



**T.C.
RECEP TAYYİP ERDOĞAN ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ
İLERİ TEKNOLOJİLER ANABİLİM DALI**

**YUMUŞAK DOKU KANSERLERİ ÜZERİNE
İMMÜNO-SİTOSENSÖR GELİŞTİRİLMESİ**

(Yüksek Lisans Tezi)

Zehra YILDIZBAKAN

**Danışman
Doç. Dr. Derya BAL ALTUNTAŞ**

**RİZE
2022**

KABUL VE ONAY

Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi, Lisansüstü Eğitim Enstitüsü, İleri Teknolojiler Anabilim Dalında, Doç. Dr. Derya BAL ALTUNTAŞ danışmanlığında, Zehra YILDIZBAKAN tarafından hazırlanan *Yumuşak Doku Kanserleri Üzerine İmmüno-sitosensör Geliştirilmesi* adlı bu tez çalışması, 30/11/2022 tarihinde yapılan savunma sınavı sonucunda oy birliği/oy çokluğuyla başarılı bulunarak jürimiz tarafından **Yüksek Lisans Tezi** olarak kabul edilmiştir.

Jüri Üyeleri

Unvanı, Adı SOYADI

İmza

Başkan

: Doç. Dr. Sema ASLAN

Üye

: Doç. Dr. Derya BAL ALTUNTAŞ

Üye

: Dr. Öğr. Üyesi Hatice Sevim NALKIRAN

ETİK BEYAN

İleri Teknolojiler Tezli Yüksek Lisans Programından mezun olmak üzere teslim ettiğim “Yumuşak Doku Kanserleri Üzerine İmmüno-sitosensör Geliştirilmesi” adlı tezim, bilim ve araştırma etiği prensiplerine riayet edilerek tarafımdan yazılmıştır.

Tez çalışmamda, başka kaynaklardan aktarılan bütün bilgi ve alıntılar, Estitünüz Tez Yazım Kılavuzuna uygun olarak açıkça gösterilmiştir. Kaynağı gösterilenler dışında kalan bütün bilgiler uygun araştırma yöntemi kullanılarak tarafımdan edinilmiş ve esere bu şekilde yansıtılmıştır. Şahsıma ait olmayan hiçbir bilgi, kasıt veya kusurlar, şahsıma aitmiş gibi gösterilmemiştir. İnternet kaynakları dâhil, sahibine/kaynağına atıf yapılmaksızın hiçbir bilgi kullanılmamıştır. Aksinin ortaya çıkması halinde doğacak bütün hukuki, idari, akademik ve etik sorumluluk tarafıma ait olacaktır. Eserin tesliminden sonra herhangi bir zamanda, bilim etiğine aykırılık tespit edilmesi ve / veya eserimle ilgili intihal veya intihal şeklinde alâşılacak bir durumun ortaya çıkması halinde; Üniversiteniz ve eğitim kadronuzun hiçbir şekilde sorumlu tutulmayacağını hür irademle kabul, beyan ve taahhüt ederim. 30 /11/2022

Zehra YILDIZBAKAN

ÖN SÖZ

Bu değerli ve meşakkatli yolculuğumda her daim bana kılavuzluk yapıp zihin dünyamdaki karanlık vadilere aydınlık olan, karşılaştığım engellerle bilimin ışığında nasıl baş edebileceğimi gösteren, araştırma ve çalışmalarında kendisinden her zaman istifade ettiğim alanında mümtaz olan saygıdeğer danışman hocam Doç. Dr. Derya BAL ALTUNTAŞ'a,

Tezimin her aşamasında bana desteklerini esirgemeyen, görüş ve önerilerinden yararlandığım, daima moral ve motivasyonumu arttıran Arş. Gör. Melih MANİR'a, çok teşekkür ederim.

Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Bölümü Dr. Öğr. Üyesi Hatice SEVİM NALKIRAN'a hücre çalışmalarında vermiş olduğu katkılardan dolayı çok teşekkür ederim.

Pamukkale Üniversitesi Teknoloji Fakültesi Biyomedikal Mühendisliği Bölümü Öğretim Üyesi Doç. Dr. Gökhan ÜNLÜ'ye ve Pamukkale Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyomedikal Mühendisliği Anabilim Dalından Çiğdem YENER'e Nano Malzeme üretiminde yardımlarından dolayı çok teşekkür ederim.

Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi Fen Fakültesi Fizik Bölümü Arş. Gör. Dr. Atilla Eren MAMUK ve Arş. Gör. Dr. Çağdaş KOÇAK'a ayrıca Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi Fen Fakültesi Kimya Bölümü Öğretim Üyesi Doç. Dr. Sema ASLAN'a nanolif üretiminde yardımlarından dolayı çok teşekkür ederim.

İlk öğretmenlerim olan, hiçbir zaman desteğini ve varlığını esirgemeyip beni bu günlere ulaştıran, yetiştiren, müşfik ve muhterem ebeveynime ve varlıklarını hep hissettiren sevgili kardeşlerime sonsuz sevgi ve saygılarımı sunuyorum.

Zehra YILDIZBAKAN

2022/ RİZE

İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY	I
ETİK BEYAN.....	II
ÖN SÖZ	III
İÇİNDEKİLER	IV
ÖZET	VIII
ABSTRACT.....	IX
KISALTMALAR.....	X
TABLolar LİSTESİ.....	XII
ŞEKİLLER LİSTESİ	XIII
GİRİŞ	1
1. GENEL BİLGİLER	4
1.1. Literatür Özeti	4
1.1.1. Kanser	4
1.1.1.1. Meme Kanseri.....	5
1.1.1.2. Beyin Kanseri	6
1.1.1.3. Mesane Kanseri.....	6
1.1.2. Karsino Embriyonik Antijen (CEA)	7
1.2. Elektroanalitik Yöntemler	7
1.2.1. Voltammetri.....	9
1.2.1.1. Dönüşümlü Voltammetri (CV)	9
1.2.1.2. Differansiyel Puls Voltammetrisi (DPV).....	11
1.2.2. Voltammetride Kullanılan Elektrot Yapıları	13
1.2.2.1. Çalışma Elektrotları	13
1.2.2.1.1. Katı Elektrotlar	15
1.2.2.1.2. Modifiye Elektrotlar	17
1.2.2.2. Referans Elektrotlar	17
1.2.2.3. Yardımcı (Karşıt) Elektrotlar	18
1.2.3. Elektrokimyasal İmpedans Spektroskopisi	18
1.3. Biyosensör.....	22
1.3.1. Biyosensör Tanımı.....	22
1.3.2. Biyosensör Yapısı.....	23

1.3.3. Bir Biyosensörün Çalışma Mekanizması	24
1.3.4. İdeal Bir Biyosensörün Özellikleri	24
1.3.4.1. Seçicilik	24
1.3.4.2. Tekrarlanabilirlik	25
1.3.4.3. Hassasiyet	25
1.3.4.4. Kararlılık	25
1.3.4.5. Duyarlılık	25
1.3.4.6. Doğrusallık	25
1.3.5. Biyosensörlerin Sınıflandırılması	26
1.3.5.1. Biyosensörlerin Dönüştürücü Tipine Göre Sınıflandırılması	26
1.3.5.1.1. Elektrokimyasal Biyosensörler	26
1.3.5.2. Biyosensörlerin Biyobileşene Göre Sınıflandırılması	27
1.3.5.2.1. Enzim Biyosensörler	27
1.3.5.2.2. Mikrobiyal Biyosensörler	28
1.3.5.2.3. DNA Biyosensörler (Genosensörler)	29
1.3.5.2.4. İmmünosensörler	30
1.3.5.2.5. Sitosensörler (Cytosensor)	30
1.3.6. Biyosensörün Kullanım Alanları	31
1.3.6.1. Gıda Endüstrisi	31
1.3.6.2. Tıp Bilimleri	31
1.3.6.3. Savunma Sanayi	32
1.3.6.4. Çevre	32
1.3.6.5. Metabolik Mühendisliği ve Bitki Biyolojisi	32
1.4. Nanoteknoloji	33
1.4.1. Nanomalzeme	33
1.4.2. Nanoparçacık	34
1.4.3. Yapılarda Kullanılan Nanomalzemeler ve Kullanım Amaçları	35
1.4.3.1. Altın Nanoparçacıklar	35
1.4.3.2. Manyetik Nanoparçacıklar	35
1.4.3.3. Alaşım Nanoparçacıklar	35
1.4.3.4. Gümüş Nanoparçacıklar	36
1.5. Kanser Tanı ve Tedavisinde Kullanılan Nanoteknolojik Araçlar	36
1.5.1. Nano – Cantilever (Nano- Manivela)	36
1.5.2. NanoShell (NanoKabuk) (NS)	37

1.5.3. Quantum Dot (Kuantum Noktası) (QD).....	38
1.5.4. Nanotubes (Nanotüpler)	39
1.5.5. Nanopores (Nanoporlar)	40
1.5.6. Nanowire (Nanotel) (NW).....	40
1.5.7. Dendrimer.....	41
1.5.8. Karbon Nanotüpler (CNTs).....	42
1.6. Nanoteknolojinin Biyosensörlerde Kullanılma Nedenleri.....	43
2. GEREÇ VE YÖNTEM.....	44
2.1. Sol-Jel Yöntemi ile $\text{La}_{0.25}\text{Fe}_{0.75}\text{FeO}_3$ Nanoparçacığının Sentezlenmesi	44
2.2. Elektrospinning (Elektro-eğirme) Yöntemi	45
2.3. Malzeme ve Yöntem	46
2.4. Kullanılan Cihazlar	49
2.5. Kullanılan Kimyasallar	50
2.6. $\text{La}_{0.25}\text{Fe}_{0.75}\text{FeO}_3$ Nanoparçacığının Karakterizasyonun SEM Analizi	51
2.7. Perovskit Manyetik Nanoparçacık Modifeye Elektrot ile İmmüno-Sitosensör Geliştirilmesi.....	54
2.8. Hücrelerin Kültüre Edilmesi	54
2.9. Hücre Sayımı.....	55
2.10. Ölçümler İçin Verilen Tüplerdeki Hücrelerin Hazırlanması	55
2.11. Hücre Yapışması Deneyi ve Floresans Görüntüleme	55
2.12. İstatistiksel Analiz.....	56
2.13. Optimizasyon Prosedür Çalışmaları.....	56
3. BULGULAR.....	57
3.1. Geliştirilen Elektrodun Elektrokimyasal Karakterizasyonu.....	57
3.2. İmmünosensörün Optimizasyon Prosedürü	58
3.3. İmmünosensörün Yüzey Karakterizasyonu	59
3.4. $\text{La}_{0.25}\text{Fe}_{0.75}\text{FeO}_3$ XRD Analizi.....	62
3.5. İmmünosensörün Elektrokimyasal Karakterizasyonu.....	63
3.6. pH Optimizasyonu	65
3.7. Sıcaklık Optimizasyonu	69
3.8. İnkübasyon Süresi Optimizasyonu.....	72
3.9. İmmünosensörün Analitik Performansı	76
3.9.1. Analitiksel Karakteristik.....	76
3.10. Hücre Sonuçları.....	77

3.11. Seçimlilik ve Kararlılık	87
4. TARTIŞMA	89
4.1. Öneriler	91
KAYNAKÇA.....	92



Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü

Ana Bilim Dalı : İleri Teknolojiler

Tez Türü : Yüksek Lisans Tezi

Danışman : Doç. Dr. Derya BAL ALTUNTAŞ

Hazırlayan : Zehra YILDIZBAKAN

Yıl : 2022

Sayfa Sayısı : 103

ÖZET

YUMUŞAK DOKU KANSERLERİ ÜZERİNE İMMÜNO-SİTOSENSÖR GELİŞTİRİLMESİ

Bu tez çalışmasında, öncelikle $\text{La}_{0.25}\text{Fe}_{0.75}\text{FeO}_3$ nanoparçacığı sol-jel yöntemi kullanılarak sentezlenmiştir. Nanoparçacıklar ($\text{La}_{0.25}\text{Fe}_{0.75}\text{FeO}_3$), yüklü poliakrilonitril nanolifler (PANnf), kalem grafit elektrot (PGE) yüzeyinde elektro-eğirme ile hazırlandı. Bir diğer aşamada ise karsinoembriyonik antijen (CEA) biyobelirteç reseptörü olarak CEA antikorları (Anti-CEA) ile yüklendi. Son olarak, CEA tespiti için PGE/PAN+ $\text{La}_{0.25}\text{Fe}_{0.75}\text{FeO}_3$ /Anti-CEA kullanıldı. Üretim adımları, bir $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ probu varlığında döngüsel voltammetri ve elektrokimyasal empedans spektroskopisi ile karakterize edildi. Optimizasyon aşamaları ve hücre çalışmaları differansiyel puls voltammetre (DPV) kullanılarak gerçekleştirildi. Bu kompozit sistemin kullanımı, CEA'nın etiketsiz tespiti için yeni bir immünosensör geliştirme yaklaşımıdır. Optimum koşullar altında, PGE/PAN+ $\text{La}_{0.25}\text{Fe}_{0.75}\text{FeO}_3$ /Anti-CEA immüno-sensörün tayin sınırı LOD (3 s/m) = 1,48 ng/mL, alt tayin sınırı LOQ = (10 s/m) = 4,94 ng/mL, tekrarlanabilirlik (RSD)=%1,46 (n=5) ve antijen konsantrasyonu için 0,1-10 ng/mL doğrusal çalışma aralığında $R^2 = 0,9984$ olarak bulunmuştur. Sonuçlar, sunulan sistemle CEA konsantrasyonundaki çok küçük değişikliklerin bile algılanabileceğini göstermiştir. Ayrıca dopamin ve askorbik asit içeren gerçek serum örneklerinde immünosensör geri kazanımı $98,94 \pm 7,43$ olarak bulunmuştur. Farklı kanser biyobelirteçlerinin klinik taramasında büyük potansiyele sahiptir. Sitosensör olarak, 48 saatlik inkübasyondan sonra RT-4, MDA-MB-231, T98G ve MCF-7 hücrelerinin PGE/PAN, PGE/PAN/ $\text{La}_{0.25}\text{Fe}_{0.75}\text{FeO}_3$ modifiye ve antikör/antijen kaplı (PGE/PAN/ $\text{La}_{0.25}\text{Fe}_{0.75}\text{FeO}_3$ /Anti-CEA/BSA/CEA) yüzeylere olan teması ile oluşan akım düşüşünün kanserli hücrelerin yoğunluğu ile bağlantılı olduğu sonucuna ulaşıldı.

Anahtar Kelimeler: İmmüno-sitosensör, Karsinoembriyonik antijen (CEA), Nanopartikül, Kalem Grafit Elektrot, PAN nanolif, Kanser hücresi

Recep Tayyip Erdogan University Institute of Graduate Studies

Department : Advanced Technologies

Thesis Type : Master's Thesis

Supervisor : Assoc. Prof. Dr. Derya BAL ALTUNTAŞ

Author : Zehra YILDIZBAKAN

Year : 2022

Pages : 103

ABSTRACT

DEVELOPMENT OF IMMUNO-CYTOSENSOR ON SOFT TISSUE CANCERS

In this thesis, first of all, $\text{La}_{0.25}\text{Fe}_{0.75}\text{FeO}_3$ nanoparticle was synthesized using the sol-gel method. Nanoparticles ($\text{La}_{0.25}\text{Fe}_{0.75}\text{FeO}_3$), coated polyacrylonitrile nanofibers (PANnf), were prepared by electrospinning on the pencil graphite electrode (PGE) surface. In another step, carcinoembryonic antigen (CEA) was loaded with CEA antibodies (Anti-CEA) as a biomarker receptor. Finally, PGE/PAN+ $\text{La}_{0.25}\text{Fe}_{0.75}\text{FeO}_3$ /Anti-CEA was used for CEA detection. The fabrication steps were characterized by cyclic voltammetry and electrochemical impedance spectroscopy in the presence of a $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ probe. Optimization steps and cell studies were performed using differential pulse voltammetry (DPV). The use of this composite system is a novel immunosensor development approach for label-free detection of CEA. Under optimum conditions, detection limit (LOD) of PGE/PAN+ $\text{La}_{0.25}\text{Fe}_{0.75}\text{FeO}_3$ /Anti-CEA immunosensor $\text{LOD (3 s/m)} = 1,48 \text{ ng/mL}$, limit of quantification (10s/m) = $4,94 \text{ ng/mL}$, reproducibility $1,46\%$ ($n=5$) and $R^2=0.9984$ for antigen concentration within a linear working range of $0,1\text{-}10 \text{ ng/mL}$. The results showed that even very small changes in CEA concentration could be detected with the presented system. Also, immunosensor recovery in real serum samples containing dopamine and ascorbic acid was found as $98,94 \pm 7,43$. It has great potential in clinical screening of different cancer biomarkers. As cytosensor, after 48 hours of incubation, the binding of RT-4, MDA-MB-231, T98G and MCF-7 cells to PGE/PAN, PGE/ PAN/ $\text{La}_{0.25}\text{Fe}_{0.75}\text{FeO}_3$ modified and antibody/antigen coated (PGE/PAN/ $\text{La}_{0.25}\text{Fe}_{0.75} \text{FeO}_3$ /Anti-CEA/BSA/CEA) surfaces was evaluated by correlating the decrease in current with the amount of cancer cells.

Keywords: Immuno-cytosensor, Carcinoembryonic Antigen (CEA), Nanoparticle, Pencil Graphite Electrode, PAN nanofiber, Cancer cell

KISALTMALAR

A	: Alan
AE	: Amplitüdlü Potansiyel
BSA	: Sığır Serum Albumini
C	: Kapasitans
CV	: Dönüşümlü Voltammetri
CEA	: Karsino Embriyonik Antijen
CE	: Yardımcı Elektrot
CNTs	: Karbon Nanotüpler
DPV	: Diferansiyel Puls Voltammetrisi
DNA	: Deoksiribo Nükleik Asit
DC	: Doğru Akım
DMF	: Dimetilformamit
dPBS	: Dulbecco Fosfat Tamponlu Salin
ERBB2	: İnsan Epidermal Büyüme Faktörü Reseptörü 2 (HER2)
Estep	: Potansiyel Adım
EDS	: Enerji Dispersiv Spektrum
EDTA	: Etilen Diamin Tetraasetik Asit
EIS	: Empedans Spektroskopisi
FESEM	: Alan Emisyonlu Taramalı Elektron Mikroskobu
FISH	: Floresan In Situ Hibridizasyon
FBS	: Fetal Bovin Serumu
I	: Akım
IR	: Direnç Potansiyel
LOD	: Gözlenebilme Sınırı
LOQ	: Tayin Sınırı
$\text{La}_{0.25}\text{Fe}_{0.75}\text{FeO}_3$	: Perovskit Manyetik Nano Parçacık
M	: Mitoz
mir21	: Mikrorna21
MDA-MB-231	: Üçlü Negatif Meme Adenokarsinomu
MCF-7	: Östrojene Duyarlı İnsan Meme Kanseri

NW	: Nanowire
Np	: Nanopartikül
nf	: Nanolif
PBS	: Fosfat Tamponlu Salin
PAN	: Poliakrilonitril
PGE	: Kalem Grafit Elektrot
p53	: Tümör Protein 53 (TP53)
pRb	: Retinoblastoma
pH	: Potansiyel Hidrojen
RE	: Referans Elektrot
RNA	: Ribonükleik Asit
RSD	: Bağlı Standart Sapma
RT-4 (ACC 412)	: İnsan Mesane Kanseri Hücre Dizisi
SEM	: Taramalı Elektron Mikroskobu
SAC	: Mili Montaj Kontrol Noktası/Mitotik Kontrol Noktası
SHE	: Hidrojen Elektrot
T98G	: Glioblastoma Multiforme
V	: Gerilim
ZF	: Faradaik Empedans
WE	: Çalışma Elektrot
XRD	: X-Işını Kırınımı
ΔE	: Darbe Genliği

TABLÖLAR LİSTESİ

Tablo 1. Biyosensörlerin dönüştürücü tipine göre sınıflandırılması.....	26
Tablo 2. Polimer çözeltileri ve içerik oranları	47
Tablo 3. Geliştirilen immünosensörün önemli analitik parametrelerinin diğer elektrokimyasal CEA immünosensörleri ile karşılaştırılması	90



ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1. Elektroanalitik yöntemlerin sınıflandırılması	9
Şekil 2. Elektrokimyasal olarak tersinir ve difüzyon kontrollü redoks işlemi için tipik bir döngüsel voltammogram.....	11
Şekil 3. Diferansiyel puls voltammetrisinde uygulanan potansiyelin değişim profili	12
Şekil 4. Diferansiyel puls voltammetrisinde elektrik akımı sinyali grafiği.....	13
Şekil 5. Voltammetride kullanılan elektrotların sınıflandırılması	15
Şekil 6. Bir EIS ölçümü almak için gerekli adımlar	21
Şekil 7. Bir biyosensörün genel yapısı	23
Şekil 8. Bir biyosensörün çalışma mekanizması	24
Şekil 9. Biyosensörlerin biyobileşene göre sınıflandırılması	29
Şekil 10. Enzim biyosensörleri	28
Şekil 11. Mikrobiyal biyosensörün şematik gösterimi	29
Şekil 12. DNA biyosensörü (Genosensörler) görünümü.....	29
Şekil 13. İmmünosensörün şematik bir gösterimi	30
Şekil 14. Sitosensörün (Cytosensor) şematik gösterimi	31
Şekil 15. Dinamik mod Cantilever algılama yapısının genel şeması	37
Şekil 16. Konsol sensörlerinde bulunan çeşitli rezonans modlarının genel şeması. .	37
Şekil 17. NanoShell parçacık.....	38
Şekil 18. Quatum Dots yapısı	39
Şekil 19. Nanotubes yapısı	39
Şekil 20. Nanopore yapıları	40
Şekil 21. Nanowire-Nanotel yapıları bir sensör	41
Şekil 22. Dendrimer yapısı	42
Şekil 23. 3 Farklı türde tek duvarlı nanotüp çeşidi.....	43
Şekil 24. Elde edilen çözeltinin belirli sıcaklıkta jelleşme aşamaları ve tüm işlemler sonucunda elde edilen toz nanoparçacık	45
Şekil 25. Elektro-eğirme sistemi resmi ve diyagramı.....	48
Şekil 26. Poliakrilonitril (PAN)'ın kimyasal formülü	48
Şekil 27. Nano-malzeme kaplı grafit çubuk elektrot.....	49

Şekil 28. Geliştirilen immüno-sitosensörlerin ölçümünün yapılması.....	50
Şekil 29. $\text{La}_{0.25}\text{Fe}_{0.75}\text{FeO}_3$ nanoparçacıkların farklı büyütmelerdeki SEM görüntüleri	52
Şekil 30. $\text{La}_{0.25}\text{Fe}_{0.75}\text{FeO}_3$ katkılı PANnf SEM görüntüleri.....	53
Şekil 31. İmmüno-sitosensör fabrikasyon adımlarının şematik gösterimi	54
Şekil 32. Nanokompozit modifiye elektrotların döngüsel voltammogramları	57
Şekil 33. Nanokompozit modifiye elektrotların elektrokimyasal empedans spektrum ları.....	58
Şekil 34. PGE/PAN+ $\text{La}_{0.25}\text{Fe}_{0.75}\text{FeO}_3$ elektrot yüzeyinin farklı büyütme oranlarında SEM görüntüleri	60
Şekil 35. Malzemenin EDS spekturumu.....	61
Şekil 36. $\text{La}_{0.25}\text{Fe}_{0.75}\text{FeO}_3$ XRD analizi	62
Şekil 37. İmmüno-sensörün döngüsel voltammogramları ve elektrokimyasal empedans spektrumları.....	64
Şekil 38. İmmüno-sensör pH 6 için elektrotların DPV voltammogramlarına ait grafik	65
Şekil 39. İmmüno-sensör pH 6,6 için elektrotların DPV voltammogramlarına ait grafik	66
Şekil 40. İmmüno-sensör pH 7 için elektrotların DPV voltammogramlarına ait grafik	66
Şekil 41. İmmüno-sensör pH 7,4 için elektrotların DPV voltammogramlarına ait grafik	67
Şekil 42. İmmüno-sensör pH 7,5 için elektrotların DPV voltammogramlarına ait grafik	67
Şekil 43. İmmüno-sensör pH 8 için elektrotların DPV voltammogramlarına ait grafik	68
Şekil 44. İmmüno-sensörün pH 6, pH 6,6, pH 7, pH 7,4, pH 7,5 ve pH 8 aralığında optimizasyon çalışmasına ait grafik	68
Şekil 45. İmmüno-sensör 25°C için elektrotların DPV voltammogramlarına ait grafik	69
Şekil 46. İmmüno-sensör 30°C için elektrotların DPV voltammogramlarına ait grafik	70
Şekil 47. İmmüno-sensör 35°C için elektrotların DPV voltammogramlarına ait grafik	70
Şekil 48. İmmüno-sensör 40°C için elektrotların DPV voltammogramlarına ait grafik	71

Şekil 49. İmmünoşensör 45°C için elektrotların DPV voltammogramlarına ait grafik	71
Şekil 50. İmmünoşensörün 25°C, 30°C, 35°C, 40°C ve 45°C aralığında sıcaklık optimizasyonuna ait optimizasyon grafiğı.....	72
Şekil 51. İmmünoşensör 20 dk inkübasyon süresi için elektrotların DPV voltammogramlarına ait grafik	73
Şekil 52. İmmünoşensör 25 dk inkübasyon süresi için için elektrotların DPV voltammogramlarına ait grafik	73
Şekil 53. İmmünoşensör 30 dk inkübasyon süresi için a elektrotların DPV voltammogramlarına ait grafik	74
Şekil 54. İmmünoşensör 35 dk inkübasyon süresi için için elektrotların DPV voltammogramlarına ait grafik	74
Şekil 55. İmmünoşensör 40 dk inkübasyon süresi için elektrotların DPV voltammogramlarına ait grafik	75
Şekil 56. İmmünoşensörün inkübasyon sürelerinin optimizasyon çalışmasına ait 20, 25, 30, 35 ve 40 dk'larda ayrı ayrı DP voltammogramlarından elde edilen akımlar.....	75
Şekil 57. CEA İmmünoşensörünün, CEA için 0,1; 0,5; 1; 5; 10 ng/mL doğırusal aralığına ait DPV voltammogramları	76
Şekil 58. CEA'ların farklı derişimleri (0,1-10 ng/mL) için kalibrasyon grafiğı	77
Şekil 59. Modifiye ve antikor/antijen kaplı yüzey görüntüleri ile hücre sayıları ve hücre serileri görüntüleri	78
Şekil 60. Sitosensörün döngüsel voltammogramları	79
Şekil 61. Sitosensörün elektrokimyasal empedans spektrumları.....	80
Şekil 62. Sitosensörün döngüsel voltammogramları	81
Şekil 63. EIS karakterizasyonuna ait empedans spektrumları.....	82
Şekil 64. Sitosensörün döngüsel voltammogramları	83
Şekil 65. Sitosensörün elektrokimyasal empedans spektrumları.....	84
Şekil 66. Sitosensörün döngüsel voltammogramları	85
Şekil 67. EIS karakterizasyonuna ait empedans spektrumları.....	86
Şekil 68. Elektrodun uzun vadeli kararlılığı	87
Şekil 69. Tüm girişimci ajanların CEA immünoşensörün yanıtlarına ait DPV voltammogramlar grafiğı.....	88

GİRİŞ

Bireysel yaşantımızın her anına dokunan bilim ve teknoloji ile büyüüp geliştirmektedir. Sanayi devrimi ile başlayan ve yıllardır artarak devam eden kentselleşme ile birlikte bilim ve teknoloji hayatımızın her alanına sirayet edip değişikliklere yol açmıştır. Bu farklılıkları hem çevre hem de tüm canlıların yaşam koşullarında gözle görülebilir şekilde gözlemleyebiliriz. Örneğin, biz insanların bir yandan yaşam konforu artarken diğer yandan da birçok sağlık problemi beraberinde gelmektedir, bu bağlamda bilim ve teknoloji birçok fayda sağlarken insanı pasifize eden bir yaşam tarzına itmektedir. Bilim ve teknolojinin eski hareketliliğinden alıkoyduğu insanoğlu bu pasifize olmuş yaşam tarzı içerisinde sağlık problemlerini de bu hayat tarzı ile birlikte getirmiştir. Günümüzde kanser bu sağlık problemlerinden birine örnek olarak verilebilir. Kanser gelişmiş olan dünya ülkelerinde değil, tüm dünya ülkelerinde büyük bir sorun haline gelmektedir. Bu bulgu ile birlikte günümüzün en heyecan verici çalışmalarının çoğunun temeli atılmıştır (Weinberg, 1996). Kanseri, hücrelerin kontrolsüz veya anormal bir şekilde büyümesi ve çoğalması olarak ifade edebiliriz (Özdem, 2021). Kanser hücrelerini sağlıklı hücrelerden ayıran en önemli özellik kontrolsüz büyümeleri ve metastaz yapmalarıdır. Kanser hücrelerinin; kontrollü hücre ölümüne direnç gösterme, büyümeyi inhibe eden faktörlerden kaçma, immün sistem hücrelerinden kaçma, çoğalmayı destekleyen sinyal mekanizmasının devamlılığı, anjiyogenezi indüklemeye, ölümsüzlüğü kazanma ve metastaz yapabilme gibi özellikleri kanserin tedavi ve tanısını zorlaştırmaktadır (Kahveci ve Laçın, 2019). Erken aşamada kanserin teşhisi ve tedavisinin belirlenmesi kanserli yapının kontrolü için son derece önem taşımaktadır (Guo vd., 2014). Kanser dokusunun tanımlanmasında immunohistokimyasal yöntemler kullanılmaktadır (Aslan, 2013; Tepeli, 2015). Bununla birlikte FISH (floresan in situ hibridizasyon), sitogenetik ve moleküler yöntemler de kullanılmaktadır.

Sonuç olarak kanser hücresinin belirlenmesinde kullanılan çoğu yöntem çok maliyetli, zaman alıcı, cihazların kullanımının karmaşıklığı, kullanımlarının merkezi veya hastane tabanlı laboratuvarların olması ve bu çalışmaları sürdürebilecek uzman personel ihtiyacı gerektirmektedir. Bu sebeplerden dolayı yüksek duyarlılıkta doğru sonuçların elde edilmesinde problemler gözlemlenebilir. Bu nedenle bilim insanları

kanserli hücreyi belirlemek için diğer yöntemlere kıyasla daha hızlı analiz eden, basit işlem ve cihaz kullanımı gerektiren, minimum miktarlarda ve hassas ölçüm yapabilen alternatif yöntemleri aramaya yönelmişlerdir (Aslan, 2013; Tepeli, 2015). Son zamanlarda yapılan araştırmalar doğrultusunda, canlıların doğal mekanizmalarından faydalanılarak oluşturulan birçok biyosensör çalışmalarının olduğu görülmektedir. Yumuşak doku kanserleri üzerine immüno-sitosensör geliştirilmesine yönelik çalışmaların da yer aldığı araştırmalar bulunmaktadır. Kanser teşhisinde genellikle; nükleik asitler, proteinler, şekerler, tüm hücreler, sitokinetik parametreler, sitogenetik parametreler ve vücut sıvılarında bulunan küçük metabolit biyobelirteçlerinin kullanımı görülür. Bu biyolojik yapılar kanser belirtici olarak kullanılmaktadır (Şenkuş, 2021). Kanser hücresine özgü ve hücre zarı üzerinde yer alan spesifik yapılar kanserin belirlenmesinde büyük önem taşımaktadır. Bu veriler ışığında, bilimsel ve teknolojik gelişmeler ile birçok kanser çeşidinin tanı ve tedavisinin daha etkin bir şekilde yapılabileceği umut edilmektedir. Analitlerin elektrokimyasal tayininde nanopartiküller sinyali artıran etkili belirleyicilerdir. Diğer yandan nanopartiküllerin metal ile modifiye edilmesi; iletkenlik özellikleri, elektrokimyasal fonksiyonları ile biyomalzeme yapılarının tasarlanmasını mümkün kılmaktadır. Sulu çözeltilerin içinde farklı biyoişaretleyicilerle kolaylıkla işaretlenebilen nanopartiküller, spesifik optik özellikleri içinde barındırmaktadır. Ayrıca nanopartiküller biyomoleküller için naturel ortamlarına benzer bir ortam sunduklarından biyo-yapıların yüzeye immobilizasyonunda nano partikül (Np)'ler fazlasıyla tercih sebebidir (Bharati vd, 2000; Xiao vd., 1999). Tüm bu kazanımlarından ötürü nanopartikül temelli biyosensör uygulamalarında Np'lerin tercihi önem kazanmaktadır. Bu partiküllerin elektrot yapısında meydana getirdiği değişimler ile daha geniş yüzey alanları temin edilerek bu biyomateryaller için en uygun bir bağlanma yüzeyi elde edilerek daha hassas bir elektrokimyasal ölçüm sonucu elde edilebilmektedir (Song vd., 2006). Fizikokimyasal özellikleri birleştirilerek elde edilen bileşenlere bu şekilde üstün vasıflar kazandırılabilir. Son zamanlarda ise grafenden daha üstün özellikler gösterebileceği öngörülerek iki boyutlu dikalkojen nanoyapıları bilim camiasında büyük ilgi çekmektedir. Wu vd., (2017)'a göre treonin ile modifiye edilmiş bir PGE kullanarak oluşturdukları mini-elektrokimyasal sistemle $3,0 \times 10^3$ ile $7,0 \times 10^6$ hücre/mL konsantrasyonlarında ölçümler almıştır. Farklı antikanser moleküllerin kanser

hücrelerindeki etkisini tespit etmek için bir sitosensör geliştirmeyi hedeflemiştir. Huang vd. 2010'a göre karbon nanotüpleri kitosan vasıtasıyla anti-CEA antikorlarıyla kaplayarak elektrokimyasal bir immünosensör geliştirmiştir (Huang vd., 2010; Wu vd, 2017). Antikorlar büyük moleküllerdir ve kimyasal olarak stabiliteleri düşüktür. Bu nedenle özellikle immünosensörün geliştirme çalışmalarında antikorların sensör yüzeylerine immobilizasyonu ciddi sorunlar doğurmaktadır. Bu nedenle antikora bağlayıcı olarak kullanılabilecek tek zincirli DNA ve RNA'lardan oluşan oligonükleotidler ile küçük peptid yapılarından oluşan aptamerler tercih edilmeye başlanmıştır. Başka bir çalışmada ise microRNA, mir21'in meme kanseri hücrelerindeki düzeyini hesaplamak için PGE yüzeyi biyotinlenmiş hedef DNA ile kaplanmıştır. Bu sayede hücre lizatlarındaki mir21 düzeyinin tespit edilmesi hedeflenmiştir (Kilic vd., 2012). Literatürde çeşitli kanser hücrelerini tespit eden PGE yapıda sensörler bulunmasına rağmen kanser hücrelerini belirleyen PGE immüno-sitosensör çalışmasına rastlanmamıştır.

