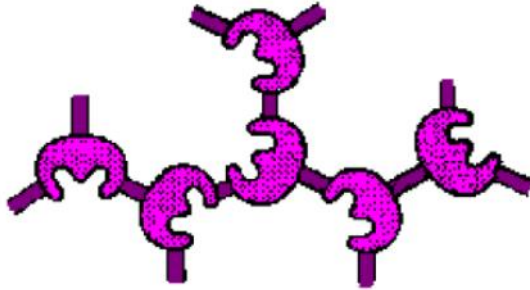
Kovalent bağlanma

Enzim ve taşıyıcı yüzey arasında kovalent bağ oluşumu, immobilizasyon yöntemlerinde öne çıkan bir tekniktir. Bu teknikte immobilizasyonun reaksiyon tekniğı seçilirken; reaksiyon şartlarında enzim aktivitesinin azalmaması ve reaksiyonda aktif bölgenin negatif yönde etkilenmemesine dikkat edilmelidir. Bu yöntemin temeli suda çözünmeyen taşıyıcı matriks ve enzimin kovalent olarak bağlanmasına dayalıdır. Kovalent bağlama yönteminde karboksil, amino, hidroksil ve sülfidril gruplar oluşabilir. Kovalent bağlama yöntemi, fiziksel adsorbsiyon ve iyonik bağlama yöntemi ile karşılaştırıldığında sağlanacak ideal şartları daha fazla ve daha komplekstir. İdeal koşullar sağlanırken enzimin konfirmasyonunun değişmesine

ve aktif bölgedeki aktivite kaybının azalmasına sebep olabilmektedir. Ancak enzim ve taşıyıcı yüzey arasındaki etkileşim kovalent bağlanma ile sağlanıyorsa bağlanma kuvvetleri çok güçlüdür. Bu sebeple desorbsiyon olma gibi bir durum ile karşılaşılmaz.

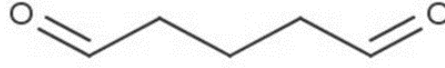
3.3.1.2 Çapraz Bağlanma

Enzim proteinlerinin, protein moleküllerine ve fonksiyonel gruplara moleküller arası çapraz bağlanarak gerçekleştiği yöntemdir. Bu yöntemde protein molekülleri, enzimler çapraz bağlandığında ana destek maddesi yerine geçer. Bu durum enzim aktivitesinin düşmesine neden olur. Çapraz bağlama yöntemi genellikle enzim kararlılığını sağlamak ve enzimin ayrılmasını engellemek içinde tercih edilen yöntemdir. Çapraz bağlı enzim molekülünün şematik gösterimi **Şekil 3.4**'te verilmiştir.



Şekil 3.4: Çapraz bağlı enzimin şematik gösterimi

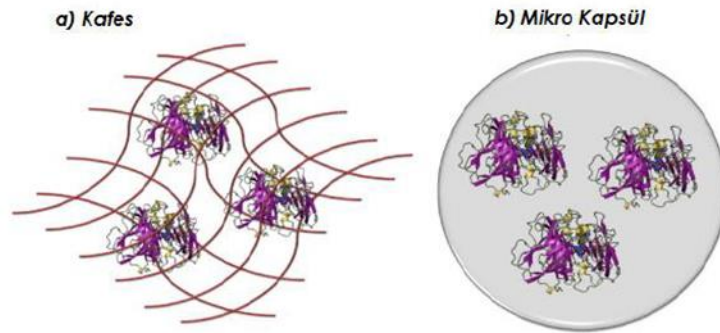
Glutaraldehit, çapraz bağlama yönteminde kullanımı yaygın olan bir bağlayıcıdır. Bağlanma reaksiyonundaki koşullar enzimin aktif bölgelerinde değişikliğe uğrayabileceği gibi enzim aktivitesinin artmasına neden de olabilir. **Şekil 3.5**'te glutaraldehitin (GA) kimyasal yapısı gösterilmektedir.



Şekil 3.5: Glutaraldehyt'in kimyasal yapısı

3.3.1.3 Tutuklama

Tutuklama, enzim moleküllerinin örgü halinde matris içinde lokasyonunu temel alır. Bu yöntemde enzim substratının difüzyonu sağlanarak tutuklama yöntemi gerçekleştirilmektedir. Difüzyonu sağlanan yapılar iki tipte görülebilir. Birincisi kafes tipi, ikincisi ise mikro kapsül tipidir. Tutuklama yönteminin örnek şeması **Şekil 3.6**'da verilmiştir.



Şekil 3.6: Tutuklanmış enzimlerin şematik gösterimi

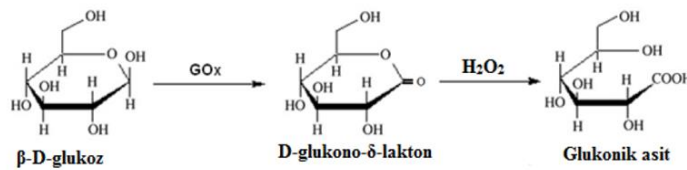
Yöntemde, enzimin jel ya da membrana bağlanması sağlanır. Matristeki bağlanmada, bağların kovalent bağlanması ya da çapraz bağlanması farklılığa neden olarak geniş kullanım alanı sağlanmış olur. Bu işlemde kimyasal polimerisasyon reaksiyonları söz konusu ise reaksiyonun koşulları, enzim aktivitesini azaltabilir. Böyle bir sorunla karşılaşmamak için immobilizasyon şartlarının optimizasyonu çok önemlidir.

3.4 Biyosensörlerde Glukoz Oksidazın Özellikleri

β -D-glukopiranoz'a bağlanan glukoz oksidaz enzimi (GOx), (EC. 1.1.3.4, β -D-glukoz: oksijen oksidoredüktaz) moleküler oksijen içeren şeker molekülü ile yükseltgenerek, hidrojen peroksit (H_2O_2) ve glukono- δ -laktonun (glukono-1,5-lakton) olduğu reaksiyonun katalizlenmesini sağlar (Özyılmaz 2005).

Reaksiyon koşullarında katalizlenmeleri benzer olsa da GOx değişik kaynaklardan saflaştırılır ve farklı kimyasal özellik gösterir. *Aspergillus Niger* referanslı GOx moleküllerinin ağırlıkları 80 kD olan disülfid köprüleriyle birbirlerine bağlanmış 2 eş altı gruptan meydana gelmiştir. *Aspergillus Niger* GOx 1 mol FAD (Flavin Adenin Dinükleotit) her alt birimde bulunur. GOx'un yapısında %74 protein, %16 şeker, %2'lik kısımda ise amino şeker bulundurur. FAD molekülü ve apoprotein, aralarında kovalent bağ oluşturmadığından dolayı enzim denatüre FAD molekülünden uzaklaştırılır. Enzim bünyesinde tutulan karbonhidrat, enzimden uzaklaştırılsa bile aktivite düşüklüğüne neden olmaz fakat termal kararlılığın azalmasına sebep olur. GOx enzimi, β -D-glukoz için seçimlidir ve β -D-glukoz, α -D-glukoza göre 157 kez daha hızlı oksidasyona uğrar. Cu^{+2} , Ag^+ ve Hg^+ , GOx için önde gelen inhibitörleridir (Özyılmaz 2005).

GOx, β -D-glukozu elektron alıcısı olarak moleküler oksijen atomunu kullanarak, D-glukono- δ -laktona ve H_2O_2 'ye oksidasyonunu katalizleyen bir flavo protein türüdür. Bu reaksiyonda indirgeyici ve yükseltgeyici olmak üzere iki basamak bulunmaktadır. İndirgeyici reaksiyonda GOx, β -D-glukozun, D-glukono- δ -laktona oksidasyonundaki gerekli olan enerji seviyesini düşürür. Yükseltgeyici reaksiyonda ise indirgenmiş halde bulunan GOx, oksijenin yardımıyla yeniden yükseltgenerek hidrojen peroksit (H_2O_2) açığa çıkarır. Bu reaksiyonu şematik gösterimi Şekil 3.7'de verilmiştir (Özyılmaz 2005).



Şekil 3.7: GOx reaksiyonunun şematik gösterimi

3.5 Biyosensörlerde Enzim Elektrotları

Elektrokimyasal sensör platformlarındaki elektrotların üzerine ince bir tabaka oluşturacak şekilde enzim immobilize edilmiş elektrot türlerine enzim elektrotu adı verilmektedir (Updike ve Hicks 1967). Bu tip elektrotlar enzim tabakası ve elektrot arasına, enzim tabakası ve çözelti arasına ya da her ikisinin de arasına yarı geçirgen membran modifiye edilerek oluşturulabilmekte ve analiz edilecek olan örnek hiçbir ön işleme gerek kalmadan direkt olarak ölçüm yapılabilir. Elektrotun, analit çözeltisine daldırılmasıyla substrat, enzim tabakasına doğru hareket ederek difüzyon ve enzim elektrodu yüzeyinde gerçekleşen reaksiyon sonucu substrat ve ürün konsantrasyonu değişir. Belirli bir süre sonrasında substrat tüketimi ve ürün oluşum hızı eşitlenir ve kararlı bir konuma ulaşılır. Gerçekleşen reaksiyon sonucu açığa çıkan türlerin konsantrasyonları amperometrik veya potansiyometrik olarak izlenir ve açığa çıkan elektrokimyasal sinyal konsantrasyonların ölçülmesi hususunda ilişkilendirilir (Ilanes 2008). Enzim elektrotunun oluşturulmasında enzim ve elektrot materyali olmak üzere iki temel yapı bulunmaktadır. Enzim elektrotunda kullanılacak olan enzim seçilirken gerçekleşmesi beklenen tepkime ve çalışılacak analit dikkate alınmaktadır. Oksidoredüktaz enzimleri olarak adlandırılan glukoz oksidaz, alkoldehidrogenaz, üreaz, katalaz, peroksidaz vb. enzimler, amperometrik olarak gerçekleştirilecek olan işlemlere uygun olduğundan yaygın olarak kullanılmaktadırlar. Elektrot materyalinin seçiminde ise sertlik ve iletkenlik önem taşımaktadır. Bu yüzden kullanılan elektrotlar genel olarak çubuk ya da yaprak şeklinde olup; altın, platin, karbon gibi rijit materyallerden oluşmaktadır. Modifiyeli enzim elektrot sistemleri hızlı ve hassasiyeti yüksek ölçüm yeteneğine sahip olduklarından dolayı çevre, tıp ve kimya alanlarında çalışmalarda sıklıkla kullanılmaktadır. Enzim modifiye edilmiş bir amperometrik elektrot sistemi çevirici bir elektrottan, kimyasal olarak seçici özelliğe sahip ince bir tabakadan oluşan enzimden, elektroda bağlı olan bir güçlendiriciden (amplifikatör) ve sonuçların okunabileceği bir ekran bileşiminden oluşur.

3.5.1 Enzim Elektrodunun Karakteristik Özellikleri

3.5.1.1 Enzim Elektrotunun Kararlılığı

Elektrotun kararlılığı, elektrotun kullanıma uygunluğu ve maksimum çalışma süresini ifade etmektedir. Kararlılığı yüksek ve raf ömrü uzun olan bir elektrot ile hem yapılacak olan analiz sayısı artacak hemde maliyet düşecektir. Bununla birlikte enzime uygulanan immobilizasyon tekniği ve enzimin saflığında elektrotun kararlılığında önemli bir konudur. Örnek vermek gerekirse enzimin kimyasal olarak immobilize edilmiş olduğu enzim elektrotu, fiziksel olarak immobilize edilmiş olan bir enzim elektrotuna göre daha kararlı olacak ve ömrü daha uzun olacaktır. (Suelter and Kricka 1992).

3.5.1.2 Enzim Elektrotunun Seçiciliği

Enzim elektrotlarında, kullanılan elektrotun iyi bir seçiciliğe sahip olması en önemli temel özelliklerden bir diğeridir. Seçicilik özellikleri kıyaslandığında enzimler, antikorlar ve nükleik asitlerden sonra yer almasına karşın mutlak özgül enzimler için bu geçerli olmamaktadır.

Seçiciliği etkileyen başlıca değişkenler sensördeki girişimler, biyokatalizörde oluşan girişimler ve pH'tır ve bu değişkenlerin seçiciliğe olan etkisini en aza indirmek üzere farklı yöntemler kullanılır. Örnek olarak vermek gerekirse biyokatalizörde olan girişimleri engellemenin en basit yolu analiz edilmesi beklenen maddeye özgü olan bir biyokatalizör kullanılmasıdır. Seçiciliği etkileyen bir başka parametre de ortamın pH değeridir ve enzimin çalıştığı en uygun pH, immobilizasyon ve substrat etkisiyle değişiklik gösterebilir. Bu durumda çalışılacak optimum pH değeri deneysel olarak belirlenmelidir. Ölçüm aralığının belirlenmeside

seçicilik konusunda önemli bir basamaktır. Girişimde bulunması beklenen substrat haricindeki maddelerin girişim etkilerinin yok edilmesi için ise hedef substrat seyreltilir ve konsantrasyonları dşrlerek ölçüm aralığının dışarısına çıkarılır. (Suelter and Kricka 1992).

3.5.1.3 Enzim Elektrotunun Cevap Süresi

Analizi sağlayacak olan elektrotun, analizi yapılacak madde ortamına girdiği andan, ölçüm sisteminde değerinin belirlenebildiği minimum sreye cevap süresi denmektedir. Çalışılan elektrotta cevap süresinin kısa olması bir enzim elektrotundan istenilen en önemli özelliklerdendir. Sürekli yapılacak rutin ölçümlerde cevap süresinin kısalığı pratiklik ve zaman kazanımı açısından büyük önem taşır. Cevap süresini etkileyen faktörler şunlardır;

- Ürünün elektrot yüzeyine doğru olan difüzyon hızı
- Biyokatalizrdeki aktif bölgenin substrat ile verdiği tepkimenin hızı
- Substratın zar yüzeydeki difüzyon hızı

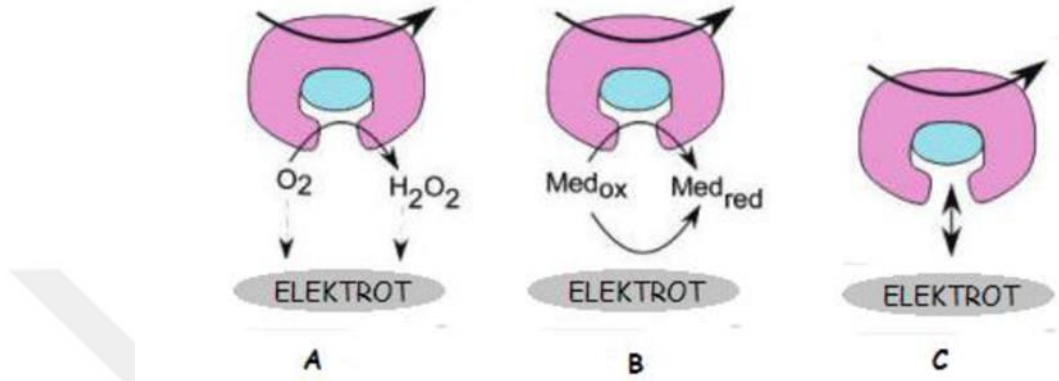
Yukarıda bahsedilen  başlığıda etkileyen pH, sıcaklık, substrat konsantrasyonu, karıştırma hızı ve biyoaktif tabaka üzerinde zar varlığı gibi unsurlar mevcuttur. Bu unsurlar içerisinden substrat derişimindeki artış ve biyoaktif tabaka üzerinde zar bulunması cevap süresini uzatırken, pH ve sıcaklık ve karıştırma etkenleri cevap süresini kısaltmaktadır.

3.6 Amperometrik Enzim Elektrotları

3.6.1 Amperometrik Enzim Elektrot Sistemleri

Amperometrik sensör tasarımları I. nesil, II. nesil ve III. nesil olmak üzere üç ayrılmaktadır. Eğer bu tasarımda redoks enzimi ve elektrotlar arasındaki bağlantı ürünün sahip olduğu elektroaktiviteyi ya da enzim substratını baz alırsa I. nesil, redoks medyatörlerinin immobilize olarak ya da serbest halde biyomolekülle

kullanımını baz alıyorsa II. Nesil ve elektron yüzeyi ile enzimin redoks aktif bölgesi arasında direkt elektron transferini baz alıyorsa III. nesil biyosensörler olarak tanımlanırlar. **Şekil 3.8**'de amperometrik enzim tipleri şematize edilmiştir (Freire ve diğ, 2003 ; Tuğçe Yazıcı Tekbaşoğlu, 2017)



Şekil 3.8: a) I. nesil amperometrik elektrotlar, b) II. nesil amperometrik elektrotlar, c) III. nesil amperometrik elektrotlar

I. nesil amperometrik biyosensör tasarımlarında uygulanan potansiyelin değerinin yüksek olması, bu tasarımlardaki en büyük dezavantajdır. Bu dezavantaj medyatör adı verilen ve elektrot yüzeyi ile enzimin redoks aktif merkezi ve arasına girerek elektron aktarımını sağlayan ve ferrosen türevleri organik iletken tuzlar ya da kinon gibi moleküllerin kullanılmasıyla giderilmektedir (II. Nesil). II. Nesil amperometrik biyosensörlerde medyatör kullanılması uygulanan potansiyelin düşmesine ve bu problemin çözülmesini sağlar. Medyatör kullanımındaki bir diğer avantaj ise elektrotlarda lineer cevap aralığını arttırmak ve elektrot ömrünü uzatmaktır. Medyatörlerin kullanımdan dolayı sensör ortamında hidrojen peroksit (H_2O_2) açığa çıkmamakta bu da enzimin zarar görmesini engellemekte ve sensör ömrününün uzamasına sebep olmaktadır. Fakat bununla birlikte medyatörün varlığı farklı reaksiyonların gerçekleşmesine sebep olabilmektedirler (Jusoh ve Aziz 2006).