1. GENEL BİLGİLER

1.1. Literatür Özeti

1.1.1. Kanser

Canlının varoluşundan beri yaşam ve ölüm hep yan yana anılmıştır. Asırlardan beri süregelen ölüm için sebep genellikle farklı hastalıklar olmuştur. Farkına varılan bu hastalıkların etkilerini en aza indirgeyebilmek amacıyla farklı yöntemlerle farklı çalışmalar gerçekleştirilmiştir.

Son yıllarda kanser, insidansı ve mortalitesi bakımından dünya genelinde hızla artan bir hastalık türüdür. Kanser türlerinin dağılımı ülkelere göre farklılık göstermektedir. Gelişmiş ve gelişmekte olan ülkelerde önemli sağlık problemlerinden biri olduğu görülmektedir (DeSantis vd., 2015). Kanserin görülme sıklığı ve çeşitliliği; coğrafi konum, tıbbi uygulama ve sağlık altyapısı, cinsiyet, çalışma ortamı, yaş ve geleneksel yaşam tarzı farklılıkları gibi birçok faktöre bağlı olarak değişim göstermektedir (Torre vd., 2015).

Canlılar, hücrenin bölünüp çoğalması ile işlevsel farklılığı olan farklılaşmış hücrelerden meydana gelmektedir. Bir hücreden meydana gelen döllenmiş yumurtanın bölünmesiyle çoğalan hücreler belirli bir işleme uğrayarak bütün bir organizmayı oluştururlar. Hücreler bölünmeye başlamadan önce belirli bir boyuta ulaşırlar. Hücreler bölünme evresinde kromozom sayılarını ilk duruma göre iki katına çıkarmış olurlar ve bu kromozonlar yavru hücrelere eşit şekilde dağıtılır. Hücrede hücre bölünme işleminin hatasız gerçekleşebilmesi için hücre döngüsü kontrol noktaları bulunmaktadır. Hücre döngüsü kontrol noktaları, bir hücrenin DNA replikasyonu gibi önemli süreçlerin tamamlanmasını sağlar (Kastan ve Bartek, 2004). Hücre döngüsü kontrol noktaları, genetik hataların yavru hücrelere aktarılmasını engeller. Üç ana hücre döngüsü kontrol noktası vardır; G1/S kontrol noktası, G2/M kontrol noktası ve iş mili montaj kontrol noktası/mitotik kontrol noktası (SAC). SAC, kromozom ayrımının doğru bir şekilde gerçekleşmesini ve mitozda metafazdan anafaza geçişte, mikrotübül kusurlarına veya hatalı bir kinetokor bağlanmasına yanıt olarak aktive edilmesini sağlar (Schwartz ve Shah, 2005; Nicklas, 1997). Hücreler ayrıca hasarlı DNA ile mitozda girdiklerinde SAC'de hapsedilir (Nitta.vd., 2004). SAC'nin

inaktivasyonu, kromozomun yanlış ayrılmasına ve anöploidiye yol açabilir (Holland ve Cleveland, 2009). G1/S ve G2/M kontrol noktaları, hasarlı veya eksik kromozomların yavru hücrelere iletilmesini önlemek için DNA hasarına yanıt olarak başlatılır. DNA hasarı kontrol noktaları, hücrelere hasarlı DNA'yı onarmak için zaman sağlar (Swift ve Golsteyn, 2016). DNA hasarı onarılamaz ise, hücreler yaşlanmayı (büyüme durması) veya hücre ölümünü başlatabilir. G1/S kontrol noktası hücrelerin hasarlı DNA'yı kopyalamasını engellerken, G2/M kontrol noktası hücrelerin hasarlı DNA ile bölünmesini önler (Kastan ve Bartek, 2004). G1/S kontrol noktası, p53 veya p21 olmadığında veya işlevsel olmadığında çalışmaz (Deng vd., 1995). Bu kontrol noktası kanser hücrelerinde genellikle kusurludur çünkü birçoğunun ya p53, pRb ya da p21'i kodlayan genlerinde mutasyonlar vardır (Schwartz ve Shah, 2005). Bu, kanser hücreleri için mevcut olan tek DNA hasarı kontrol noktasının G2/M kontrol noktası olduğu anlamına gelir (Kastan ve Bartek, 2004).

Bu genlerin herhangi birinin fonksiyonunda meydana gelen değişikliklerin bütün bir sistemi olumsuz etkileyebildiği tespit edilmiştir. Sağlıklı hücrelerde G1, S ve G2 kontrol noktaları doğru bir şekilde tamamlanmaktadır. Bu kontrol noktaları hücrelerin kontrollü çoğalmaları için önemlidir. Bu koordinasyonda oluşabilecek bir hata kromozomun bir bölümünün silinmesi ve eşit dağılmaması gibi kromozomal hastalıklara sebep olabilir.

Kanserlerde görülen çeşitli gen amplifikasyonları, delesyonlar, insersiyonlar ve nokta mutasyonları gibi farklı formlar kromozomal hastalıklarda tanımlanmıştır. Kanser türleri bulundukları dokuya veya yere göre adlandırılır (Krause ve Van Etten, 2005).

1.1.1.1. Meme Kanseri

Genellikle kanser, meydana geldiği yapı veya organdan sonra isimlendirilir. Meme kanseri, meme dokusundan kaynaklanan hücrelerin düzensiz büyümesi ve çoğalması anlamına gelmektedir. Meme kanseri, meme dokusunu oluşturan hücre gruplarının herhangi bir yerinde kontrolsüz çoğalması sonucu ortaya çıkan kanser çeşididir. Meme, glandüler dokular ve stromal dokular olmak üzere iki ana doku tipinden oluşmaktadır. Glandüler dokular süt üreten bezleri ve süt kanalları içermektedir. Stromal dokular ise memenin yağlı ve lifli bağ dokularını içermektedir.

Meme ayrıca hücrel sıvıları ve atıkları uzaklaştıran lenfatik doku-bağışıklık sistemi dokusundan meydana gelmektedir (Sharma vd., 2010). Meme kanseri, östrojen veya progesteron reseptörleri ve insan epidermal büyüme faktörü reseptörü 2 (ERBB2; eski adıyla HER2) için moleküler belirteçlerin varlığına veya yokluğuna göre 3 ana alt tipe ayrılır: Hormon reseptörü pozitif/ERBB2 negatif (hastaların %70'i), ERBB2 pozitif (%15-20) ve üçlü negatif (tüm 3 standart moleküler belirteçten yoksun tümörler; %15). Meme kanserlerinin %90'ından fazlası tanı anında metastatik değildir. Metastatik hastalığı olmayan kişiler için terapötik hedefler, tümörün yok edilmesi ve nükleus etmenin önlenmesidir. Üçlü negatif meme kanserinin tekrarlama olasılığı diğer 2 alt tipten daha fazladır, evre I üçlü negatif tümörler için 5 yıllık meme kanserine özgü sağkalım oranı %85 iken hormon reseptörü pozitif ve ERBB2 pozitif için %94 ila %99'dur (Key vd., 2001). Meme kanserinin kaynağı tam olarak bilinmemektedir. Fakat en sık görülen türü; meme kanallarından kaynaklanan “duktal” kanser olarak bilinen kanserlerdir (Baykara, 2016).

1.1.1.2. Beyin Kanser

Birçok kanser türünün tedavisinde önemli ilerlemeler kaydedilmesine rağmen, beyin tümörleri, derin ve çözülmemiş bir klinik sorun teşkil etmektedir. Diğer tümörlerin çoğunda olduğu gibi, erken teşhis ve iyileştirme, olumlu bir prognoz ile ilişkilidir (Koo vd., 2006). Beyin kanser tümör hücreleri vasküler endotelinin seçici özelliklerinde farklılaşmaya neden olabilir bununla birlikte seçici olan kan beyin bariyerinde de bozulmalara sebebiyet verebilir. Beyinde görevli hücrelerin kontrolsüz çoğalması ile oluşan tümör adı verilen kitlelerin zamanla çevre dokulara yayılım göstermesi, beyin kanseri olarak ifade edilebilir. (Meyers vd., 2012; Şimşek ve Dicle, 2013; Baykara 2016).

1.1.1.3. Mesane Kanser

Mesane, karın alt bölümünde yer alan idrarı biriktiren ve boşaltmaya yarayan dinamik bir organdır. Mesane kanseri, yüzeysel bir yerinde veya mesanenin başka bir yerinde görülmesi şeklinde karşımıza çıkar. Mesane kanseri, hastaların %70'inde tekrarlama eğiliminde olan ancak genellikle yaşamı tehdit etmeyen yüzeysel tümörler ve %30'unda uzak metastazlardan kaynaklı yüksek ölüm riski ile ilişkili kasa invaziv

hastalık olarak ortaya çıkan heterojen bir hastalıktır. Tüm mesane kanserlerinin ana başvuru semptomu ağrısız hematuridir (Kamat vd., 2016). Kanser kendini tekrarlayabilmesi durumunda hastalığın ilerlemesi de söz konusu olabilir. Bu durumun gerçekleşmesi ile kanser derinleşerek kas tabakasına ilerler ve daha da ilerleyerek mesane dışına çıkıp çevre dokulara da yayılabilir (Çitgez vd., 2020).

1.1.2. Karsino Embriyonik Antijen (CEA)

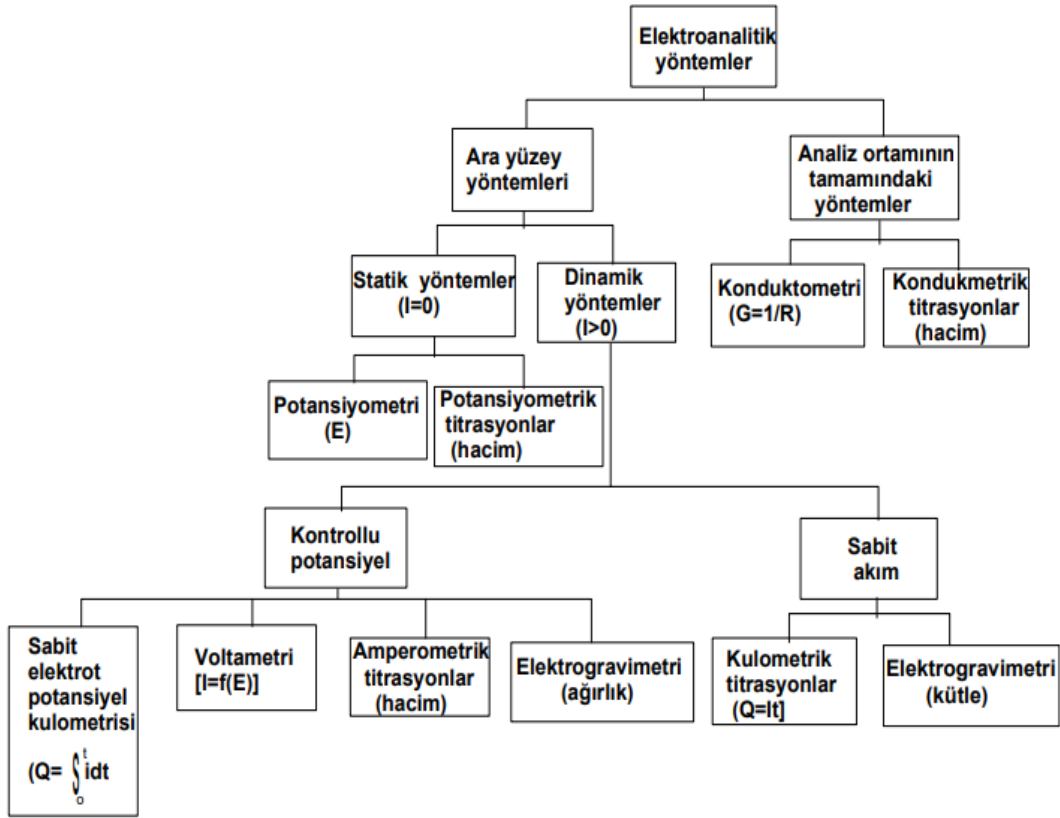
1965’de tanımlanan ilk tümör antijenlerinden biri karsinoembriyonik antijen (CEA)’dir. Karsinoembriyonik antijen immünoglobulin ailesinden bir glikoproteindir. CEA seviyesi birçok farklı neoplazi formunda mevcut olabilir. CEA meme tümörlerinde lobüler karsinomlardan ziyade duktalde daha yaygın olarak görülmektedir (Benjamin ve Lima, 2020).

Bu çalışmada, insan mesane kanseri hücre dizisi RT-4 (ACC 412), MDA-MB-231 (üçlü negatif meme adenokarsinomu), MCF-7 (östrojene duyarlı insan meme kanseri, CEA pozitif hücre) ve T98G (glioblastoma multiforme) kullanılarak karsinoembriyonik antijen (CEA) biyobelirteç tayini için bir elektrokimyasal biyosensör sunuldu. Karsinoembriyonik antijen (CEA), çeşitli tümör tiplerinin klinik teşhisi için önemli ölçüde ele alınmaktadır. Karsinoembriyonik antijen (CEA), çeşitli tümör tiplerinin klinik tanısı için önemlidir.

1.2. Elektroanalitik Yöntemler

Elektrokimya, elektrotların bulundukları konumdan hareket edebilme yeteneği sonucu ortamda oluşan bu kimyasal sürecin incelenmesi olarak ifade edilebilir. Bu süreç dahilinde elektronların ortam içindeki hareketine bağlı olarak, yükseltgenme veya indirgenme reaksiyonu olarak bilinen bir tepkimede elektronların bir elementten diğerine hareketleriyle üretilen yanıt elektrik denir. Elektroanalitik kimya, çözeltilerin elektrokimyasal bir hücrede yapıların elektriksel davranışlarını ve iletken ara yüzeyler arasındaki elektrik enerjisi ile kimyasal tepkimeler arasındaki ilişkileri inceleyen analitik kimyanın önemli bir bilim dalıdır. Hedeflenen yapıların elektrokimyasal özelliklerini analiz etmek için kullanılan bu yöntemlere de elektroanalitik yöntemler denir. Elektroanalitik yöntemler, bir elektrokimyasal hücredeki analit çözeltisinin elektrokimyasal özelliklerini ve redoks tepkime

basamağının türünü eş zamanlı olarak tanımlayabilmektedir. Elektroanalitik yöntemlerin diğer yöntemlere göre maliyetinin daha uygun olması ve kullanım durumunun daha yaygın olması elektroanalitik yöntemlerin ayırıcı özelliklerindendir (Aslan, 2013). Üstelik elektroanalitik yöntemler, çevrenin ve endüstriyel malzemelerin takip edilmesinde ve bilimsel birçok çalışma alanında kullanılmaktadır. Elektroanalitik yöntemlerin sınıflandırılmasının şematik gösterimi Şekil 1’de verilmiştir (SKOOG vd., 1998). Elektroanalitik yöntemler, Şekil 1’de görüldüğü gibi analiz ortamının tamamında ve ara yüzeyinde gerçekleşen yöntemler olarak iki ana başlık altında açıklanabilir. Analiz ortamının tamamındaki gerçekleşen yöntemler çözeltinin tamamında meydana gelen olayları incelemek için oluşturulmuştur. Diğer yöntem olan ara yüzey yöntemleri ise elektrotun yüzeyi ile elektrot yüzeyinde mevcut konumdaki tabakada eşit olarak dağılmış olan karışım arasında gerçekleşen olayları inceler. Bu yöntemler, ortamda oluşan akımın varlığına ya da yokluğuna bağlı olarak statik ve hareketli olmak üzere iki gruba ayrılır. Bu çalışmada kullanılan yöntemlerin hızlarının ve seçiciliklerinin farklılıkları bulunmaktadır. Akımın önemli görüldüğü dinamik yöntemleri elektroanalitik kimyada daha çok kullanım alanına sahip olduğu görülebilir (Aslan, 2019).



Şekil 1. Elektroanalitik yöntemlerin sınıflandırılması

1.2.1. Voltammetri

Voltammetri, bir potansiyel değişikliği ile ortaya çıkan akımın ölçülmesi ve hedef analit hakkında verilerin elde edilmesinde kullanılan elektro-analitik bir yöntem olarak ifade edilebilir (Grieshaber vd., 2008).

1.2.1.1. Dönüşümlü Voltammetri (CV)

Dönüşümlü voltammetri (CV), elektroaktif yüzeylerle ilgili elektrokimyasal özellikleri incelemek için kullanılan bir elektrokimyasal tekniktir. CV, redoks reaksiyonlarının mekanizmalarının, bir reaksiyonun tersinirliğinin ve çözeltideki bir elektroaktif türün elektron transfer kinetiğinin anlaşılmasını sağlayan çok yönlü bir elektrokimyasal yöntemdir (Manea, 2014; Hameed, 2016). CV, termodinamik redoks prosesleri, heterojen elektron transfer reaksiyonlarının kinetiği ve birleştirilmiş kimyasal reaksiyonlar veya adsorpsiyon prosesleri hakkında hızlı bilgi sağlar (Aristov 2015). Her tür uygulamada elektrot malzemesini karakterize etmek için yapılan en önde gelen elektrokimyasal deneydir (Manea, 2014).

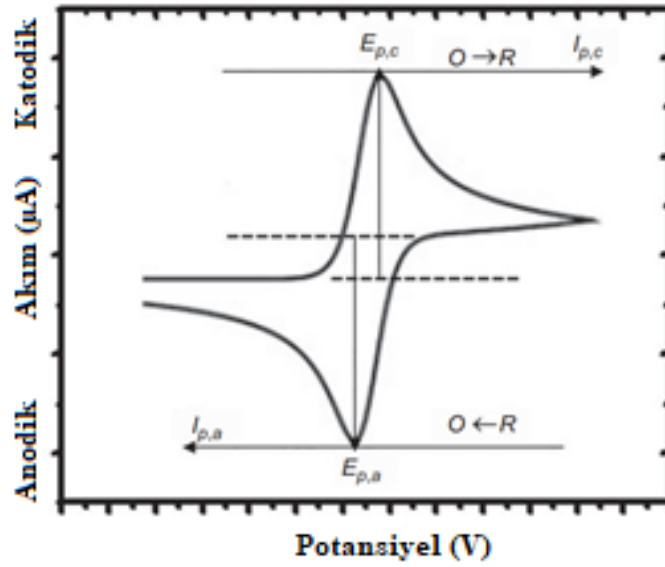
CV deneyi, çalışma elektrodunda (WE) taranan potansiyel ile referans elektroda (RE) göre üç elektrotlu bir düzenleme kullanır (Aristov, 2015; Manea, 2014; Hameed, 2016). Genellikle potansiyel, üçgen bir potansiyel dalga formu kullanılarak birkaç mV s^{-1} ila birkaç V s^{-1} mertebesinde sabit bir hızda iki uç değer arasındaki zamanla doğrusal olarak ileri ve geri taranır (Brownson vd., 2014). Potansiyel ileri ve geri tarandıkça, elektrottan analiti oksitleyen veya azaltan bir akım akar ve WE ile karşı elektrot arasındaki akım (I) ölçülür. Daha sonra döngüsel voltammogramını elde etmek için potansiyele karşı çizilir. Döngüsel voltammogramın dikkatli analizi ile analitin oksidasyon ve indirgeme potansiyelleri ve elektrokimyasal reaksiyonda yer alan türlerin difüzyon katsayıları da bulunabilir.

Şekil 2’de, elektrokimyasal olarak tersinir ve difüzyon kontrollü redoks işlemi için tipik bir döngüsel voltammogramı gösterilmiştir (Hameed, 2016). CV'deki önemli parametreler, anodik ve katodik tepe akımları ($I_{p,c}$ ve $I_{p,a}$) ve karşılık gelen tepe potansiyelleridir ($E_{p,c}$ ve $E_{p,a}$) (Hameed, 2016). Uluslararası Temel ve Uygulamalı Kimya Birliği (IUPAC) sözleşmesine göre anodik akım pozitif, katodik akım ise negatiftir. Pik akımı için ifade, 25°C 'de RandlesSevcik ifadesi ile şu şekilde verilir:

$$I_p = (2,69 \times 10^5)^{3/2} A C D^{1/2} V^{1/2} \quad (1)$$

Burada I_p , A'daki tepe akımıdır; n, redoks reaksiyonunda yer alan elektronların sayısıdır; A, cm^2 cinsinden elektrot alanıdır; D, $\text{cm}^2 \text{s}^{-1}$ cinsinden difüzyon katsayısıdır; C, mol cm^{-3} cinsinden elektroaktif türlerin toplu konsantrasyonu; ve V, V s^{-1} 'deki tarama hızıdır. Potansiyel eksenlerdeki (E_p) tepe noktalarının konumu, redoks işleminin denge potansiyeli ile ilgilidir. Tersinir bir çift için denge potansiyeli, Denklem 'de verildiği gibi E_{pa} ve E_{pc} arasındadır.

$$E^0 = \frac{(E_{pa} - E_{pc})}{2} \quad (2)$$



Şekil 2. Elektrokimyasal olarak tersinir ve difüzyon kontrollü redoks işlemi için tipik bir döngüsel voltammogram

Aktarılan elektronların sayısını belirlemek için kullanılabilen ve bir Nerst davranışı için gerekçe olarak kullanılabilen bir tersinir çift için tepe potansiyelleri arasındaki fark denklem 'de verilmiştir.

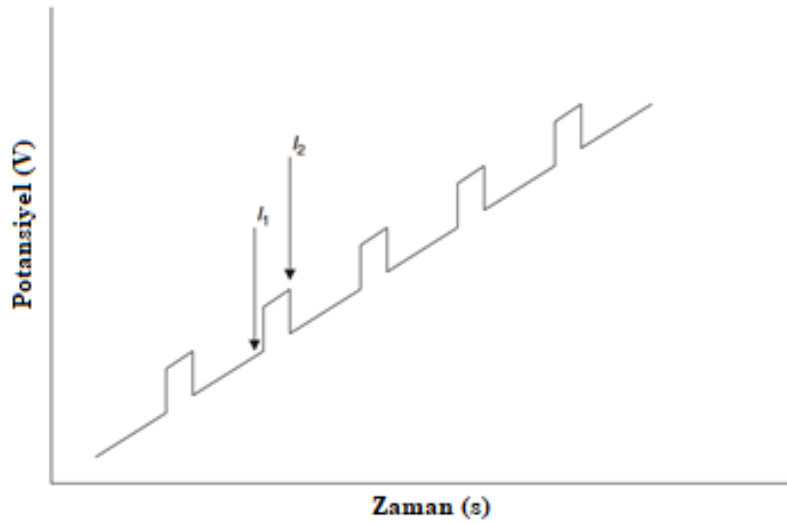
$$\Delta E_p = E_{pa} - E_{pc} = 0,059nV \quad (3)$$

CV ölçümü; ilaçları, herbisitleri, böcek öldürücüleri, gıda katkı maddelerini ve kirleticileri analiz etmek için nanomalzemelerin elektrokimyasal karakterizasyonunda yaygın olarak kullanılmaktadır.

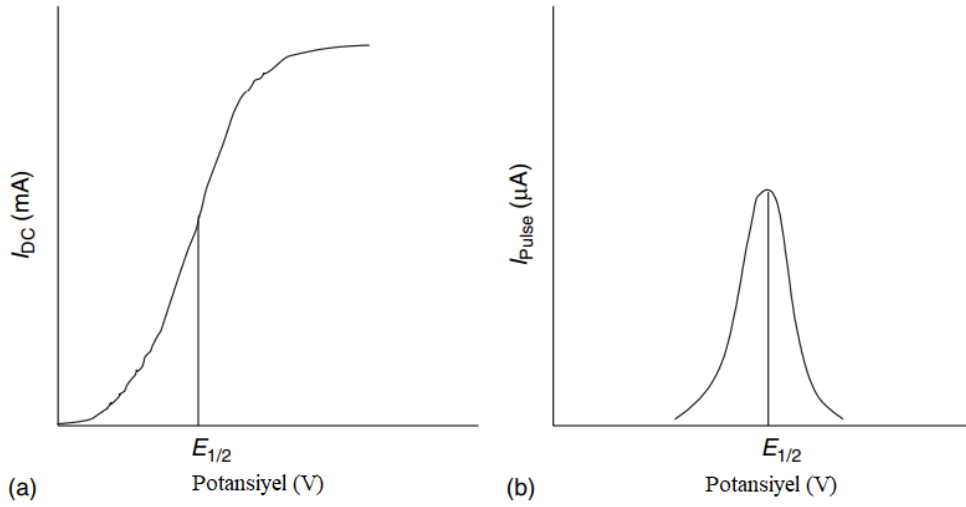
1.2.1.2. Differansiyel Puls Voltammetrisi (DPV)

Diferansiyel puls voltammetrisinde (DPV), Şekil 3'de gösterildiği gibi sınırlı genliğe sahip kısa darbeler ($t = 10-100 \text{ ms}$) ($\Delta E = 1-100 \text{ mV}$) lineer olarak artan bir DC rampasına eklenir (Parry vd. 1965; Vassos vd. 1973; Christie ve Osteryoung 1976; Krause 1969). Bu, puls akımının yanı sıra, eğimli DC rampası nedeniyle bir DC akımının da elde edildiği anlamına gelir. Pratik olarak akım, bir puls uygulanmadan önce (I_1) ve puls uygulandıktan sonra (I_2) ölçülür. İlk akım DC rampasına atfedilirken, $I_2 - I_1$ farkı potansiyel pulsun akımını yansıtır. Puls akımının elde edilen voltammogramları, Şekil 4'de gösterilen bir şekle sahiptir (Parry vd. 1965). Şekil 4a'da

lineer taramalı, dönüşümlü veya normal puls voltammetride elde edilen ortak voltammogram gösterilirken, Şekil 4b'de diferansiyel puls voltammogram gösterilmektedir. Diferansiyel puls voltammetrisindeki sinyal, iki sinyal (pulstan hemen önceki sinyal ve pulsun sonundaki sinyal) arasındaki farkın sonucudur. Bu nedenle, Şekil 4a'da pulsların ortak voltammogramının küçük bir kısmını kapsadığı ve voltammetrik dalganın bükülme noktasında I_2 ve I_1 arasındaki farkın maksimumunun elde edileceği görülebilir. Bu nokta yarım dalga potansiyeline karşılık gelir; bu nedenle, DPV'deki tepe potansiyeli, öngörülen oksidasyon veya indirgeme reaksiyonunun yarım dalga potansiyeli ile aynıdır. Diferansiyel darbe voltammetrisinde elde edilen tipik algılama limitleri $1 \times 10^{-8} \text{ mol l}^{-1}$, çözme kapasitesi 40mV ve ayırma kapasitesi $1 \times 10^5/1$ 'dir.



Şekil 3. Diferansiyel puls voltammetrisinde uygulanan potansiyelin değişim profili



Şekil 4. Diferansiyel puls voltammetrisinde elektrik akımı sinyali grafiği (a) uygulanan ve doğrusal artan DC rampasından kaynaklanan DC akımı sinyali ve (b) potansiyel pulsların uygulanmasından kaynaklanan sinyal

1.2.2. Voltammetride Kullanılan Elektrot Yapıları

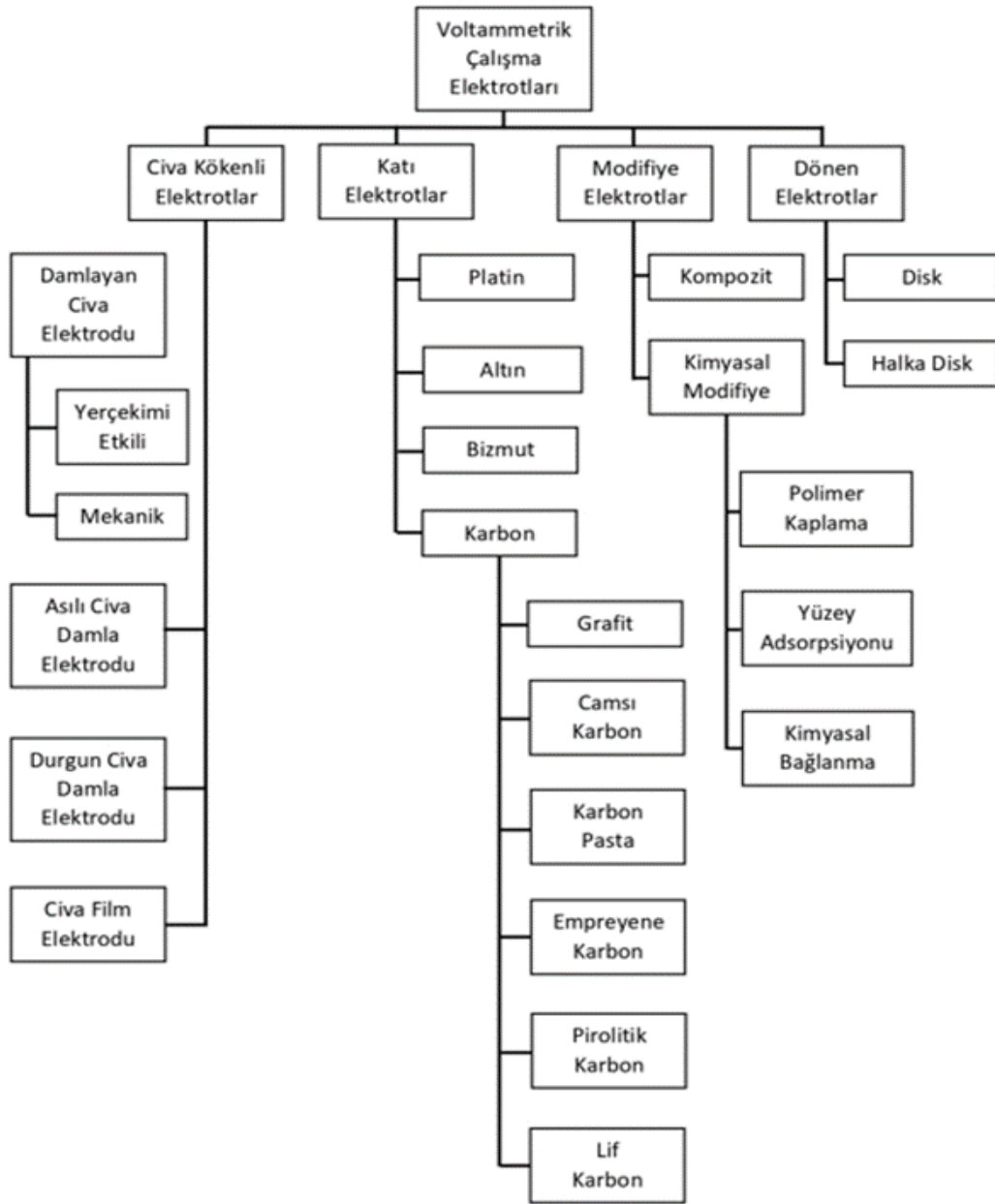
1.2.2.1. Çalışma Elektrotları

Çalışma elektrodu (WE), bir elektrokimyasal hücrenin en önemli bileşenini temsil eder. En çok ilgi çeken elektron transferleri WE ile çözüm arasındaki arayüzde gerçekleşir. Bir çalışma elektrotu malzemesinin seçimi deneysel başarı için çok önemlidir. Bu bağlamda birkaç önemli faktör dikkate alınmalıdır. İlk olarak, malzeme, elektrot kirlenmesi olmadan ideal olarak hızlı, tekrarlanabilir elektron transferi ile analit ile uygun redoks davranışı sergilemelidir. İkinci olarak, belirli bir elektrolit çözeltisinde elektrotun üzerinde gerçekleştirdiği potansiyel pencere, en yüksek derecede analit karakterizasyonuna izin vermek için mümkün olduğunca geniş olmalıdır. Ek olarak, malzemenin maliyetini, işlenebilme veya faydalı biçimlere dönüştürülebilme özelliğini, bir ölçümün ardından yüzey yenileme kolaylığını ve toksisiteyi içermektedir (Lovric, 2002).

Analitik voltammetride analit genellikle bir elektrolit çözeltisi içinde çözülür ve hem oksitlenmiş hem de indirgenmiş formlar çözeltide çözünür olduğunda buna elektrokimyada redoks elektrotu denir. En basit durumda elektrot, elektrolit çözeltisine daldırılmış metalik bir iletkenidir. Elektrot yüzeyinde, çözünmüş elektro aktif iyonlar, iletken ile bir veya daha fazla elektron değiştirerek yüklerini değiştirir. Bu

elektrokimyasal reaksiyonda, hem indirgenmiş hem de oksitlenmiş iyonlar çözeltide kalırken, iletken kimyasal olarak inerttir ve yalnızca elektron kaynağı ve havuzu olarak hizmet eder. Elektrot teknik terimi genellikle iletkeni destekleyen tüm mekanik parçaları da içerir (örneğin, dönen bir disk elektrotu veya statik cıva damlalı elektrot) ayrıca; iletkenin veya yüzeyinin tüm kimyasal ve fiziksel modifikasyonlarını içerir (örneğin, bir cıva film elektrotu, bir enzim elektrotu, bir karbon elektrotu, vb.). Ancak bu terim, elektrolit çözeltisini ve elektrot/çözelti ara yüzeyindeki bir çift katmanın iyonik kısmını kapsamaz (Lovric, 2002).

Voltammetri elektrotları genellikle katı ve sıvı metallere (Bockris ve Khan, 1993; Heyrovsky ve Kuta, 1966) veya karbondan (Kinoshita 1988) yapılırlar. Daha az sıklıkla metal oksitler veya polimerler kullanılır (Gerischer, 1997). Birincil metalik iletken, ikincil bir iletkenin ince bir filmi (örneğin, cıva veya oksitler ve polimerler) (Dobhofer, 1994) veya altın altlıklar üzerindeki tiyoller gibi kovalent olarak bağlı yabancı atomlar veya moleküllerden oluşan bir tek tabaka ile kaplanabilir. Bunlara kimyasal olarak değiştirilmiş elektrotlar denir. Elektrot yüzeyinin kimyasal hazırlığı, ölçümden önce, ayrı bir prosedürde veya analitik protokolün ayrılmaz bir parçası olarak yerinde gerçekleştirilebilir. Voltammetrik yöntemlerde çalışma elektrotlarında polarlanmanın olabilmesi için küçük yüzey alanına sahip olması istenmektedir. Mikro elektrotların kullanılması ile numunedeki elektroaktif türlerin daha azı elektrokimyasal tepkimeye girererek elektrotların bileşimleri sabit kalır. Böylelikle aynı numunenin defalarca voltammogramı alınabilmektedir. Şekil 5’de voltammetride kullanılan elektrotlarının sınıflandırılması gösterilmiştir (Tural vd. 2003).



Şekil 5. Voltammetride kullanılan elektrotların sınıflandırılması

1.2.2.1.1. Katı Elektrotlar

Katı elektrotlar, metalden oluşan (platin, altın vb.), karbon kökenli elektrotlar (bor karbür, grafit, camımsı karbon, empreyene (gömme) karbon, pirolitik grafit ve karbon pasta gibi) veya bir katı elektrot üzerine kaplanmış film elektrotlardır (Tural vd., 2003).

Altın ve platin elektrotların genel özellikleri benzerdir (Schmid ve Curley-Fiorino, 1975). Altın elektrotların elektroanalitik uygulamasına bir örnek cıva izlerinin

belirlenmesidir (Brainina ve Neyman, 1993). Gümüş elektrotlar, halojenlerin ve sülfürün sıyırma voltammetrisi için kullanılabilir. Elektroanalizde sadece sporadik olarak kullanılan diğer metaller rodyum, paladyum, germanyum, galyum ve kurşundur. Platin ve altın elektrotlar yüksek saflığa sahip metallerden yapılır. Voltammetrik tekniklerde katı elektrot olarak en çok platin kullanılmaktadır. Platin ve altın elektrot doğrudan kullanıldığı gibi, yüzeyi değişik kimyasal işlemlerden geçirilerek de kullanılabilir. Altın, belli bir derişime kadar oksijeni soğurmadığı için, bazı çalışmalarda platine göre daha iyi bir elektrot malzemesidir.

Karbon elektrotlar, geniş bir anodik potansiyel aralığına, düşük elektriksel dirence, düşük akıma ve tekrarlanabilir yüzey yapısına sahiptirler. Bu elektrotlar, spektral saflıkta grafit, camsı karbon, sıvı veya katı bağlayıcı grafit tozu, karbon lifleri ve yüksek oranda yönlendirilmiş pirolitik grafit gibi çeşitli malzemelerden yapılır (Kinoshita, 1988; Tunçel vd., 1996). Gözenekleri doldurmak ve böylece arka plan akımını azaltmak için grafit çubuklar parafin ile emprenye edilmelidir. Çubuğun dairesel yüzeyi parlatılır ve disk elektrot olarak kullanılır. Camsı karbon, önceden modellenmiş bir polimerik reçinenin, 300°C'den artan sıcaklıklarda ve 1200°C'de bitirme sıcaklıklarında atmosfer ortamında çok yavaş karbonizasyonuyla üretilir. Malzeme makroskopik olarak izotropiktir ve mevcut gözenekler sıkıca kapatıldığı için görünüşte gözeneksizdir. Çapraz bağlı grafit benzeri tabakalardan oluşur. Camsı karbon silindirin tabanı ayna cilası ile parlatılır ve silindir, sabit veya dönen bir disk elektrotu oluşturmak için yalıtkan bir malzeme ile sıkıca oturan bir tüp içinde kapatılır (Wang, 1994; Rusling, 1984; Thornton vd., 1985; Hu vd., 1985; Taylor vd., 1973; Wang ve Hutchins, 1985; Evans ve Kuwana, 1977; Stutts vd., 1983; Wightman vd., 1984; Fagan vd., 1985; Hershenhart vd., 1984; Cox vd., 1988; Shearer vd., 1972; Tjaden vd., 1976; Ozkan vd., 1988; Senturk vd., 1988; Yılmaz ve Biryol, 1988; Ozkan vd., 2000). Karbon fiberler, polimer tekstillerin yüksek sıcaklıkta pirolizi ile üretilir. 5 - 20 µm çapındaki elyaf, cam kapiler içinde epoksi reçine ile kapatılır ve mikro elektrot olarak kullanılır.

1.2.2.1.2. Modifiye Elektrotlar

Voltammetride kullanılan elektrotların çalışma koşullarının sınırlı olmasından dolayı elektrotların kimyasal ya da elektrokimyasal nitelikleri değiştirilerek modifiye elektrotlar geliştirilir. Modifiye yüzeylere sahip elektrotları hazırlamak için pek çok farklı deneysel yaklaşım olduğundan, kimyasal olarak modifiye edilmiş bir elektrotun tanımını vermek zordur. En yaygın olanı, metalik bir iletkenin yüzeyine belirli bir bileşiğin veya belirli bir kimyasal grubun eklenmesine dayanan yöntemlerdir (Labuda, 1992). Bu bileşiklere değiştiriciler denir (Downard, 2000). Görevleri, bir analit ile kimyasal olarak reaksiyona girmek ve elektrot reaksiyonunu modifiye etmektir.

1.2.2.2. Referans Elektrotlar

Çoğu elektrokimyasal ölçümde, elektrokimyasal hücredeki elektrotlardan birinin sabit bir potansiyelde tutulması gerekir. Referans elektrot, çalışan bir elektrotun potansiyelinin (örneğin voltammetride) veya bir gösterge elektrotunun kontrolüne izin verir. Standart hidrojen elektrodu, elektrokimyasal cihazlarda temel bir referans elemanı rolünü oynar; ancak pratikte bu durumun gerçekleşmesi zordur. Bu nedenle, çoğu deneyde ikincil referans elektrotları tercih edilir. İkincil bir referans elektrot şu kriterleri karşılamalıdır: (i) Kimyasal ve elektrokimyasal olarak tersinir olmalıdır, yani potansiyeli Nernst denklemi tarafından yönetilir ve zamanla değişmez; (ii) Elektrottan küçük bir akım geçtiğinde ve bu kadar küçük bir akım akışından sonra orijinal değerine geri döndüğünde potansiyel hemen hemen sabit kalmalıdır (yani polarize olmayan bir elektrot); ve (iii) Potansiyelin termal katsayısı küçük olmalıdır. Tüm bu özellikleri aynı ölçüde sunan bir referans elektrot bulunmamakla birlikte, bazı elektrotlar bu ideal davranışa çok yakındır. Genel olarak, ikincil referans elektrotları ikinci türden elektrotlardır, yani bu metalin bir tuzunun bir çözünürlük dengesine ve az çözünür metal tuzunun sabit bir anyon konsantrasyonunu içeren bir elektrolit çözeltisine bağlanan metal elektrotlardır. Bu tür elektrotlara ek olarak, bazı özel durumlar için başka referans sistemleri de mevcuttur. Referans elektrotun, elektrokimyasal sistemde kullanılan aynı elektrolit çözeltisine yerleştirilebilmesi ideal olacaktır (Scholz, 2010).

1.2.2.3. Yardımcı (Karşıt) Elektrotlar

Potansiyel, tanım gereği, doğrudan ölçülebilen bir şey değildir. Bunun yerine, uygulanan potansiyelin ölçümü, önce bir referans noktasının oluşturulmasını ve bu referans noktasına göre bireysel potansiyellerin ölçülmesini gerektirir. Bu, hücreye referans elektrot adı verilen ikinci bir elektrot yerleştirilerek ve iki elektrot arasındaki enerji farkı olarak potansiyel ölçülerek gerçekleştirilir. Referans elektrotlar, iyi tanımlanmış aktivite değerlerinde bulunan, zamanla ve değişen sıcaklıkla kararlı olan yarı hücre bileşenleri kullanılarak oluşturulmalıdır. Sabit, tekrarlanabilir elektrot potansiyellerine sahip olmalıdırlar. Çoğumuzun aşına olduğu referans yarı hücre, birim aktivitede hidrojen iyonları içeren bir çözeltiye daldırılmış, üzerine hidrojen gazının adsorbe edildiği, platin gibi atıl bir katıdan oluşan standart hidrojen elektrotudur (SHE). İki elektrotlu sistemlerdeki polarlanmayan elektrot, üzerinden akım geçtiği için, yüksek akımlarda polarlanır. Ayrıca çözelti direnci yüksek ise bu direnci yenmek için gerekli olan potansiyel (IR) önemli bir düzeye çıkar. Bu iki nedenden dolayı çalışma elektrodunun polarizasyon potansiyeli hatalı okunabilir. Bunun sonucu olarak $i = f(E)$ eğrileri yatıklaşırlar ve belirli bir noktadan sonra pikler kaybolur (Tunçel vd., 1996). Bu sorun, sistemde üçüncü bir elektrot kullanılarak çözümlenir.

1.2.3. Elektrokimyasal İmpedans Spektroskopisi

Elektrokimya, elektron transferini içeren tüm heterojen kimyasal reaksiyonları, elektrot yüzeylerindeki reaksiyonları etkileyen homojen reaksiyonları, ara yüzeylerin özelliklerini (çift tabaka) ve elektrolitlerin yığın özelliklerini kapsayan bir disiplindir. Elektrokimyasal reaksiyonlar, enerji dönüşümü ve depolaması, korozyon, sensörler ve biyosensör uygulamalarının yanı sıra alüminyum ve klor gibi ticari malzemelerin üretimi dahil olmak üzere çeşitli araştırma alanlarının temelinde yer almaktadır. Döngüsel voltammetri, kronoamperometri ve kronopotansiyometri, taramalı elektrokimyasal mikroskopi ve elektrokimyasal empedans spektroskopisi (EIS) gibi çeşitli elektrokimyasal tekniklerin geliştirilmesi, bu reaksiyonların geniş uygulama alanlarında çalışılabilmesi için gereklidir. Bu tekniklerin her biri, enstrümantasyon ve modellemedeki gelişmelerin bir sonucu olarak son yıllarda önemli ilerleme göstermiştir (Bard ve Faulkner, 2001; Orazem ve Tribollet, 2017).

Elektrokimyasal empedans spektroskopisi (EIS), malzemelerin özelliklerini ve elektrot reaksiyonlarını araştırmak için güçlü bir araçtır. EIS'nin pil performansına, metal ve alaşım korozyonuna ve elektrokimyasal biyosensörlere uygulamaları çokça vurgulanmıştır. Elektrokimyasal empedans ölçümleri, hem araştırılan mekanizmaya hem de elektrot geometrisi gibi dışsal parametrelere bağlıdır.

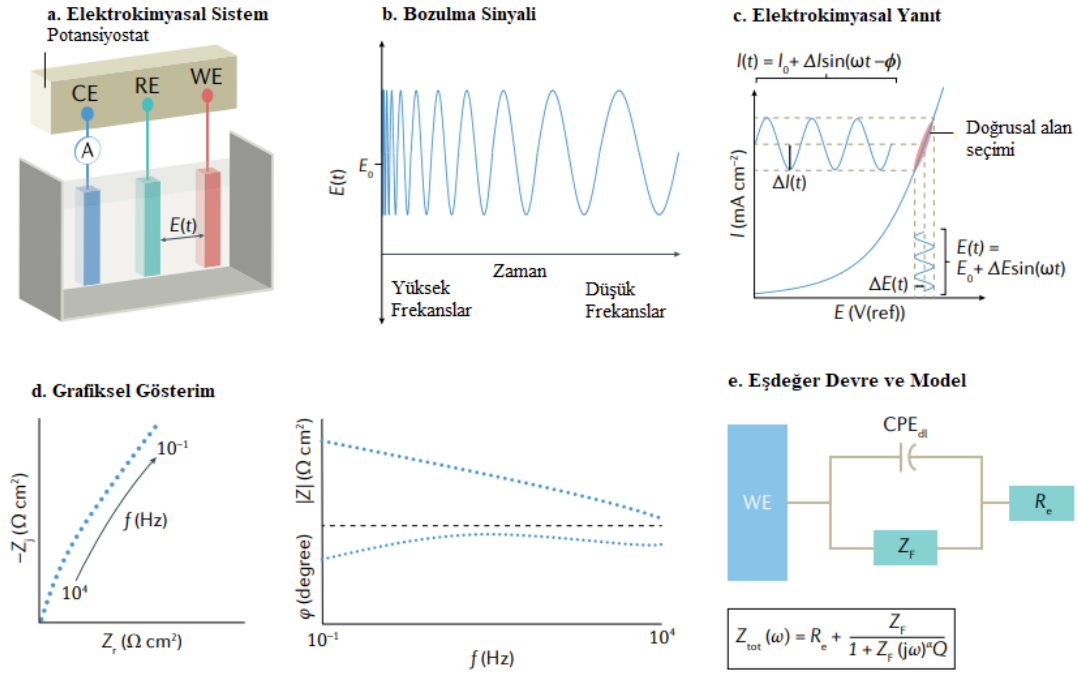
Bir elektrot-elektrolit ara yüzeyindeki bir elektrokimyasal reaksiyon, her biri farklı hızlarda meydana gelen bir dizi çok aşamalı prosese (kütle taşınımı, yük transfer prosesleri, adsorpsiyon) ayrıştırılabilir. Bireysel adımlar zamana bağlıdır ve farklı zaman ölçeklerinde ortaya çıkabilir. Bu nedenle, elektrokimyasal sistemlerin değerlendirilmesini kolaylaştırmak için, seçilen frekanslarda toplanan elektrokimyasal sistemin yanıtına (akım veya potansiyel) dayalı zamana bağlı mekanizmaların analizini sağlayan EIS gibi tekniklerin kullanılması gerekmektedir. EIS tekniği, elektriksel bir arayüzde meydana gelen elektrokimyasal mekanizmaların tek bir ölçümde anlaşılmasını sağladığı için geniş çapta uygulanabilir. Bu temel mekanizmalar arasında ticari pillerin çalıştırılması, metallerin ve alaşımların korozyonu ve elektrokimyasal biyosensörler yer alır.

EIS tekniğinin tarihsel gelişimine bakıldığında 19. yüzyılın ortalarında alternatif akım kullanan ilk elektrolit iletkenlik ölçümünden (Kohlrausch ve Nippoldt, 1869; Kohlrausch, 1873) arayüzey kapasitans ölçümüne (Wien, 1869) kadar değişim gösterdiği görülmektedir. EIS, ilk potansiyostatlar ve dönen disk elektrotu gibi aletlerin geliştirilmesinden yararlanmıştır. Potansiyostatlar, denge redoks potansiyelinde bir elektrotta atıfta bulunulan çalışma elektrotu potansiyelinin kontrolünü sağlar ve dönen disk elektrot, reaktanların ve ürünlerin elektrot yüzeyine iyi bir şekilde taşınmasını sağlar. Elektrokimyasal reaksiyonların varlığında veya yokluğunda gözenek geometrisinin bir fonksiyonu olarak empedans yanıtını tanımlayan gözenekli elektrotlar için matematiksel modellerin geliştirilmesi, karmaşık elektrokimyasal sistemlerin daha iyi anlaşılmasını sağlamıştır (de Levie, 1963). EIS ayrıca elektrot yüzeylerinde ara adsorpsiyonun, özellikle adsorbe edilmiş reaksiyon ara ürünleri ile birleştirilen elektrokimyasal reaksiyonlar, homojen veya heterojen kimyasal reaksiyonlarla birleştirilmiş elektrokimyasal reaksiyonlar ve fotoelektrokimyasal reaksiyonlar dahil olmak üzere çok aşamalı mekanizmaların daha iyi anlaşılmasını sağlamıştır.

EIS, doğrusal, zamanla değişmeyen sistemlerin analizinde yaygın olarak kullanılan bir tür transfer fonksiyonu ölçümüdür (Orazem, 2017). Bir elektrokimyasal sistem durumunda, ana zorluk, sistemin ölçüm boyunca sabit bir durumda kalması gerektiğidir. EIS, Şekil 6'da gösterildiği gibi, elektrokimyasal sistemi farklı frekanslarda uyarmak için küçük genlikli bir potansiyel veya akım kullanır (Orazem, 2017). Sistemin bu bozulmaya tepkisi (akım veya potansiyel) ölçülerek, bir elektrokimyasal hücre durumunda sistemin elektrokimyasal empedansı olan bir transfer fonksiyonu hesaplanır. Empedans, Z , şu şekilde ifade edilebilir:

$$Z(\omega) = \frac{\tilde{V}(\omega)}{\tilde{I}(\omega)} = \left| \frac{\tilde{V}(\omega)}{\tilde{I}(\omega)} \right| (\cos\phi(\omega) + j\sin\phi(\omega)) = Z_r + jZ_j \quad (4)$$

Burada ω , f frekansına (Hertz cinsinden) $\omega = 2\pi f$ ile bağlı açısal frekanstır, ϕ giriş ve çıkış sinyalleri arasındaki faz açısıdır ve $j = -1$ sanal sayıdır. $\sim V$ ve $\sim I$ değişkenleri, sinüsoidal bir fonksiyonun genliğini ve fazını açıklayan karmaşık zamanla değişmeyen sayılar olan fazörlerdir. Denklem ile tanımlandığı gibi elektrokimyasal empedans, gerçek kısmı Z_r , frekansa bağlı bir direnç ve sanal kısmı Z_j , frekansa bağlı bir reaktans olan, karmaşık bir sayıdır. Genellikle gerçek kısmı Z' ve sanal kısmı Z'' ile gösterilmektedir. Ayrıca gerçek kısmın 'r' alt indisi ile gösterilmesi ve sanal kısmın 'j' alt indisi ile gösterilmesi sıkça kullanılmaktadır.



Şekil 6. Bir EIS ölçümü almak için gerekli adımlar

Şekil 6a. Bir çalışma elektrotu (WE), bir karşı elektrot (CE) ve bir referans elektrotu (RE) içeren bir elektrokimyasal sistemi ifade eder. Potansiyel $E(t)$, çalışma ve referans elektrot arasına uygulanır ve ortaya çıkan akım (I) ölçülür. Şekil 6b,c. bu örnekte, WE ve RE arasında yüksek frekanslardan düşük frekanslara amplitüdlü (AE) bir periyodik pertürbasyon sinyali uygulanır ve bu pertürbasyona verilen elektrokimyasal tepki lineer alanda ölçülür. Şekil 6d,e. Empedans verileri genellikle Nyquist veya Bode temsillerinde sunulur ve faradaik empedans, ZF için bir anlam çıkarmak için incelenen sistemin mekanik bir yorumunun kullanıldığı eşdeğer bir devre ile temsil edilebilir. (α , CPE ile ilişkili parametre; ω , açısal frekans; CPE_{dl} , çift katmanlı sabit fazlı eleman; EIS, elektrokimyasal empedans spektroskopisi; f , frekans; ϕ , faz açısı; Q , CPE ile ilişkili parametre; R_e , omik direnç; Z_j , empedansın sanal kısmı; Z_r , empedansın gerçek kısmı ifade eder).

EIS ölçümleri, incelenen sistemin doğrusal, kararlı ve nedensel olduğu varsayımları altında türetilen Kramers Kronig ilişkilerine uyacak şekilde tasarlanmalıdır. Uygun bir sinyal-gürültü oranı ile doğrusal bir yanıt elde etmek için gereken pertürbasyon genliği, çalışılan her sistem için genellikle deneysel olarak belirlenir. Potansiyostatik modülasyon için tipik bir genlik 10 mV civarında

olabilsede, yüksek dirençli yağlama sıvılarının empedans tepkisi için 1 V kadar büyük genlikler kullanılabilir.

1.3. Biyosensör

Yaşamakta olduğumuz her an bir canlının gözle görülebilir veya direkt gözle görülemeyen mikroskop yardımıyla görülebilen yaşama dair gizli silahlarını keşfetmekteyiz. Canlının doğasında var olan canlıya özgü bilinen ve bilinmeyen birçok savunma mekanizması bulunmaktadır. Örneğin, köpeklerin koku alma duyularının insanlardan 100.000 kat daha güçlü olması, yılan balıklarının tonlarca su içerisine birkaç damla ilave edilen yabancı maddeyi hızla algılamaları, kelebeklerinin eşlerinin yaydığı birkaç molekülü hissetmeleri, alglerin ise zehirli maddelere karşı hassas duyarlılık göstermeleri gibi (Tüylek, 2021). Bilim insanları tarafından keşfedilen bu mekanizmalar bir biyosensörün oluşturulmasında önemli bir basamaktır. Biyosensör ile ilgili çalışmalar 1950'lerin ortalarına kadar dayanmaktadır (Keskin ve Arslan, 2020). Clark ve Lyons'un kandaki glukoz miktarını bir elektrot yardımı ile ölçmeyi başarmışlardır (Kougianos, 2006; Kirsch vd., 2013). Elde edilen veriler neticesinde yeni bir cihaz geliştirilmiştir. Bu cihaz yüksek özellikli biyolojik sistem ve seçici tayin duyarlılığı olan fiziksel bir sistemi içeren iki önemli sistemin birleştirilmesi ile oluşturulmuştur. Bu cihazlar taşınabilir, düşük maliyetli ve biyosensörde özgüllüğüne sahip olması kullanımını geleneksel tekniklere göre güçlü bir alternatif haline gelmektedir (Velasco-Garcia ve Mottram, 2003). Bu özellikleri ile geniş bir uygulama alanında kendine yer edinmiştir. Biyosensör hedef analit yapının derişimi kullanılarak ölçülebilir bir sinyal elde edebilmek amacıyla biyolojik algılayıcı ve fiziksel dönüştürücü ile birleştirilmiş cihazlardır (Kougianos, 2006). Biyolojik materyal tayin edilecek bileşen ile etkileşime girer. Elektrokimyasal optik, kalorimetrik özelliklerdeki dönüştürücüler kullanılarak anlamlı sinyaller oluşturulur ve analitin tayini gerçekleştirilir.

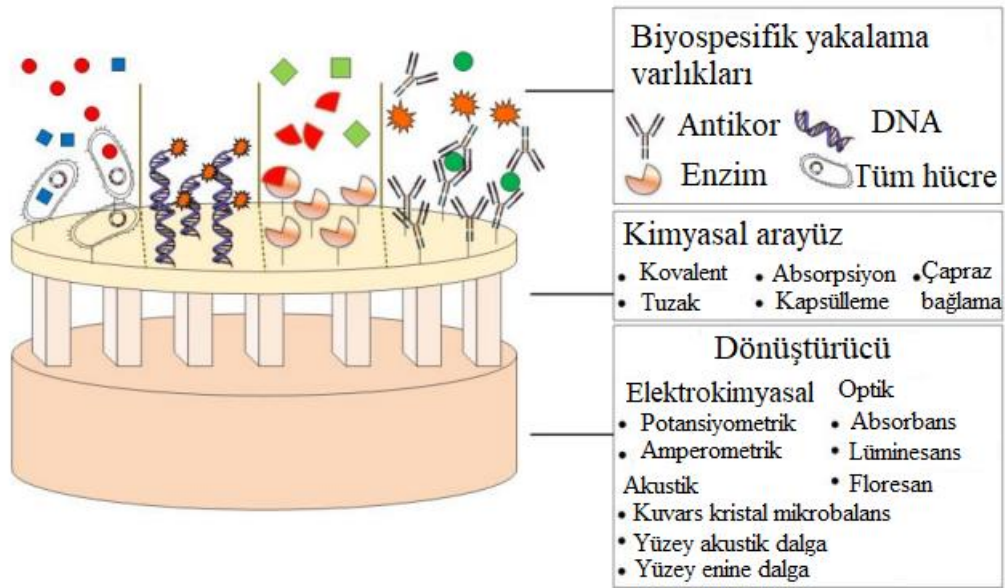
1.3.1. Biyosensör Tanımı

Biyosensör, hedeflenen analit ile spesifik olarak etkileşime giren uygun bir biyoreseptör arasındaki etkileşimi ile oluşan kimyasal bir tepkimenin sinyal çeviriciler yardımı ile elektriksel sinyallere dönüştürüldüğü analitik bir cihaz olarak tanımlanır.

Daha genel bir ifade ile biyosensörler; ortamdaki moleküllerin varlığını ya da aktivitesini biyolojik moleküllerin yardımıyla saptayan cihazlar olarak tanımlanmaktadır (Kougianos, 2006; Su vd., 2011).

1.3.2. Biyosensör Yapısı

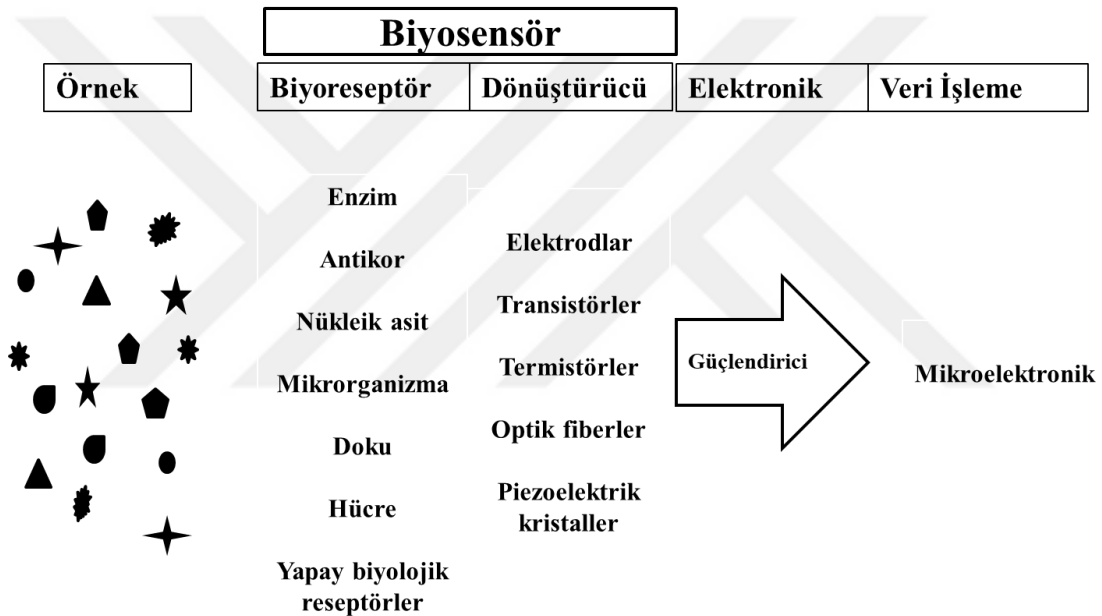
Bir biyosensörün genel yapısı 3 temel birleşenden meydana gelmektedir. Bunlar, reaksiyon sırasında hedeflenen analiti tanıma kapasitesine sahip bir biyobileşen (biyoreseptör), biyolojik veya kimyasal reaksiyondaki biyobileşen ve analitin etkileşimi sonucu oluşan sinyali elektronik sinyale dönüştüren bir çevirici (transduser) ve oluşan bu sinyallerin işlenebildiği elektronik bölümlerinden oluşmaktadır (Bhalla vd., 2016; Song vd., 2021). Analit, bir ortamda tespit edilmesi hedeflenen bir madde olarak bilinmektedir. Biyoreseptör, hedeflenen analiti tanıyan ve etkileşime girebilen bir molekül yapısıdır. Enzimleri, hücreleri, deoksiribonükleik asit (DNA) ve antikor yapılarını biyoreseptöre örnek olarak verebilir. Biyo-tanıma, hedef analit ile biyoreseptörün etkileşiminin ışık, ısı, pH veya kütle değişimi gibi farklı etkenler ile sinyallerin oluşum sürecidir. Bir biyosensördeki dönüştürücü, biyolojik veya kimyasal reaksiyon süresince tepkimeyi ölçülebilir bir sinyale dönüştürmesidir. Genel bir biyosensörün yapısı, Şekil 7'de gösterilmektedir (Harpaz vd., 2017).



Şekil 7. Bir biyosensörün genel yapısı

1.3.3. Bir Biyosensörün Çalışma Mekanizması

Bir biyosensörün algılayıcı yüzey tabakası ile hedef analit arasında biyolojik veya kimyasal bir etkileşim sonucunda tepkime gerçekleşir. Bu tepkime ile analit biyoreseptöre bağlanarak ortamda bulunan substratın tükenmesi mikro-çevrede bir elektrokimyasal değişime neden olur. Cihazda bulunan çevirici birim ortamda gerçekleşen bu değişimi algılar ve elektriksel sinyale çevirir. Elde edilen bu sinyaller elektronik bölüm tarafından okunur ve yorumlanabilir verilere dönüştürülür. Şekil 8’de bir biyosensörün çalışma mekanizması gösterilmektedir (Biswas vd., 2017; Velasco-Garcia ve Mottram, 2003).



Şekil 8. Bir biyosensörün çalışma mekanizması

1.3.4. İdeal Bir Biyosensörün Özellikleri

Her biyosensörün sahip olması gereken belirli statik ve dinamik özellikler vardır. Bu özellikler biyosensörün performansını etkileyebilir (Bhalla vd., 2016).

1.3.4.1. Seçicilik

Seçicilik bir biyosensörü oluşturan önemli özelliklerden biridir (Hall, 1990). Seçicilik özelliği, ortamda bulunan birçok madde içerisinden tanımlanması istenen analiti tespit edebilme yeteneğidir. Sensörün analit konsantrasyonundaki birim değişime verdiği tepki olarak da ifade edilebilir (Wilson, 2005). Örneğin, kanda tespit

edilmesi gereken bir anijenin yani analitin antikör yani biyoreseptör ile etkileşim olayı bu durum için örnek gösterilebilir (Nikhil vd., 2016).

1.3.4.2. Tekrarlanabilirlik

Tekrarlanabilirlik, bir biyosensörün birden fazla deneysel süreçte aynı yanıtları üretebilme yeteneğidir (Nikhil vd., 2016). Yeniden üretilebilir sinyaller, bir biyosensörün güvenilirliğini ve sağlamlığını gösterebilir (Kılınç vd., 1996; Özer vd., 2014).

1.3.4.3. Hassasiyet

Hassasiyet, bir numunenin her ölçümünde sensörün benzer sonuçlar çıkarabilmesi biyosensörün doğruluğunu ve gerçek değere yakın bir ortalama değer sağlama yeteğini gösterir (Keskin ve Arslan, 2020).

1.3.4.4. Kararlılık

Kararlılık, bir biyosensörün önemli özelliklerinden biridir. Numune içerisinden hedeflenen maddenin tespiti sağlanırken, biyosensörün çevresel etkenlere karşı biyoalgılama sisteminin gösterdiği kararlılığıdır. Bu etkiler, biyosensörün ölçümü sırasında çıkış sinyallerinde sapmalara neden olabilir. Bu durum biyosensörün kesinliğini ve doğruluğunu olumsuz yönde etkileyebilir (Nikhil vd., 2016; (Wilson, 2005).

1.3.4.5. Duyarlılık

Bir biyosensör tarafından hedeflenen analitin minimum analiz miktarı, onun tespit limitini (LOD) veya hassasiyetini tanımlar. Bir analiti tespit etmek için bir biyosensör gereklidir (Keskin ve Arslan, 2020). Bir biyosensörün yüksek duyarlılığa sahip olması beklenmektedir.

1.3.4.6. Doğrusallık

Doğrusallık, matematiksel ifadesi $y = mc$ olarak formalize edilen, doğrusal çizgi üzerinde ölçülen sinyallerin doğruluğunu gösterir; formülde c, analitin konsantrasyonu, y ifadesi ise çıkış sinyalini simgelemektedir. Biyosensörün duyarlılığı

ise m harfi ile gösterilmektedir. Doğrusallık, biyosensörün yanıtında gerekli olan analitin konsantrasyonundaki en küçük değişikliği ve test edilen analitin konsantrasyon aralığı ile ilişkilendirilebilir (Keskin ve Arslan, 2020; Nikhil vd., 2016).

1.3.5. Biyosensörlerin Sınıflandırılması

Biyosensörler iki farklı şekilde sınıflandırılabilir. Birincisi kullanılan dönüştürücü tipine göre, ikincisi biyoreseptör tipine göre sınıflandırma yapılabilir.

1.3.5.1. Biyosensörlerin Dönüştürücü Tipine Göre Sınıflandırılması

Biyosensörler dönüştürücü tipine göre dört gruba ayrılabilir. Tablo 1’de dönüştürücüler kısaca verilmiştir. Bunlar; optik, kalorimetrik, piezoelektrik ve elektrokimyasal biyosensörlerdir (Pejcic vd., 2006).