Medyatörlerin, enzim molekülleriyle kullanılmasında birçok farklı teknik bulunmaktadır. Fakat kullandığımız her immobilizasyon yöntemi kinetik açıdan dezavantaja sahiptir. Kinetik açıdan kısıtlamaya sebebiyet veren konular ise immobilize edilmiş medyatörün hareketinin engellenmesi ve medyatör ve enzimin

elektrot yüzeyinde asimetrik olarak yüklenmesidir. Dizayn edilen elektrot henüz kullanılmamışken, medyatör/enzim oranı sabittir fakat elektrokimyasal proses devam ettikçe bu oran immobilize edilmiş olan medyatörün katyonik ve anyonik hallerinin kararlılığına bağlı olarak değişmeye başlar. Bu değişimin sebebidir medyatörlerin çözünürlüğüdür. (Pandey 1997).

Bütün immobilizasyon tekniklerinin amacı, indirgenme ve yükseltgenmeye uğrayan medyatörlerin, çözünürlüğünden dolayı elektrot yüzeyinden ayrılmasını önlemektir. Bundan dolayıda son zamanlarda uygulanan çalışmalarda bu sorunu çözmek için medyatörlerin yerini membranlar, iletken polimerler almıştır (Vaillancourt ve diğ 1998).

III. Nesil biyosensör tasarımlarında ise elektron aktarımı, substratın katalitik olarak ürüne dönüşmesiyle gerçekleşmektedir. Yani kısaca redoks enzimi, substrat ve elektrot arasında medyatör varlığı olmadan elektron transferini gerçekleştirerek, bir elektrokatalizör işlevi görür. Bu tip biyosensörler ortamda gerçekleşebilecek reaksiyonlara sebebiyet vermeden enzimin redoks potansiyeline yakın bir potansiyelde çalışarak daha iyi bir seçicilik gösterir. Elektrot yüzeyi ve biyomolekülün daha güçlü bir bağlantıya sahip olması bu tip biyosensörlerin hassaslığını arttırmaktadır. Son dönemde gerçekleştirilmiş olan yüksek performanslı biyosensör çalışmaları da yukarıda bahsetmiş olduğumuz elektron transfer sisteminin geliştirilmesi üzerine odaklanmıştır. Bu sistemlerin bir diğer geleceğide, direk elektron transferini temel alan enzim bazlı amperometrik biyosensörlere dayanır (Freire ve diğ. 2003).

3.6.2 Amperometrik Glukoz Elektrotları

Glukoz elektrotunda, indirgenme tepkimesinde GOx enzimi, D-glukoz'u katalizleyerek, D-glukono-δ-laktona dönüştürür. Bu dönüşümden sonra GOx'taki FAD halkası, FADH₂ haline indirgenir. İndirgenmiş halde olan GOx enzimi, yükseltgeyici yarı reaksiyonda oksijen yardımıyla tekrar yükseltgenir ve ortaya H₂O₂ çıkar. H₂O₂ açığa çıkması sonucu taşınan elektronlar bir elektrokimyasal çevirici yardımıyla elektrokimyasal veri olarak elde edilir. (Korf ve diğ., 2001; Guler ve Soyleyici, 2014).

4. DENEYSEL ÇALIŞMALAR

4.1 Kullanılan Kimyasal Maddeler, Cihazlar ve Teknikler

4.1.1 Kullanılan kimyasal maddeler

Monomer sentezinde kullanılan malzemeler; 1,3,5 Triazin ($C_3H_3N_3$) (Merck), Tetrahidrofuran (THF) (Sigma-Aldrich), 3-Amino-9-Etil Karbazol (AK)(Sigma), Hidrazin Monohidrat ($NH_2NH_2.H_2O$) (%98+) (Alfa Aesar), Sodyumbikarbonat ($NaHCO_3$) (Sigma-Aldrich), Aseton (Sigma-Aldrich), Asetonitril (ACN) (Sigma-Aldrich) firmalarından temin edilmiştir.

Biyosensör çalışmalarında Glutaraldehit (GA), (%25) D-Glukoz, Glukozoksidaz (Aspergillus Niger. 200 U/mg, %36 α -D-Glukoz %64 β -D-Glukoz) kullanılmıştır.

4.1.2 Kullanılan cihazlar

4.1.2.1 Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi (FT-IR)

Sentezlenen monomerlerin FT-IR spektrumları, Perkin Elmer Attenuated Total Reflection (ATR) aksesuarına sahip bilgisayar kontrollü Two DTGS model FT-IR cihazı kullanılarak alınmış ve yapı analizi yapılmıştır.

4.1.2.2 Nükleer Manyetik Rezonans Spektroskopisi (NMR)

Monomerler için NMR analizleri Varian/400-MHz ile yapılmıştır. 1H -NMR spektrumu için DMSO- d_6 çözücü olarak kullanılmış ve tetrametilsilan referansına göre kimyasal kayma (δ) değerleri verilmiştir.

4.1.2.3 Biyosensör Çalışmasında Kullanılan Sistemler

Biyosensör cevaplarına ait veriler Ivium potansiyostat/galvanostat (IviumStat, Ivium Tech., The Netherlands) cihazı ile takip edilmiştir. Enzim katalizi sonucu açığa çıkan oksijen -0,7 V potansiyelde takip edilmiştir. Deneysel çalışmalarda ölçümler; karşıt elektrot platin tel, çalışma elektrotu grafit, referans elektrot Ag/AgCl üçlü sistemi kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

4.1.2.4 Potansiyostat

Polimerin elektrokimyasal olarak sentezlenmesi için elektrokimyasal polimerizasyon sistemi kullanılmıştır. Sistem, Potansiyostat-Galvanostat Cihazına (Iviumstat, Hollanda) bağlanmış hücre ve üçlü elektrot düzeneğinden oluşmaktadır. Bu sistemde çalışma elektrotu olarak grafit elektrot, referans elektrotu Ag/AgCl ve karşıt elektrotu platin tel olacak şekilde üçlü elektrot sistemi kullanılmıştır.

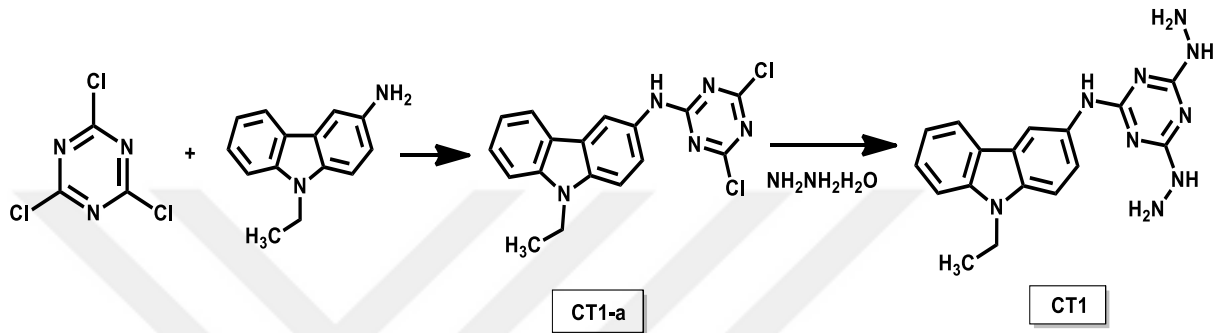
4.2 Deneysel Prosedür

4.2.1 Monomer Sentezleri

4.2.1.1 CT1 [N-(4,6-dihidrazinil-1,3,5-triazin-2-il)-9-etil-9H-karbazol-3-amin] Sentezi

Sentez için öncelikle 0,368 g (2mmol) triazin 10 mL THF içerisinde 0-5°C sıcaklık aralığında çözüldü. Üzerine 0,42 g (2mmol) 3-Amino-9-Etil Karbazol 10 mL THF çözülerek damla damla eklendi. 2 saat boyunca 0-5°C'de karıştırıldı. Ortama %10'luk NaHCO₃ çözeltisi ilave edildi. Ortamın pH değeri 7 olana kadar pH kontrolü sağlandı. 1 saatin sonunda ortama buz ilave edildi. Yarım saat bekledikten sonra çökmenin başladığı gözlemlendi. Reaksiyonda çökme başladıktan sonra tekrar buz ilave edildi. Oluşan yeşil renkteki ürün süzüldü. Bol miktarda soğuk su ile yıkandı. (Ara ürün: CT1-a Renk: yeşil, 0,3009 g verim: %84 erime noktası:190°C) (Rathavi ve diğ. 2013). Daha sonra reaksiyonun ilk basamağından elde edilen CT1-a

ürününden 0,358 g (1mmol) tartıldı ve 45 mL ACN içinde çözüldü. Aynı yerde 1 mL $\text{NH}_2\text{NH}_2\cdot\text{H}_2\text{O}$ 5 mL ACN içinde çözüldü. Çözülen $\text{NH}_2\text{NH}_2\cdot\text{H}_2\text{O}$ 'ın üzerine CT1-a'nın ACN'deki çözeltisi eklendi. Geri soğutucu altında 3 saat süresince karıştırıldı. 3 saatin sonunda çözücü, düşük basınç altında uzaklaştırıldı. Kalan katı süzülde ve yıkama suyunun pH'ı 7 olana kadar bol miktarda su ile yıkandı (Şekil 4.1). (Renk: beyaz, 0,3318 g verim: %95, erime noktası:201-202°C) (Yaoting ve diğ 2004; Mahdy ve diğ. 2016).

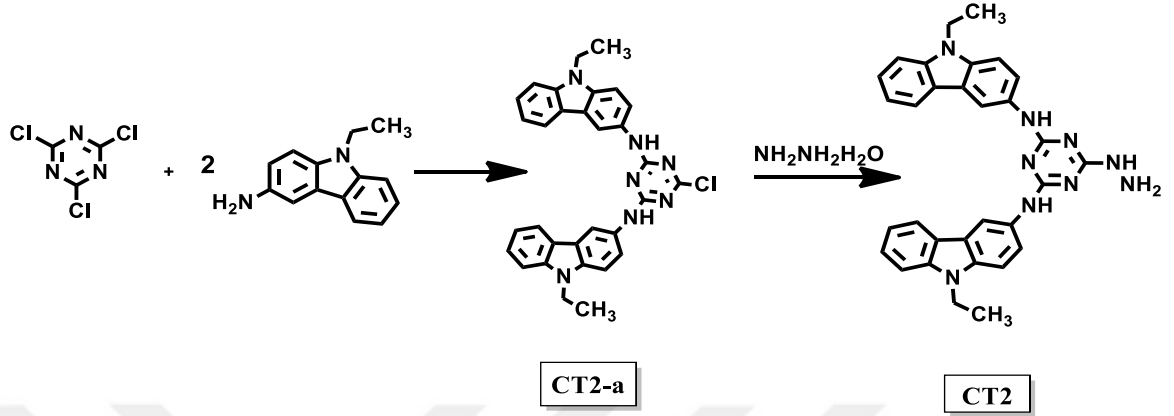


Şekil 4.1: CT1 maddesinin sentezi

4.2.1.2 CT2 [N², N⁴-bis(9-etil-9H-karbazol-3-il)-6-hidrazinil-1,3,5-triazin-2,4-diamin] Sentezi

CT2 maddesinin sentezi için önce 0,184 g triazin (1mmol) 10 mL aseton da 0-5°C'de çözüldü. Sonra 0,168 g NaHCO_3 (2 mmol) katı halde ortama ilave edildi. Karışımın üzerine, 0,440 g 3-Amino-9-Etil Karbazolün (2 mmol) 10 mL asetondeki çözeltisi damla damla ilave edildi. 2 saat boyunca 0-5 °C'de karıştırıldı. 2 saat sonunda reaksiyon ortamına 20 mL soğuk su eklendi ve çökme gözlemlendi. Daha sonra karışım 4 saat oda şartlarında karıştırıldı. Reaksiyon süresince ortamın pH'ı 7 ye ayarlandı. Reaksiyon sonunda elde edilen ürün süzülde. Soğuk aseton-su (1:1) ile yıkandı. Desikatörde oda şartlarında kurutuldu (Xue ve diğ. 2011). (Renk: yeşil, 0,4468g verim: % 84 erime noktası:223-224 °C). Bu basamakta elde edilen CT2-a maddesi, 0,532 g (1mmol) 45 mL ACN içinde çözüldü. Aynı yerde 1 mL $\text{NH}_2\text{NH}_2\cdot\text{H}_2\text{O}$ 5 mL ACN içinde çözüldü. Çözülen $\text{NH}_2\text{NH}_2\cdot\text{H}_2\text{O}$ 'ın üzerine CT2-a'nın ACN'deki çözeltisi eklendi. Geri soğutucu altında 3 saat süresince karıştırıldı. 3 saatin sonunda çözücü, düşük basınç altında uzaklaştırıldı. Kalan katı süzülde ve

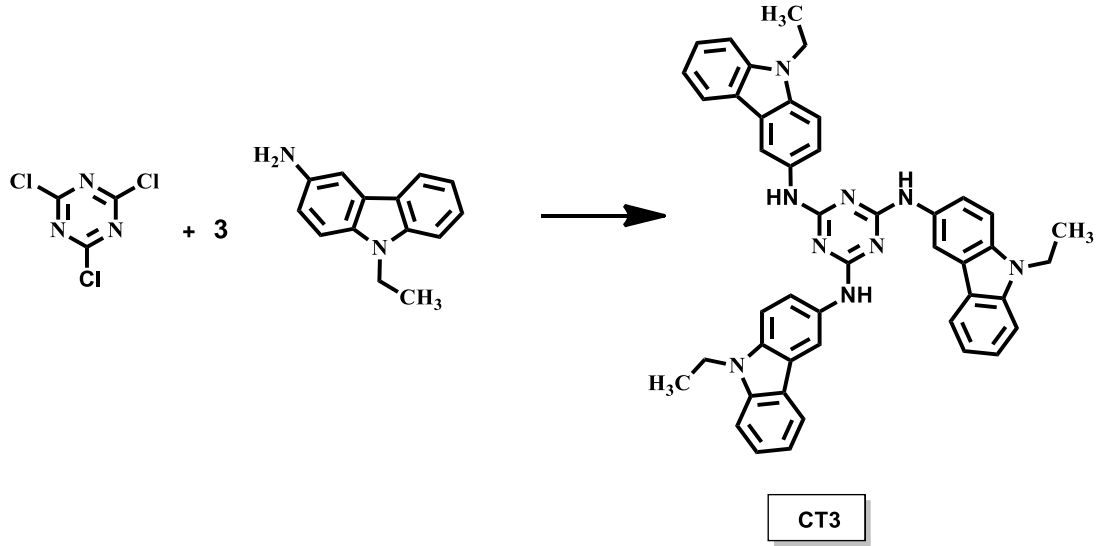
yıkama suyunun pH'ı 7 olana kadar bol miktarda su ile yıkandı (Şekil 4.2). (Yaoting ve diğ 2004; Mahdy ve diğ. 2016). (Renk: beyaz, 0,5012g verim: %95, erime noktası: 256.2 °C)



Şekil 4.2: CT2 maddesinin sentezi

4.2.1.3 CT3 [N², N⁴, N⁶-tris(9-etil-9H-karbazol-3-il)-1,3,5-triazin-2,4,6-triamin] Sentezi

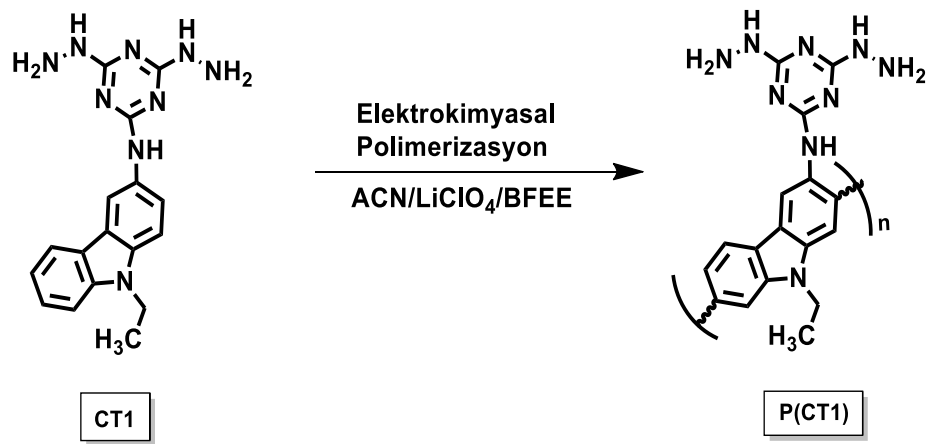
0,725 g (3,25mmol) 3-Amino-9-Etil Karbazol 10mL asetondaki çözeltisi üzerine, 0,4491 g (3,25mmol) K₂CO₃ katı olarak ilave edildi. 10 dakika 0-5°C'de karıştırıldı. Daha sonra üzerine 0,184 g (1mmol) triazinin 10mL asetondaki çözeltisi damla damla ilave edildi. 0-5°C'de 2 saat boyunca, 2 saatte oda sıcaklığında karıştırıldı. Oda sıcaklığında çökmenin başladığı gözlemlendi. Çözelti rengi açılmaya başladı. 48 saat reflux yapıldı. Elde edilen katı kısım çözüldü. Aseton ile yıkandı. Sonra katı kısım suya alınarak süzüldü. Tekrar 10mL su/1mL asetik asit çözeltisine alındı. Tekrar çözüldü. Bol miktarda su ile yıkandı ve daha sonra kurutuldu (Şekil 4.3). (Renk: yeşil, 0,5928 g verim: %84 erime noktası: 320°C)