Tablo 1. Biyosensörlerin dönüştürücü tipine göre sınıflandırılması

Biyosensörler	Sınıflandırma
Optik	• Fotometri Esaslı Biyosensörler (Optik Lifler) • Fluorometri Esaslı Biyosensörler (Optik Lifler) • Biyoluminesans Esaslı Biyosensörler (Optik Lifler)
Kalorimetrik	• Termistörler (Isı, İzotermal, İzoperibol)
Piezoelektrik	• Piezoelektrik Kristaller
Elektrokimyasal	• Amperometrik Esaslı Biyosensörler (Elektrotlar) • Potansiyometrik Esaslı Biyosensörler (Elektrotlar) • Yarıiletken Esaslı Biyosensörler (Transistörler)

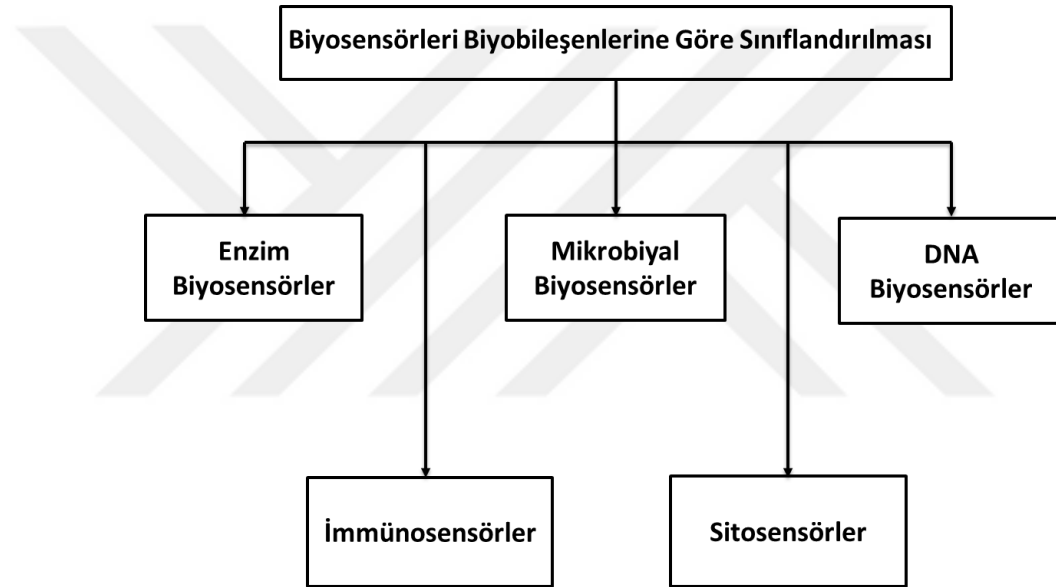
1.3.5.1.1. Elektrokimyasal Biyosensörler

Elektrokimyasal biyosensörler basit, taşınabilir, hızlı, seçici ve yüksek duyarlılıkta olmaları nedeniyle termal, optik, piezoelektrik biyosensörlere göre oldukça geniş bir yelpazede uygulama alanına sahiptir. Elektrokimyasal biyosensörlerin oluşturulmasında genellikle altın, gümüş, karbon veya platinden elde edilen elektrotlar tercih edilmektedir. Elektrokimyasal biyosensörlere amperometrik, potansiyometrik, kondüktometrik biyosensörler örnek olarak verilebilir.

Elektrokimyasal biyosensörler, düşük tespit limiti, özgüllük, yapım ve kullanım kolaylığı gibi avantajlar sundukları için en kapsamlı araştırılan biyosensörlerdir (Ronkainen vd., 2010).

1.3.5.2. Biyosensörlerin Biyobileşene Göre Sınıflandırılması

Biyosensörlerin oluşturulmasında enzimler, nükleik asitler, antikorlar, doku ve organeller, nükleik asitler, mikroorganizmalar gibi çeşitli biyobileşenler kullanılmaktadır. Biyosensörler biyobileşenlerine göre Şekil 9’da verildiği gibi beş alt grupta incelenebilir.

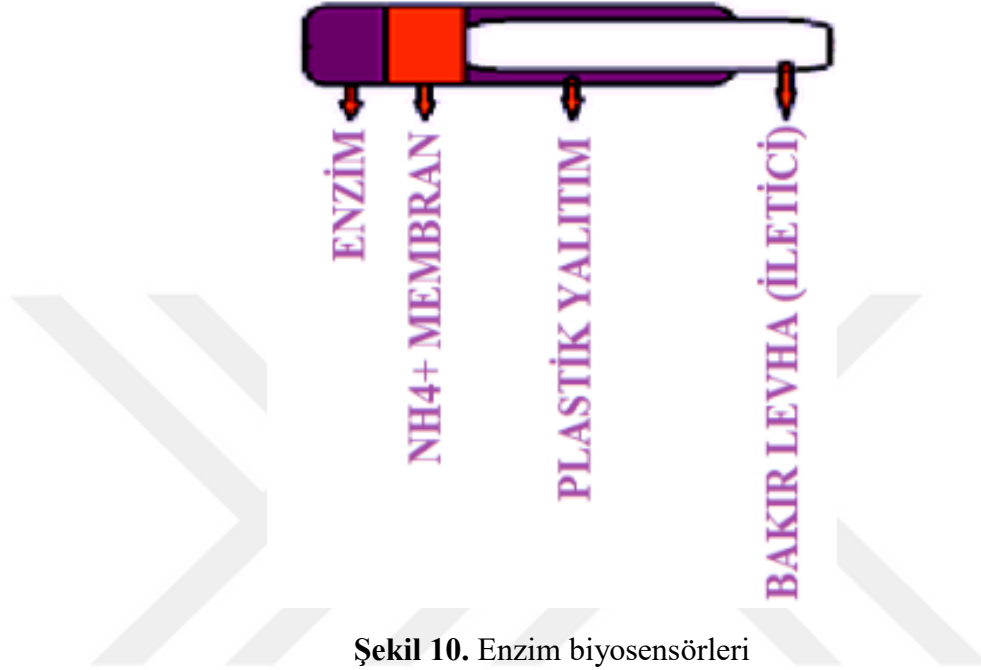


Şekil 9. Biyosensörlerin biyobileşene göre sınıflandırılması

1.3.5.2.1. Enzim Biyosensörler

Biyosensörlerde yaygın olarak kullanılan biyolojik bileşenlerden biri enzimlerdir (Mar vd., 2002). Enzimler, katalize ettikleri çok sayıda reaksiyonu, çeşitli katalitik aktivitenin substratlarını, ürünlerini ve inhibitörlerini tespit edebilmesi gibi nedenler ile tercih edilmektedir. Enzimler doğal proteinlerdir. Kimyasal reaksiyonlarla karşılaştırıldığında oldukça seçici ve hassastırlar, diğer bir özelliği farklı transdüksiyon mekanizmaları ile kombinasyonu ile kullanılabilir. Enzimin kararlılığı ise biyosensörün ömrünü belirleyen etkenlerden biridir. Enzimatik olarak katalize edilen bir reaksiyonda, diğer molekülün ortamda olmasını gerektirir. Bu moleküller kofaktör

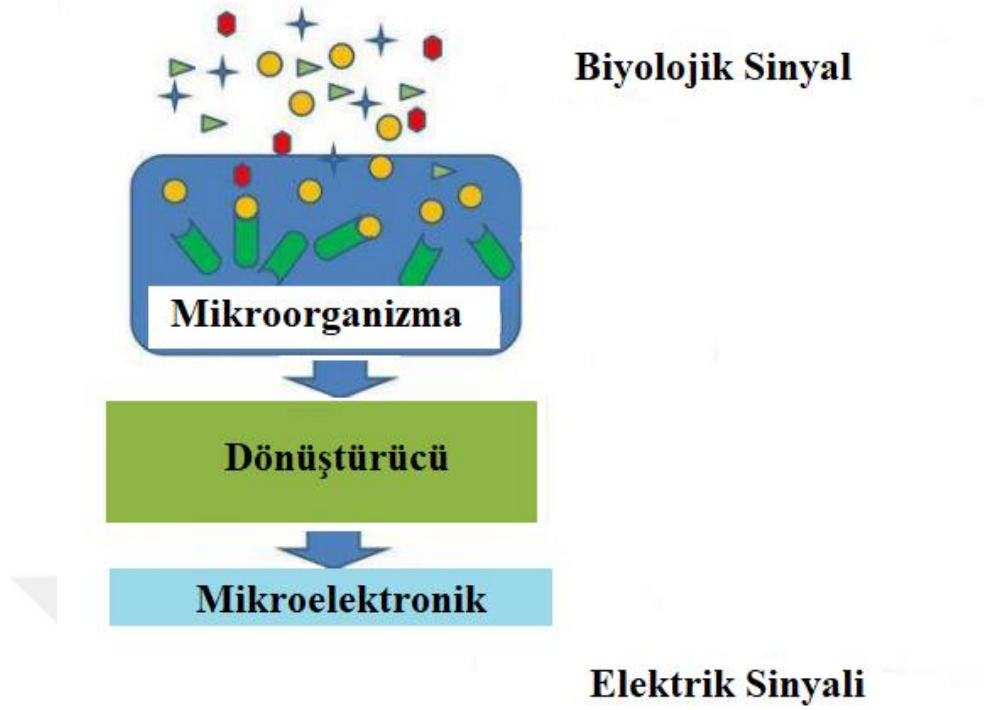
olarak adlandırılan inorganik iyonlar veya kompleks organik moleküllerden oluşabilir. Enzimatik biyosensörler, sinyalin numunedeki analitin konsantrasyonuyla ilişkilendirilebileceği bir kimyasal dönüştürücünün kullanımına dayanmaktadır. Şekil 10’da enzim biyosensörünün genel görünümü verilmiştir (Tüylek, 2017).



Şekil 10. Enzim biyosensörleri

1.3.5.2.2. Mikrobiyal Biyosensörler

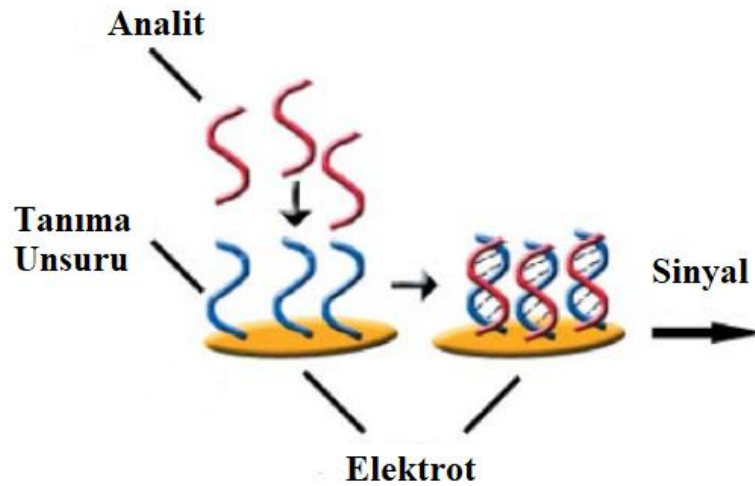
Mikrobiyal biyosensör diğer adıyla mikroorganizma bazlı biyosensörler, analitin konsantrasyonu ile orantılı olarak ölçülebilir bir sinyal üretmek için mikroorganizmaları fiziksel bir dönüştürücü ile bütünleştirilmiş analitik bir cihaz olarak ifade edilebilir. Günümüzde çevre, gıda ve biyomedikal uygulamalarda mikrobiyal biyosensörler çokça tercih edilmektedir. Bu durum yeni keşiflere ve beraberinde farklı tekniklerin tartışılması ile başlayan voltammetri, mikrobiyal yakıt hücresi, floresan, biyoluminesans temelli mikrobiyal biyosensörlerin üretimine yönlendirmiştir (Alhadrami, 2017). Şekil 11’de mikrobiyal biyosensörün şematik gösterimi verilmiştir (Balootaki ve Hassanshahian 2014).



Şekil 11. Mikrobiyal biyosensörün şematik gösterimi

1.3.5.2.3. DNA Biyosensörler (Genosensörler)

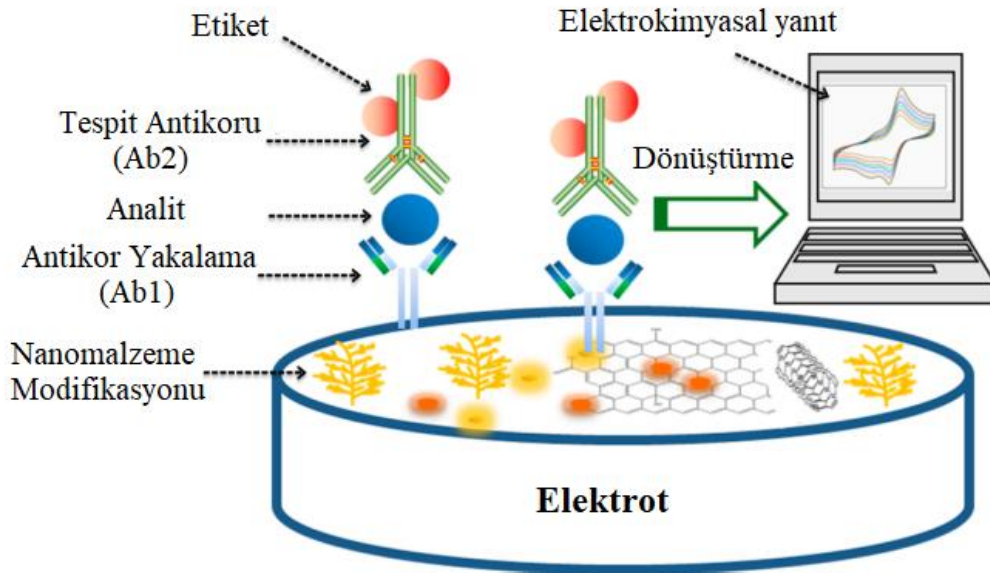
Elektrokimyasal DNA biyosensörleri, DNA'nın yapısında bulunan bir baz çiftinin (adenin timin ve sitozin-guanin) belirlenmesinde kullanılmaktadır. DNA biyosensörler genetik hastalıkların teşhisinde, biyolojik türlerin tespitinde uygun aday biyosensörler olarak kabul görmektedir (Monoşık vd., 2012). Şekil 12'de DNA biyosensörü (Genosensörler) görünümü verilmiştir (Monoşık vd., 2012).



Şekil 12. DNA biyosensörü (Genosensörler) görünümü

1.3.5.2.4. İmmünosensörler

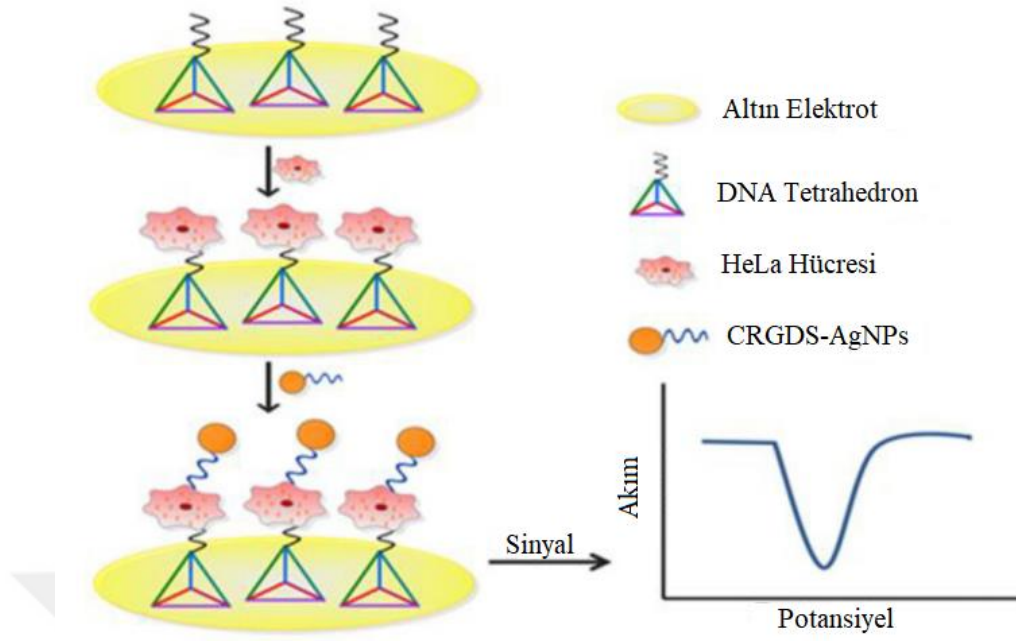
İmmünosensörler, biyosensörlerin büyük bir alt sınıfını oluşturmaktadır. Bu immüno-biyosensör yapıları katı bir destek üzerinde sabitleştirilmiş antijen-antikorları içermektedir. Sonuç olarak, katı-sıvı arayüzünde bir antijen ve antikor etkileşimi meydana gelir. İmmünosensörlerin tercih edilmesinin en önemli nedenleri, hassasiyetleri ve seçici olmasıdır. İmmünosensöre en popüler örnek gebelik testidir. İmmünosensörler, makro ve mikromolekül yapılarını tespit etmek için çokça tercih edilmektedir (Alhadrami, 2017; Rogers, 2000). Şekil 13’de İmmünosensörün şematik bir gösterimi verilmiştir (Zhang vd., 2019).



Şekil 13. İmmünosensörün şematik bir gösterimi

1.3.5.2.5. Sitosensörler (Cytosensor)

Hücre tabanlı elektrokimyasal biyosensörler, canlı hücreyi biyospesifik algılama bileşeni olarak kullanan ve canlı hücreyi uygun mikro-ortam koşullarında, fizyolojik parametreyi tanıma ve hücreler arasındaki etkileşim ile hücrenin kantitatif analizi için elektriksel sinyallere dönüştürebilen bir tür sensördür (Kaur vd., 2018). Şekil 14’de sitosensörün (Cytosensor) şematik gösterimi verilmiştir (Meng vd., 2016).



Şekil 14. Sitosensörün (Cytosensor) şematik gösterimi

1.3.6. Biyosensörün Kullanım Alanları

1.3.6.1. Gıda Endüstrisi

Günümüzde kullandığımız gıdaların kalitesinin ve güvenliğinin sağlanmasında, gıda endüstrisine büyük sorumluluk düşmektedir. Geçmişten günümüze kadar gıdaların güvenliğini ve kalitesini test etmek için birçok geleneksel ve kimyasal yöntemler kullanılmıştır. Geleneksel yöntemlerin yorucu, zaman alıcı ve maliyetli olması alternatif bir yöntem olan biyosensörlere yönelim sağlamıştır. Biyosensörlerin verimli, seçici, kısa sürede yanıt vermesi ve uygun maliyetli olması tercih haline getirmektedir. Örneğin, araştırmacılar tarafından biranın yaşlanmasını izlemek için bir biyosensör olan kobalt ftalosiyaninden faydalanılmıştır (Singh vd., 2021).

1.3.6.2. Tıp Bilimleri

Diabetik hastaların glukoz seviyelerinin belirlenmesinde uzmanlık gerektirmeyen evde kullanım kolaylığı olan biyosensörlerden faydalanılmaktadır. Dünya genelinde giderek artan kardiyovasküler hastalıklar ve kalp yetmezliği, birçok canlının ölümüne sebebiyet vermektedir. Kalp rahatsızlıklarını tespit ederek hayat

kurtarmada etkili olan elektrokimyasal biyosensörler verimli ve uygun maliyetli oluşu ile tercih edilmektedir. Bir diğer floresan bazlı elektrokimyasal biyosensörler, kanser hastalarında enzim seviyelerinin takibi için kullanılmıştır (Singh vd., 2021).

1.3.6.3. Savunma Sanayi

Gelişmekte olan bilim ve teknoloji ile birlikte yaşadığımız çağda savaş alanlarında da bakteri, virüs, toksin gibi biyolojik savaş ajanları kullanılmaktadır. Elektrokimyasal biyosensörler, biyolojik savaş ajanları yüksek hassasiyet ve seçicilikle tespit etmek için etkin bir şekilde kullanılabilir (Singh vd., 2021).

1.3.6.4. Çevre

Çevre kirliliği insan sağlığı üzerinde etkisi nedeniyle yaşam kalitesini bozabilir. Hedef analitlerin hem nicel hem de nitel tespiti için amaca bağlı olarak duyarlı ve seçici yöntemlere ihtiyaç vardır. Biyosensörler, kimyasal ajanların, organik kirleticilerin, potansiyel olarak toksik elementlerin ve sağlık tehlikesi oluşturabilecek patojenlerin tespiti için çevresel izlemede yaygın bir kullanım bulmuştur. İmmünosensörler, aptasensörler, genosensörler ve enzimatik biyosensörler gibi biyosensörler, çevresel izleme için en çok tercih edilenler arasındadır. Bunların biyolojik reseptörler olarak antikorları, aptamerleri, nükleik asitleri ve enzimleri kullandığı bilinmektedir. Örneğin, organofosfat ve karbamat gibi pestisitleri tespit etmek ve bunların çevre üzerindeki etkilerini izlemek için biyosensörler geliştirilmiştir. Biyosensörler, renk, ışık, floresan veya elektrik akımını ölçerek kirleticileri tespit eder (Justino vd., 2017; Nigam ve Shukla, 2015).

1.3.6.5. Metabolik Mühendisliği ve Bitki Biyolojisi

Metabolik mühendislik, mikroorganizmaların kimyasallar, yakıtlar ve farmasötikler üretmek için kullanıldığı alanlardan biridir. Metabolik mühendislik, sürdürülebilir kalkınma yolunda önemli bir adımdır. Biyosensörler, metabolizma sürecini izleyebildikleri ve kontrollü kimyasal ve yakıt üretimine yardımcı oldukları için metabolik mühendislikte önemlidir. DNA'nın görüntülenmesi ve dizilenmesi, bitki bilimi alanında devrim meydana getirdi. Geleneksel olarak, enzimleri, reseptörleri, taşıyıcıları ve substratları izlemek için spektroskopik yöntemler

kullanılmaktadır. Biyosensörlerin geliştirilmesi, bu tür süreçlerin izlenmesine yardımcı olmakla birlikte hızlı ve etkilidir. Elektrokimyasal biyosensörler, pH seviyesinin bir bitki türü üzerindeki etkisini izlemeye yardımcı olmuş ve genetik mühendisliğinde hayati bir rol oynamıştır (Zhu vd., 2021).

1.4. Nanoteknoloji

Günümüzde hayatın pek çok alanında ihtiyaçlarımızı karşılamak ve yaşantımızı kolaylaştırmak için bilim ve teknoloji kullanılmaktadır. Bilim ve teknolojinin yardımı ile yeni buluş ve icatlar geliştirilmektedir. Nanoteknoloji bu gelişmelerin oluşturulmasında bir araç olarak kullanılmaktadır (Küçükyıldırım ve Akdoğan Eker, 2012). Nanoteknolojinin yardımı ile istenilen malzemenin boyutunun küçültülmesi ve özelliklerinin geliştirtirilmesi sağlanılabilir. Başka bir deyişle Nanoteknoloji, istenilen malzemede atomik ölçekte gerçekleştirilen işleme teknolojisidir. Nanoteknoloji terim olarak ilk kez 1974'te Tokyo Üniversitesinde Norio Taniguch tarafından kullanılmıştır (Ramsden, 2018). Nanoteknoloji o dönemlerde revaçta olmayan bir konu olmasına rağmen kendi alanlarında isim yapmış birçok bilim insanının çalışmalarına yön vermiştir. Nanoteknoloji kullanılarak malzeme üzerinde farklı boyutta, fiziksel, kimyasal ve biyolojik özelliklere sahip metrenin milyarda bir biriminde çalışılarak geliştirilmiş malzeme ortaya çıkartılabilir (Perker, 2010; Küçükyıldırım ve Akdoğan Eker, 2012).

1.4.1. Nanomalzeme

İnsanlığın başlangıcından günümüze kadar kullanmış olduğumuz birçok malzeme ve aygıtlar hacimsel olarak büyük boyutlu yapılardan oluşmaktadır (Tüylek, 2016). Bu büyük boyutlu malzemelerden farklı ve daha geliştirilmiş özellikler içeren nano yapılı malzemeler nanomalzeme olarak ifade edilmektedir. Nanomalzemeleri oluşturabilmek için günümüzde kullanılan geleneksel yöntemler ile birlikte farklı teknolojik üretim yöntemleri de kullanılmaktadır. Günümüzde nanoteknoloji alanında kullanılan farklı üretim yöntemleri ile geliştirilen yeni fiziksel, kimyasal ve biyolojik özelliklere sahip yapılar oluşturulmaktadır. Bir malzemenin oluşturulmasında öncelikli olarak doğada var olan çoğu yapı bilim insanları tarafından incelenir. Yapılan bilimsel ve teknolojik çalışmalar doğrultusunda elde edilen veriler incelenerek

yapıların özellikleri hakkında bilgi elde edilmeye çalışılır. Bilim insanlarının ulaştığı veriler doğrultusunda ihtiyaca göre yapı üzerinde yeni düzenlenmeler yapılarak farklı yapılara sahip malzemeler ortaya çıkartılır. Yapılan bu incelemeler ile doğada var olan birçok canlının yapı ve hücre işlevi gözlemlenilmiştir. Elde edilen sonuçlar ile yeni nanomalzemeler üretilmiştir. Nanoteknoloji alanında yapılan çalışmalar ile nanomalzemeye yönelim görülmektedir. Nanomalzemeye olan bu yönelim ile daha kullanışlı, kaliteli ve maliyeti uygun küçük ürünler ortaya çıkarılmaktadır.

Bir nanomalzeme içeriği en az bir tane malzemeden oluşmaktadır (Wu vd., 2020). Nanomalzemelerin işlenebilir özelliği sayesinde olağanüstü yüzey alanları elde edilebilir (Baig vd., 2021). Nanomalzemeler birbirinden farklı manyetik, elektriksel, optik, mekanik ve katalitik özellikler kullanılarak elde edilebilir. Nanomalzemenin boyutu, şekli, sentez koşulları ve işlev durumu uygun şekilde kontrolü sağlanarak ayarlanılabilir.

1.4.2. Nanoparçacık

Nanoteknoloji alanında kullanılan ve boyutları 10-100 nm aralığında değişkenlik gösteren malzemeler nanoparçacık veya nano yapılar olarak ifade edilmektedir (Mohanraj ve Chen, 2007). Nano yapılar, küçük boyutu ve hedeflenebilir özellikleri ile birçok alanda ilgi görmektedir (Navalakhe ve Nandedkar, 2007). Nano yapılar insan hücre boyutundan 100-10.000 kat daha küçüktür. Bu özelliği nano yapının biyomoleküler; enzimler reseptör yapılar ile etkileşimini kolaylaştırır. Nano yapılar vücudun farklı bölgelerine ulaşarak gözle görülemeyecek hastalıkları tespit etme ve tedavi sunma potansiyeli taşımaktadır. Nanoparçacık kullanılarak hastalığın gidişatı hakkında detaylı bilgiyi sağlayan klinik çalışmalar yürütülmektedir.

Nanoparçacıklar; metaller (altın, gümüş), metaloksitler (örneğin; titanyum dioksit (TiO_2), silikon dioksit (SiO_2)), inorganik malzemeler (karbon nanotüpler, kuantum noktaları (Quantum Dot (QD)), polimerik malzemeler ve lipidlerden oluşturulabilir. Nanoteknolojide kullanılan diğer araçlar nanokristaller, cantilever, dendrimerler, nanokabuklar (NanoShell) ve nanoteller (Nanowire (NW)) içerir. Bu yapılar ile elde edilen ürünler, teşhis ve tedavi amaçlı çalışmalar için kullanılabilir. Bu doğrultuda nano yapılar için nanomalzemenin temelini oluşturduğu söylenebilir.

1.4.3. Yapılarda Kullanılan Nanomalzemeler ve Kullanım Amaçları

Nanobilimi, yaklaşık 1-100 nm arasında nano ölçekteki malzemeleri ve iki ve üç boyutlu moleküler düzeydeki temel yapı taşlarını birleştirerek iyi tanımlanmış nanoyapılar veya nanomalzemeler üzerinde yapılan çalışmaları içerir. Nanopartiküller genel olarak iki ana grup altında ele alınmaktadır. Bunlar: Karbon nanotüpler veya fullerener gibi karbon bazlı malzemeler inorganik nanopartiküller: Metal oksitler (çinko oksit, demir oksit, titanyum dioksit ve seryum oksit gibi), metaller (altın, gümüş ve demir) ve kuantum noktaları (kadmiyum sülfür ve kadmiyum selenit) dır (Smith vd., 2015).

1.4.3.1. Altın Nanoparçacıklar

Altın nanoparçacıklar (AuNP'ler), protein etkileşimlerinin tanımlanması için immünokimyasal çalışmalarda kullanılmaktadır. Bir numunede DNA parmak izinin belirlenmesinde laboratuvarı faydalanılmaktadır. Bazı antibiyotiklerin tespiti için altın nanoparçacıklardan yararlanılabilir. Örneğin; streptomisin, gentamisin ve neomisin gibi antibiyotikler için kullanılmaktadır. Altın nanoçubukların kanser hücrelerini tespit etmek amacıyla kullanımda olduğu görülmektedir (Mohammadi vd., 2014).

1.4.3.2. Manyetik Nanoparçacıklar

Fe_3O_4 (Ferro-ferrik oksit) ve Fe_2O_3 (demir(III)oksit veya ferri oksit) gibi manyetik nanoparçacıkların biyouyumlu olduğu bilinmektedir. Kanser tedavisi, kök hücre sınıflandırması, rehberli ilaç dağıtımı, gen tedavisi ve DNA analizinde aktif olarak çalışmalarda kullanılmaktadır (Yalçın vd., 2021).

1.4.3.3. Alaşım Nanoparçacıklar

Alaşım nanoparçacıkları, farklı yapısal özellik gösteren davranışlar sergiler. Ag (gümüş), metal dolgu maddeleri arasında en yüksek elektrik iletkenliğine sahiptir. Diğer birçok metalden farklı olarak, oksitli yapıları daha iyi iletkenliğe sahiptir. Rastgele veya sıralı bir düzenlemeye sahip olabilirler. Rastgele karıştırılmış nanoalaşımlar genellikle alaşımlı nanoparçacıklar olarak adlandırılırken, sıralı karışık

nanoalaşımlar birbirine karışmış veya metaller arası nanoparçacıklar olarak adlandırılır (Thota vd., 2018).

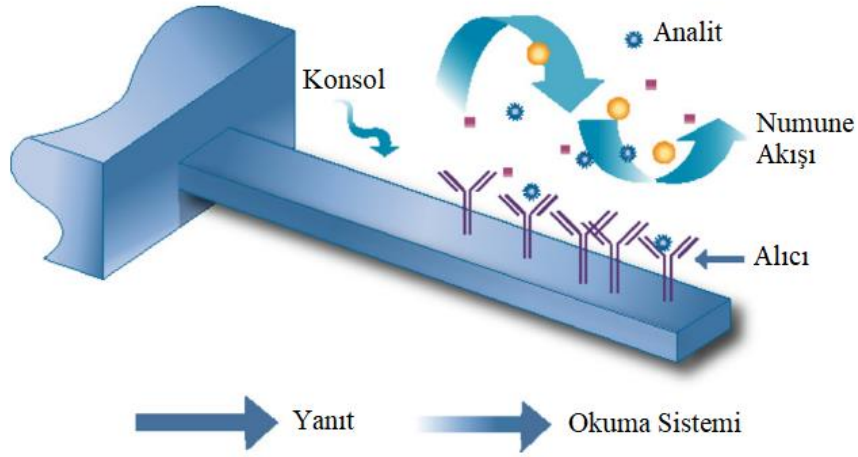
1.4.3.4. Gümüş Nanoparçacıklar

Gümüş nanopartiküller (AgNP'ler), benzersiz fiziksel ve kimyasal özelliklerinden dolayı tıbbi, gıda, sağlık, tüketici ve endüstriyel amaçlar dahil olmak üzere çeşitli alanlarda giderek daha fazla kullanılmaktadır. Bunlar optik, elektriksel ve termal, yüksek elektriksel iletkenlik ve biyolojik özellikleri içerir. Kendine has özellikleri nedeniyle, antibakteriyel ajanlar, endüstriyel, ev ve sağlıkla ilgili ürünlerde, tüketici ürünlerinde, tıbbi cihaz kaplamalarında, optik sensörlerde ve kozmetikte, ilaç endüstrisinde, gıdada, çeşitli uygulamalar için kullanılmıştır. Endüstride, teşhiste, ortopedide, ilaç dağıtımında, antikanser ajanlar olarak ve nihayetinde antikanser ilaçlarının tümör öldürücü etkilerini arttırmıştır (Chernousova ve Epple, 2013). Bakterilere ve virüslere karşı antimikrobiyal özellik gösteren gümüş nanoparçacıkları yaygın olarak kullanılan nanomalzemelerdir.

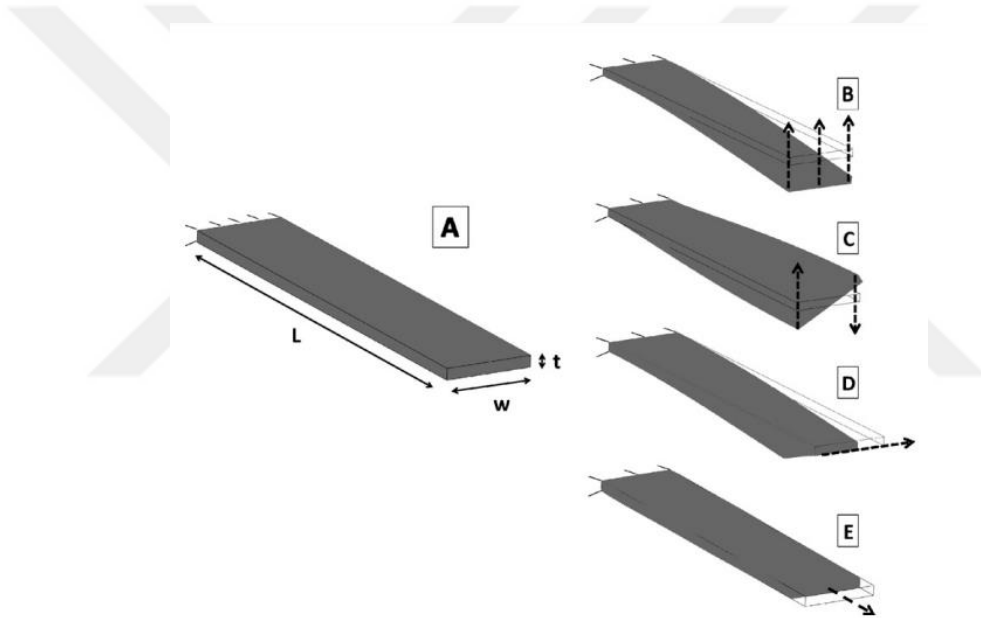
1.5. Kanser Tanı ve Tedavisinde Kullanılan Nanoteknolojik Araçlar

1.5.1. Nano – Cantilever (Nano- Manivela)

Sensör, ortamda oluşan elektriksel, termal veya optik sinyalleri algılayan ve yanıt oluşturan sistemdir (Johnson ve Mutharasan, 2012). Bir Nano – Cantilever sensörün yapısı Şekil 15'de şematik olarak gösterilmiştir (Johnson ve Mutharasan, 2012). Cantilever (manivela) şekilde görüldüğü gibi nano boyutlarda bir çubuktan dallanmış aralıklı yan çubuklardan oluşmaktadır. Bu yapı üzerine istenilen analit ile etkileşim sağlayabilen antikor ile kaplama işlemi yapılır. Nano-Cantilever, yapısında oluşan kütleli değişimlere yüksek duyarlılık gösterir. Ortamda oluşan bazı frekanslar büyük genliklerde salınma eğilimi gösterir. Bu olay sistemde yüzey biyokimyasal etkileşimlerine bir yanıt oluşturur. Sistemde moleküler bağlanmanın algılanması için rezonans frekansından faydalanılmaktadır. Nano-Cantilever sensöründe farklı rezonans modları kullanılabilir. Şekil 16'da farklı rezonans modları gösterilmektedir (Johnson ve Mutharasan, 2012). İdeal Nano-Cantilever sensörleri enine, burulma (bükülme, torsiyon), yanal ve boyuna mod olarak adlandırılır.



Şekil 15. Dinamik mod Cantilever algılama yapısının genel şeması

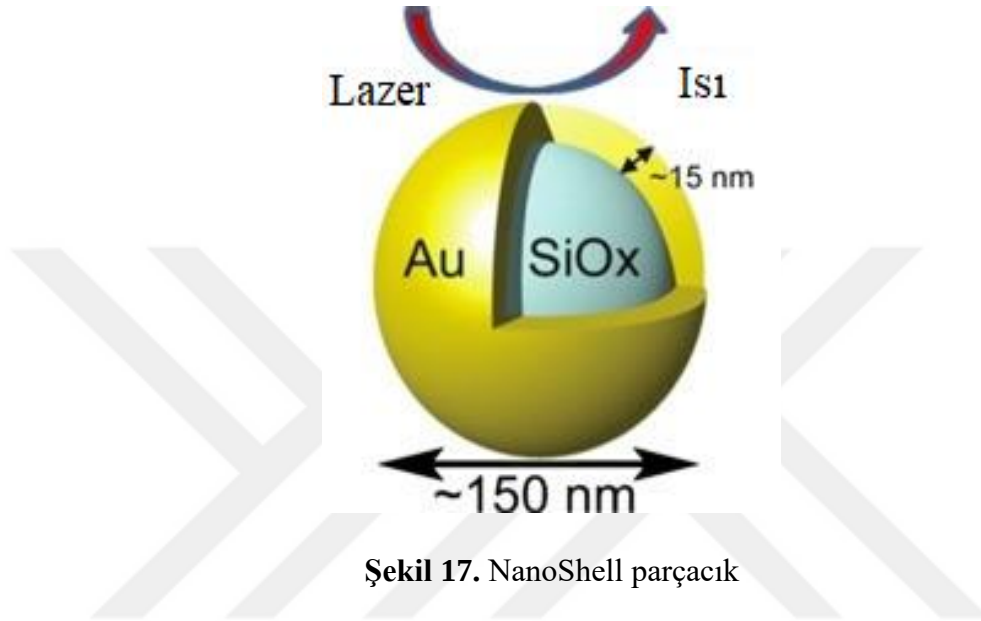


Şekil 16. Konsol sensörlerinde bulunan çeşitli rezonans modlarının genel şeması
Geleneksel konsol (A) ve idealleştirilmiş konsol sensörlerinde (B-E), Enine mod (B), burulma modu (C), yanal mod (D) ve boyuna mod (E) gösterilir

1.5.2. NanoShell (NanoKabuk) (NS)

NanoShell parçacıklar, özel bir prosedür kullanılarak elde edilen nano kompozit malzemelerin bir sınıfını oluşturmaktadır (Kalele vd., 2006). Bu ürünler kanser teşhis ve tedavisinde kullanılmak üzere geliştirilmiş nano yapılarıdır. NanoShell yapıları, bir malzemenin başka bir malzeme parçası ile kaplandığı ince bir tabakadan oluşur. NanoShell parçacıkları başka bir deyişle altın ile kaplanmış küçük küre şeklinde boncuklardır (Singh vd., 2008). NanoShell'i oluşturan katmanların kalınlığı

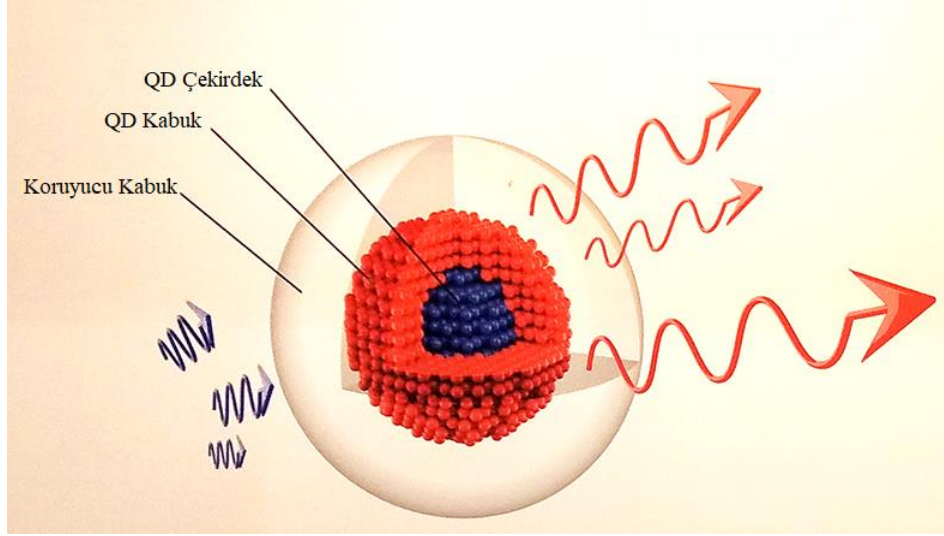
ışığın belirli dalga boyunu absorbe edecek şekilde tasarlanabilir. Deneysel araştırmalarda, NanoShell'in kızıl ötesi ışıktaki insan dokusundaki kanser hücrelerine kolayca nüfuz ettiği görülür. NanoShell, kanser hücrelerini tanıyan antikora bağlanarak çevre hücrelere zarar vermeden kanserli hücreyi başarıyla yok eder. Şekil 17'de NanoShell parçacık yapısı verilmiştir (Singh vd., 2008).



Şekil 17. NanoShell parçacık

1.5.3. Quantum Dot (Kuantum Noktası) (QD)

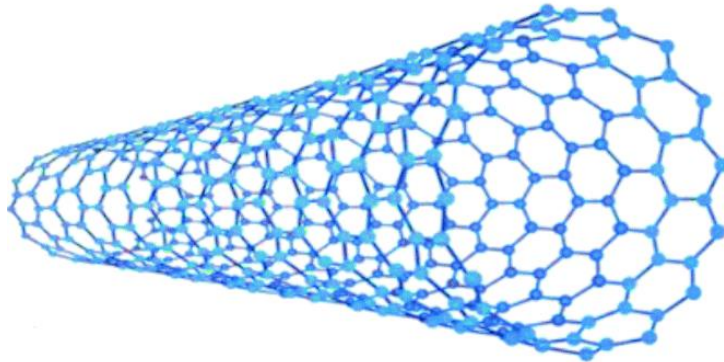
Quatum Dots olarak adlandırılan bu yapılar, yarıiletken olan Kadmiyum Selen (CdSe), Kadmiyum Tellür (CdTe), İndiyum Fosfor (InP) veya İndiyum Arsenik (InAs) gibi yarıiletken metallerin sentezi ile oluşturulmaktadır (Pal ve Nayak, 2010). Bu yapılar ultraviyole ışıkla uyarıldığında parıldayan ve 2 ile 10 nanometre çapında küçük kristal yapıda görülmektedir. Quantum Dot'lar kanser teşhis ve tedavisinde floresan probolar olarak kullanılmaktadır. Floresans probolar proteinlere göre farklı optik ve elektrik özelliğe sahiptir. Quantum Dot'lar yaydıkları ışığın dalga boyu boyutları değiştirilerek ayarlanabilmektedir. QD'lar çaplarına göre farklı renklerde ışığı yayabilir. Şekil 18'de Quatum Dots yapısı verilmiştir (Pal ve Nayak, 2010).



Şekil 18. Quatum Dots yapısı

1.5.4. Nanotubes (Nanotüpler)

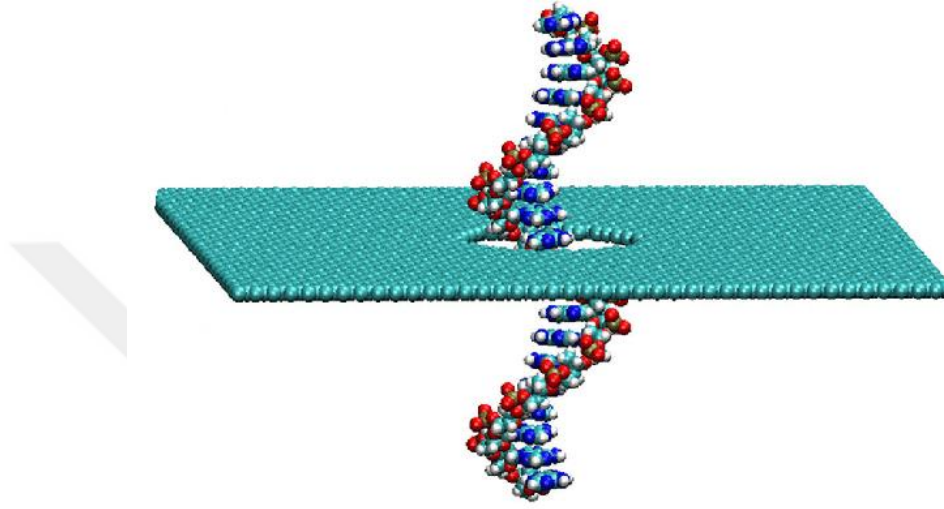
Nanotubes yapıları bir DNA molekülünün yaklaşık yarısı büyüklüğündedir (Singh vd., 2008). Nanotüp ve nano çubuklar kanserin oluşumundan sorumlu DNA ile ilişkili genlerin tanımlanmasında yardımcı araç olarak kullanılmaktadır. Kansere neden olan bölgelerin yerinin tespit edilmesinde kullanılır. Mutasyon olan bölgede öncelikle etiketleme işlemi yapılır. Nanotüp ucu kullanılarak DNA'nın fiziksel şekli belirlenir ve bir bilgisayar yardımı ile görüntü haritaya çevrilir. Bu teknik ile görüntü üzerinde mutasyonlu bölgeler belirlenir. Şekil 19'da nanotüp yapısının şematik görünümü verilmiştir (Delgado vd., 2008).



Şekil 19. Nanotubes yapısı

1.5.5. Nanopores (Nanoporlar)

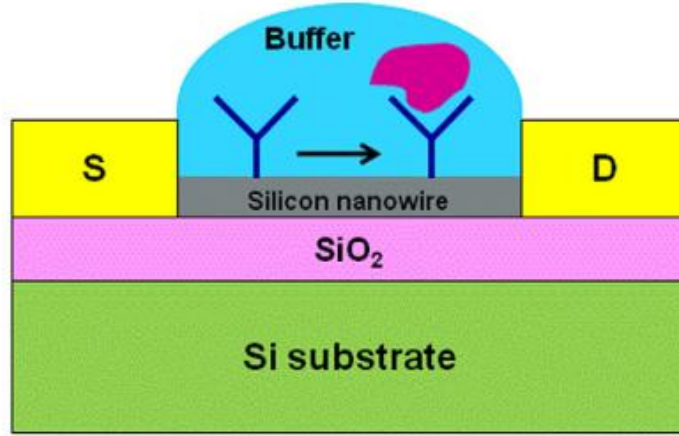
Nanopore yapıları kullanılarak DNA üzerindeki her bazın şekli ve elektriksel özellikleri izlenilebilir (Singh vd., 2008). Böylece DNA üzerinde kanser ile bağlantılı olan hatalı baz dizilimlerini çözümlmek için kullanılmaktadır. Şekil 20’de nanopore yapısı verilmiştir (Si vd., 2014).



Şekil 20. Nanopore yapıları

1.5.6. Nanowire (Nanotel) (NW)

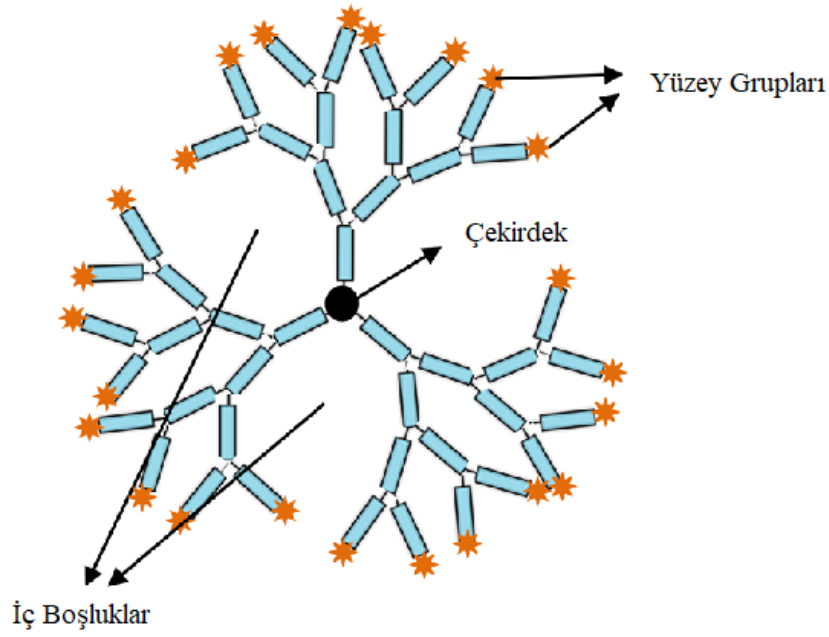
NW’ler insanın bir saç telini sarmalayan ve kimyasal tepkimeleri algılayabilen nano yapılardır. Nanoteller bir virüs yapısından yaklaşık beş kat daha küçüktür (Pal ve Nayak, 2010). Nanoteller metal, yarıiletken veya polimer yapılı malzemeler kullanılarak elde edilebilir (Oylar ve Tekin, 2011). Bu yapılar kanserin teşhis ve tedavisinde önemli bir yere sahiptir. Nanotel yapıları birden fazla analiti eşzamanlı olarak saptayabilir. Protein ile kaplanan nanoteller işlevsel özellikler kazandırılarak kanserin teşhisinde kullanılmaktadır. Şekil 21’de Nanowire (Nanotel) yapılı bir sensör verilmiştir (Zhang ve Ning, 2012).



Şekil 21. Nanowire (Nanotel) yapıları bir sensör (S: Source Elektrot; D: Drain Elektrot)

1.5.7. Dendrimer

Dendrimer yapı bir dizi fonksiyonel grubun iç çekirdek ile bağlantılı dış katmanlarından meydana gelmektedir (Pal ve Nayak, 2010). Kanser tanı ve tedavisinde dendrimer yapılardan faydalanılmaktadır. Kanserli dokuyu görüntülemeye kullanılan dendrimer yapı 10 ila 100 nanometre çapındadır. Bir dendrimer yapı üzerinde farklı fonksiyonel gruplar bulunabilir ve bu fonksiyonel gruplar hedeflenen yapıya göre şekillendirilebilir. Yapı yüzeyinin bu özelliği, hedefe yönelik ilaç taşıma işlemini ideal kılmaktadır. Dendrimer yapı yüzeyine yerleştirilen uygun ligandlar kanserli hücre ile etkileşimi sağlamaktadır. Dendrimer yapının bu özelliği, araştırmacılar tarafından hedef hücreye yönelik ilaç taşıma amacıyla kullanılmaktadır. Hücrenin ilaç ile etkileşiminden sonra dendrimer yapısına eklenen floresan molekülleri ile hedeflenen kanserli hücrenin başarılı bir şekilde imha edildiklerinin sinyali verilebilmektedir (Singh vd., 2008). Kanser hücrelerine yönelik yapılan çalışmalar ile birlikte genetik mutasyonların tespit edilmesinde dendrimer yapılardan faydalanılmaktadır. Şekil 22’de dendrimer yapısı verilmiştir (Azar vd., 2013).



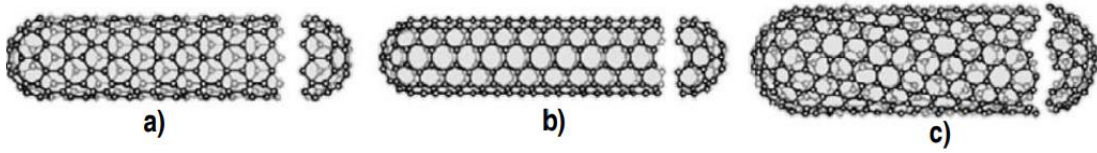
Şekil 22. Dendrimer yapısı

1.5.8. Karbon Nanotüpler (CNTs)

Karbon periyodik cetvelde sembolü C ile gösterilen dört değerlik atomuna sahip önemli bir kimyasal elementtir. Bu özelliği ile karbon atomları kendi aralarında veya farklı elementlerle tekli, ikili ve üçlü kovalent bağlı uzun atom zincirleri oluşturabilirler. Ayrıca karbon canlılığın temel yapı taşı elementlerinden biri olup canlılığın hayatında önemli bir yere sahiptir. Karbon atomları, aynı kimyasal bileşime rağmen farklı fiziksel özelliklere sahip farklı fiziksel yapılar oluşturan yapıya ve atom boyutuna sahiptir (Yuca, 2010; Kour vd., 2020).

Karbon nanotüpler içeriğinde karbon atomlarından oluşan yoğunlaştırılmış bir dizi benzen halkasından meydana gelmektedir (Pal ve Nayak, 2010). Bilim insanları tarafından yakın zamanda grafit ve elmas yapıları ile birlikte diğer bir karbon formu olan fulleren yapıları kanser tedavi ve tanısında kullanılmak üzere geliştirilmiştir. Kanserli hücreye özgü üretilen karbon nanotüpler, yüzeyi hücresel alım için hedefe yönelik proteinlerle değiştirilebilir. Karbon nanotüpleri kanserli bir meme hücresinin hücre yüzeyindeki reseptörlerine özgü antikorlar ile işlevsel hale getirerek meme kanserinin tespiti için biyosensör geliştirmeye yönelik kullanılmaktadır (Dewan vd., 2016). Son yıllarda, karbon nanotüp içerikli biyosensörler, kanser tanısı, doku mühendisliği, hücre izleme ve etiketleme, ilaç ve biyomoleküllerin dağıtımında yaygın

olarak kullanılan nanomalzemelerden biri olmayı başardığı görülmektedir. Benzersiz yapıları ile karbon nanotüpler sağlamlılık, elektrokatalitik aktivitesi, minimum yüzey kirliliği, elektrik ve ısı iletkenliği gibi özelliklerine sahip olmasından dolayı birçok malzeme yapımında tercih edilmektedir. Karbon Nano Tüpler (CNT), silindirik nano yapıları karbon allotroplarıdır. Grafit plakaların silindirik bir şekle bükülmesiyle oluşturulur. Uzunluk / çap oranı = 132000000 / 1 gibi benzeri görülmemiş seviyelere ulaşır. Bu başka hiçbir madde veya malzemede bulunmayan bir özelliktir. CNT'ler çok farklı özelliklere ve niteliklere sahiptir: Elektronik, optik, mekanik, termal ve diğer özellikleri diğer malzemelerden önemli ölçüde farklıdır (Sharma ve Bhargava, 2013). Şekil 23'de 3 farklı türde tek duvarlı nanotüp çeşidi: a) Zig-Zag Tipi b) Koltuk Tipi c) Helisel Tip verilmiştir (Dresselhaus vd., 1995).



Şekil 23. 3 Farklı türde tek duvarlı nanotüp çeşidi: a) Zig-Zag tipi b) Koltuk tipi c) Helisel tip

1.6. Nanoteknolojinin Biyosensörlerde Kullanılma Nedenleri

- i. Çeşitli özelliklere sahip kimyasal ajanların, mikroorganizmaların ve minerallerin analizinin yapılması,
- ii. Nano yapıları cihazların diğer cihazlara göre daha az enerji tüketmesi,
- iii. Nano yapıları malzemeler kullanılarak çalışmaların kolaylıkla gerçekleştirilebilmesi,
- iv. Nano yapıları malzemelerin kullanılması ile yüksek hassaslığa sahip olunması,
- v. Kompleks yapıya sahip malzemelerin analizlerini kolaylaştırması,
- vi. Nanoteknoloji kullanılarak üretilen biyosensörlerin kullanım ömrünün daha uzun olması,
- vii. Nano yapıları biyosensörlerde difüzyon olayının meydana gelmemesi,
- viii. Nanoteknolojinin kullanımı ile canlı hücrelere zarar verilmeden çalışmaların gerçekleştirilebilmesi, nanoteknolojinin biyosensörlerde kullanılma nedenleri olarak sayılabilir (Tüylek 2017).

2. GEREÇ VE YÖNTEM

2.1. Sol-Jel Yöntemi ile $\text{La}_{0.25}\text{Fe}_{0.75}\text{FeO}_3$ Nanoparçacığının Sentezlenmesi

$\text{La}_{0.25}\text{Fe}_{0.75}\text{FeO}_3$ nanoparçacığının hazırlanmasında sol-jel yöntemi kullanılmıştır. Sol-jel (solüsyon-jelleşme) yönteminde ilk olarak metal-oksit çözeltileri / metal tuzları, nitratlar, hidroksitler ve oksitler gibi inorganik bileşikler belirli oranlarda su ve asitle birleştirilerek çözelti haline getirilir ve bu çözelti ısıtıcıli manyetik karıştırıcıda belirli sıcaklıklarda karıştırılır.

6 gr $\text{La}_{0.25}\text{Fe}_{0.75}\text{FeO}_3$ bileşiğinin sentezlenmesi için başlangıç malzemeleri olan $\text{La}(\text{NO}_3)_3:\text{Fe}(\text{NO}_3)_3$ ve FeO_3 saf malzemelerinin stokiometrik oranları hesaplanarak malzemelerden kaç gram kullanılması gerektiği bulundu. Miktarları hesaplanan malzemeler hassas terazide ölçüldükten sonra ayrı ayrı beherlerde belirli miktarda saf su ile manyetik karıştırıcı kullanılarak çözdürüldü. Tam çözünme gerçekleşince çözdürülen kimyasallar bir beherde birleştirildi ve sonrasında üzerine belirli oranlarda sitrik asit ve etilen glikol eklendi. Kullanılan etilen glikolün görevi yapıyı jelleştirmek, sitrik asitin görevi ise yapıyı şelatlamaktır. Çözelti $250\text{ }^\circ\text{C}$ sıcaklıkta manyetik karıştırıcıda jelleşme görülene kadar karıştırıldı. Jelleşme oluştuktan sonra elde edilen jelimsi çökeltinin belli sıcaklıkta yakılmasının ardından malzeme, içerisindeki organik maddelerin çökeltiden uzaklaştırılması için ayarlanan sıcaklıktaki kül fırınına alınarak 12 saat fırımlandı. Bu işlemler sonucunda elde edilen malzeme, bileşiklerin homojenliğini sağlamak amacıyla öğütülerek toz halde nanoparçacık elde edildi. Şekil 24'te elde edilen çözeltinin belirli sıcaklıkta jelleşme aşamaları ve tüm işlemler sonucunda elde edilen toz nanoparçacık gösterilmiştir.



Şekil 24. Elde edilen çözeltinin belirli sıcaklıkta jelleşme aşamaları ve tüm işlemler sonucunda elde edilen toz nanoparçacık

2.2. Elektrospinning (Elektro-eğirme) Yöntemi

Elektro-eğirme yöntemi, birkaç nanometreden mikrometre mertebelerinde çapa sahip katkılı/katkısız polimer liflerin üretilmesi için düşük maliyetli ve etkili bir yöntemdir (Reneker vd., 1996). Polimer temelli elektro-eğirik nano-lifler birim hacim başına geniş yüzey alanı, mekanik dayanıklılık, yüksek porozite (gözeneklilik), iyi geçirgenlik ve termal kararlılık gibi birçok önemli özelliğe sahiptirler (Huang vd., 2003). Söz konusu avantajlarından dolayı bu teknik oldukça ilgi çekmektedir. Çünkü bu yöntem yara iyileştirme (Faranji vd., 2020), ilaç iletimi/teslimi (Asadi vd., 2020), fotovoltaikler (Drew vd., 2002), kapasitör elektrot (Aslan vd., 2021), elektronik olmayan gaz sensörü (Reyes vd., 2016) gibi çeşitli kullanım alanlarına sahip liflerin basit üretimine olanak sağlamaktadır. Bu yöntemin temel çalışma prensibi, polimer çözeltisinin püskürtüldüğü iğne ucu ile liflerin toplandığı metal toplayıcı arasına

yüksek bir elektrik alan uygulanması ile düzgün liflerin elde edilmesine dayanmaktadır. Üretilen liflerin morfolojisi birçok üretim parametresinden etkilenmektedirler. Bu parametreler başlıca üç gruba ayrılmaktadır. Birinci grup; uygulama voltajı, iğne-toplayıcı arası mesafe, polimer çözeltisi besleme (pompalama) hızı, iğne iç çap büyüklüğü gibi elektro-eğirme parametreleridir. İkinci grup; polimer çözeltisi yoğunluğu ve viskozitesi, çözücü, çözelti iletkenliği ve yüzey gerilimi gibi çözelti parametrelerinden oluşmaktadır. Üçüncü grup ise ortam sıcaklığı ve bağıl nem gibi çevresel parametrelerdir (Okutan vd., 2014; Cramariuc vd., 2013; Haider ve diğerleri, 2018; Beachley vd, 2009; Jacobs vd., 2010).

2.3. Malzeme ve Yöntem

Konak malzeme olarak Sigma Aldrich firmasından ticari olarak elde edilen poliakrilonitril (PAN) polimeri kullanılmıştır. PAN'ın tipik olarak moleküler ağırlığı 150,000 wt'dir. PAN molekülü güçlü nitril gruptan oluşmaktadır. Böylece, kutuplu yapıdadır ve diğer kutuplu moleküller ile etkileşimini arttırabilmektedir. Çok düşük çift kırılmaya (yaklaşık 0,01) sahip olduğu için şeffaf nano-liflerin üretiminde ya da liflerin kılıf malzemesi olarak kullanılabilir. Elektro-eğirme işleminde PAN'ı çözmek için Sigma Aldrich firmasından temin edilen ve daha fazla saflaştırılmayan “*Reagent Plus*” sınıfı dimetilformamit (DMF) kullanılmıştır. DMF, güçlü kutuplu bir yapıdadır böylece PAN'ı çözebilir.

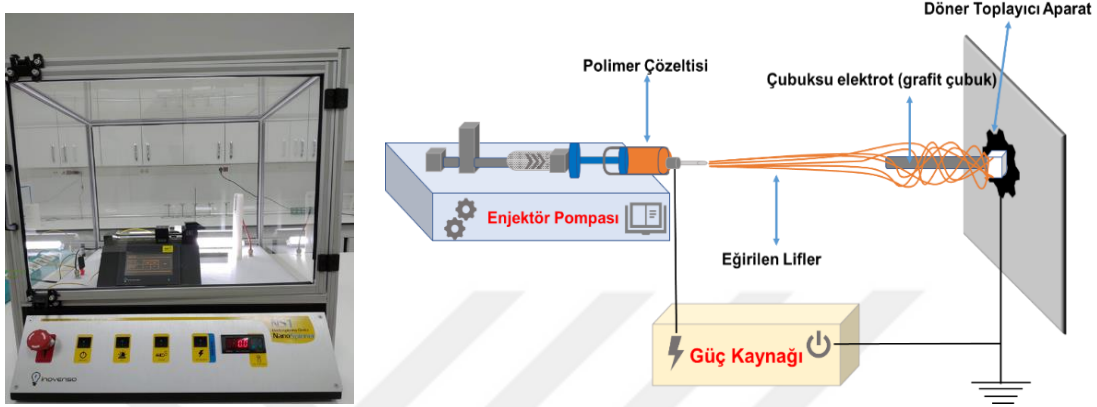
$\text{La}_{0.25}\text{Fe}_{0.75}\text{FeO}_3$ katkılı PAN liflerinin üretilmesi aşamasında ilk olarak uygun miktarda nano-malzemenin belirlenmesi için miktar optimizasyonu yapılmıştır. Bu amaçla PAN'a oranla kütlece farklı değerlerde nano-malzeme içeren polimer çözeltileri hazırlanmıştır. Bu çözeltilerin içerikleri ve içerik miktarları Tablo 2'de verilmektedir. Tüm polimer çözeltileri kütlece %8 PAN olan PAN/DMF içermektedir. Nano-malzeme içeriği $\text{La}_{0.25}\text{Fe}_{0.75}\text{FeO}_3$ örnekleri için sırasıyla kütlece %1, %3, %5, %7 ve %9 nano-malzeme olan PAN/nano-malzeme şeklindedir.

Tablo 2. Polimer çözeltileri ve içerik oranları

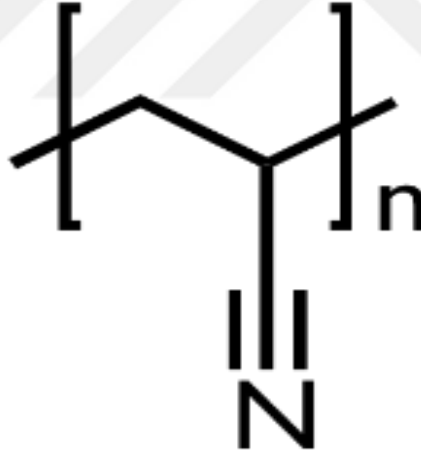
Örnek Adı	PAN:DMF (kütlece)	PAN:La _{0.25} Fe _{0.75} FeO ₃ (kütlece)
La _{0.25} Fe _{0.75} FeO ₃ %1	8:92	99:1
La _{0.25} Fe _{0.75} FeO ₃ %3	8:92	97:3
La _{0.25} Fe _{0.75} FeO ₃ %5	8:92	95:5
La _{0.25} Fe _{0.75} FeO ₃ %7	8:92	93:7
La _{0.25} Fe _{0.75} FeO ₃ %9	8:92	91:9

Hazırlanan polimer çözeltileri ayrı ayrı olmak üzere Inovenso S1 marka elektro-eğirme cihazı kullanılarak eğirilmiştir. Bu cihaz yatay düzlemde yerleştirilmiş 0,001 ml/sa doğruluğa sahip programlanabilir enjektör (iğne) pompası ve azami 40,0 kV uygulayabilen güç kaynağından oluşmaktadır. Çözeltinin püskürtüldüğü iğne ucu pozitif kutup, metal lif toplayıcı ise negatif kutup olarak ayarlanmaktadır. Püskürtme iğnesi olarak 0,8 mm dış çapa ve 0,5 mm iç çapa sahip standart medikal enjektör kullanılmaktadır. Eğirilen nano-malzeme katkılı PAN liflerinin elektrokimyasal ölçümlerinin gerçekleştirilebilmesi için grafit çubukların (kalem ucu) üzerine kaplanmıştır. Bu çubuklar 2 mm kalınlığa sahiplerdir ve Makro firması tarafından üretilmektedir. Liflerin homojen ve düzgün şekilde grafit çubuklar üzerine kaplanabilmesi için metal lif toplayıcısının orta kısmına Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi Fizik Bölümü öğretim elemanı Dr. Çağdaş KOÇAK'ın geliştirmiş olduğu “dönüş kontrollü çubuksu elektrot lif toplayıcı aparatı” entegre edilmiştir. Bu sisteme göre, liflerin toplanacağı çubuksu elektrot aparata lif jetine paralel olacak şekilde yerleştirilir ve aparat bünyesindeki bir DC motor tarafından çubuksu elektrotun dönmesi kontrollü olarak sağlanır. Bu sayede eğirilen lifler elektrot etrafında homojen şekilde kaplanır. Püskürtme iğnesinin ucu ile grafit çubuk ucu arasındaki mesafe 23 cm olarak belirlenmiştir. Tüm lif üretimlerinde metal kutuplar arasına 14 kV sabit gerilim uygulanmıştır. Enjektör pompası her bir çözeltide farklı olmak üzere enjektör (iğne) ucundan çıkan düzgün lif jetinin elde edilebilmesi için 0,100 ml/sa ile 0,700 ml/sa arasında değişen hızlarda besleme yapmıştır. Tüm lif üretimleri sabit 26°C sıcaklık ve %36 bağıl nem ortamında gerçekleştirilmiştir. Optimum elektrokimyasal değerlerin belirlenmesi için her bir çözeltiden 3 grafit çubuk üzerine kaplı lifler eğirilmiştir. Yapılan elektrokimyasal ölçümler sonucunda %5 nano-malzeme katkılı P5 örneğinin optimum sonuçları verdiği belirlenmiştir. Miktar optimizasyonu

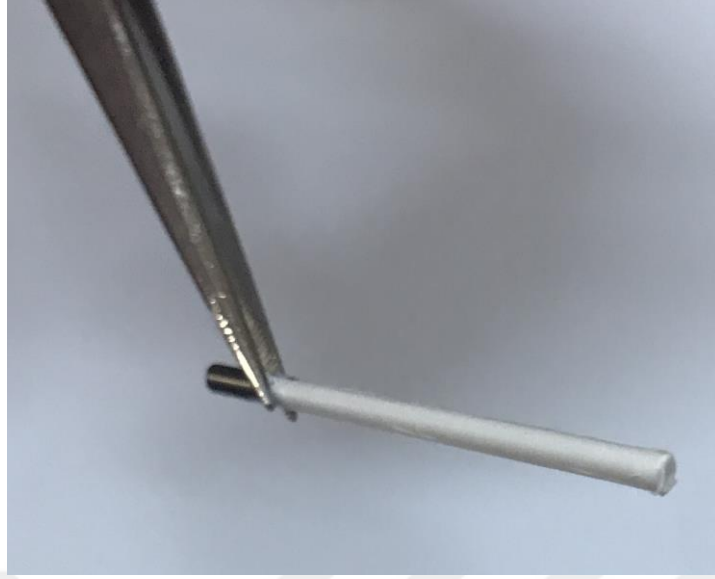
sonucunda P5 örneği içeren 30 çubuksu elektrot üretilmiştir. Her bir elektrot etrafına 20 dk boyunca lif kaplanmıştır. Şekil 25’de Elektro-eğirme sistemi resmi ve diyagramı verilmiştir. Şekil 26’da Poliakrilonitril (PAN)’ın kimyasal formülü verilmiştir. Şekil 27’de Nano-malzeme kaplı grafit çubuk elektrot gösterilmiştir.