Şekil 4.3: CT3 maddesinin sentezi

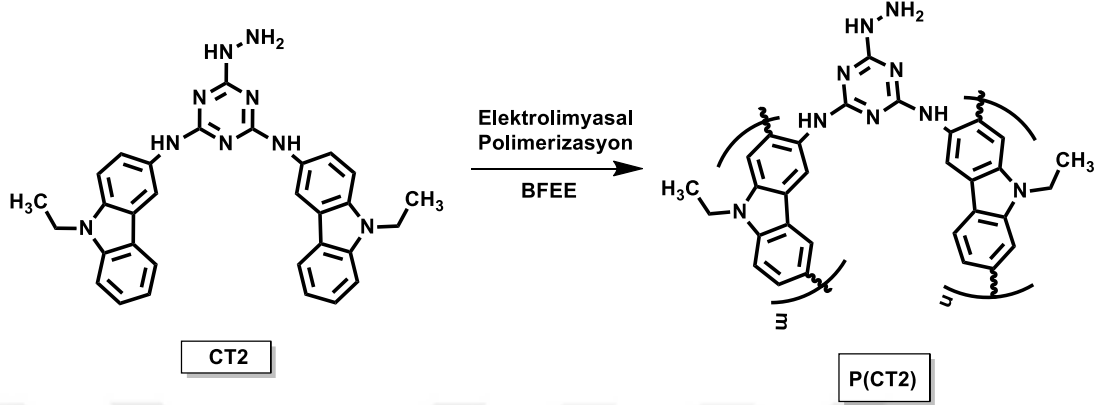
4.2.2 Elektrokimyasal Polimerizasyon

Grafit elektrot üzerinde iletken polimer elde etmek için sentezlenen monomerler, dönüşümlü voltametri tekniği kullanılarak polimerleştirilmiştir. CT1, CT2 ve CT3 monomerlerine elektropolimerizasyon işlemi uygulamak için uygun şartlar belirlenmiştir. Öncelikle CT1 polimeri elde etmek için; 10^{-3} M CT1 ve 0,1 M $\text{LiClO}_4/\text{ACN}/\text{BFEE}$ destek elektrolit-çözücü içeren polimerleştirme hücresi içerisinde, 0,25 V/s tarama hızıyla, 0.1 ile 1.4 V potansiyel aralığında polimerleştirme gerçekleştirilmiştir (Şekil 4.4).



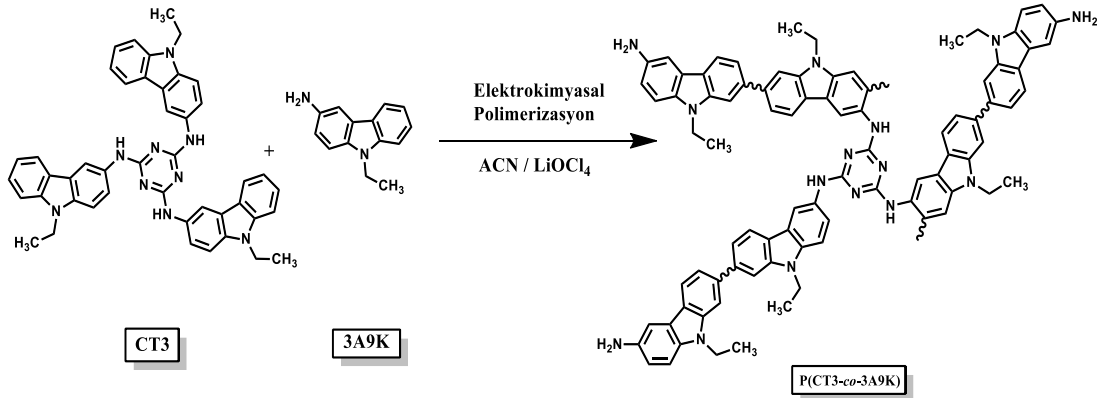
Şekil 2: CT1'in elektrokimyasal polimerizasyonu

CT2 polimeri için; 10^{-3} M CT2 ve 0,1 M LiClO₄ /BFEE destek elektrolit-çözücü içeren polimerleştirme hücresi içerisinde 0.15 V/s tarama hızıyla,-0.5 ile 1.5 V potansiyel aralığında polimerleştirme gerçekleştirilmiştir (Şekil 4.5).



Şekil 4.5: CT2'nin elektrokimyasal polimerizasyonu

Son olarak CT3 polimeri için; 10^{-3} M CT3, 0,1 mM AK ve 0,1 M LiClO₄/ACN destek elektrolit-çözücü içeren polimerleştirme hücresi içerisinde, 0.20 V/s tarama hızı ve -0.5 ile 1.5 V potansiyel aralığında polimerleştirme gerçekleştirilmiştir. Elektrokimyasal kopolimerizasyon işlemi üçlü elektrot sistemi kullanılarak dönüşümlü voltametri tekniği ile gerçekleştirilmiştir (Şekil 4.6).



Şekil 4.6: CT3'ün AK ile elektrokimyasal kopolimerizasyonu

4.2.3 Enzim Elektrotlarının Hazırlanması

Enzim elektrotu tasarlanırken elektrot malzemenin iletkenliği, sert yapısı iletken polimer ile uyumlu olması ideal tasarımı ortaya koyar. Literatürdeki araştırmalar temel alındığında karbon yapılı elektrotların enzim immobilizasyonu ile kullanıldığı görülmektedir. Bu bilgileri ışığında, deneysel çalışmada CT1, CT2 monomerlerinin elektrokimyasal polimerizasyonu ile CT3'ün AK ile kopolimerizasyonu dönüşümlü voltametri tekniğiyle grafit elektrot üzerinde gerçekleştirilip iletken polimerleri oluşturulmuştur. Çalışmanın ikinci basamağında GOx, GA ile çapraz bağlanarak elektrot yüzeyine immobilize edilmiştir. Platformu hazırlanan P(CT1/GOx), P(CT2/GOx), P(CT3-co-AK/GOx) biyosensör platformlarının ideal performans şartları optimize edilmiş ve karakterizasyonu yapılmıştır.

4.2.3.1 P(CT1) /GOx, P(CT2)/GOx, P(CT3-co-AK)/GOx Enzim Sensörünün Hazırlanması

P(CT1) /GOx, P(CT2) /GOx, P(CT3-co-AK) /GOx enzim elektrotlarını oluşturmak için, elektrot yüzeylerinde polimerleştirme gerçekleştirildikten sonra ideal enzim miktarı belirlenmiştir. Her elektrota 0,125 mg, 0,25 mg ve 0,5 mg GOx miktarı immobilize edilmiş elektrotlar hazırlanarak en yüksek cevap alınan enzim miktarı seçilmiştir.

P(CT1) /GOx, P(CT2)/GOx, P(CT3-co-AK) /GOx enzim elektrotlarının değişen enzim miktarlarına karşı vermiş olduğu akım değerlerinin grafiği verilmiştir. P(CT1)/GOx, P(CT2)/GOx, P(CT3-co-AK) /GOx enzim elektrotları için enzim miktarına karşılık elektrot cevabı grafiğini incelediğimizde ideal enzim miktarı belirlenmiştir.

4.2.3.2 Hazırlanan Enzim Sensörleri ile Ölçüm İlkesi

Hazırladığımız sensör platformu üçlü elektrot sisteminde çalışma elektrodu olarak kullanılmıştır. Glukoz ilavesi öncesi sistem oksijen takibi için -0,7 V'ta dengeye geldiği an akım değeri kaydedilmiştir. Belirlenen bu akım değerinden sonra glukoz (substrat) ilavesi yapılmıştır. Enzimatik reaksiyon ölçümde sabit bir noktaya ulaştığında bu noktadaki akım değeri kaydedilmiştir. Çalışmada glukoz ilavesinden önceki akım değeri ve glukoz eklenmesinden sonraki kaydedilen akım değerinin farkı alınmış, sayısal olarak hesaplanan bu fark eklenen glukoz (substrat) konsantrasyonuna karşılık, sensörün vermiş olduğu cevabı ifade etmiştir. Birimi $\mu\text{A}/\text{cm}^2$ 'dir. Çalışmada bu farklanmaya bağlı olarak grafikler elde edilmiş ve diğer parametrelerin sensör cevabına etkisi incelenmiştir.

4.2.3.3 Sensörün Çalışılacağı Optimum pH Değerinin Saptanması

Çalışmada, grafit elektrot yüzeyinde P(CT1), P(CT2) polimerleri ve P(CT3-co-AK) kopolimeri sentezlenmiş ve daha sonra GOx ve GA'nın immobilizasyonu gerçekleştirilmiştir. Daha sonra hazırlanmış olan enzim sensörünün, farklı pH'larda hazırlanmış ve azot gazı geçirilmiş 50 mM fosfat-asetat tamponu çözeltileri içerisinde 2.5 mM glukoz eklenmesi sonrası vermiş olduğu akım değerleri bağlı değerlere göre hesaplanarak "pH-%biyosensör cevapları" grafikte belirtilmiştir. Grafik analiz edildiğinde biyosensör cevabının en yüksek olduğu pH değeri belirlenmiş ve diğer parametreleri belirlemek için bu pH değerinde hazırlanan çözelti kullanılmıştır.

4.2.4 Enzim Sensörü Platformlarının Karakterizasyonu

4.2.4.1 Doğrusal Tayin Aralıkları

Üç farklı sensör platformunun en yüksek sensör cevabını verdiği pH değerleri ayrı ayrı belirlendikten sonra glukoz ölçüm aralıkları belirlenmiştir. Hazırlanan enzim elektrotlarında akım yoğunluğunun substrat konsantrasyonuyla olan ilişkisi

incelenerek bir kalibrasyon eğrisi oluşturulmuştur. Kalibrasyon eğrisinde eklenen glukoz derişimine karşılık gözlenen akım değerleri araştırılarak oluşturulan platformların her bir enzim platformu için glukoz derişimi aralığı belirlenmiştir.

4.2.4.2 Analiz Sonuçlarının Tekrarlanabilirliği

Çalışmada oluşturulan P(CT1)/GOX, P(CT2)/GOX, P(CT3-co-AK)/GOX platformlarının kalibrasyon eğrilerinden belirlenen doğrusal tayin aralığına giren glukoz derişimi seçilerek, her sensör platformu için tekrarlanabilirlik çalışmaları seçilen glukoz derişiminin sensör cevabının 15 kez tekrar ölçülmesiyle gerçekleştirilmiştir. Çalışmaya ait standart sapma (S.D) ve varyasyon katsayısı (c.v) hesaplanmıştır.

4.2.4.3 Örnek Uygulama Analizleri

Çalışmada tasarlanan biyosensör platformlarının uygulanabilirliğini ölçmek amacıyla ticari ürün olarak satılan kola ve meyve suyundaki glukoz miktarları ölçülmüştür. Deneysel çalışmada bulunan sonuçlar, glukozun spektrofotometrik tayin yöntemiyle karşılaştırılmıştır.

4.2.4.4 Girişimci Testi

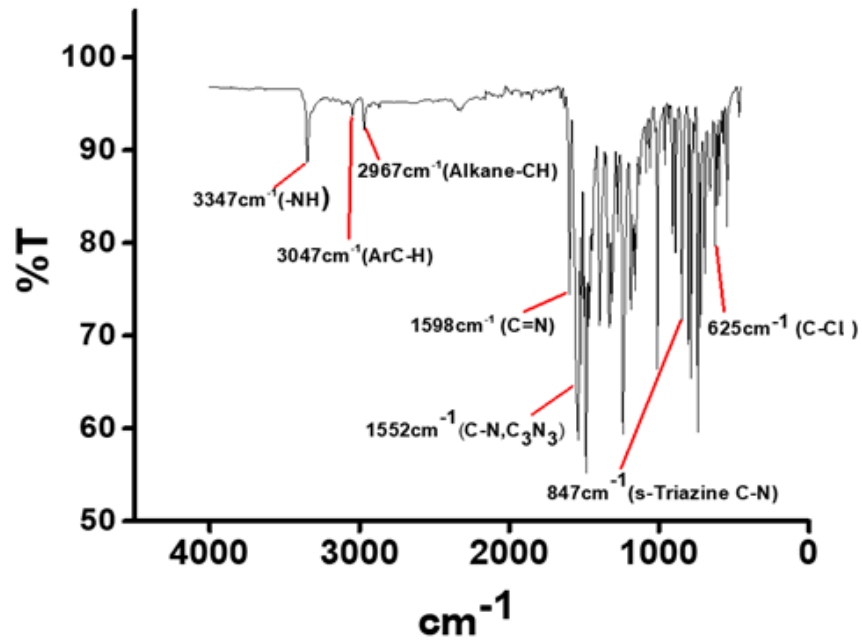
Hazırlanan sensör platformlarında herhangi bir bileşiğin girişim etkisini incelemek için girişim etkisi testleri uygulanmıştır. Bu testler, 3-asetamidofenol ve etanol kullanılarak yapılmıştır. Öncelikle glukoz çözeltisi reaksiyon ortamına eklenip, sensör cevabı kaydedilmiştir. Daha sonra girişim etkisi gösterebilecek bileşikler glukoz ile aynı reaksiyon ortamına eklenmiş ve sensör cevapları kaydedilmiştir.

5. BULGULAR VE TARTIŞMA

5.1 Monomer Karakterizasyonu

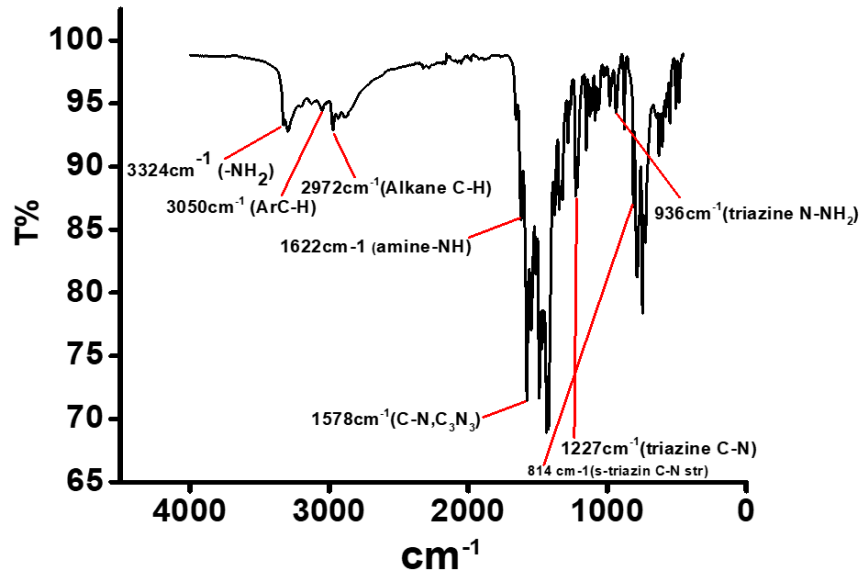
5.1.1 CT1 Monomerine Ait FT-IR Spektrumu

CT1 monomerinin sentezinde kullanılan CT1-a ve CT1 monomerinin kimyasal yapısı FT-IR, spektrumu ile karakterize edilmiştir (Şekil 5.1).



Şekil 5.1: CT1-a monomerine ait FT-IR spektrumu

Monomer sentezindeki ara ürün olan CT1-a maddesinin FT-IR spektrumu incelendiğinde CT1-a maddesine ait olan karakteristik -NH, C=N (C_3N_3), C-Cl gerilme titreşimleri sırasıyla, 3347 cm^{-1} , 1598 cm^{-1} , 625 cm^{-1} 'de gözlemlenmiştir. Ayrıca yapıya ait olan ArC-H 3047 cm^{-1} , Alken C-H 2967 cm^{-1} ve triazin halkası ait olan C-N gerilme titreşimleri 1552 cm^{-1} ve 847 cm^{-1} 'de gözlemlenmiştir.



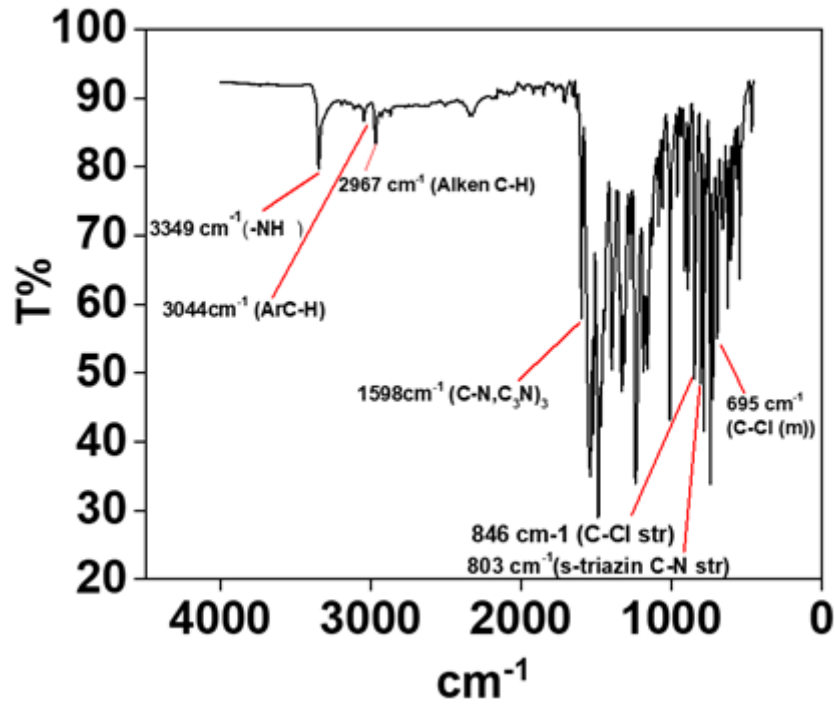
Şekil 5.2: CT1 monomerine ait FT-IR spektrumu

Elde edilen CT1 monomerin FT-IR spektrumu incelendiğinde CT1 monomere ait olan karakteristik 625 cm⁻¹'deki C-Cl bandının kaybolduğu gözlemlenmiş olup 3324 cm⁻¹ 'de CT1'in yapısına ait olan -NH₂ bandı gözlemlenmiştir (Şekil 5.2).