Şekil 25. Elektro-eğirme sistemi resmi ve diyagramı



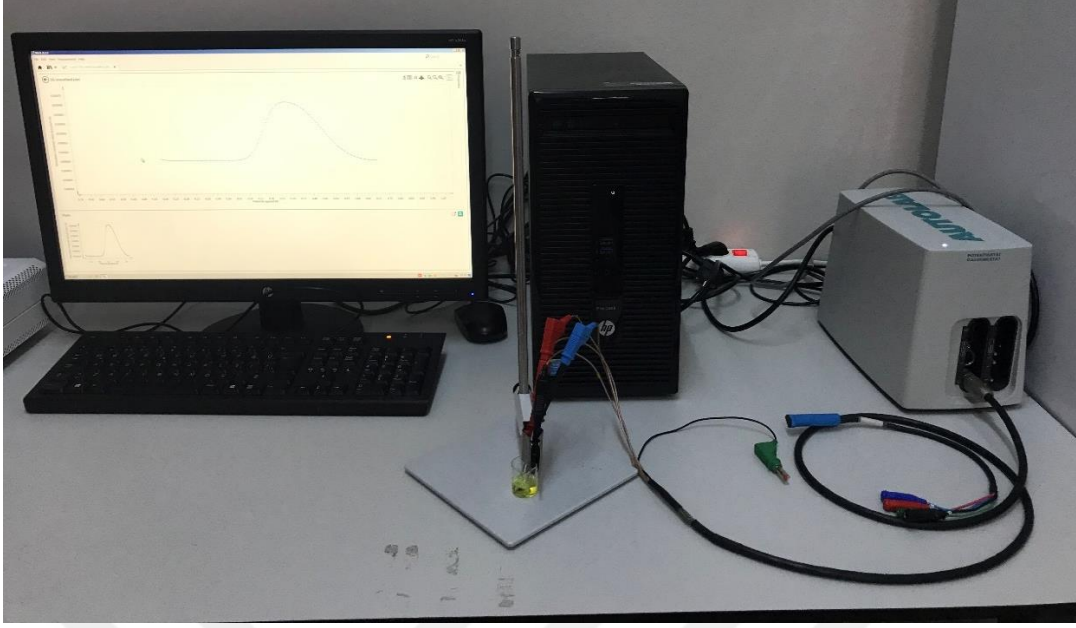
Şekil 26. Poliakrilonitril (PAN)’ın kimyasal formülü



Şekil 27. Nano-malzeme kaplı grafit çubuk elektrot

2.4. Kullanılan Cihazlar

Elektrokimyasal ölçümler, Metrohm marka Potansiyostat-Galvonostat PGSTAT 204 ve yüksek giriş empedansına sahip potansiyometrik sistemlerde alındı. Bilgisayar kontrollü olan AUTOLAB PGSTAT 204 cihazlarının sinyalleri Nova 2 yazılımı ile değerlendirilmiştir. Deneyler, oda sıcaklığında Metrohm marka ve özel tasarlanmış hücreler kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Referans elektrot olarak Ag/AgCl ve yardımcı elektrot olarak Pt elektrot kullanılmıştır. Maddelerin tartım işleminde, weightlab marka WSA-224 model hassas terazi kullanıldı. Tampon çözeltilerin pH ölçümü, Metrohm marka pH metre cihazı ile yapıldı. Bütün tampon çözeltilerin hazırlanmasında saf su kullanıldı. X-ışını kırınım analizi Rigaku marka SmartLab X-ışını difraktometresi kullanılarak gerçekleştirildi. SEM görüntüleri JEOL marka JSM-6510 model taramalı elektron mikroskobu kullanılarak elde edildi. Ölçümlerin sonuçlarının grafiksel olarak gösterilmesinde Origin programı kullanıldı. Şekil 28’de geliştirilen immünoşitosensörlerin ölçümünün yapılmasında kullanılan düzenek verilmiştir.



Şekil 28. Geliştirilen immünosensörlerin ölçümünün yapılması.

2.5. Kullanılan Kimyasallar

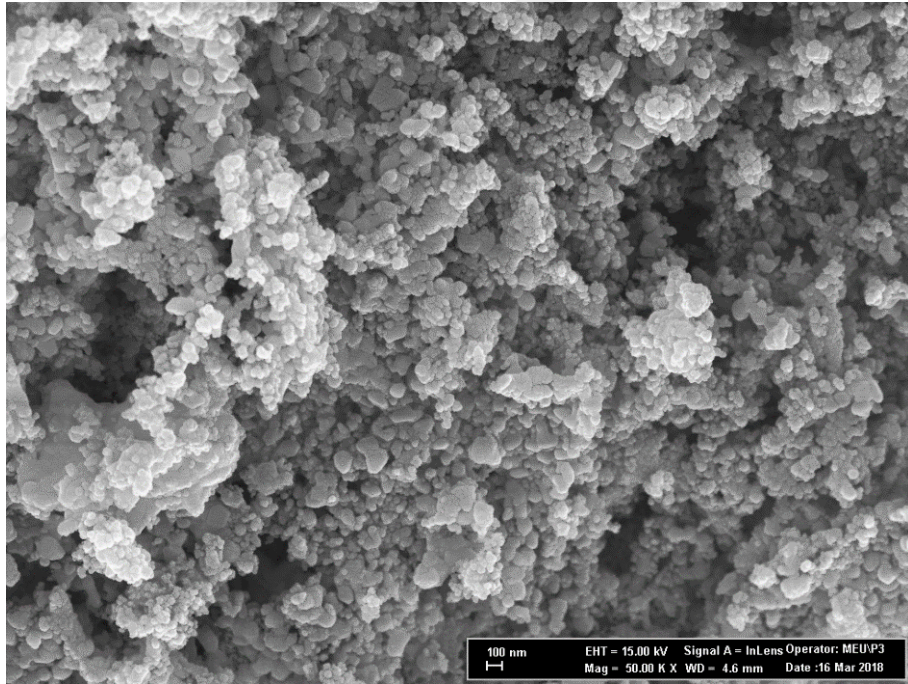
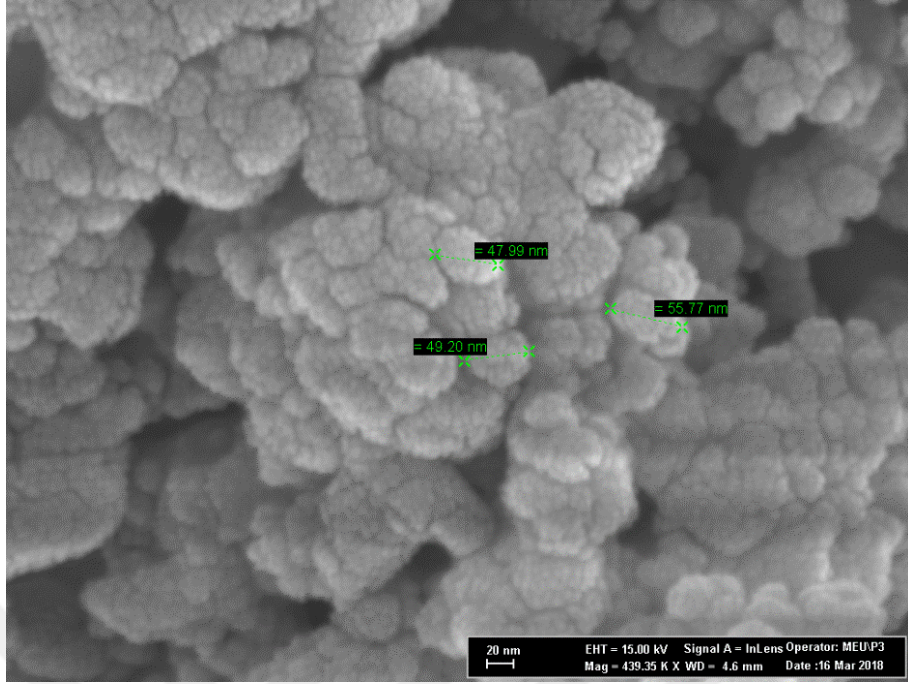
Antijen (Cloud-clone corp. RPA150Hu01 P20190723756) CEA kullanıldı. Antikor (RPC343Hu01 P20190723746 HSPA5) kullanıldı. Bovine serum albümin protease free lyophilised (BSA) kullanıldı. pH ayarlaması yaparken kimyasal bileşen olarak KH_2PO_4 (Potassium phosphate monobasic) ve KCl (potassium chloride) kullanıldı. Potasyum ferrosiyaniür ($\text{K}_4\text{Fe}(\text{CN})_6 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$), potasyum hekzasiyanoferrat ($\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$) Sigma'dan satın alınmıştır. Potasyum klorür (KCl), Potasyum dihidrojen fosfat (KH_2P_4), Merck'ten satın alındı. Ferri ferro yapımında K3, K4 ve KCl kimyasal bileşenleri kullanıldı. Araştırmada kullanılan kimyasallar analitik dereceliydi ve daha fazla saflaştırılmadan kullanıldı.

Hücre kültürü materyalleri; RPMI 1640, DMEM düşük ve yüksek glucose, tripsin/EDTA (TE), fetal bovin serumu (FBS), dulbecco fosfat tamponlu salin (dPBS) (Gibco, Thermo Fisher Scientific, Inc., Los Angeles CA, USA) firmasından satın alındı. Hücre nükleusunu boyamak için Hoechst, bisBenzimide H33342 Sigma-Aldrich (St. Louis, MO) firmasından satın alındı.

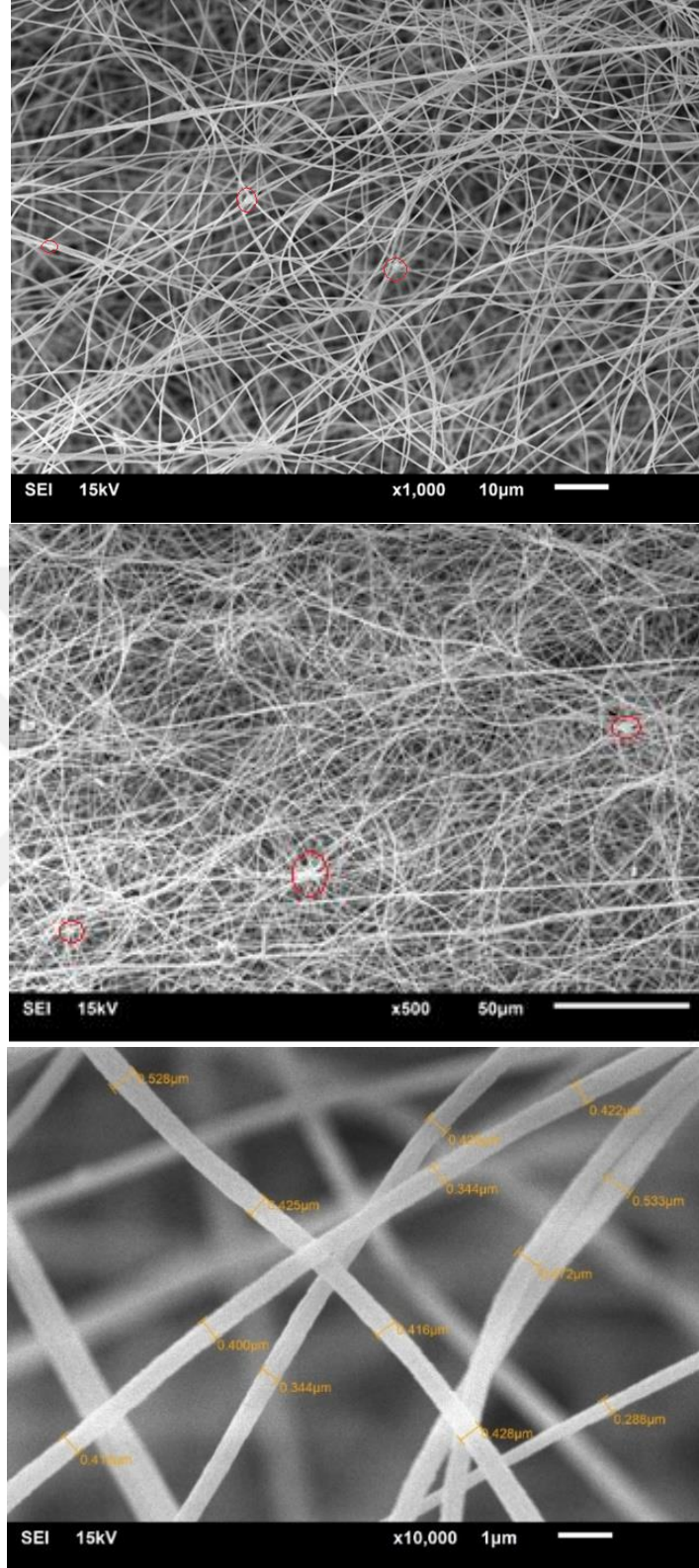
2.6. $\text{La}_{0.25}\text{Fe}_{0.75}\text{FeO}_3$ Nanoparçacığının Karakterizasyonun SEM Analizi

$\text{La}_{0.25}\text{Fe}_{0.75}\text{FeO}_3$ örneğinin morfolojisi toz olarak kuru ortamda SEM ile karakterize edilmiş ve SEM görüntüleri Şekil 29'da gösterilmiştir. Görüntüler, nanokristallerin bir araya toplandığını (agglomeration) ve parçacıkların küresel olduklarını göstermektedir. Parçacık boyutlarının ise yaklaşık olarak 50 nm olduğu tespit edilmiştir.

Şekil 30'da ise $\text{La}_{0.25}\text{Fe}_{0.75}\text{FeO}_3$ katkılı PANnf SEM görüntüsü verilmektedir. Elde edilen nanoliflerdeki $\text{La}_{0.25}\text{Fe}_{0.75}\text{FeO}_3$ nano parçacıkların bir kısmı işaretlenerek belirtilmiştir. Fiberler içerisindeki $\text{La}_{0.25}\text{Fe}_{0.75}\text{FeO}_3$ nano parçacık dağılımı morfolojik olarak benzerlik göstermektedir ve elde edilen fiberlerin çapları yaklaşık olarak 0,400 μm olarak belirlenmiştir.



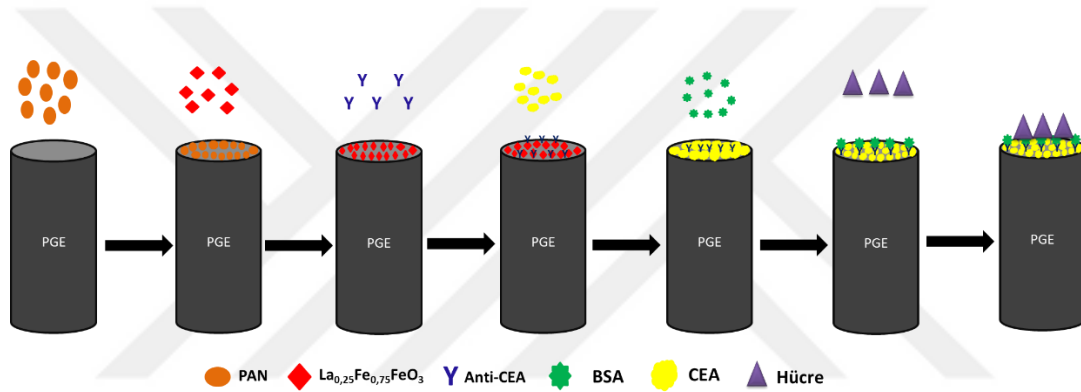
Şekil 29. La_{0.25}Fe_{0.75}FeO₃ nanoparçacıkların farklı büyütmelelerdeki SEM görüntüleri



Şekil 30. La_{0.25}Fe_{0.75}FeO₃ katkılı PANnf SEM görüntüleri

2.7. Perovskit Manyetik Nanoparçacık Modifiye Elektrot ile İmmüno-Sitosensör Geliştirilmesi

Perovskit manyetik nanoparçacık modifiye elektrot ve immüno-sitosensör hazırlama fabrikasyon aşaması gerçekleştirildi. Fabrikasyon adımlarının şematik gösterimi Şekil 31’de verilmiştir. Modifiye elektrot anti-CEA çözeltisine daldırıldıktan sonra BSA çözeltisine daldırılarak özel olmayan adsorpsiyonları engellemek için dışarda kalan aktif bölümler kapatılacaktır. İmmünosensörün çalışma prensibi bir antijen-antikor ilişkisine dayanmaktadır. Bu nedenle sensör yüzeyine tutturulmuş antikor miktarı; CEA antijenleri eklendiğinde meydana gelen impedimetrik değişim vasıtasıyla ölçülecektir. Elde edilen biyosensörler öncelikle 1 saat CEA proteinleriyle inkübe edilerek impedimetrik ölçümler gerçekleştirilecektir.



Şekil 31. İmmüno-sitosensör fabrikasyon adımlarının şematik gösterimi

2.8. Hücrelerin Kültüre Edilmesi

Çalışmada insan mesane kanseri hücre hattı RT-4 (ACC 412) (reküran, farklılaşmış transiyonel papiller mesane tümörü, klinik stage T2, histolojik grade G1) ve MDA-MB-231 (üçlü negatif meme adenokarsinoma), MCF-7 (östrojen duyarlı insan meme karsinomu), T98G (glioblastoma multiforme), %10'luk Fetal Bovine Serum (FBS) (Sigma-Aldrich) ve %1'lik Penisilin/Streptomisin içeren RPMI 1640 Medium besi ortamı içerisinde, 37 °C’de %5 CO₂ varlığında hücre kültürü inkübatöründe kültüre edildi. Kültür işleminde kullanılan tüm solüsyonlar kullanımdan önce 0,22 µm filtreler ile steril edildi. RT-4 ve MDA-MB-231 hücreleri RPMI ile MCF-7 ve T98G hücreleri ise sırasıyla DMEM düşük glukoz ve DMEM yüksek glukoz medyalarda büyütüldü. Hücreler T75 flasklarda kültüre edildi ve TE muamelesi ve hücre toplama işleminden önce %75’lik monolayer alan yoğunluğuna ulaşması sağlandı.

2.9. Hücre Sayımı

Kültüre edilen hücreler T75 flasktan Tripsin/EDTA uygulamasıyla toplandıktan sonra hücre süspansiyonu, 1500 rpm'de 5 dakika santrifüjlendi. Sonra iki kez dPBS ile yıkandı. Canlı hücrelerin sayısı, hemositometre kullanılarak tripan mavi boya dışlama yöntemi ile belirlendi. Ölü hücreler tripan mavisini hücre içine alacağından ölü/toplam hücre sayısı ölü hücre oranının değerlendirilmesini sağladı. Canlı hücre sayısı kullanılarak deneyler için belirlenen hücre sayısı için seyreltmeler yapıldı.

2.10. Ölçümler İçin Verilen Tüplerdeki Hücrelerin Hazırlanması

1,5 ml dPBS içinde $7,5 \times 10^5$ hücre, 15 mL'lik falcon tüplerine aktarıldı. CEA antikoru ve antijeni ile işleme tabi tutulmuş (PGE/PAN+La_{0.25}Fe_{0.75}FeO₃/Anti-CEA/BSA/CEA), PGE/PAN kaplı ve PGE/PAN+La_{0.25}Fe_{0.75}FeO₃ sitosensör problemleri tüplere daldırıldı ve 120 dk süreyle inkübe edildi.

2.11. Hücre Yapışması Deneyi ve Floresans Görüntüleme

Sensör problemleri (PGE/PAN, PGE/PAN+La_{0.25}Fe_{0.75}FeO₃, PGE/PAN+La_{0.25}Fe_{0.75}FeO₃/Anti-CEA/BSA/CEA ile kaplanmış) ilk önce UV ışığı altında sterilize edildi. Daha sonra 6 kuyucuklu kültür kaplarına her bir kuyucuğa bir sensör olacak şekilde yerleştirildi ve $7,5 \times 10^5$ hücre içeren %10'luk FBS ile zenginleştirilmiş 5 ml besi yeri ile kaplandı. Tüm hücre serileri daha önce tarif edildiği gibi büyütüldü. 48 saat inkübasyondan sonra besi ortamı uzaklaştırıldı ve sitosensör problemleri, bağlanmamış hücreleri uzaklaştırmak için dPBS ile yıkandı. Sitosensör yüzeyine bağlı hücreleri görüntülemek için hücreler Hoechst boyası ile boyandı ve görüntüler inverted floresan mikroskobu (DFC450C kamera ile donatılmış Leica DM-IL-LED, Leica microsystems GmbH, Wetzlar, Almanya) kullanılarak elde edildi. Hücre sayısı, Image J yazılımı, hücre sayım programı (National Institutes of Health, Bethesda, MD, USA) kullanılarak tüm sitosensörlerin yüzeyi için belirlendi.

2.12. İstatistiksel Analiz

Gruplar arasındaki farkı değerlendirmek için Student's T-test, GraphPad Prism sürüm 6,01 yazılımı (GraphPad Yazılımı, San Diego, CA) kullanılarak. $P < 0,05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

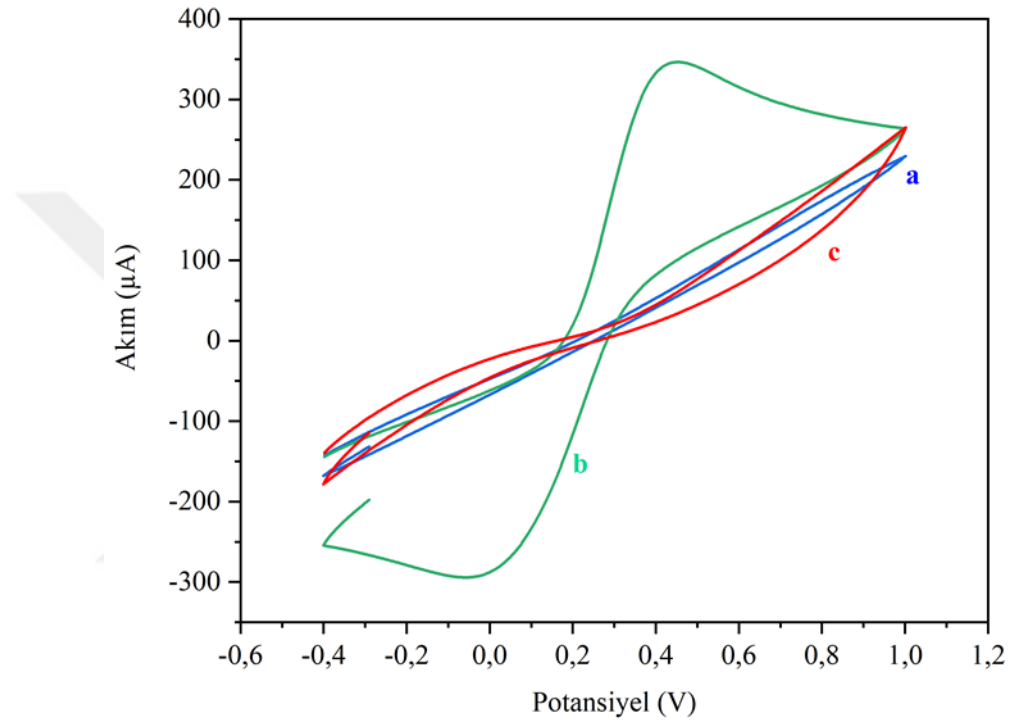
2.13. Optimizasyon Prosedür Çalışmaları

Analitik koşulların en iyi duruma getirilmesi amacıyla sürdürülen çalışmalarda diferansiyel puls voltammetrisinden (DPV) faydalanılmıştır. Bu tez çalışmasında pH, sıcaklık, immünokimyasal inkübasyon süresinin yanıtlar üzerine etkisi diferansiyel puls voltammetrisi (DPV) yöntemi ile incelenmiştir. DPV ölçümleri neticesinde voltammogramlar elde edilmiş ve akım değerleri ölçülmüştür. Bu amaçla geliştirilen biyosensörün antijenle bağlanma öncesi iletimin daha yüksek olduğu görülmüştür. Farklı pH değerlerindeki tampon çözeltiler içerisinde bağlanma öncesi ve sonrası elektrokimyasal ölçümler alınarak akım farkları grafiğe geçirilmiştir. Optimum pH ve sıcaklık belirlendikten sonra bu koşullar kullanılarak immünosensörün antijen çözeltisi içerisinde optimum inkübasyon süresi belirlenmiştir. Optimum süre belirlendikten sonra immünosensörün antijene verdiği elektrokimyasal yanıtların kalibrasyon grafiği çizilmiştir. Bu eğriden faydalanılarak belirtme alt sınırı (LOD) ve saptama alt sınırı (LOQ), bağıl standart sapma (RSD) değerleri gibi biyosensörün analitik kabiliyetini gösteren parametreler hesaplanmıştır, son olarak ise geliştirilen immünosensörün performansı gerçek serum örneklerinde denenmiştir. Gerçek serum örneklerinde bulunan antijenlerin biyosensöre bağlanma kabiliyeti yine bağlanma öncesi ve sonrasında elde edilen akım değerleri farkı kıyaslanarak belirlenmiştir. Biyosensörün antijene gösterdiği spesifiklik hedef antijeni ve farklı antijenleri aynı anda içeren gerçek serum ve sonrasında aynı içeriğe sahip tampon çözelti içerisinde ölçülerek kıyaslanmış ve farklanmalar yine yüzde girişim olarak serum çözelti için verilmiştir. Böylece gerçek örneklerle yönelik analizler konusunda daha sağlam veriler elde edilmiştir. Tüm ölçümler minimum üç tekrarlı olarak gerçekleştirilmiş ve akım sonuçları standart sapma değerleriyle birlikte ifade edilmiştir.

3. BULGULAR

3.1. Geliştirilen Elektrodun Elektrokimyasal Karakterizasyonu

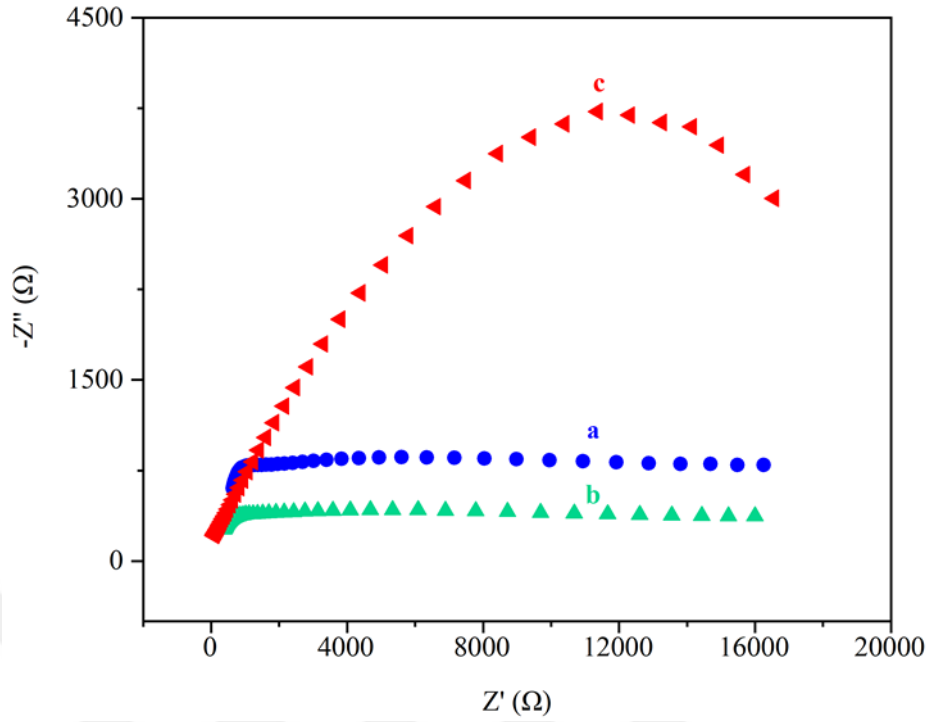
Şekil 32’de nanokompozit modifiye (PGE/PAN+La_{0,25}Fe_{0,75}FeO %3, %5 ve %9) elektrotlardan elde edilen döngüsel voltammogramlar, Şekil 33’de ise nanokompozit modifiye elektrotlardan elde edilen EIS spektrumları verilmiştir.



Şekil 32. Nanokompozit modifiye elektrotların voltammogramları

a) PGE/PAN+La_{0,25}Fe_{0,75}FeO₃, %3, b)%5 c) %9 (Tarama hızı: 100 mV / s)

Şekil 32’de perovskit manyetik nano parçacık modifiye elektrotların farklı yüzdelik oranlarının karşılaştırılmasına ait CV voltammogramları gösterilmektedir. Perovskit manyetik nano parçacık modifiye elektrotlarının yüzdesel oranlarının karşılaştırılması yapıldığında %3 ve %9’luk orana kıyasla %5’lik oranın akım yanıtının daha yüksek olduğu görülmektedir.



Şekil 33. Nanokompozit modifiye elektrotların elektrokimyasal empedans spektrumları

a) PGE/PAN+La_{0,25}Fe_{0,75}FeO₃, %3, b)%5 c) %9. (Tarama hızı: 100 mV / s, frekans: 10⁴ ile 10⁻¹ Hz aralığında gerçekleştirilmiştir)

Şekil 33'de perovskit manyetik nano parçacık modifiye elektrotların farklı yüzdelik oranlarının karşılaştırılmasına ait EIS grafiği gösterilmektedir. Perovskit manyetik nano parçacık modifiye elektrotlarının yüzdesel oranlarının karşılaştırılması yapıldığında %3 ve %9'luk orana kıyasla %5'lik oranın Nquist çemberin daha küçük olduğu görülmektedir. Bu doğrultuda empedansın düşük akım yanıtının ise yüksek olduğu sonucuna varılmaktadır. Bu durum döngüsel voltammogram sonuçlarının doğruluğunu kanıtlamıştır.

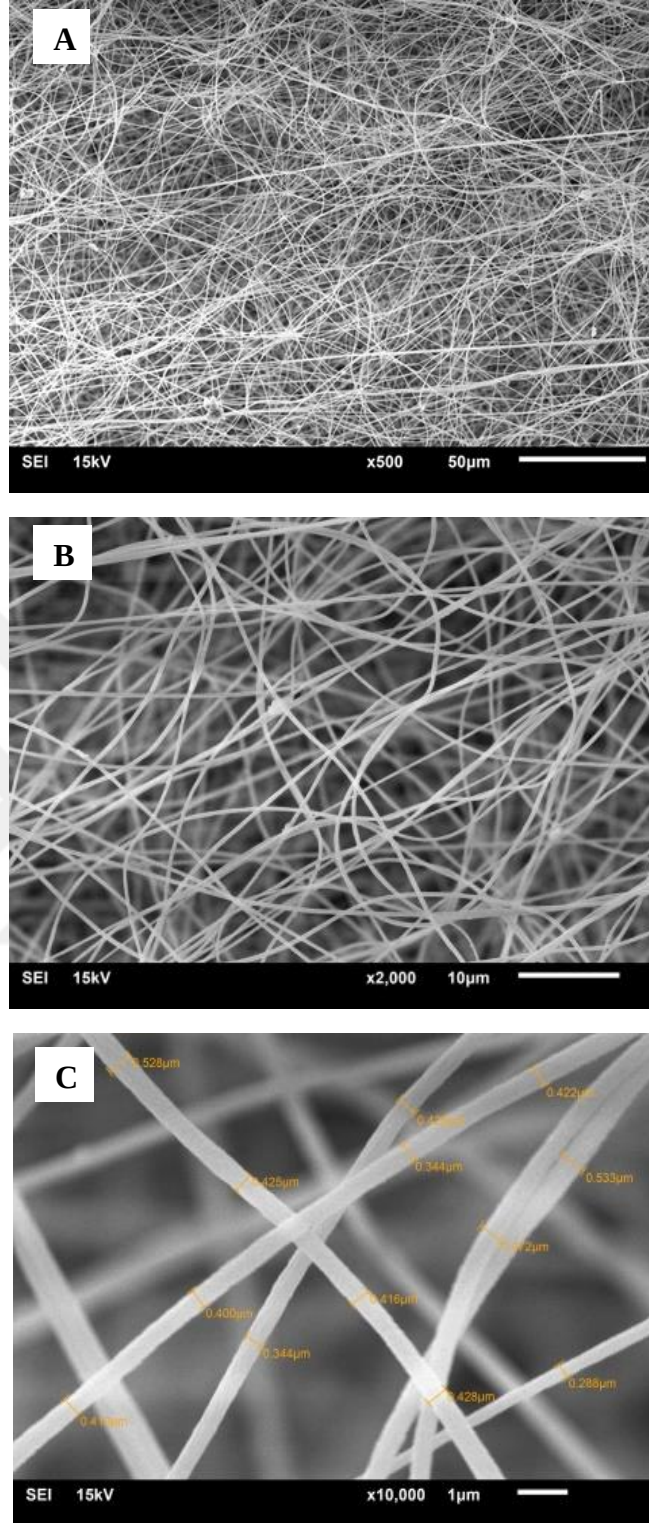
3.2. İmmünoşensörün Optimizasyon Prosedürü

Analitik koşulların en iyi duruma getirilmesi amacıyla sürdürülen bu tez çalışmasında diferansiyel puls voltammetri (DPV) yöntemi kullanılarak; pH, sıcaklık, inkübasyon yanıtları üzerine etkisi incelenmiştir.

3.3. İmmünoşensörün Yüzey Karakterizasyonu

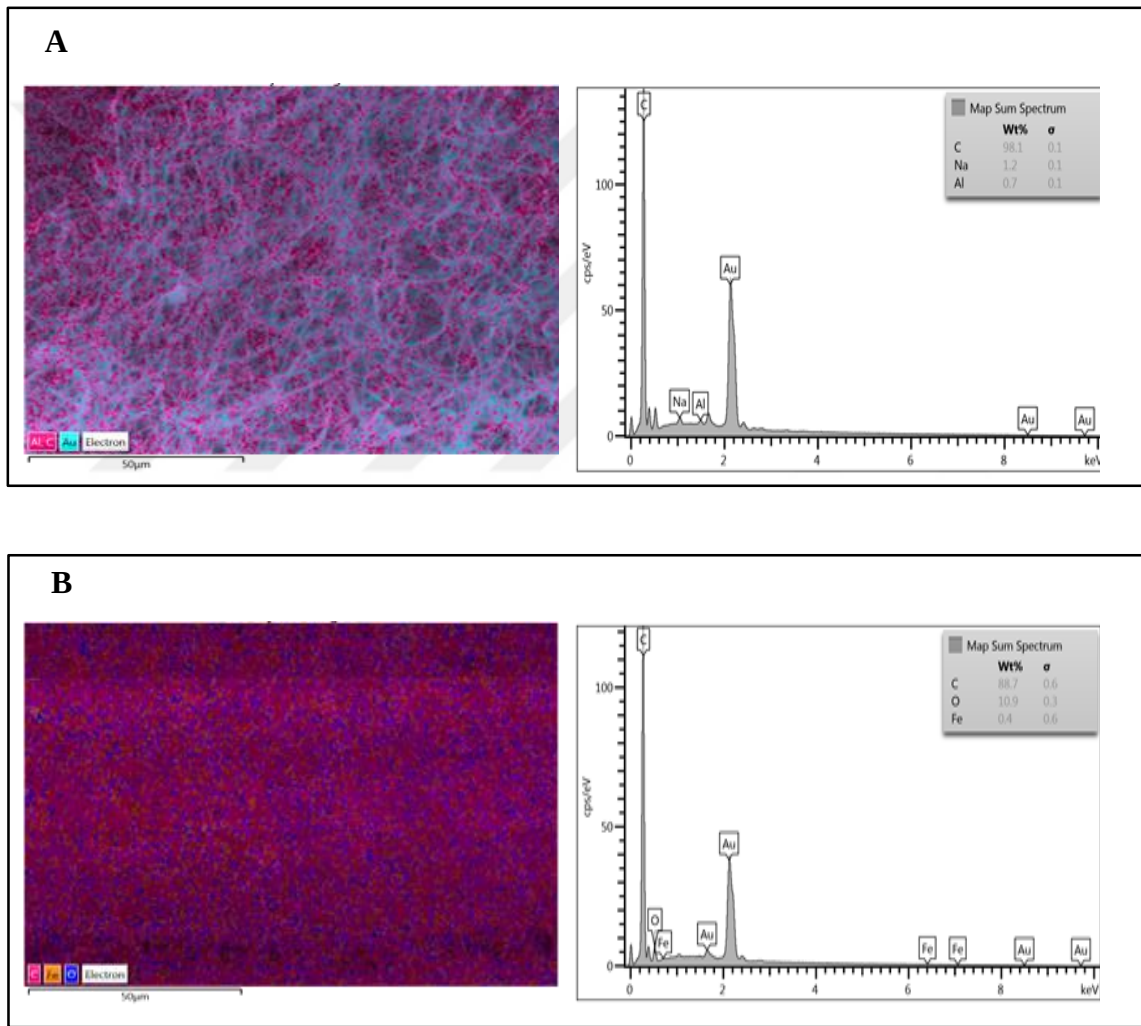
Şekil 34’de SEM görüntüleri farklı büyütme oranlarında PGE/PAN+ $\text{La}_{0.25}\text{Fe}_{0.75}\text{FeO}_3$ elektrot yüzeyini göstermektedir. Şekil 34A x500 büyütme oranında Şekil 34B x2000 büyütme oranında, Şekil 34C, x10000 büyütme oranında SEM görüntüleri görülmektedir. Şekil 34C’de PGE üzerine kaplanan PAN+ $\text{La}_{0.25}\text{Fe}_{0.75}\text{FeO}_3$ liflerin çap değerleri görülmektedir. Bu SEM görüntüsünden PAN+ $\text{La}_{0.25}\text{Fe}_{0.75}\text{FeO}_3$ liflerin ortalama çap değerinin 410 nm olduğu tespit edilmiştir.





Şekil 34. PGE/PAN+La_{0.25}Fe_{0.75}FeO₃ elektrot yüzeyinin farklı büyütme oranlarında SEM görüntüleri
A x500 büyütme oranında, B x2000 büyütme oranında, C x10000 büyütme oranında SEM görüntüleri görülmektedir.

Şekil 35’de malzemenin EDS spekturumu gösterilmektedir. Şekil 35’A’da malzemenin genel yapısına ait spektrum B) PAN+La_{0.25}Fe_{0.75}FeO₃ malzemesine ait spektrum görülmektedir. Şekil 35A’da malzemenin genel yapısına ait EIS spektrum incelendiğinde malzeme yapısının büyük oranda (%98,1) C içerikli olduğu, ayrıca Na (%51,2) ve Al (%0,7) içerdiği tespit edilmiştir. Şekil 35B’de PAN+La_{0.25}Fe_{0.75}FeO₃ malzemesine ait EIS spektrumu incelendiğinde malzeme yapısının büyük oranda (%88,7) C içerikli olduğu, ayrıca O (%10,9) ve Fe (%0,4) içerdiği tespit edilmiştir. Bu durum malzemede FeO fazlarının oluştuğunun göstergesidir.

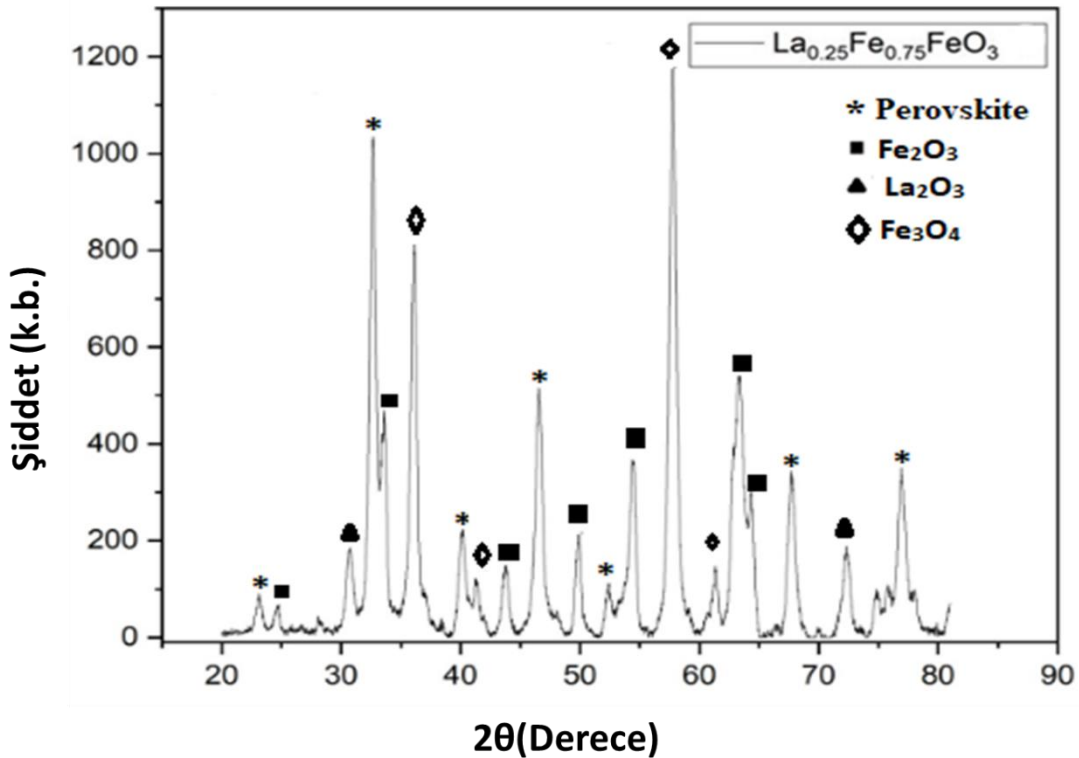


Şekil 35. Malzemenin EDS spekturumu

A) Malzemenin genel yapısına ait spektrum B) PAN+La_{0.25}Fe_{0.75}FeO₃ malzemesine ait spektrum.

3.4. $\text{La}_{0.25}\text{Fe}_{0.75}\text{FeO}_3$ XRD Analizi

Sol jel yöntemi ile üretilen $\text{La}_{0.25}\text{Fe}_{0.75}\text{FeO}_3$ nanoparçacığının kristal yapısını incelemek için XRD (X-ışını Kırınım Yöntemi) kullanılmıştır. Şekil 36'da $\text{La}_{0.25}\text{Fe}_{0.75}\text{FeO}_3$ örneğinin XRD grafiği verilmiştir. Bileşiğin XRD sonucu incelendiğinde yapının perovskite yapıya sahip olduğu fakat yapıda ayrıca Fe_2O_3 , Fe_3O_4 ve La_2O_3 safsızlık fazlarının olduğu tespit edilmiştir. Elde edilen sonuca göre bir miktar Fe iyonun perovskite matrisinin yapısına girdiğini ve istenilen perovskite yapısını oluşturduğunu, fakat safsızlık fazlarının varlığı, A bölgesine (ABO_3 tipi perovskite bileşiği; $(\text{La}_{1-x}\text{Fe}_x)\text{FeO}_3$) katkılanmak istenen Fe atomlarının iyonik yarıçap farkından dolayı (La (117,2 pm), Fe (69 pm)) yapıdan ayrılarak perovskite yapı yerine farklı bir kristalleşme şeklinde birleştiğini göstermektedir. Bu durumun önüne geçebilmek için perovskite yapının oluşturulması adına, daha yüksek ısı işlem sıcaklığı uygulanması gerekmektedir. Fakat bu durum parçacıkların nano boyutlar yerine daha büyük parçacık boyutlarında büyümesine sebep olacaktır.



Şekil 36. $\text{La}_{0.25}\text{Fe}_{0.75}\text{FeO}_3$ XRD analizi

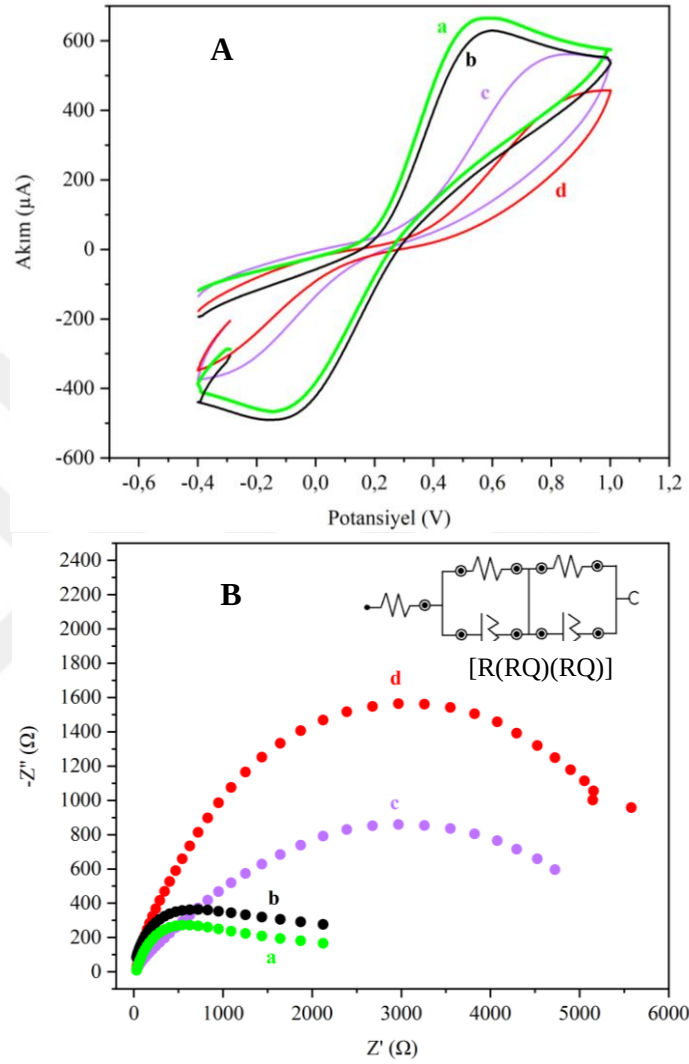
3.5. İmmünosensörün Elektrokimyasal Karakterizasyonu

Voltammogramlar dıştan içe a) PGE/PAN+La_{0.25}Fe_{0.75}FeO₃, b) PGE/PAN+La_{0.25}Fe_{0.75}FeO₃/AntiCEA, c) PGE/PAN+La_{0.25}Fe_{0.75}FeO₃/AntiCEA/BSA d) PGE/PAN+La_{0.25}Fe_{0.75}FeO₃/AntiCEA/BSA/CEA olarak verilmiştir. PGE/PAN+La_{0.25}Fe_{0.75}FeO₃ modifiye edilmiş elektrot yüzeyine anti-CEA bağlanması ile birlikte pik akımında azalma gözlenmiştir. Bu durum elektrot yüzeyinde bulunan elektroaktif kısımların örtüldüğünü ve bağlanmanın başarıyla gerçekleştirildiğinin işaretidir. Elektrot yüzeyinde kaplanmamış kısımların BSA ile bloklanarak aktifleşmesi sağlanmıştır. İşlem sonrasında elde edilen elektrot karsino embriyonik antijeni (CEA) içerisine daldırılmış ve anti-CEA ile CEA arasında immünokompleks oluşumundan dolayı akım yanıtında düşüş gözlenmiştir. Bu bulgular aynı zamanda Şekil 37B’de etkili bir elektrokimyasal teknik olan elektrokimyasal empedans spektroskopisi (EIS) ile doğrulanmıştır.

Şekil 37B’de spektrumlar sırasıyla a) PGE/PAN+La_{0.25}Fe_{0.75}FeO₃, b) PGE/PAN+La_{0.25}Fe_{0.75}FeO₃/Anti-CEA, c) PGE/PAN+La_{0.25}Fe_{0.75}FeO₃/Anti-CEA/BSA ve d) PGE/PAN+La_{0.25}Fe_{0.75}FeO₃/Anti-CEA/BSA/CEA için empedans spektrumları verilmiştir.

Direnç yükü transfer değeri (R_{ct}), PGE/PAN+La_{0.25}Fe_{0.75}FeO₃ 353 Ω olarak hesaplandı. EIS spektrumlarında Nyquist grafiklerin yarı çemberlerinin artması, elektrot yüzeyinde bulunan iletken kısımların kapanarak yüzeydeki direncin, dolayısıyla empedansın arttığının göstergesidir. Sunulan EIS davranışı, Şekil 37A’daki CV verilerinin bulgularıyla tutarlıdır. Antikor kaplanması sonrasında akım yanıtının bir miktar düştüğü ve yarıçemberin biraz daha arttığı görülmektedir. Son olarak beklenildiği üzere antijen bağlanması neticesinde en düşük akım değerini gösteren CV voltammogramı elde edilirken, en geniş yarıçembere sahip EIS spektrumu bu bağlanma sonrasında elde edildi. Bu kısımda yapılan çalışmalar neticesinde immünosensörün hazırlanması başarıyla gerçekleştirilebilir ve akım yanıtlarındaki düşüş karakterizasyonun sağlıklı bir şekilde yürütüldüğünü göstermektedir. Bundan sonraki optimizasyon çalışmalarında antikor bağlanmış olan elektrot yanıtından antijen bağlanmış olan elektrodun yanıtı çıkartılarak elde edilen akım farkı grafiklere yansıtılmıştır. Optimum koşullar antikor ile antijenin en iyi bağlanmayı gösterdiği ortam olacaktır. Bu durum akımdaki düşüşün yüksek olması

şeklinde gözlenecektir. Nitekim elektrot yüzeyindeki antikorlara bağlanma ne kadar yüksek olursa elektrot yüzeyinde oluşan biyofilm kalınlığı o kadar yüksek olacak ve elektrodun aktif yüzey özelliği de o kadar artacaktır.

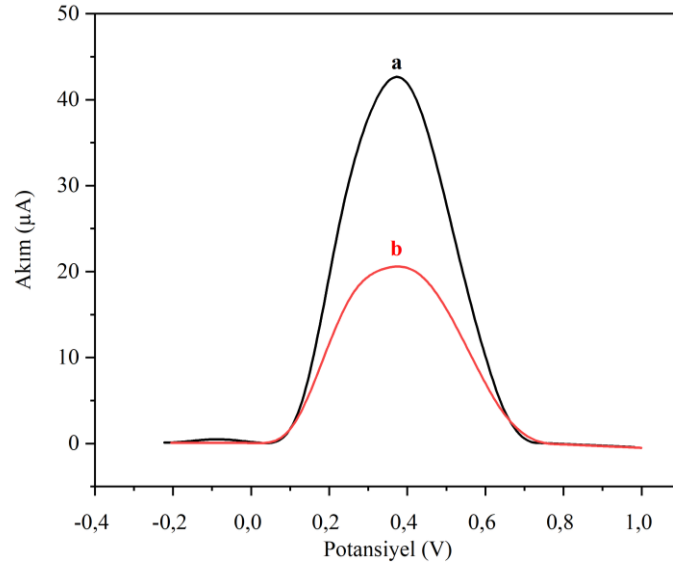


Şekil 37. İmmünosensörün döngüsel voltammogramları ve elektrokimyasal empedans spektrumları

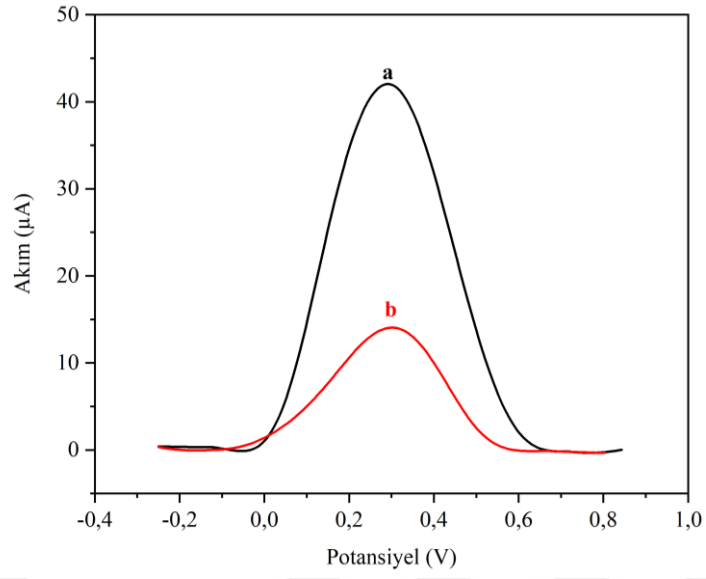
a) PGE /PAN+La_{0.25}Fe_{0.75}FeO₃, b) PGE/PAN+La_{0.25}Fe_{0.75}FeO₃/Anti-CEA, c) PGE/PAN+La_{0.25} Fe_{0.75}FeO₃/Anti-CEA/BSA, d) PGE/PAN+La_{0.25}Fe_{0.75}FeO₃ /Anti-CEA/BSA/CEA empedans spektrumları (5mM[Fe(CN)₆]^{3-/4-}) içeren 50 mM PBS (pH 7.4) içerisinde, -0.4 V- +1.0 V, 100 mV s⁻¹ tarama hızında, frekans: 10⁴ ile 10⁻¹ Hz aralığında gerçekleştirilmiştir.

3.6. pH Optimizasyonu

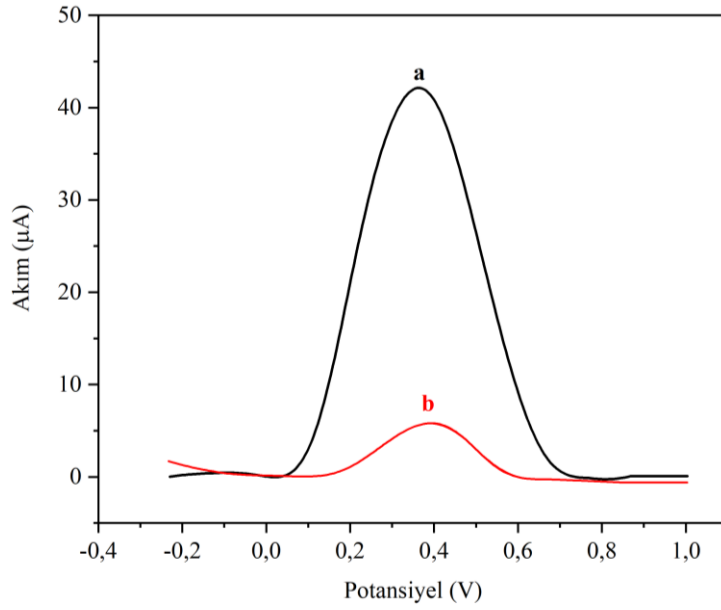
pH'nın immünosensör davranışı üzerindeki etkisi pH 6 (22,363 μA), pH 6,6 (28,596 μA), pH 7 (37,471 μA), pH 7,4 (48,935 μA), pH 7,5 (14,775 μA) ve pH 8 (13 μA) değerleri için araştırıldı. Şekil 38'de pH 6, Şekil 39'da pH 6,6, Şekil 40'da pH 7, Şekil 41'de pH 7,4, Şekil 42'de pH 7,5, ve Şekil 43'de pH 8,0 için antikor ve antijen içeren elektrotların DPV voltammogramları karşılaştırmalı olarak verilmiştir. Fiziolojik pH'nın da 7,4 civarında olduğu göz önüne alınarak yapılan çalışmada (Şekil 44'de) pH 7,4'de elde edilen akım yanıtının maksimum olduğu gözlemlenmiştir. Bu pH değeri optimum pH olarak belirlendi ve daha sonraki çalışmalar için kullanıldı.



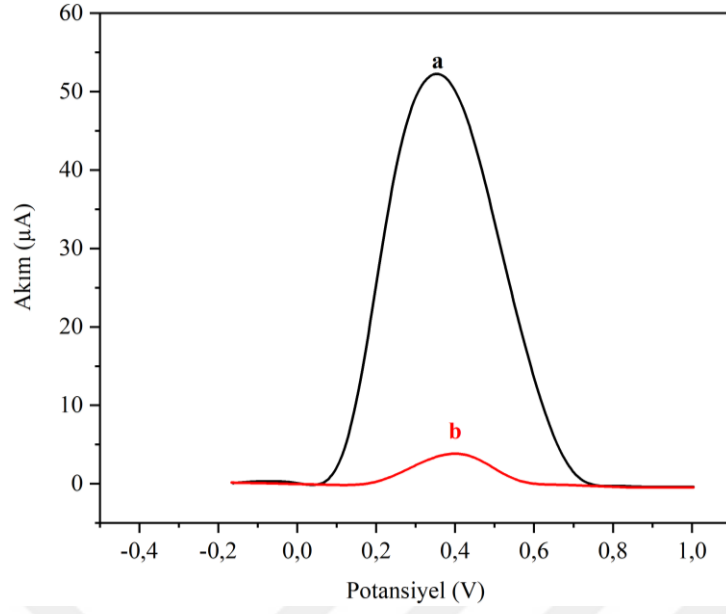
Şekil 38. İmmünosensör pH 6 için elektrotların DPV voltammogramlarına ait grafik
a) antikor ve b) antijen içeren elektrot



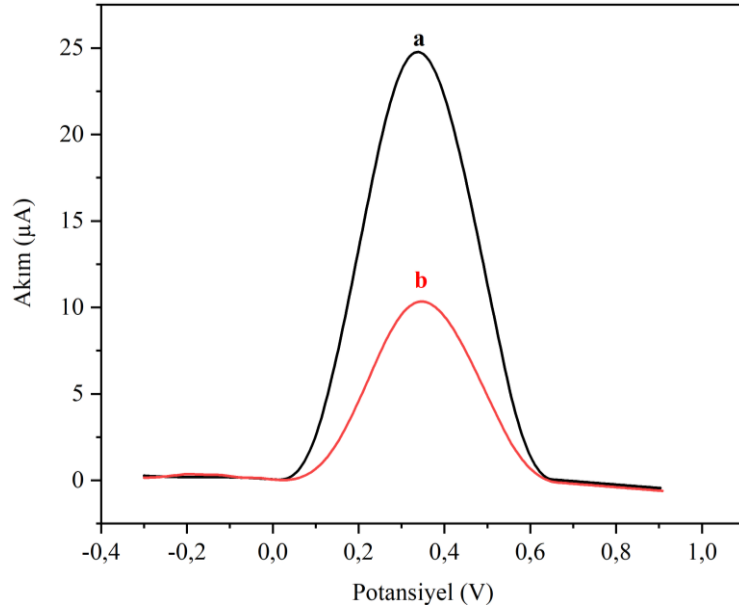
Şekil 39. İmmünoşensör pH 6,6 için elektrotların DPV voltammogramlarına ait grafik
a) antikor ve b) antijen içeren elektrot



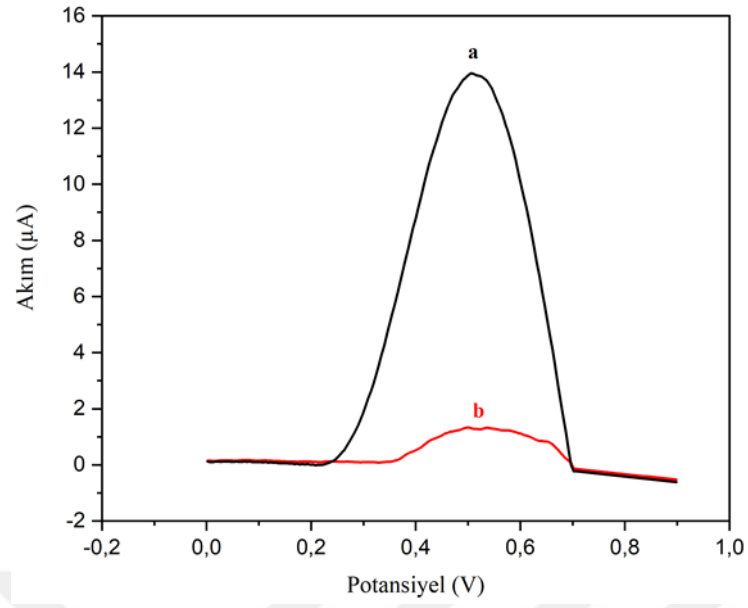
Şekil 40. İmmünoşensör pH 7 için elektrotların DPV voltammogramlarına ait grafik
a) antikor ve b) antijen içeren elektrot



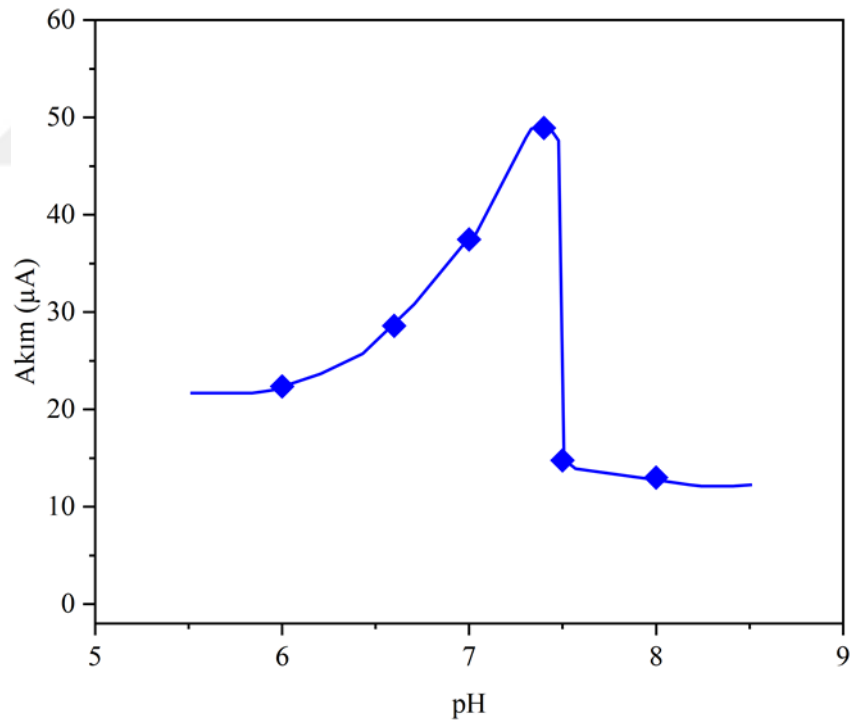
Şekil 41. İmmünoşensör pH 7,4 için elektrotların DPV voltammogramlarına ait grafik
a) antikor ve b) antijen içeren elektrot



Şekil 42. İmmünoşensör pH 7,5 için elektrotların DPV voltammogramlarına ait grafik
a) antikor ve b) antijen içeren elektrot



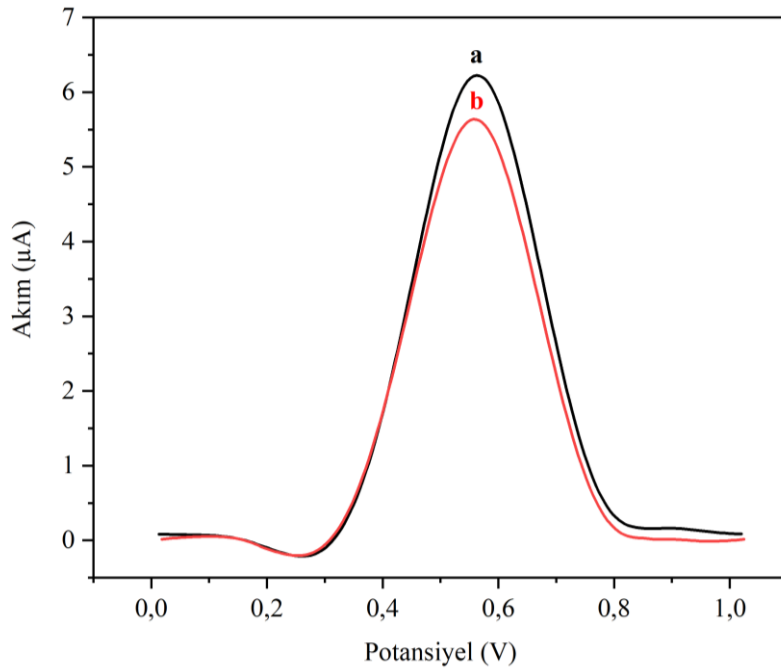
Şekil 43. İmmünoşensör pH 8 için elektrotların DPV voltammogramlarına ait grafik a) antikor ve b) antijen içeren elektrot



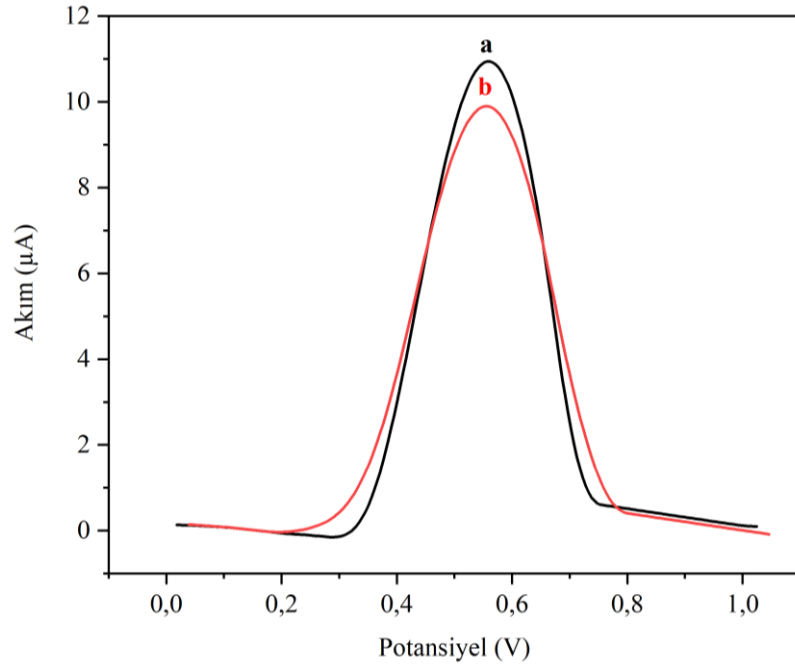
Şekil 44. İmmünoşensörün pH 6, pH 6,6, pH 7, pH 7,4, pH 7,5 ve pH 8 aralığında optimizasyon çalışmasına ait grafik

3.7. Sıcaklık Optimizasyonu

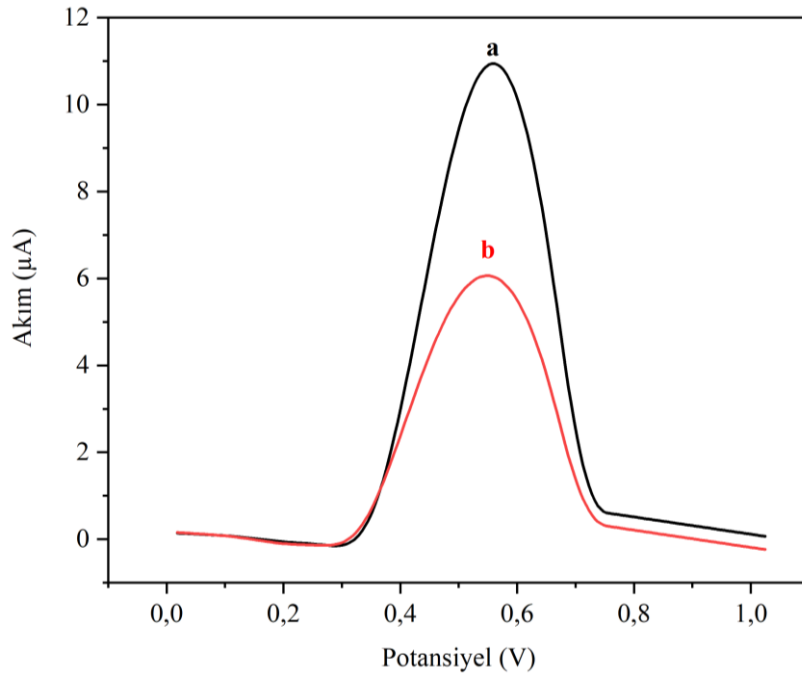
İnkübasyon sıcaklığının geliştirilen immünosensörün üzerindeki etkisi, 10 ng / mL CEA ile 25°C (Şekil 45), 30°C (Şekil 46), 35°C (Şekil 47), 40°C (Şekil 48) ve 45°C'deki (Şekil 49) akım değerleri belirlenmiştir. Akım değerleri 25°C (0,743 μ A), 30°C (0,8091 μ A), 35°C (4,82479 μ A), 40°C (2,3984 μ A) ve 45°C (2,3957 μ A) olarak tespit edilmiştir. Akım farkı 35°C'ye kadar arttı ve sıcaklık 35°C'nin üzerine çıkıldığında akım değerleri sert bir şekilde azaldı (Şekil 50). Bu doğrultuda; 35°C sıcaklığı bu çalışma için optimum çalışma sıcaklığı olarak seçilmiştir.