Ayrıca yapıya ait olan ArC-H 3050 cm⁻¹, Alken C-H 2972 cm⁻¹, -N-H 1622 cm⁻¹ ve triazin halkası ait olan C-N gerilme titreşimleri 1578 cm⁻¹, 1227 cm⁻¹ ve 814 cm⁻¹ de gözlemlenmiştir.

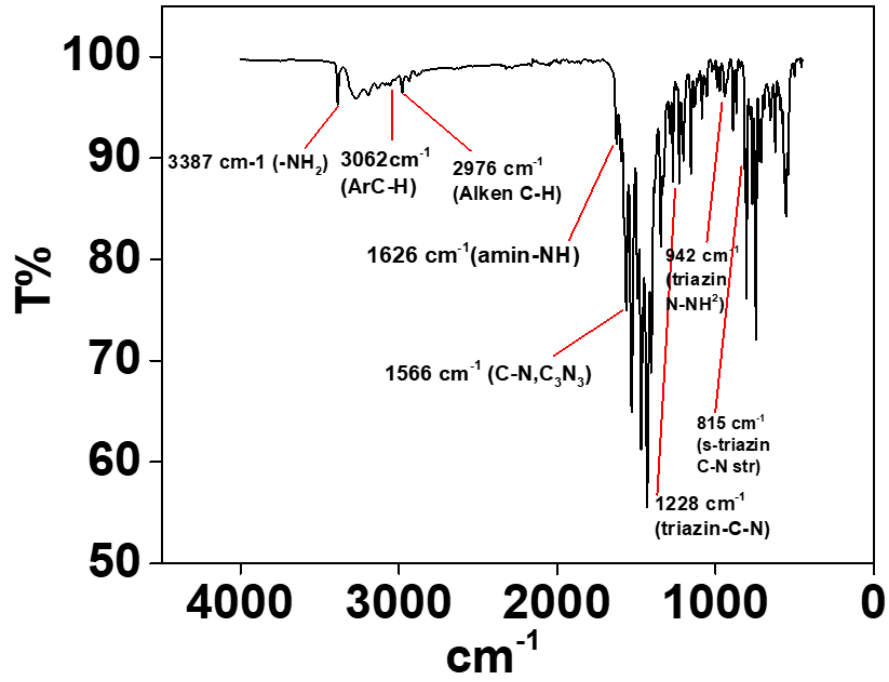
5.1.2 CT2 Monomerine Ait FT-IR Spektrumu

CT2 monomerinin sentezinde ara ürün CT2-a ve reaksiyonun son ürünü CT2'nin kimyasal yapısı FT-IR, spektrumu ile karakterize edilmiştir (Şekil 5.3).



Şekil 3: CT2-a monomerine ait FT-IR spektrumu

Monomer sentezindeki ara ürün olan CT2-a maddesinin FT-IR spektrumu incelendiğinde CT2-a maddesine ait karakteristik -NH, C=N (C₃N₃), C-Cl bandlarının pik şiddetleri sırasıyla, 3349 cm⁻¹, 1598 cm⁻¹, 695 cm⁻¹ 'de gözlemlenmiştir. Ayrıca yapıya ait olan ArC-H 3044 cm⁻¹, Alken C-H 2967 cm⁻¹ ve triazin halkası ait olan C-N gerilme titreşimleri 1598 cm⁻¹ ve 846 cm⁻¹'de gözlemlenmiştir.



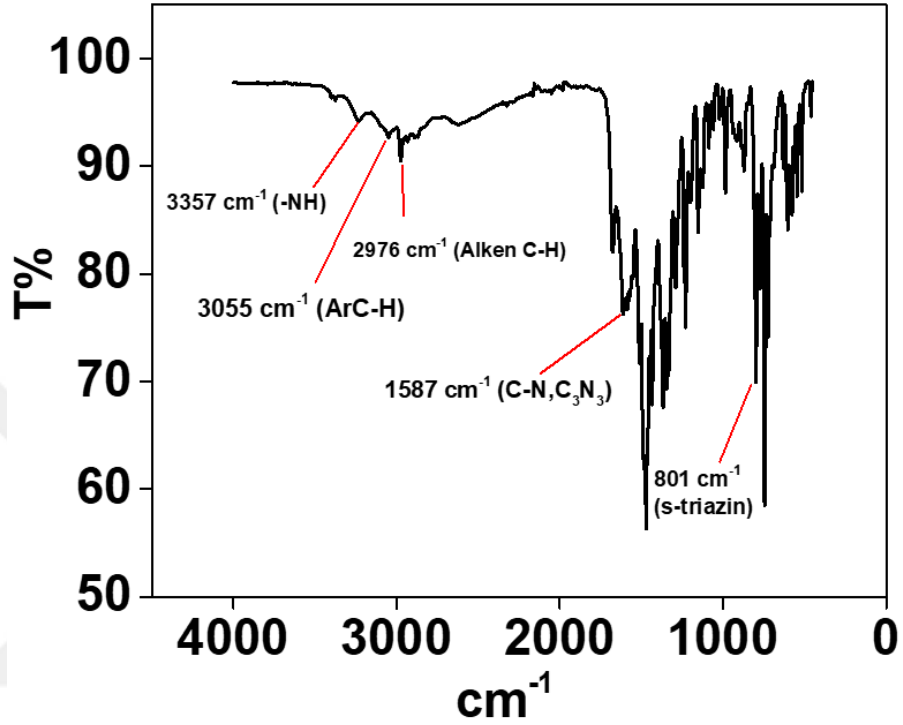
Şekil 5.4: CT2 monomerine ait FT-IR spektrumu

Elde edilen monomerin FT-IR spektrumu incelendiğinde CT2 monomere ait olan karakteristik 695 cm⁻¹'deki C-Cl bandının kaybolduğu gözlemlenmiş olup 3387 cm⁻¹ 'de CT2'nin yapısına ait olan -NH₂ bandı gözlemlenmiştir (Şekil 5.4).

Ayrıca yapıya ait olan ArC-H 3062 cm⁻¹, Alken C-H 2976 cm⁻¹, -NH 1626 cm⁻¹ ve triazin halkası ait olan C-N gerilme titreşimleri 1566 cm⁻¹, 1228 cm⁻¹ ve 815 cm⁻¹'de gözlemlenmiştir.

5.1.3 CT3 Monomerine Ait FT-IR Spektrumu

Sentezi gerçekleştirilen CT3 monomerinin kimyasal yapısı FT-IR, spektrumu ile karakterize edilmiştir (şekil 5.5).



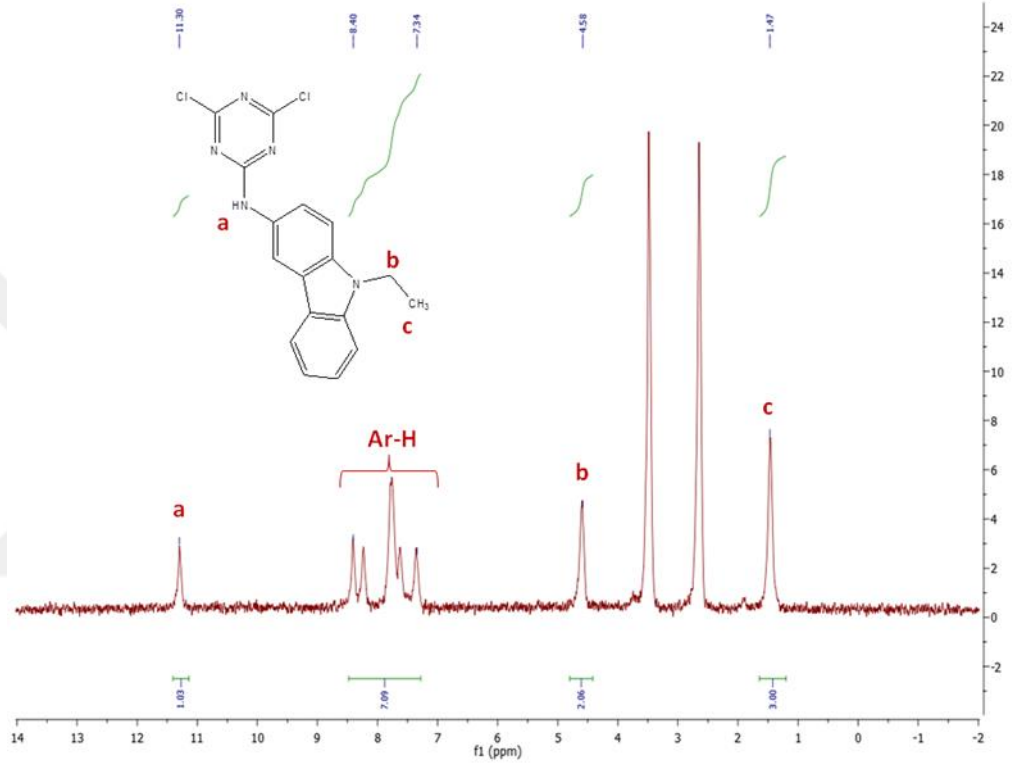
şekil 5.5: CT3 monomerine ait FT-IR spektrumu

Elde edilen monomerin FT-IR spektrumu incelendiğinde monomere ait olan karakteristik -NH, C=N (C₃N₃) bandlarına ait pik şiddetleri sırasıyla 3357cm⁻¹, 1587cm⁻¹ gözlemlenmiştir. Ayrıca yapıya ait olan ArC-H 3055 cm⁻¹, Alken C-H 2976 cm⁻¹ ve triazin halkası ait olan C-N gerilme titreşimleri 1587 cm⁻¹ ve 801 cm⁻¹'de gözlemlenmiştir.

5.1.4 CT1-a Monomerine Ait ¹H-NMR Spektrumu

Sentezi gerçekleştirilen yeşil renge sahip CT1-a monomerinin kimyasal yapısı ¹H-NMR, spektrumu ile karakterize edilmiştir.

H-NMR spektrumu için DMSO-d₆ çözücü olarak kullanılmış ve tetrametilsilan referansına göre kimyasal kayma (δ) değerleri Şekil 5.6’da verilmiştir.



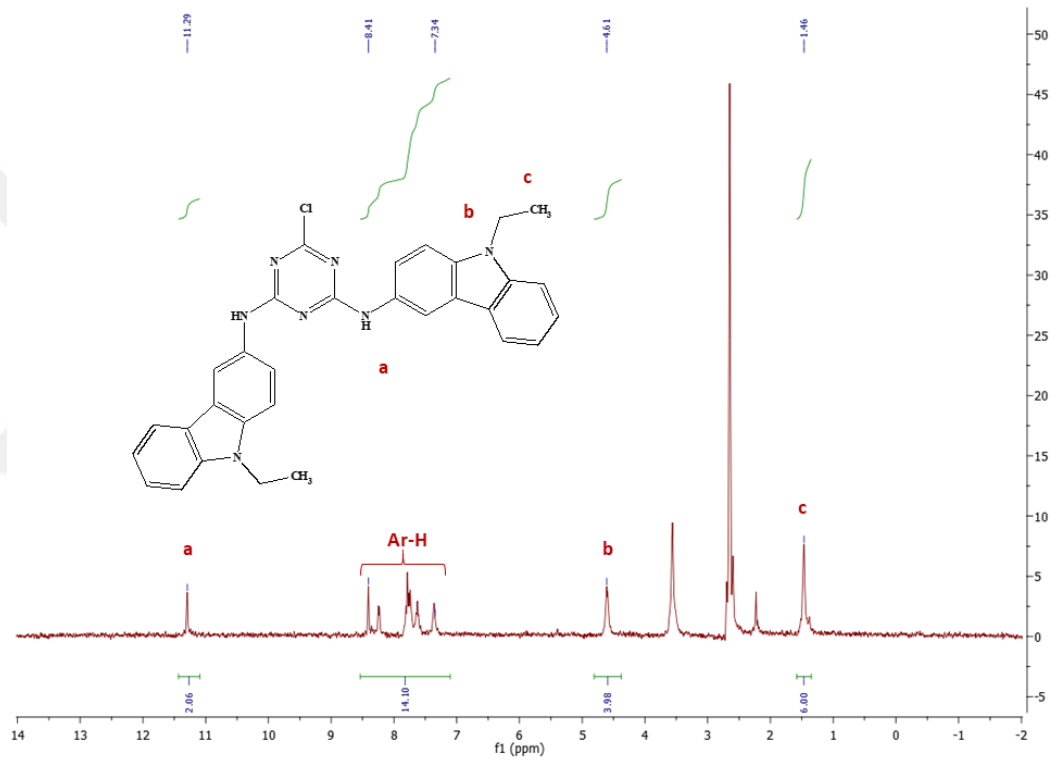
Şekil 4: CT1 maddesinin ¹H-NMR spektrumu

¹H-NMR (CT1-a) (DMSO-d₆): δ/ppm= 1.47 (t, 3H, -CH₃), 7.34-8.40 (m, 7H, -Ar-CH), 4.88 (m, 3H, -CH₂-).

5.1.5 CT2-a Monomerine Ait ^1H NMR Spektrumu

Sentezi gerçekleştirilen yeşil renge sahip CT2-a monomerinin kimyasal yapısı ^1H -NMR, spektrumu ile karakterize edilmiştir.

^1H -NMR spektrumu için DMSO-d_6 çözücü olarak kullanılmış ve tetrametilsilan referansına göre kimyasal kayma (δ) değerleri Şekil 5.7’de verilmiştir.



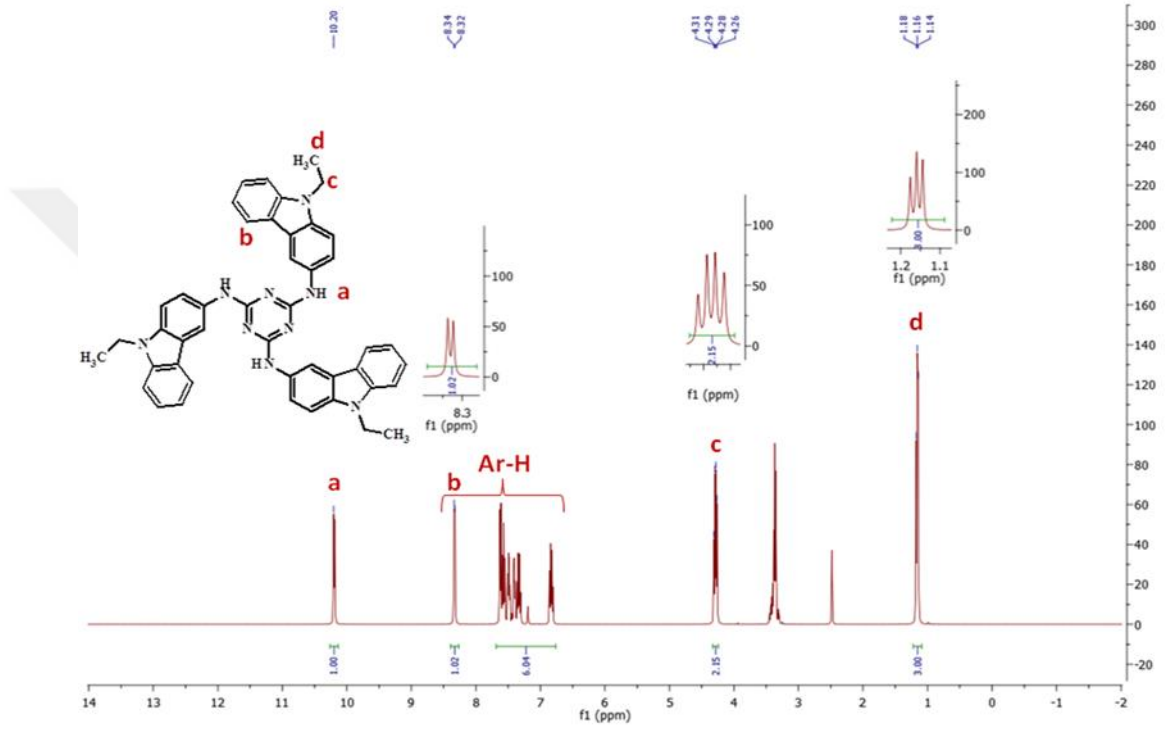
Şekil 5.7: CT2-a maddesinin ^1H NMR spektrumu

^1H -NMR (CT2-a) (DMSO-d_6): δ/ppm = 1.46 (t, 6H, $-\text{CH}_3$), 4.61 (m, 6H, $-\text{CH}_2-$), 7.34-8.41 (m, 14H, $-\text{Ar-H}$).

5.1.6 CT3 Monomerine Ait ^1H NMR Spektrumu

Sentezi gerçekleştirilen yeşil renge sahip CT3 monomerinin kimyasal yapısı ^1H -NMR, spektrumu ile karakterize edilmiştir.

^1H -NMR spektrumu için DMSO- d_6 çözücü olarak kullanılmış ve tetrametilsilan referansına göre kimyasal kayma (δ) değerleri Şekil 5.8’de verilmiştir.

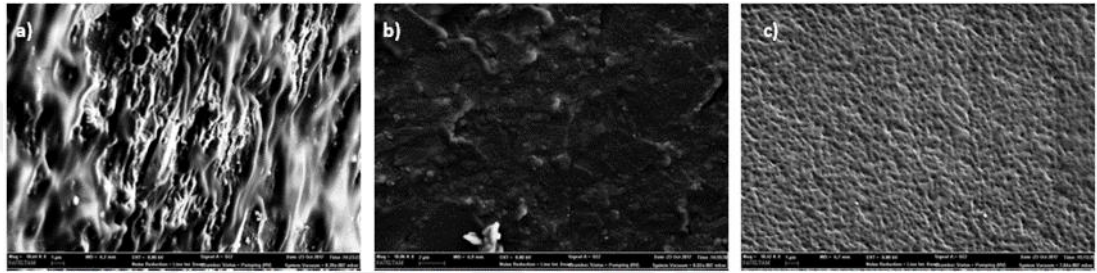


Şekil 5.8: CT3 maddesinin ^1H NMR spektrumu

^1H -NMR (CT3) (DMSO- d_6): δ/ppm = 1.16 (t, 9H, $-\text{CH}_3$), 6.78-8.34 (m, 21H, $-\text{Ar}-\text{H}$), 4.28 (m, 6H, $-\text{CH}_2-$).

5.1.7 P(CT1)/GOx Sensör Platformunun Yüzey Morfolojisi

Taramalı elektron mikroskobu (SEM), yüzey morfolojisinin aydınlatılmasında yaygın olarak kullanılan bir karakterizasyon yöntemidir. SEM görüntüleri, sensör platformunun tabakalarının yüzey incelemelerinde yardımcı olmaktadır (Olgaç 2018)(Tugba Soganci,Yasemin Torlak ve diğ. 2018). Bu amaçla, grafit elektrot, polimer kaplanmış yüzey P(CT1), ve enzim immobilize edilmiş yüzeyin P(CT1)/GOx SEM görüntüleri alınmıştır. Aşağıdaki şekilde alınan SEM görüntüleri (yakınlaştırma 10.00 K, 1 µm çapında) gösterilmiştir (**Şekil 5.9**).

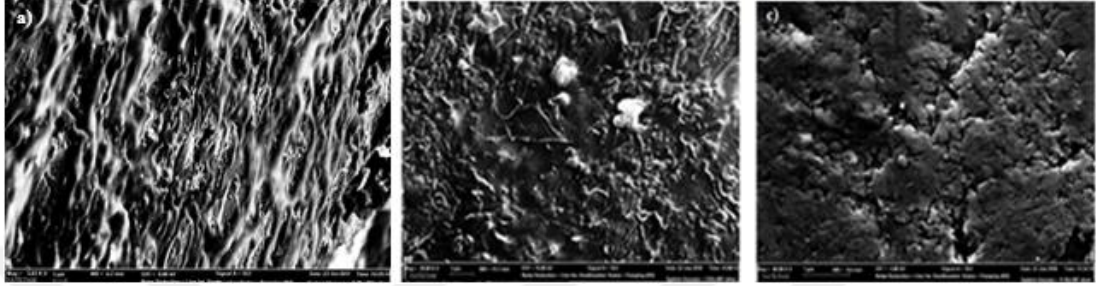


Şekil 5.9: a) Grafit elektrodun SEM görüntüsü, b) P(CT1) polimeri kaplanmış grafit elektrodun SEM görüntüsü, c) P(CT1)/GOx SEM görüntüsü

Boş grafit elektrot yüzeyi modifiye edilmiş P (CT1) ile karşılaştırıldığında, lifli bir morfolojiye sahiptir. Grafit elektrotun üzerinde CT1 monomeri polimerleştirildiğinde (P(CT1)) yüzey homojen olmayan küresel yapı sergilemiştir. Son olarak enzim immobilize edilmiş P (CT1)/GOx tabakası, GOx enziminin polimere çapraz olarak bağlandığı ve yüzeyi farklılaştırdığı **Şekil 5.9**'te görülmüştür.

5.1.8 P(CT2)/GOx Sensör Platformunun Yüzey Morfolojisi

Grafit elektrot, polimer kaplanmış yüzey P(CT2) ve enzim immobilize edilmiş yüzeyin (P(CT2)/GOx) SEM görüntüleri yüzey morfolojisinin aydınlatılmasında kapsamında alınmıştır. Aşağıdaki şekilde alınan SEM görüntüleri (yakınlaştırma 10.00 K, 1 μ m çapında) gösterilmiştir (**Şekil 5.10**).

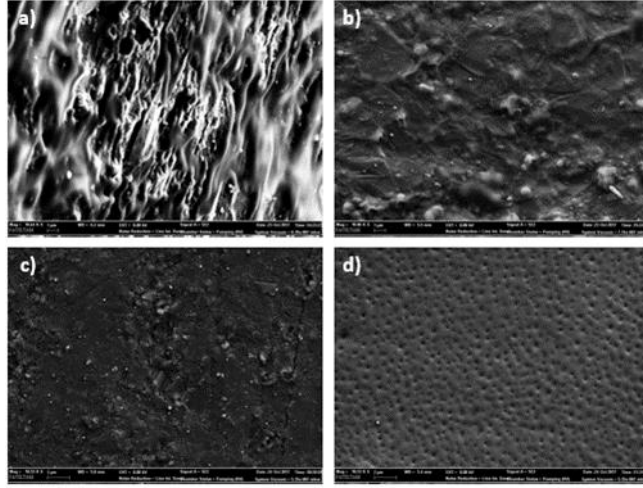


Şekil 5.10: a) Grafit elektrodun SEM görüntüsü, b) P(CT2) polimeri kaplanmış grafit elektrodun SEM görüntüsü, c) P(CT2)/GOx SEM görüntüsü

Boş grafit elektrot yüzeyi modifiye edilmiş P(CT2), ile karşılaştırıldığında lifli morfolojisine sahiptir. Grafit elektrotun üzerine CT2 monomeri polimerleştirildiğinde (P(CT2)) yüzey homojen olmayan küresel yapı sergilemiştir. Son olarak enzim immobilize edilmiş P(CT2)/GOx tabakası GOx enziminin polimere çapraz olarak bağlandığı ve bulutumsu şekilde yüzeyi farklılaştırdığı **Şekil 5.10**'da görülmüştür.

5.1.9 P(CT3-co-AK)/GOx Sensör Platformunun Yüzey Morfolojisi

Grafit elektrot, polimer kaplanmış yüzey P(CT3), ve enzim immobilize edilmiş yüzeyin (P(CT3)/GOx) SEM görüntüleri alınmıştır. Aşağıdaki şekilde alınan SEM görüntüleri (yakınlaştırma 10.00 K, 1 μ m çapında) gösterilmiştir (**Şekil 5.11**).



Şekil 5.11: a) Grafit elektrodun SEM görüntüsü, b) P (AK) polimeri kaplanmış grafit elektrodun SEM görüntüsü c) P (CT3-co-AK) polimeri kaplanmış grafit elektrodun SEM görüntüsü, d) P (CT3-co-AK)/GOx SEM görüntüsü

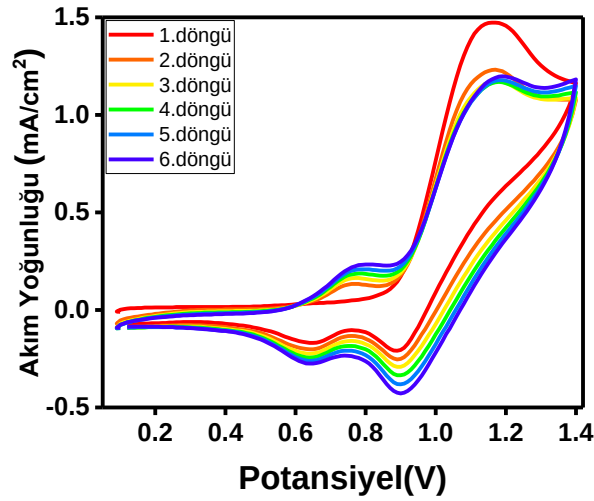
Boş grafit elektrot yüzeyi, modifiye edilmiş P(CT3-co-AK) ile karşılaştırıldığında lifli bir morfolojiye sahiptir. Ayrıca kopolimerizasyon işlemi gerçekleştirilen AK monomerinin SEM görüntüsü ile kıyaslanmıştır. Kopolimerizasyon işlemi gerçekleştirildikten sonra oluşan P(CT3-co-AK) tabaka morfolojisi homojen bir görüntüye sahiptir. Son olarak Enzim immobilize edilmiş P(CT3-co-AK)/GOx tabakası GOx enziminin polimere çapraz olarak bağlandığı ve kümeleşmiş küreler şeklinde yüzeyi farklılaştırdığı **Şekil 5.11**'de görülmüştür.

5.2 Sentezlenen Polimerlerin Elektrot Performans Çalışmaları

5.2.1 Elektrot Yüzeylerine Kaplanan Polimerin Optimizasyonu

5.2.1.1 Elektrot Yüzeylerine Kaplanan P(CT1) Polimerin Optimizasyonu

P(CT1)/GOx enzim sensörü oluştururken, ilk olarak 10^{-3} M CT1 ve 0,1 M LiClO₄/ACN/BFEE destek elektrolit-çözücü içeren polimerleştirme hücresi içerisinde, 0,25 V/s tarama hızıyla, 0,1 ile 1,4 V potansiyel aralığında 6 döngü boyunca dönüşümlü voltametri tekniğiyle polimerleştirme gerçekleştirilmiştir. CT1'e ait dönüşümlü voltametri grafiği **Şekil 5.12**'de verilmiştir.

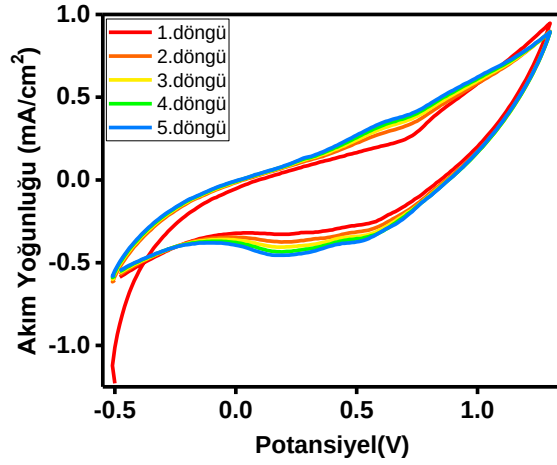


Şekil 5.12: P(CT1)'ın CV Grafiği

Dönüşümlü voltametri grafiğinden CT1 monomerinin yükseltgenme başlangıç potansiyeli +0.86 V, P(CT1) polimerinin yükseltgenme potansiyeli +0.75 V ve indirgenme potansiyelleri sırasıyla +0.64 V ve +0.89 V olarak belirlenmiştir. Akım değerlerinin, her bir döngüde artış göstermesi, polimer filminin grafit elektrot yüzeyde iyi bir şekilde kaplandığını göstermektedir.

5.2.1.2 Elektrot Yüzeylerine Kaplanan P(CT2) Polimerin Optimizasyonu

P(CT2)/GOx enzim sensörü oluştururken, ilk olarak 10^{-3} M CT2 ve 0,1 M LiClO₄/BFEE destek elektrolit-çözücü içeren polimerleştirme hücresi içerisinde, 0.15 V/s tarama hızıyla, 0.1 ile 1.4 V potansiyel aralığında 5 döngü boyunca dönüşümlü voltametri tekniğiyle polimerleştirme gerçekleştirilmiştir. CT2'e ait dönüşümlü voltametri grafiği Şekil 5.13'de verilmiştir.

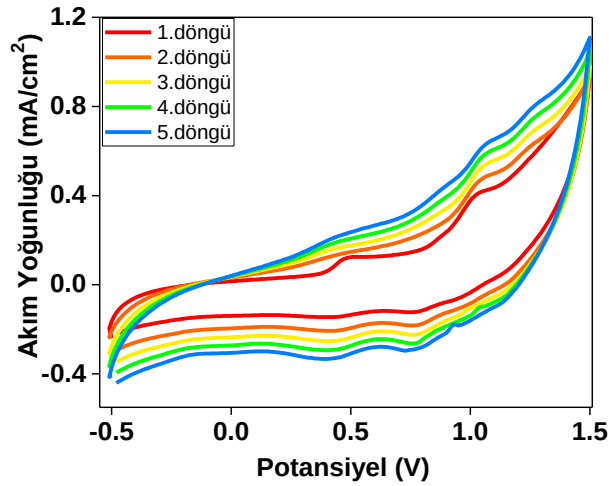


Şekil 5.13: P(CT2)'ın CV Grafiği

Dönüşümlü voltametri grafiğinden CT2 monomerinin yükseltgenme başlangıç potansiyeli +0.65 V, P(CT2) polimerinin yükseltgenme potansiyeli +0.58 V ve indirgenme potansiyelleri sırasıyla +0.20 V ve +0.53 V olarak belirlenmiştir. Akım değerlerinin, her bir döngüde artış göstermesi, polimer filminin grafit elektrot yüzeyde iyi bir şekilde kaplandığını göstermektedir.

5.2.1.3 Elektrot Yüzeyine Kaplanan P(CT3-co-AK) Polimer Oranının Optimizasyonu

P(CT3-co-AK) /GOx enzim sensörü oluştururken, ilk olarak 10^{-3} M CT3 ve 0.1M AK monomerleri 0,1M LiClO₄/ACN destek elektrolit-çözücü içeren polimerleştirme hücresi içerisinde, 0.20 V/s tarama hızıyla, -0.5 ile 1.5 V potansiyel aralığında 5 döngü boyunca dönüşümlü voltametri tekniğiyle polimerleştirme gerçekleştirilmiştir. CT3-co-AK'e ait dönüşümlü voltametri grafiği Şekil 5.14'te verilmiştir.



Şekil 5.14: P(CT3-co-AK)'nın CV Grafiği

P(CT3-co-AK)'ün dönüşümlü voltametri grafiği incelendiğinde, yapıda polimerleşebilir iki farklı grubun varlığından dolayı (AK ve CT3) farklı yükseltgenme ve indirgenme pikleri gözlenmektedir. Akım yoğunluğu değerleri incelendiğinde, her bir döngüde akım yoğunluğu değerlerinin artışı, kopolimerizasyonun gerçekleştiğini doğrulamaktadır.

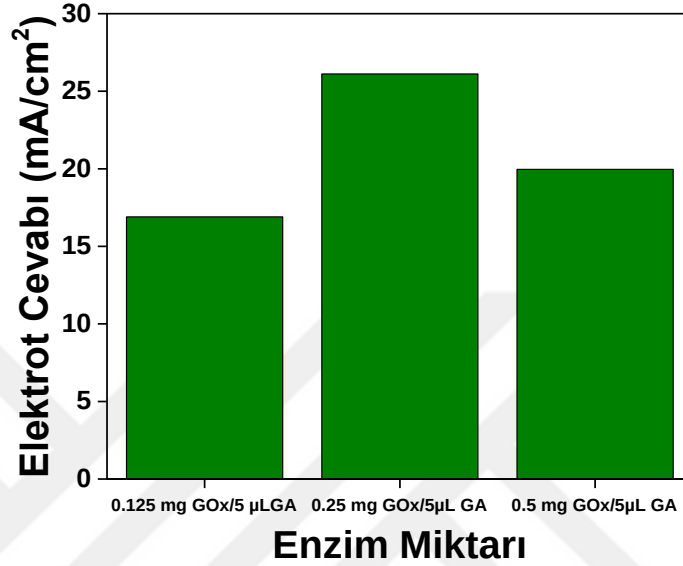
5.2.2 Elektrotların Enzim Miktarı Optimizasyonu

5.2.2.1 P(CT1)/GOX, P(CT2)/GOX ve P(CT3-co-AK)/GOX Elektrotlarının Enzim Miktarı Optimizasyonu

Enzim tabanlı sensör platformlarında GOx (glukoz oksidaz) enzimi kullanırken izlenen yol aşağıda açıklanmıştır.

İlk olarak grafit elektrot yüzeyi temizlenerek polimerizasyon işlemine hazır hale getirilmiştir. Daha sonra 10^{-3} M CT1 ve 0.1 M ACN/BFEE/LiClO₄ çözücü-destek elektrolit çözeltisi içerisinde dönüşümlü voltametri tekniği 0.1 V ve 1.4 V potansiyel aralığında, tarama hızı 0.25 V/s ve 6 döngü boyunca uygulanarak polimerizasyon işlemi gerçekleştirilmiş ve P(CT1) iletken polimeri grafit elektrot yüzeyinde elde edilmiştir. Son olarak Şekil 5.15'teki grafiğe göre belirlenen enzim miktarı 0.25 mg GOx enziminin, pH'ı 7.0 olan 50 mM fosfat tamponundaki

çözeltisinden 5 μL elektrotta immobilize edilmiş ve kuruması sağlanmıştır. İmmobilize edilen GOx kuruduktan sonra elektrodun üzerine 5 μL %1'lik GA çözeltisi immobilize edilmiştir. İmmobilizasyon işlemleri sonrasında tamamlanan platform, oda şartlarında 2 saat kurumaya bırakılmıştır.

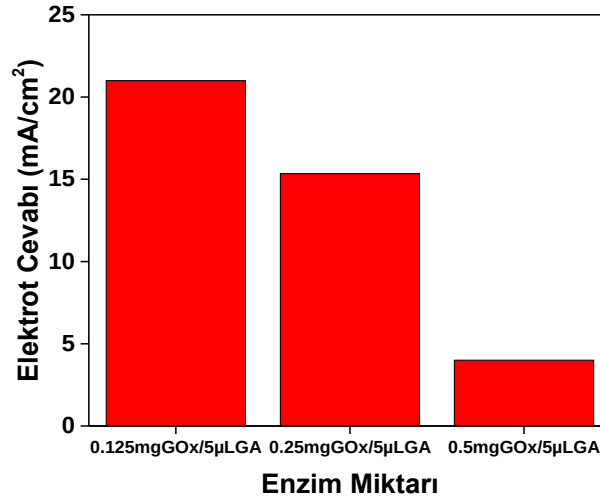


Şekil 5: P(CT1) /GOx enzim elektrotunun değişen enzim miktarına karşı verdiği akım değerlerinin grafiği

vermiş

P(CT2)/GOx enzim sensör platformu hazırlanırken grafit elektrot yüzeyi temizlenerek polimerizasyon işlemine hazır hale getirilmiştir. 10^{-3} M CT2/BFEE içeren polimerizasyon hücresi içerisinde grafit elektrotta -0.5 V ve 1.5 V potansiyel aralığında tarama hızı 0.15 V/s olacak şekilde 5 döngü boyunca dönüşümlü voltametri tekniği uygulanarak polimerizasyon işlemi gerçekleştirilmiştir.

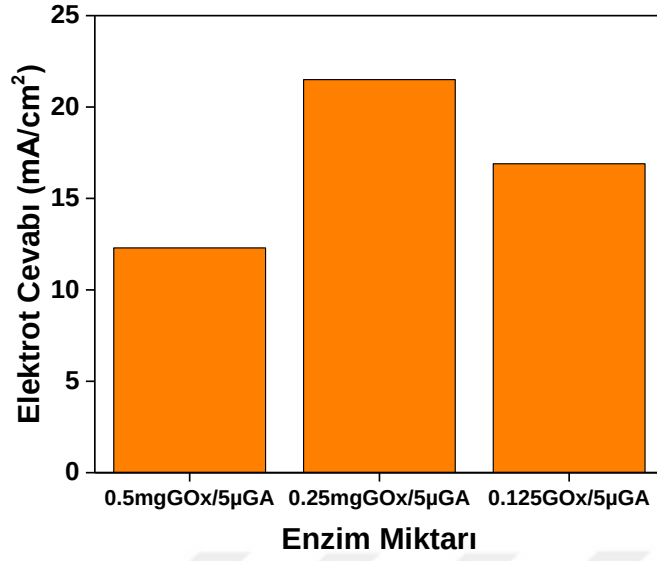
Platform için bu basamaktan sonra Şekil 5.16'de belirlenen enzim miktarı 0.125 mg GOx enziminin, pH'ı 7.0 olan 50 mM fosfat tamponundaki çözeltisinden 5 μL elektrotta immobilize edilmiş ve kuruması sağlanmıştır. 5 μL %1'lik GA çözeltisi de grafit elektrotta immobilize edilmiştir. İmmobilize edilen GOx kuruduktan sonra elektrodun üzerine 5 μL %1'lik GA çözeltisi immobilize edilmiştir. İmmobilizasyon işlemleri sonrasında tamamlanan P(CT2) /GOx modifiye edilmiş sensör platformu, oda şartlarında 2 saat kurumaya bırakılmıştır ve çalışmaya hazır hale getirilmiştir.



Şekil 5.16: P(CT2) /GOx enzim elektrotunun değişen enzim miktarına karşı vermiş olduğu akım değerlerinin grafiği

P(CT3-co-AK) /GOx sensör platformu hazırlanırken ilk grafit elektrot yüzeyi temizlenerek polimerizasyon işlemine hazır hale getirilmiştir. Daha sonra grafit elektrot yüzeyinde kopolimerizasyon işlemini gerçekleştirmek üzere 10^{-3} M CT3 monomerinin 0,1 M ACN/LiClO₄ çözücü-destek elektrolit içeren çözeltisinden ve 10^{-3} M 3-Amino-9-Etil Karbazol monomerinin 0,1M ACN/LiClO₄ çözücü-destek elektrolit içeren çözeltisinden, 1/1 oranında hücre içine alınmış ve hücre içerisindeki grafit elektrota dönüşümlü voltametri tekniği, 0.20 V/s tarama hızı ve -0.5 V/-1.5 V potansiyel aralığında 5 döngü boyunca uygulanarak kopolimerizasyon işlemi gerçekleştirilmiştir.

Bu basamaktan sonra Şekil 5.17’de belirlenen 0.25 mg GOx enziminin, pH’ı 7.0 olan 50 mM fosfat tamponundaki çözeltisinden 5 µL elektrota immobilize edilmiş ve kuruması sağlanmıştır. Immobilize edilen GOx, kuruduktan sonra elektrodun üzerine 5 µL %1’lik GA çözeltisi immobilize edilmiştir. Immobilizasyon işlemleri sonrasında tamamlanan platform, oda şartlarında 2 saat kurumaya bırakılmıştır.

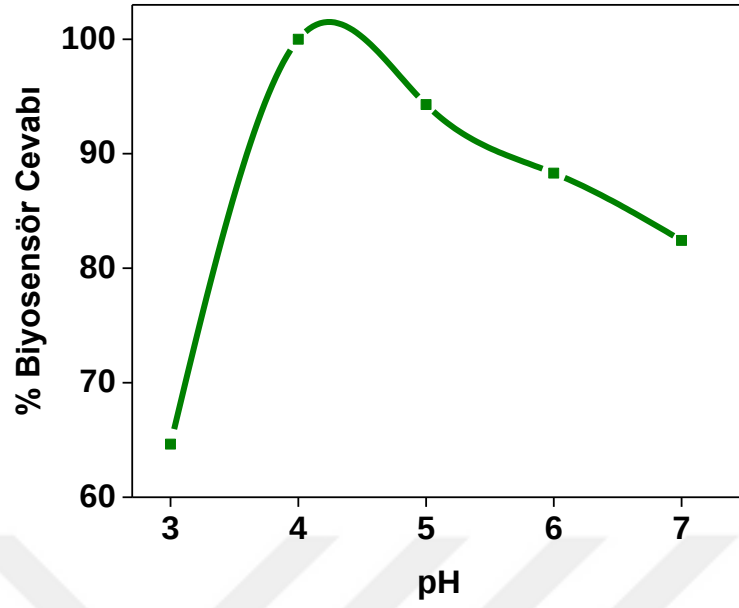


Şekil 5.17: P(CT3-co-AK) /GOx enzim elektrotunun değişen enzim miktarına karşı vermiş olduğu akım değerlerinin grafiği

5.3 Elektrotların pH Optimizasyonu

5.3.1 P(CT1)/GOx Sensör Platformu İçin pH Optimizasyonu

P (CT1/GOx) enzim sensörünün farklı pH'larda eklenen glukoz derişimine verdiği amperometrik cevaplar, bağıl değerlere dönüştürülerek, pH'a karşı % biyosensör cevabı grafiği oluşturulmuştur. Şekil 5.18'de P(CT1/GOx) enzim sensörünün en yüksek cevap verdiği pH değeri belirlenmiştir.

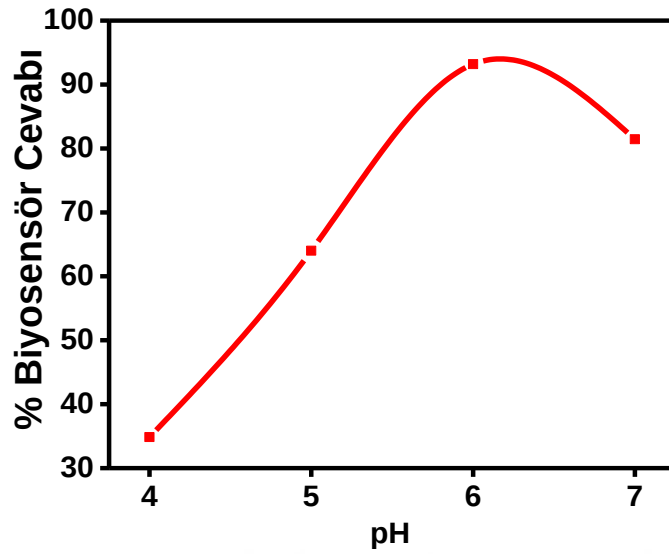


Şekil 5.18: P(CT1/GOx) enzim sensörünün pH grafiği

Belirlenen pH değeri enzim ve substratın (E-S) asit gruplarının ya da baz gruplarının iyonlaşma hallerini, ayrıca enzim ve substratın oluşma hızını belirlemektedir. E-S kompleksinin oluşması için en verimli pH değeri (pH:4) çalışma pH değeri olarak belirlenmiştir. Belirlenen pH değeri dışında E-S komplekslerinin oluşması tepki hızının düşmesiyle zorlaşacak, akım cevapları düşecektir.

5.3.2 P(CT2)/GOx Sensör Platformu İçin pH Optimizasyonu

P(CT2/GOx) enzim sensörünün farklı pH'larda eklenen glukoz derişimine verdiği amperometrik cevaplar, bağıl değerlere dönüştürülerek, pH'a karşı % biyosensör cevabı grafiği oluşturulmuştur. Şekil 5.19'da P(CT2/GOx) enzim sensörünün en yüksek cevap verdiği pH değeri belirlenmiştir.

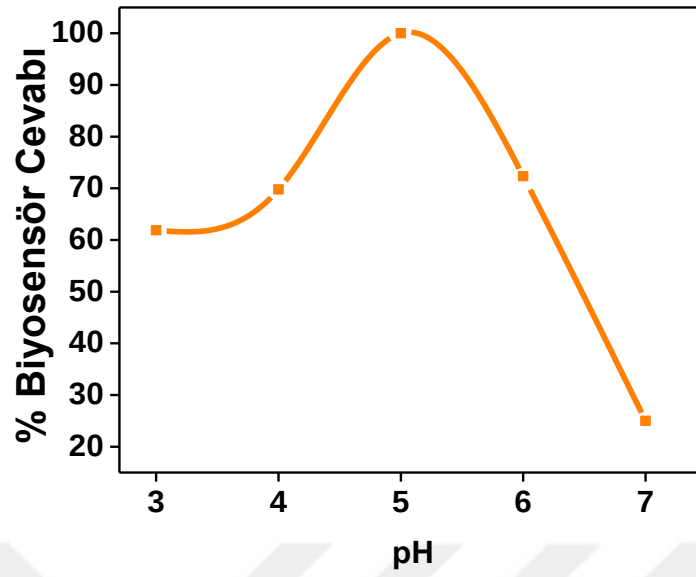


Şekil 5.19: P(CT2/GOx) Enzim Sensörünün pH Grafiği

E-S kompleksinin oluşması için en verimli pH değeri (pH:6) çalışma pH değeri olarak belirlenmiştir. Belirlenen pH değeri dışında E-S komplekslerinin oluşması tepki hızının düşmesiyle zorlaşacak akım cevapları düşecektir.

5.3.3 P(CT3-co-AK)/GOx Sensör Platformu İçin pH Optimizasyonu

P(CT3-co-AK)/GOx enzim sensörünün farklı pH'larda eklenen glukoz derişimine verdiği amperometrik cevaplar, bağıl değerlere dönüştürülerek, pH a karşı % biyosensör cevabı grafiği oluşturulmuştur. Şekil 5.20'de P(CT3-co-AK)/GOx enzim sensörünün en yüksek çalıştığı pH değeri belirlenmiştir.



Şekil 5.20: P(CT3-co-AK) /GOx Enzim Sensörünün pH Grafiği

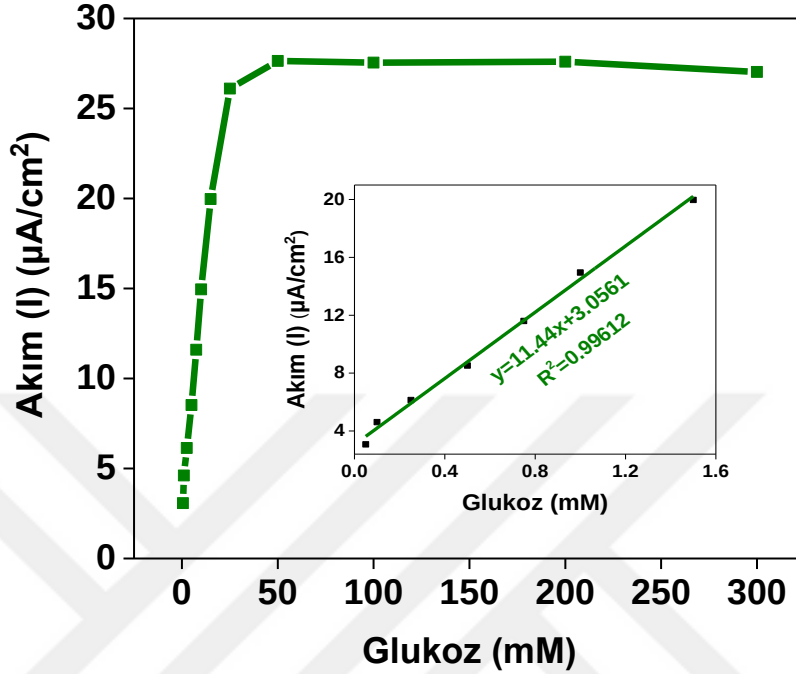
E-S kompleksinin oluşması için en verimli pH değeri (pH:5) çalışma pH değeri olarak belirlenmiştir. Belirlenen pH değeri dışında E-S komplekslerinin oluşması tepki hızının düşmesiyle zorlaşacak akım cevapları düşecektir

5.4 Elektrotların Kalibrasyonu

5.4.1 P(CT1)/GOx Sensör Platformunun Kalibrasyonu

P(CT1)/GOx elektrotunun kalibrasyon grafiği yorumlandığında, 0.05 – 1.5 mM glukoz konsantrasyonu aralığında, sensörün, glukoz derişimine doğrusal olarak cevap verdiği belirlenmiştir. Substrat doygunluğu, 2.5 mM'den daha yüksek glukoz konsantrasyonunda gözlenmiştir. Bu değerden sonra, eklenen glukoz karşılık sensörün sabit bir cevap verdiği belirlenmiştir. Bu durum, oluşturulan sensör platformunun doygunluğa ulaştığını göstermektedir. Elde edilen kalibrasyon eğrisinin, 0.05-1.5 mM glukoz konsantrasyonu aralığı, doğrusal bölge olarak tespit edilmiştir ve bu aralıktaki glukoz değerlerinin oluşturulan sensör platformu ile tayin edilebileceği ortaya konulmuştur. Çizilen kalibrasyon eğrisinin denklemi ve tutarlılık değeri; $y = 11.44x + 3.056$, $r^2 = 0.996$ olarak belirlenmiştir (Şekil 5.21). Ayrıca, elde

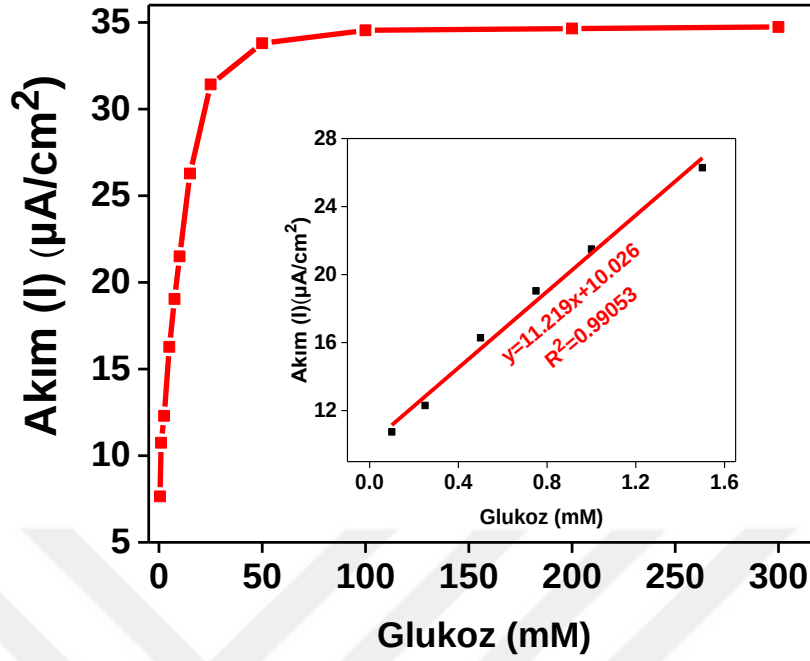
edilen sensörün kalibrasyon eğrisinden, minimum tayin sınırı (LOD) ve duyarlılığı sırasıyla, 0.007 mM ve $27.67 \mu\text{A mM}^{-1}\text{cm}^{-2}$ olarak hesaplanmıştır.



Şekil 5.21: P(CT1/GOx) Enzim Elektrotunun Kalibrasyon Eğrisi

5.4.2 P(CT2) /GOx Sensör Platformu Kalibrasyonu

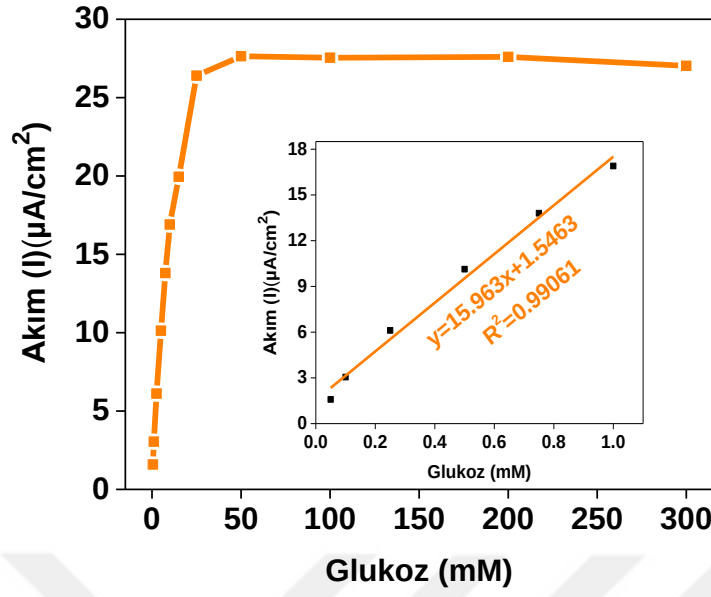
P(CT)/GOx elektrotunun kalibrasyon grafiği yorumlandığında, 0.05 – 1.5 mM glukoz konsantrasyonu aralığında, sensörün, glukoz derişimine doğrusal olarak cevap verdiği belirlenmiştir. Substrat doygunluğu, 2.5 mM'den daha yüksek glukoz konsantrasyonunda gözlenmiştir. Bu değerden sonra, eklenen glukoz karşılık sensörün sabit bir cevap verdiği belirlenmiştir. Bu durum, oluşturulan sensör platformunun doygunluğa ulaştığını göstermektedir. Elde edilen kalibrasyon eğrisinin, 0.05-1.5 mM glukoz konsantrasyonu aralığı, doğrusal bölge olarak tespit edilmiştir ve bu aralıktaki glukoz değerlerinin oluşturulan sensör platformu ile tayin edilebileceği ortaya konulmuştur. Çizilen kalibrasyon eğrisinin denklemi ve tutarlılık değeri; $y = 11.219x + 10.026$, $r^2 = 0.9905$ olarak belirlenmiştir (Şekil 5.22). Ayrıca, elde edilen sensörün kalibrasyon eğrisinden, minimum tayin sınırı (LOD) ve duyarlılığı sırasıyla, 0.004 mM ve $52.85 \mu\text{A mM}^{-1}\text{cm}^{-2}$ olarak hesaplanmıştır.



Şekil 5.22: P(CT2/GOx) Enzim Elektrotunun Kalibrasyon Eğrisi

5.4.3 P(CT3-co-AK) /GOx Sensör Platformu Kalibrasyonu

P(CT3-coAK) /GOx elektrotunun kalibrasyon grafiği yorumlandığında, 0.05 – 1.0 mM glukoz konsantrasyonu aralığında, sensörün, glukoz derişimine doğrusal olarak cevap verdiği belirlenmiştir. Substrat doygunluğu, 2.5 mM'den daha yüksek glukoz konsantrasyonunda gözlenmiştir. Bu değerden sonra, eklenen glukoz karşılık sensörün sabit bir cevap verdiği belirlenmiştir. Bu durum, oluşturulan sensör platformunun doygunluğa ulaştığını göstermektedir. Elde edilen kalibrasyon eğrisinin, 0.05-1.0mM glukoz konsantrasyonu aralığı, doğrusal bölge olarak tespit edilmiştir ve bu aralıktaki glukoz değerlerinin oluşturulan sensör platformu ile tayin edilebileceği ortaya konulmuştur. Çizilen kalibrasyon eğrisinin denklemi ve tutarlılık değeri; $y = 15.963x + 1.5463$, $r^2 = 0.9906$ olarak belirlenmiştir (Şekil 5.23). Ayrıca, elde edilen sensörün kalibrasyon eğrisinden, minimum tayin sınırı (LOD) ve duyarlılığı sırasıyla, 0.006 mM ve $32.88 \mu\text{A mM}^{-1}\text{cm}^{-2}$ olarak hesaplanmıştır.

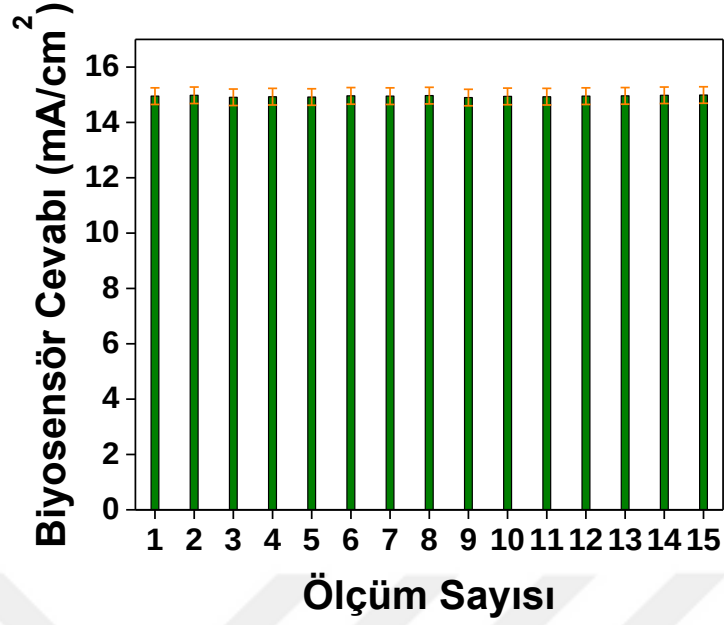


Şekil 5.23: P(CT3-co-AK/GOx) Enzim Elektrotunun Kalibrasyon Eğrisi

5.5 Analiz Sonuçlarının Tekrarlanabilirliği

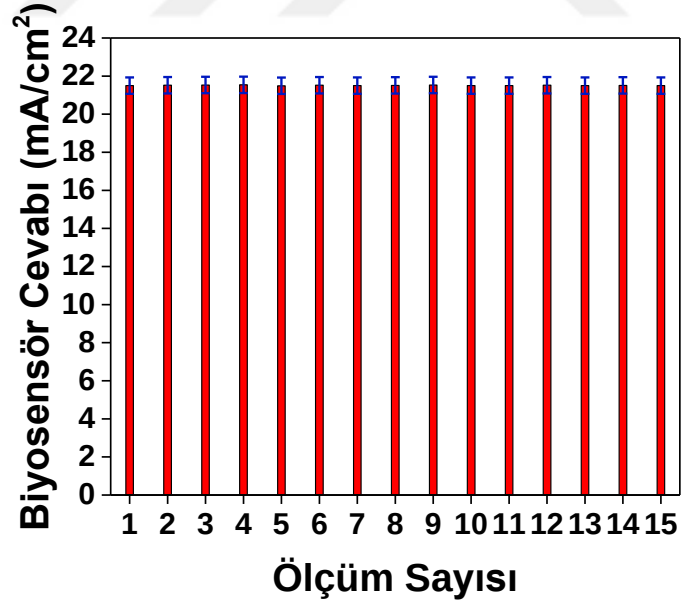
Tez kapsamında hazırlanan enzim sensörleri için çalışma koşulları belirlenmiş ve enzim sensörlerinin doğrusal tayin aralıklarına giren glukoz derişimi tespit edilmiştir. Tekrarlanabilirlik uygulaması için, doğrusal tayin aralığına giren glukoz değeri seçilerek ve bu değerle 15 ölçüm alınmıştır.

P(CT1)/GOx enzim sensörü için standart sapma (S.S) ± 0.02651 mM (n=15) ve varyasyon katsayısı (cv) %0.1773 (n=15) olarak hesaplanmıştır (Şekil 5.24).



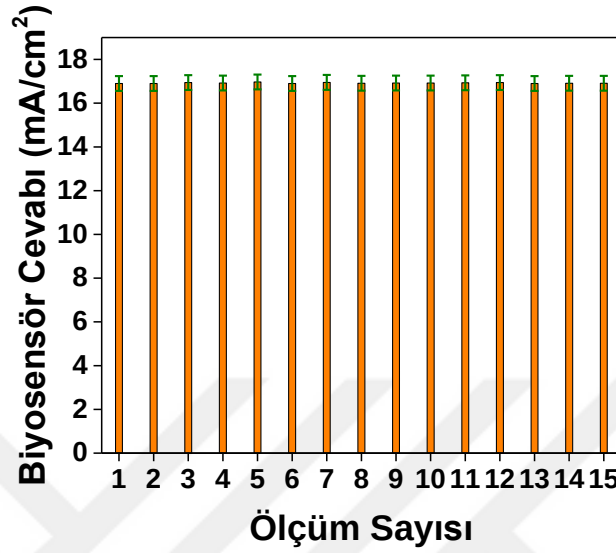
Şekil 5.24: P(CT1) /GOx'a Ait Tekrarlanabilirlik Grafiği

P(CT2)/GOx enzim sensörü için standart sapma (S.S) ± 0.01457 mM (n=15) ve varyasyon katsayısı (cv) %0.0677 (n=15) olarak hesaplanmıştır (Şekil 5.25).



Şekil 5.25: P(CT2) /GOx'a Ait Tekrarlanabilirlik Grafiği

P(CT3-co-AK/GOx) enzim sensörü için standart sapma (S.S) ± 0.02099 mM (n=15) ve varyasyon katsayısı (cv) %0.1240 (n=15) olarak hesaplanmıştır (Şekil 5.26).



Şekil 5.26: P(CT3-co-AK)'a Ait Tekrarlanabilirlik Grafiği

5.6 Girişimci Etkisi

Enzim sensörlerinde alınacak olan cevabı negatif etkileyen önemli etmenlerden biri de girişim etkisi gösterebilecek bileşiklerin çalışılan ortamdaki varlığıdır. Alkollü içeceklerde etanol, meyve sularında fenolikler glukoz tayini için potansiyel girişimci maddeleridir.

P(CT1)/GOx, P(CT2)/GOx ve P(CT3-co-AK)/GOx elektrotlarıyla enzim sensöründe farklı örnekler üzerinde analizi yapılmadan önce etanol ve fenolik bileşiklerin biyosensör cevabına etkisi analiz edilmiştir.

Tablo 5.1 . P(CT1)/GOx Enzim Sensörüne Girişim Etkisi

Bileşik (1 mM)	Biyosensör Cevabı (mA/cm²)	% Girişim
Glukoz(1mM)	14.95±0.01	-
Glukoz+3-AAF	21.51±0.05	99.89
Glukoz+Etanol	14.86±0.1	99.30

P(CT1)/GOx enzim sensörü için **Tablo 5.1**'te glukoz analizinde 3-asetamidofenolün girişim etkisi görülmemiştir. P(CT1)/GOx enzim sensörünün etanole girişim etkisi görülmemiştir.

Tablo 5.2 . P(CT2) /GOx Enzim Sensörüne Girişim Etkisi

Bileşik (1 mM)	Biyosensör Cevabı (mA/cm²)	% Girişim
Glukoz(1mM)	21.5±0.01	-
Glukoz+3-AAF	21.51±0.005	100
Glukoz+Etanol	21.52±0.01	100

P(CT2)/GOx enzim sensörü için **Tablo 5.2**'te glukoz analizinde 3-asetamidofenolün girişimci etkisi görülmemiştir. Etanolün P(CT2)/GOx enzim sensörüne girişim etkisi görülmemiştir.

Tablo 5.3. P(CT3-co-AK) /GOx Enzim Sensörüne Girişim Etkisi

Bileşik (1 mM)	Biyosensör Cevabı (mA/cm²)	% Girişim
Glukoz(1mM)	16.9±0.02	-
Glukoz+3-AAF	16.9±0.05	100
Glukoz+Etanol	16.91±0.01	99.9

P(CT3-co-AK)/GOx Enzim Sensörü için **Tablo 5.3**'da glukoz analizinde 3-asetamidofenolün girişimci etkisi görülmemiştir. P(CT3-co-AK)/GOx enzim sensörünün etanole girişim etkisi görülmemiştir.

5.7 Örnek Uygulama

Deneyisel çalışmalarda kullanılan enzim sensörlerinin iki farklı ticari örnek üzerinde analizleri yapılmıştır. Enzim temelli sensör platformları için, ticari örneklerde ön hazırlama işlemi uygulaması gerekli değildir. Örnek direk substrat olarak kullanılır. (P(CT1)/GOx için pH:4.0 50mM, P(CT2)/GOx için pH:6.0 50mM, P(CT3-co-AK)/GOx için pH:5.0 50mM)

Aşağıdaki tablolarda (**Tablo 5.4, Tablo 5.5 ve Tablo 5.6**) her bir elektrot için GOx-enzim sensörü ve spektrofotometrik yöntem karşılaştırılarak, farklı iki ticari örneğin glukoz analizi sonuçları verilmiştir.

Tablo 5.4 . P(CT1)/GOx İçin Enzim Sensörü Ve Spektrofotometrik Yöntem Kullanılarak İki Farklı Örnekte Glukoz Analizi

ÖRNEK	Glukoz (g/l) *		
	Spektrofotometrik Yöntem	P(CT1/GOx)	%Geri Kazanım
VİŞNE SUYU	0.732±0.001	0.743±0.03	97.06
KOLA	0.997±0.001	1.028 ±0.06	99.45
*Sonuçlar ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir (n:3).			

Tablo 5.5 . P(CT2)/GOx İçin Enzim Sensörü Ve Spektrofotometrik Yöntem Kullanılarak İki Farklı Örnekte Glukoz Analizi

ÖRNEK	Glukoz (g/l) *		
	Spektrofotometrik Yöntem	P(CT2/GOx)	%Geri Kazanım
VİŞNE SUYU	0.728±0.001	0.733 ±0.06	99.28
KOLA	1.004±0.001	1.004 ±0.01	100
*Sonuçlar ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir (n:3).			

Tablo 5.6 . P(CT3-co-AK)/GOx İçin Enzim Sensörü Ve Spektrofotometrik Yöntem Kullanılarak İki Farklı Örnekte Glukoz Analizi

ÖRNEK	Glukoz (g/l) *		
	Spektrofotometrik Yöntem	P (CT3-co-AK /GOx)	%Geri Kazanım
VİŞNE SUYU	0,385±0,001	0,385±0,001	99.44
KOLA	0,479±0,001	0,479±0,001	98.45
*Sonuçlar ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir (n:3).			

Tablolardaki sonuçlar analiz edildiğinde, hazırlanan sensör platformlarından alınan sonuçların spektrolektrokimyasal sonuçlar ile karşılaştırıldığında, sonuçlar birbiri arasında %97'in üzerinde tutarlılık göstermektedir. Bu sebeple tez kapsamında tasarlanan sensör platformlarının gerçek örneklerde kullanılabileceği kanıtlanmıştır.

6. SONUÇ

Bu tez kapsamında literatürde ilk kez triazin merkezli, yapılarında farklı sayıda karbazol türevi içeren simetrik ve asimetrik olarak fonksiyonlandırılmış CT1, CT2 ve CT3 kodlu monomerler sentezlenmiş, $^1\text{H-NMR}$, spektrumu ve FT-IR spektrumu ile karakterize edilmiştir. Tezin kapsamı gereği, sentezlenen monomerlerin iletken polimerleri ACN ve BFEE çözücülerinde elektrokimyasal yolla grafit elektrot üzerinde oluşturulmuştur.

Çalışmada, iletken polimer modifiye elektrotlar yüzeyinde GOx enziminin immobilizasyonu iletken polimer zincirlerinde bulunan amino grubu ile GOx enziminin gluteraldehit yardımıyla çagraz bağlanma reaksiyonu ile gerçekleştirilmiştir. CT3 monomerinde serbest amin grubu bulunmadığından immobilizasyon işlemi amino grubu içeren AK monomeri ile kopolimerizasyon reaksiyonu sonucunda elde edilmiştir. Dolayısıyla grafit elektrotların yüzeyinde P(CT1), P(CT2), P(CT3-co-AK) polimerleri ile modifiye edilmiş yüzeylere glukoz oksidaz (GOx) enzimiyle immobilize edilerek sensör platformları hazırlanmıştır. Biyosensör platformunu için ideal çalışma şartları ve analitik karakterizasyonu belirlenmiştir.

Sonuç olarak sentezlenen monomerlerin grafit elektrot yüzeyinde elektrokimyasal polimerizasyonu ile oluşturulan modifiye yüzeylere GOx enzimi immobilize edilmesiyle oluşturulan sensör platformlarının P(CT1)/GOx, P(CT2)/GOx ve P(CT3-co-AK)/GOx sensör özellikleri **Tablo 5.7**'te verilmiştir.

Tablo 5.7. Sensör Platformlarının Özellikleri

Sensör Platformu	Enzim Miktarı (mg)	Ph	Lineer Range (mM)	LOD ($\mu\text{Amm}^{-1}\text{cm}^{-2}$)	Duyarlılık ($\mu\text{Amm}^{-1}\text{cm}^{-2}$)	Varyasyon Katsayısı %
P(CT1)/GOx	0,25	4.0	0,05-1,5	0,007	27,67	0,1773
P(CT2)/GOx	0,125	6.0	0,05-1,5	0,004	52,85	0,0677
P(CT3-co-AK)/GOx	0,25	5.0	0,05-1,0	0,006	32,88	0,1240

Hazırlanan P(CT1)/GOx, P(CT2)/GOx ve P(CT3-co-AK)/GOx enzim sensörleriyle -0,7 V'da elde edilen amperometrik cevapların bağıl değerleri, pH'ya karşı grafiğe geçirilerek elektrotların en yüksek akım cevabı sırasıyla pH 4,0; 6,0; 5,0 olarak belirlenmiştir. Bu sonuçlara göre düşük pH'larda çalışmalar için en uygun elektrodun CT1 kodlu monomerle hazırlanan sensör platformunun olduğu saptanmıştır. CT1 kodlu monomerde iki amino grubunun bulunması hazırlanan sensör platformu yüzeyindeki serbest amino gruplarının sayısının fazla olmasına yol açarak asidik ortamda yüzeydeki pH değerini dengeleyerek diğer platformlara göre daha düşük pH değerlerinde de işlev gördüğü düşünülmektedir.

Her bir enzim sensörü için, substrat konsantrasyonuna karşılık akım yoğunluğu etkisi incelenerek kalibrasyon eğrileri oluşturulmuştur. P(CT1)/GOx enzim sensörünün 0.05–1.5 mM aralığında doğrusal artışa sahip olduğu, 2.5 mM glukoz konsantrasyonundan sonra sabit bir değere sahip olduğu gözlenmiştir. Doğrusal bölgede orta değer olarak belirlenip, tekrarlanabilirlik çalışması yapılmıştır. Çizilen kalibrasyon eğrisinin denklemi ve tutarlılık değeri; $y = 11,44x + 3,056$, $r^2 = 0.996$ olarak belirlenmiştir. Ayrıca, elde edilen sensörün kalibrasyon eğrisinden, minimum tayin sınırı (LOD) ve duyarlılığı sırasıyla, 0.007 mM ve $27.67 \mu\text{AmM}^{-1}\text{cm}^{-2}$ olarak hesaplanmıştır. P(CT2)/GOx enzim sensörünün 0.05 – 1.5 mM aralığında doğrusal artışa sahip olduğu, 2.5 mM glukoz konsantrasyonundan sonra sabit bir değere sahip olduğu gözlenmiştir. Doğrusal bölgede orta değer olarak belirlenip, tekrarlanabilirlik çalışması yapılmıştır. Çizilen kalibrasyon eğrisinin denklemi ve tutarlılık değeri; $y = 11,219x + 10,026$, $r^2 = 0.9905$ olarak belirlenmiştir. Ayrıca, elde edilen sensörün kalibrasyon eğrisinden, minimum tayin sınırı (LOD) ve duyarlılığı sırasıyla, 0.004 mM ve $52.85 \mu\text{AmM}^{-1}\text{cm}^{-2}$ olarak hesaplanmıştır. P(CT3-co-AK)/GOx enzim sensörünün 0,05 – 1,0 mM aralığında doğrusal artışa sahip olduğu, 2.5 mM glukoz konsantrasyonundan sonra sabit bir değere sahip olduğu gözlenmiştir. Doğrusal bölgede orta değer olarak belirlenip, tekrarlanabilirlik çalışması yapılmıştır. Çizilen kalibrasyon eğrisinin denklemi ve tutarlılık değeri; $y = 15,963x + 1,5463$, $r^2 = 0.9906$ olarak belirlenmiştir. Ayrıca, elde edilen sensörün kalibrasyon eğrisinden, minimum tayin sınırı (LOD) ve duyarlılığı sırasıyla, 0.006 mM ve $32.88 \mu\text{AmM}^{-1}\text{cm}^{-2}$ olarak hesaplanmıştır.

Optimum belirlenmiş çalışma şartlarında hazırlanan P(CT1)/GOx enzimatik sensör için, doğrusal tayin aralığındaki glukoz konsantrasyonu (1 mM) kullanılarak, 15 tekrar ölçüm alınmıştır. Ölçülen değerlere göre çizilen kalibrasyon grafikleriyle, standart sapma (S.S) ± 0.02651 mM (n=15) ve varyasyon katsayısı (cv) %0.1773 (n=15) olarak hesaplanmıştır. P(CT2) /GOx enzim sensörü için doğrusal tayin aralığındaki glukoz konsantrasyonu (1 mM) kullanılarak, 15 tekrar ölçüm alınmıştır. Ölçülen değerlere göre çizilen kalibrasyon grafikleriyle, standart sapma (S.S) ± 0.01457 mM (n=15) ve varyasyon katsayısı (cv) %0.0677 (n=15) olarak hesaplanmıştır. P(CT3-co-AK) /GOx enzim sensörü için doğrusal tayin aralığındaki glukoz konsantrasyonu (1 mM) kullanılarak, 15 tekrar ölçüm alınmıştır. Ölçülen değerlere göre çizilen kalibrasyon grafikleriyle, standart sapma (S.S) ± 0.02099 mM (n=15) ve varyasyon katsayısı (cv) %0.1240 (n=15) olarak hesaplanmıştır.

Tüm sensör platformlarının sensör cevapları incelendiğinde glukoz konsantrasyonuna göre sensörün cevaplarının doğrusallık gösterdiği aralık tüm platformlar için benzer olduğu görülmüştür. CT1 kodlu platformun diğer platformlarla karşılaştırıldığında düşük pH'larda yüksek akımlar elde edildiği saptanmıştır. Enzim immobilizasyonu çalışmalarında ise enzim miktarı optimizasyon çalışmasında CT2 kodlu malzemeye immobilize edilen enzim miktarı diğerlerine göre %50 daha az olmasına karşın diğer platformlara göre LOD ve duyarlılık sonuçlarının daha iyi olduğu saptanmıştır.

P(CT1)/GOx enzim sensörü, iki farklı ticari örnekte (Kola, Vişne Suyu) glukoz analizi yapılmıştır. İki farklı ticari örnekte glukoz analizini spektrofotometrik olarak yapılmış ve değerler hesaplanmıştır. Kola için, spektrofotometrik olarak yapılan analizde değer 0.997 ± 0.001 , hazırlanan P(CT1)/GOx enzim sensörüyle yapılan analizde değer 1.028 ± 0.06 bulunmuş ve % geri kazanım 99,45 olarak hesaplanmıştır. Vişne suyu için ise, değer 0.732 ± 0.001 , hazırlanan P(CT1)/GOx enzim sensörüyle yapılan analizde değer ise 0.743 ± 0.03 bulunmuş, % geri kazanım 97.06 olarak hesaplanmıştır. P(CT2)/GOx enzim sensörü için elde edilen sonuçlar değerlendirildiğinde sırasıyla kola için spektrofotometrik değer 1.004 ± 0.01 , P(CT2) /GOx sensörü ile yapılan analiz değeri 1.004 ± 0.01 bulunmuş ve % geri kazanımı 100 olarak hesaplanmıştır. Vişne suyu için ise, değer 0.732 ± 0.001 hazırlanan P(CT2) /GOx enzim sensörüyle yapılan analizde değer ise 0.733 ± 0.06 bulunmuş, % geri kazanım 99.28 olarak hesaplanmıştır.

P(CT3-co-AK)/GOx enzim sensörü için elde edilen sonuçlar değerlendirildiğinde sırasıyla kola için spektrofotometrik değer 0.479 ± 0.001 , P(CT3-co-AK)/GOx sensörü

ile yapılan analiz değeri $0,479 \pm 0,001$ bulunmuş ve % geri kazanımı 98.45 olarak hesaplanmıştır. Vişne suyu için ise, değer $0.385 \pm 0,001$ hazırlanan P(CT2)/GOx enzim sensörüyle yapılan analizde değer ise $0.385 \pm 0,001$ bulunmuş, % geri kazanım 99.44 olarak hesaplanmıştır. Böylelikle hazırlanan üç sensör platformunun başarılı bir şekilde gerçek örneklerde glukoz tayini için kullanılabileceği saptanmıştır.

Biyosensörlerin farklı örneklerde uygulanabilirliği engelleyen en önemli faktörlerden biri de girişim yapabilecek maddelerin varlığıdır. Alkollü içeceklerde glukoz tayini yaparken etanol, meyve sularında glukoz tayini yaparken ise fenolikler, girişim etkisi yapan maddelerdir. P(CT1)/GOx, P(CT2)/GOx ve P(CT3-co-AK)/GOx enzim sensörleri, etanol ve fenolik bir bileşiklerin sensör cevabına etkisi test edilmiştir. Çalışmada potansiyel girişimci olabilecek 3-asetamidofenolün P(CT1)/GOx, P(CT2)/GOx ve P(CT3-co-AK)/GOx enzim sensörlerine herhangi bir girişim etkisi görülmemiştir. Aynı şekilde etanolün P(CT1)/GOx, P(CT2)/GOx ve P(CT3-co-AK)/GOx enzim sensörlerine de herhangi bir girişim etkisi görülmemiştir.

7. KAYNAK

Ak, M., “Synthesis of polythiophene and polypyrrole derivatives and their application in electrochromic devices”, Doktora Tezi, *Ortadoğu Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Anabilimdalı*, Ankara, (2006).

Ak, M., and Toppare, L., “Synthesis of star-shaped pyrrole and thiophene functionalized monomers and optoelectrochemical properties of corresponding copolymers”, *Mater. Chem. Phys.*, 114 (2-3)(2009).

Dubois M., Ghanbaja J. and Billaud D., “Electrochemical Intercalation of Sodium Ions into Poly (para-phenylene)in Carbonate”, *Synthetic Metals*, , (1997).

E. Karatas, M. Guzel, and M. Ak, “Asymmetric Star-Shaped Functionalized Triazine Architecture and Its Electrochromic Device Application,” *J. Electrochem. Soc.*, (2017).

Emine Guler, Hakan Can Soyleyici, Dilek Odaci Demirkol, Metin Ak, Suna Timur “A novel functional conducting polymer as an immobilization platform “*Materials Science and Engineering* (2014).

Freire, R. S., Pessoa, C. A., Mello, L. D. and Kubota, L. T., “Direct ElectronTransfer: An Approach for Electrochemical Biosensors with Higher Selectivity and Sensitivity”, *J. Braz. Chem. Soc.* (2003).

Fried, J.R., “Polymer Science and Technology”, *Simon&Schuster Company, USA*, (1995).

Goel M.K., “Immobilized Enzymes”, New York, *Renssealer Polytechnic Institute*, (1994).

H.-F. Chen, S.-J. Yang, Z.-H. Tsai, W.-Y. Hung, T.-C. Wang, and K.-T. Wong, “1,3,5-Triazine derivatives as new electron transport-type host materials for highly efficient green phosphorescent OLEDs,” *J. Mater. Chem.*, 19, 8112 (2009).

Hazer A. ve Kurt B., Polymerization Kinetics of Styrene by Oligododocandioyl Peroxide and Its Use in the Preparation of Graft Copolymers. s. (1995).

Hüseyin Ç., *Polipirol ile modifiye edilmiş karbon elektrot kullanılarak ASV yöntemiyle Pb ve Cu tayini.*, Yüksek Lisans Tezi, Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü. Kimya Anabilimdalı Ankara, (2001)

Jusoh N., Aziz A. A., “Immobilization of Glucose Oxidase and FerroceneRedox Polymer in Cross-Linked Poly (Vinyl Alcohol) with Bovine

Serum Albumin as Protein Stabilizer'', Regional Postgraduate Conference On Engineering and Science (RPCES), (2006).

Kang E. T., Lim V.W.L., Neoh K.G., Ma Z.H. and Tan K.L. "Determination of pyrrole aniline copolymer composition by X-ray photoelectron spectroscopy'', *Applied Surface Science* 181, (2001).

Karatas, E. and Ucan, H. I., "The Synthesis and Characterization of s-Triazine-Cored Tripodal Structure and Its Salen/Salophen-Bridged Fe/Cr(III) Capped Complexes'', *J. Heterocycl. Chem.*, (2017).

Korf, M.M. Venema, J., Urban, K., G., Vadgama, P., "Rhemrev-Boom, Aversatile biosensor device for continuous biomedical monitoring'', *Biosensors & Bioelectronics*, (2001).

Kuzu, S.B., "Kitinaz Ureten Bacillus İzolasyonu, Enzimin Kısmi Saflaştırılması Ve Karakterizasyonu'', *Yüksek Lisans Tezi, Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilimdalı* (2008).

Ilanes A., "Enzyme Biocatalysis Principles and Applications'', Springer,38, (2008).

M. Ak, M. S. Ak, and L. Toppare, "Electrochemical properties of a new star-shaped pyrrole monomer and its electrochromic applications," *Macromol. Chem. Phys.*, (2006).

M. Guzel, E. Karatas, and M. Ak, "Synthesis and Fluorescence Properties of Carbazole Based Asymmetric Functionalized Star Shaped Polymer," *J. Electrochem.Soc.*, (2017).

M. Guzel, T. Soganci, M. Akgun, and M. Ak, "Carbazole Functionalized Star Shaped Triazine Monomer and Its Electrochromic Applications," *J. Electrochem. Soc.*, (2015).

M. Zhu, Y. Li, X. Cao, B. Jiang, H. Wu, J. Qin, Y. Cao, and C. Yang, "White polymer light-emitting diodes based on star-shaped polymers with an orange dendriticphosphorescent core," *Macromol. Rapid Commun* (2014).

Özyılmaz G., "Glukoz Oksidaz ve Katalazın Ayır Ayır ve Birlikte İmmobilizasyonu ve Karakterizasyonu'', Doktora Tezi, *Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Anabilimdalı Adana* (2005)

Pandey P. C., Upadhyay S., Upadhyay B., "Peroxide Biosensors and Mediated Electrochemical Regeneration of Redox Enzymes'', *Analytical Biochemistry*, (1997).

Payne, S. J., Fiore, G. L., Fraser, C. L. and Demas, J. N., "Luminescence oxygen sensor based on a ruthenium(II) star polymer complex'', *Anal. Chem.*, (2010).

Pratt, C., “Applications of Conducting Polymers”, *Kingston University, London*, (1996).

Rathavi, A., Shukla, M. and Thakor, M. K., “Synthesis and in Vitro Antibacterial and Anti Fungal Activity of Trisubstituted S-Triazines”, *Journal of Chemical, Biological and Physical Sciences*, (2013).

Remziye Olgac, Tugba Soganci, Yasemin Baygu, Yaşar Gök, Metin Ak; “Zinc(II) phthalocyanine fused in peripheral positions octa-substituted with alkyl linked carbazole: Synthesis, electropolymerization and its electro-optic and biosensor applications”, *Biosensors and Bioelectronics*, , (2017).

Saçak, M. Polimer Kimyası. Gazi Büro Kitabevi. ISBN No: 975-8640-27-5. (2006).

Suelter C. H. and Kricka, L. J., “Methods of Biochemical Analysis, Bioanalytical Applications of Enzymes”, *John Wiley & Sons, Inc.*, 268 (1992).

Tugba Soganci, Ogun Gumusay, Hakan Can Soyleyici, Metin Ak, “Synthesis of highly branched conducting polymer architecture for electrochromic applications”, *Polymer*, (2018).

Tugba Soganci Yasemin Torlak Metin Ak Mustafa Ersoz “Poly (dithienylpyrrole) / Keggin type (nBu₄N)₃[PW₉O₃₄(tBuSiOH)₃] hybrid material: Enhanced optical and electrical properties of conjugated polymers via polyoxometalates” *Synthetic Metals* October 2018,

Tugba Soganci, Rukiye Ayranci, Ersan Harputlu, Kasım Ocakoglu, Mehmet Acet, Michael Farle, C. Gokhan Unlu, Metin Ak “An effective non-enzymatic biosensor platform based on copper nanoparticles decorated by sputtering on CVD graphene” *Sensors and Actuators B: Chemical* November 2018

Tuğçe Yazıcı Tekbaşoğlu, Tugba Soganci, Metin Ak, Atif Koca, M. Kasım Şener, “Enhancing biosensor properties of conducting polymers via copolymerization: Synthesis of EDOT-substituted bis(2-pyridylimino) isoindolato-palladium complex and electrochemical sensing of glucose by its copolymerized film” *Biosensors and Bioelectronics* (2017) .

Uptdike S. J., Hicks G. P., “The Enzyme Electrode”, *Nature*, (1967).

Vaillancourt, M., Chen, J. W., Fortier, G., Be' langer, D., “Electrochemical and Enzymatic Studies of Electron Transfer Mediation by Ferrocene Derivatives with Nafion-Glucose Oxidase Electrodes”, *Electroanalysis*, (1998).

Xue, C., Zhu, H., Zhang, T., Cao D. and Hu, Z., “Synthesis and properties of novel alkylbetaine zwitterionic gemini surfactants derived from cyanuric chloride”, *Colloids and Surfaces A: Physicochem. Eng. Aspects* (2011).

Yaoting, F., Gang L., Zifeng, L., Hongwei, H. and Hairong M., “Synthesis, structure and third-order nonlinear optical properties of 1,3,5-triazine-based Zn(II) three-dimensional supramolecule” *Journal of Molecular Structure*, (2004).



8. ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Simge DURUR

Doğum Yeri ve Tarihi : 24.06.1993/ BORNOVA

Lisans Üniversitesi : Pamukkale Üniversitesi (2011-2015)

Y. Lisans Üniversitesi : Pamukkale Üniversitesi (2016-2018)

Elektronik posta : simgedurur@msn.com

Konferans Listesi :

- Simge Durur, Tugba Soganci, Dr. Hakan Can Soyleyici, Dr. Metin Ak- An Amide Substituted Dithienylpyrrole Based Copolymer: Its Electrochromic Properties -ANNIC2016 -Applied Nanotechnology and Nanoscience Interbational Conference 2016, BARCELONA, 9-11 November 2016
- Simge Durur, Tugba Soganci, Mehmet Karakus, Metin Ak, “Electrochemical properties of a conducting metallopolymer, The 10th Multidisciplinary Academic Conference in Prague 2017 May 26-27, 2017