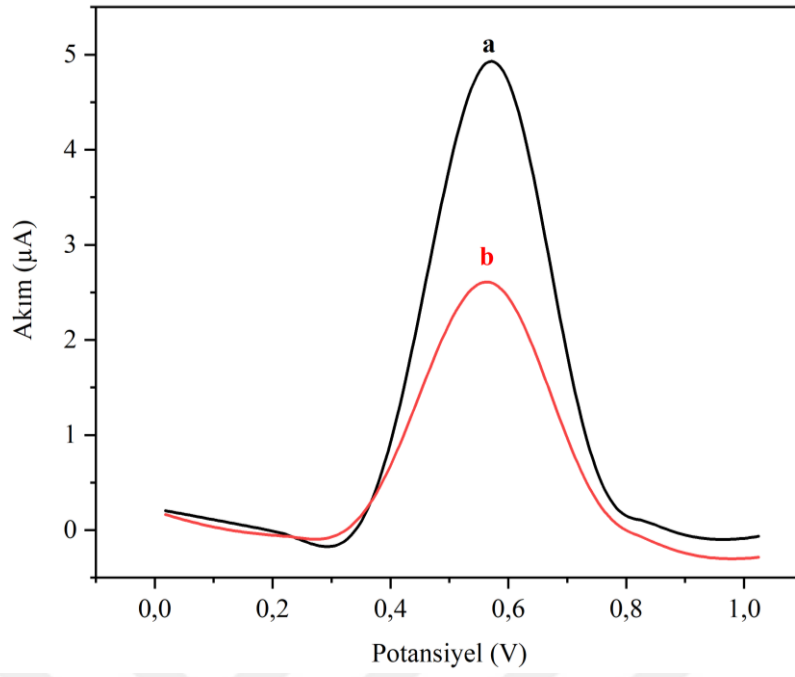
Şekil 45. İmmünosensör 25°C için elektrotların DPV voltammogramlarına ait grafik a) antikor ve b) antijen içeren elektrot



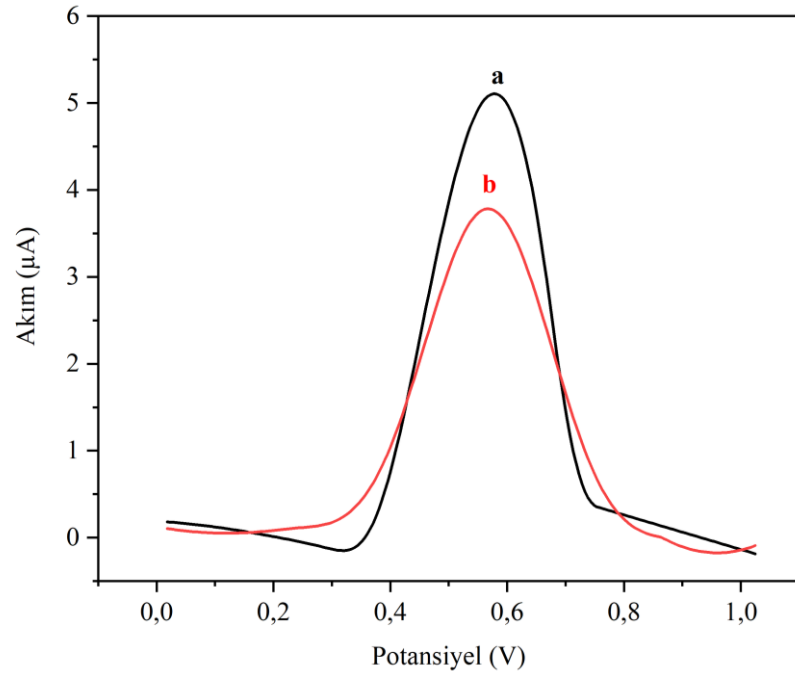
Şekil 46. İmmünoşensör 30°C için elektrotların DPV voltammogramlarına ait grafik
a) antikor ve b) antijen içeren elektrot



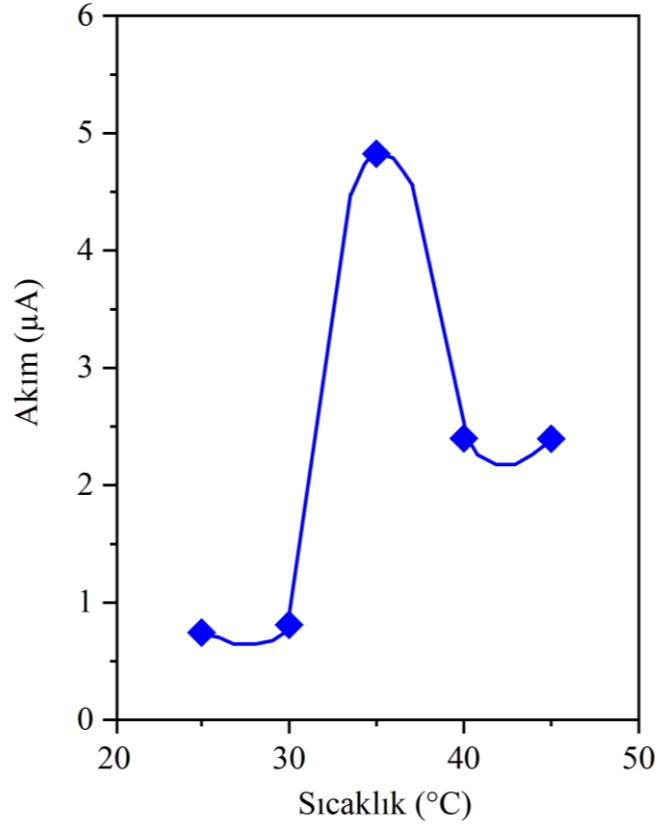
Şekil 47. İmmünoşensör 35°C için elektrotların DPV voltammogramlarına ait grafik
a) antikor ve b) antijen içeren elektrot



Şekil 48. İmmünoşensör 40°C için elektrotların DPV voltammogramlarına ait grafik
a) antikor ve b) antijen içeren elektrot



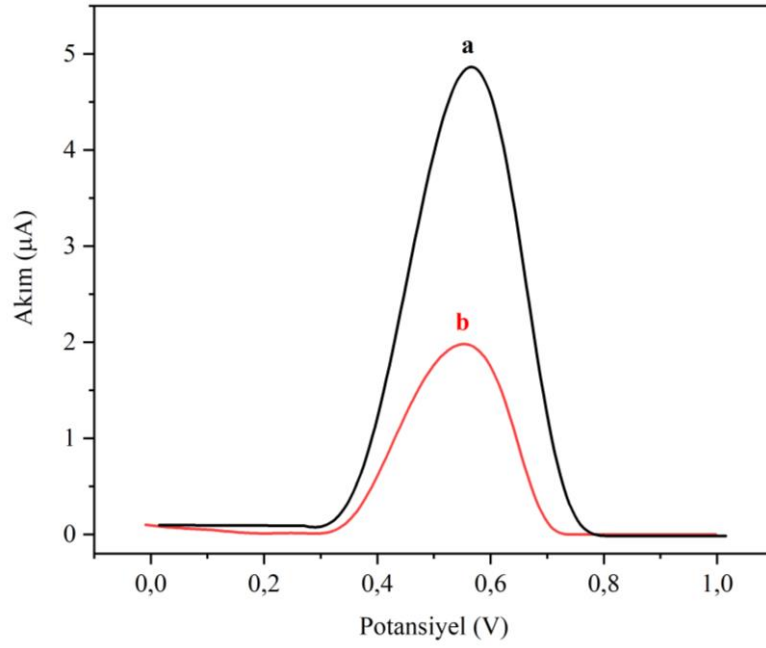
Şekil 49. İmmünoşensör 45°C için elektrotların DPV voltammogramlarına ait grafik
a) antikor ve b) antijen içeren elektrot



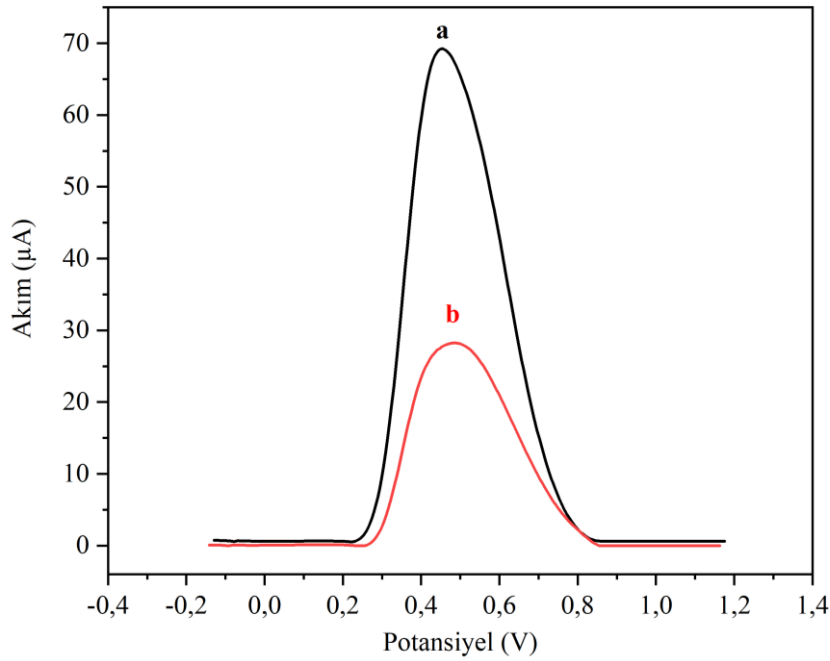
Şekil 50. İmmünosensörün 25°C, 30°C, 35°C, 40°C ve 45°C aralığında sıcaklık optimizasyonuna ait optimizasyon grafiği

3.8. İnkübasyon Süresi Optimizasyonu

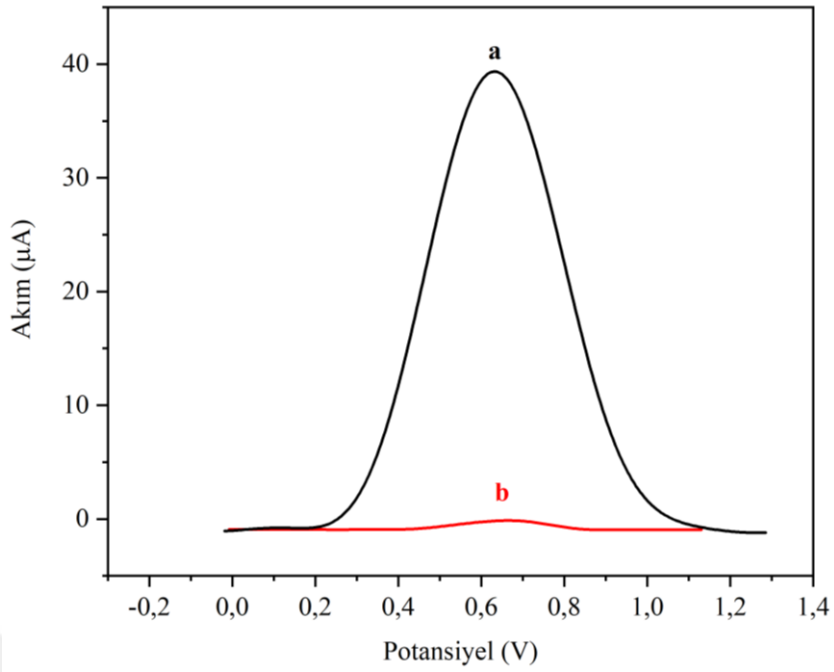
35 °C'de, pH 7,4 bağlanma ortamında 10 ng/mL CEA çözeltisi için immünokimyasal inkübasyon süresinin etkisi araştırıldı. Şekil 51'de gösterildiği gibi, inkübasyon süresinin immünosensörün akımı üzerindeki etkisi 20 (4,8147 μA), 25 (40,385 μA), 30 (36,117 μA), 35 (19,2628 μA) ve 40 (13,0337 μA) dakika arasında araştırıldı (Şekil 51-55). Şekil 56'da elde edilen akım farkı değerlerinden 25 dakika inkübasyon süresi uygulandığında maksimum değere ulaşması ve sonrasında keskin bir düşüş görülmesi sonucunda 25 dakika optimum inkübasyon süresi olarak kullanıldı.



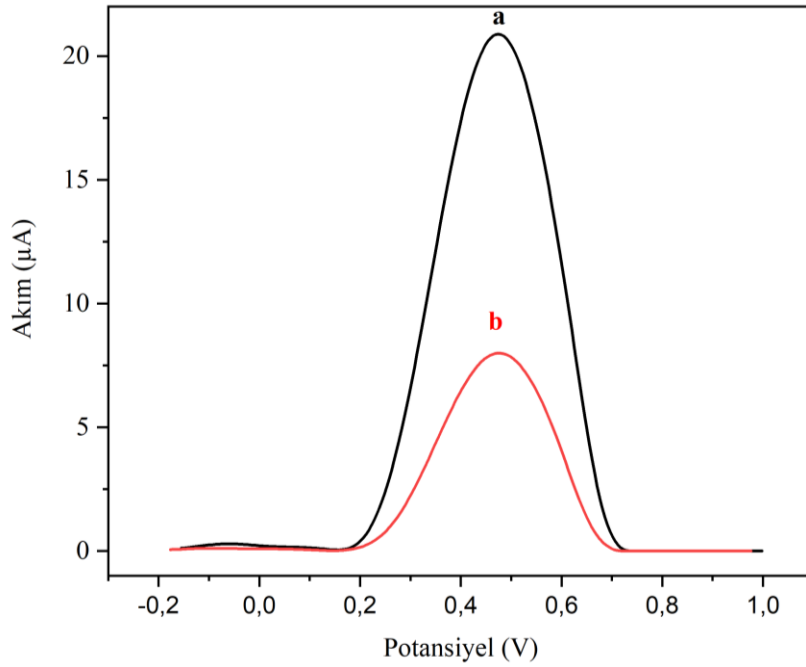
Şekil 51. İmmünoşensör 20 dk inkübasyon süresi için elektrotların DPV voltammogramlarına ait grafik
a) antikor ve b) antijen içeren elektrot



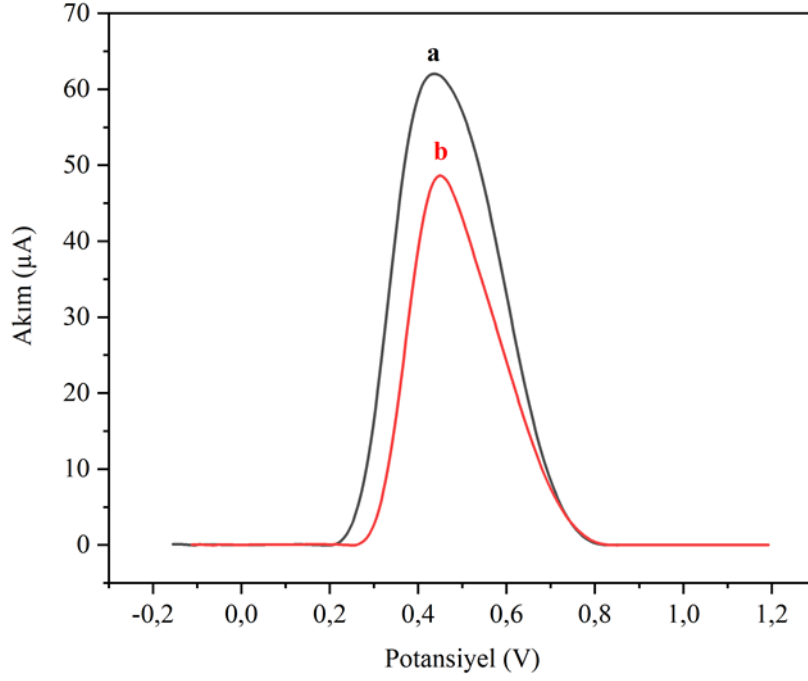
Şekil 52. İmmünoşensör 25 dk inkübasyon süresi için elektrotların DPV voltammogramlarına ait grafik
a) antikor ve b) antijen içeren elektrot



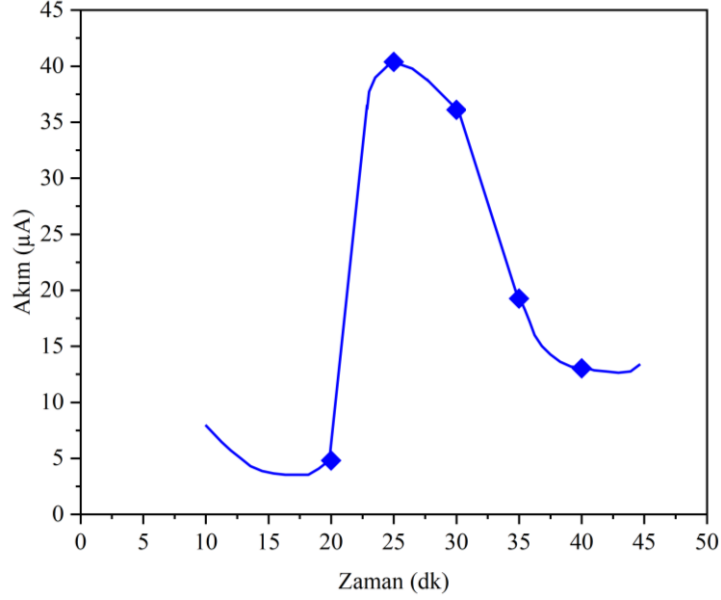
Şekil 53. İmmünoşensör 30 dk inkübasyon süresi için elektrotların DPV voltammogramlarına ait grafik
a) antikor ve b) antijen içeren elektrot



Şekil 54. İmmünoşensör 35 dk inkübasyon süresi için elektrotların DPV voltammogramlarına ait grafik
a) antikor ve b) antijen içeren elektrot



Şekil 55. İmmünoşensör 40 dk inkübasyon süresi için elektrotların DPV voltammogramlarına ait grafik
a) antikor ve b) antijen içeren elektrot

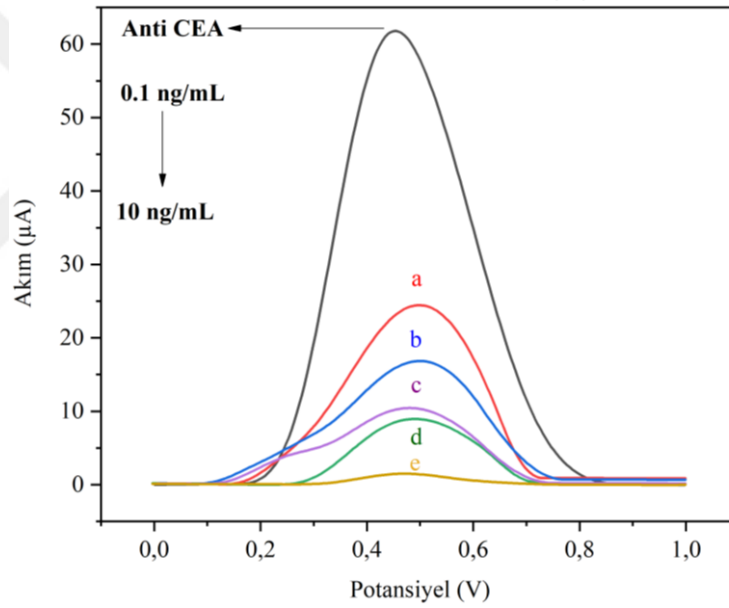


Şekil 56. İmmünoşensörün inkübasyon sürelerinin optimizasyon çalışmasına ait 20, 25, 30, 35 ve 40 dk'larda ayrı ayrı DP voltammogramlarından elde edilen akımlar

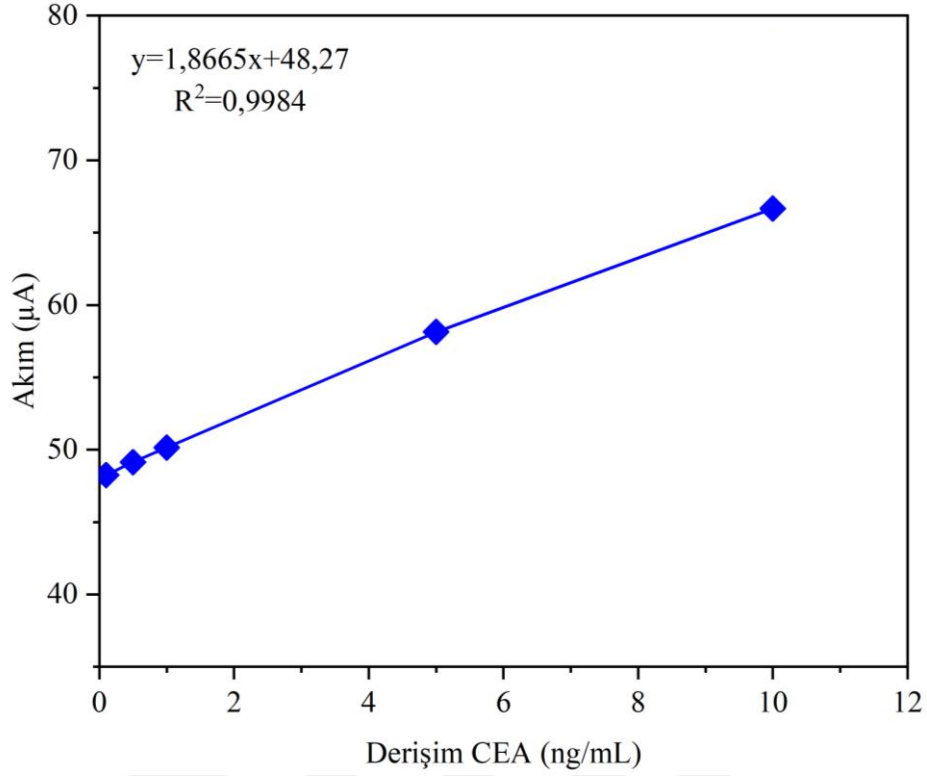
3.9. İmmünoşensörün Analitik Performansı

3.9.1. Analitiksel Karakteristik

Optimum koşullar belirlendikten sonra immünoşensörün CEA belirleme duyarlılığı incelenmiştir. PGE/PAN+La_{0,25}Fe_{0,75}FeO₃/Anti-CEA immünoşensörün optimum koşullarda bulunan farklı derişimlerde hazırlanan CEA çözeltilerine daldırılarak elde edilen akım farklanmaları hesaplanmıştır (Şekil 57). Bu değerler değişen CEA konsantrasyonlarına karşı grafiğe geçirilerek immünoşensörün CEA kalibrasyon grafiği oluşturulmuştur. Doğrusal çalışma aralığı 0,1- 10 ng/mL olarak bulunmuş ($R^2 = 0,9984$), tayin sınırı LOD ($3s/m$)= 1,48 alt tayin sınırı LOQ= 4,494 ve bağıl standart sapma RSD=1,46 (n=5 için) şeklinde hesaplanmıştır (Şekil 58).



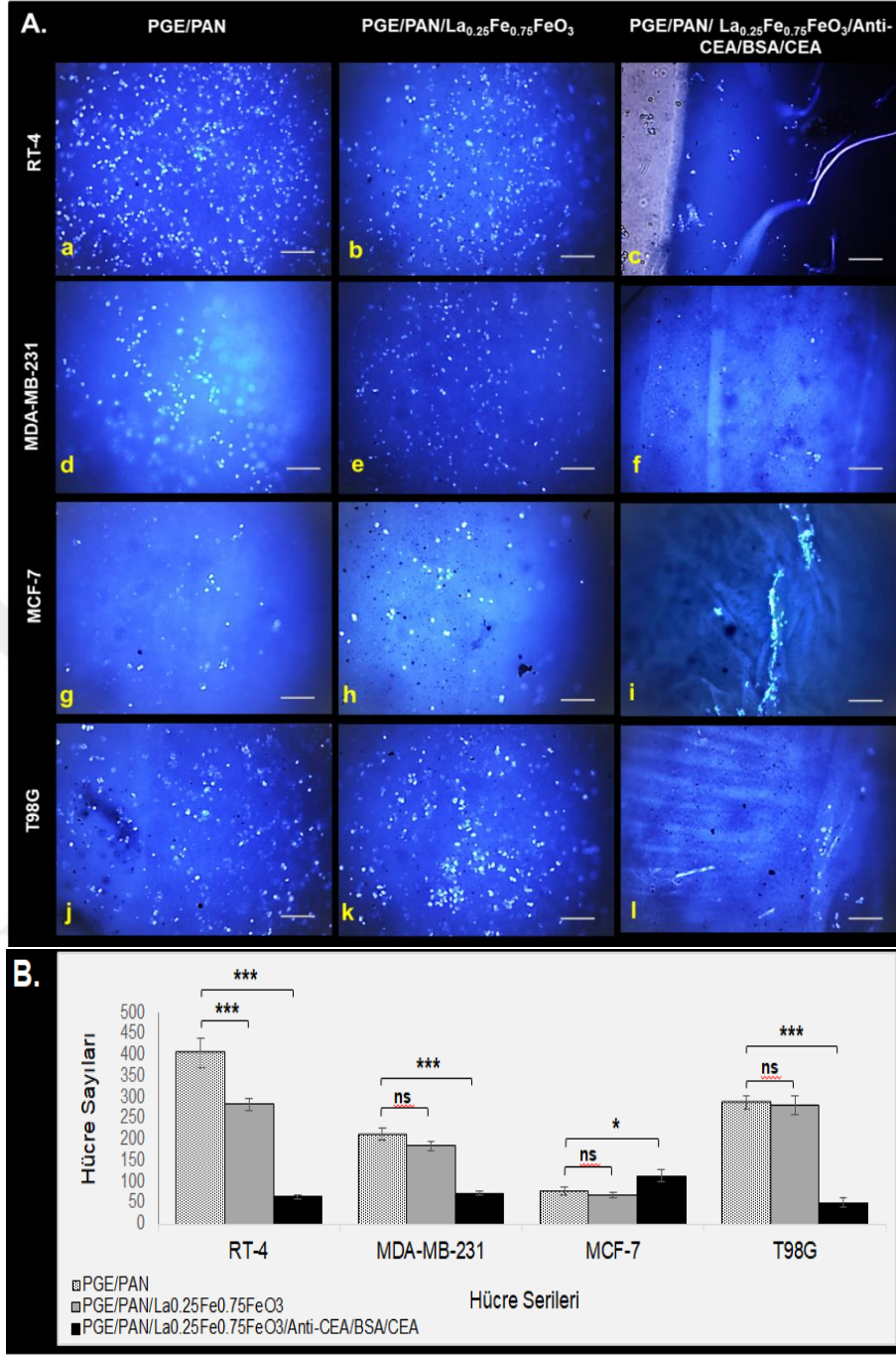
Şekil 57. CEA İmmünoşensörünün, CEA için
a) 0,1 b) 0,5 c) 1 d) 5 e) 10 ng/mL doğrusal aralığına ait DPV voltammogramları



Şekil 58. CEA'ların farklı derişimleri (0,1-10 ng/mL) için kalibrasyon grafiğı

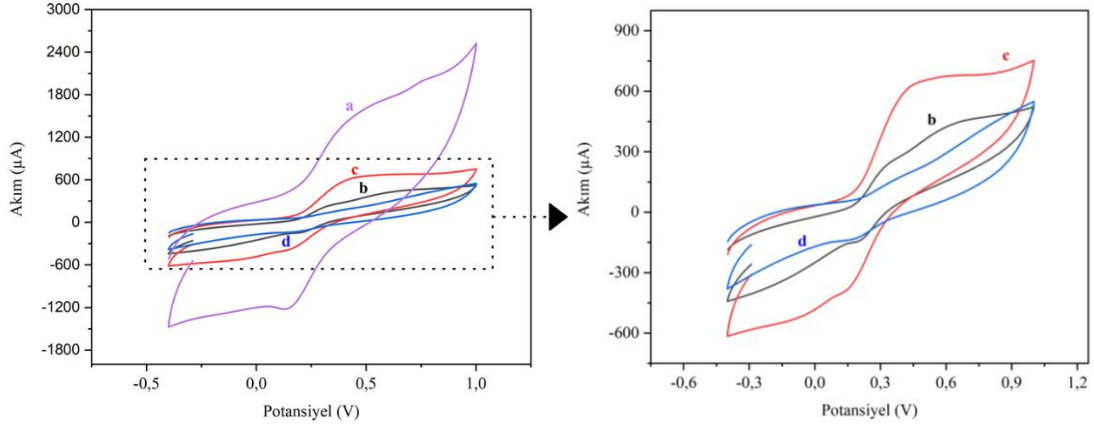
3.10. Hücre Sonuçları

Bu çalışmada, 48 saatlik inkübasyondan sonra hücrelerin PGE/PAN, PGE/PAN/La_{0,25}Fe_{0,75}FeO₃ modifiye ve antikor/antijen kaplı (PGE/PAN/La_{0,25}Fe_{0,75}FeO₃/Anti-CEA/BSA/CEA) yüzeylere yapışması değerlendirildi (Şekil 59). CEA negatif hücre hatları olarak bilinen RT-4, MDA-MB-231 ve T98G hücrelerinde PGE/PAN/La_{0,25}Fe_{0,75}FeO₃/Anti-CEA/BSA/CEA üzerindeki hücre sayısında azalma gözlemlendi. Ancak MCF-7 (CEA pozitif) hücrelerinde PGE/PAN/La_{0,25}Fe_{0,75}FeO₃/Anti-CEA/BSA/CEA yüzeyine yapışan hücre sayısının diğer hücre hatlarına göre anlamlı derecede yüksek olduğu bulundu. Hem PGE/PAN hem de PGE/PAN/La_{0,25}Fe_{0,75}FeO₃ yüzeylerinde nispeten düşük sayıda MCF-7 hücresi gösterilmiştir. İlginç bir şekilde, PGE/PAN ve PGE/PAN/La_{0,25}Fe_{0,75}FeO₃ yüzeylerine, MCF-7 hücrelerine kıyasla diğer hücre serilerinde belirgin şekilde daha fazla sayıda hücre yapışması gözlemlendi. Elde edilen sonuçlar, PGE/PAN/La_{0,25}Fe_{0,75}FeO₃/Anti-CEA/BSA/CEA ile işlenmiş yüzeyin, CEA-pozitif hücre serisi MCF-7'nin yapışmasını artırdığı sonucuna varılabilir.



Şekil 59. Modifiye ve antikor/antijen kaplı yüzey görüntüleri ile hücre sayıları ve hücre serileri görüntüleri

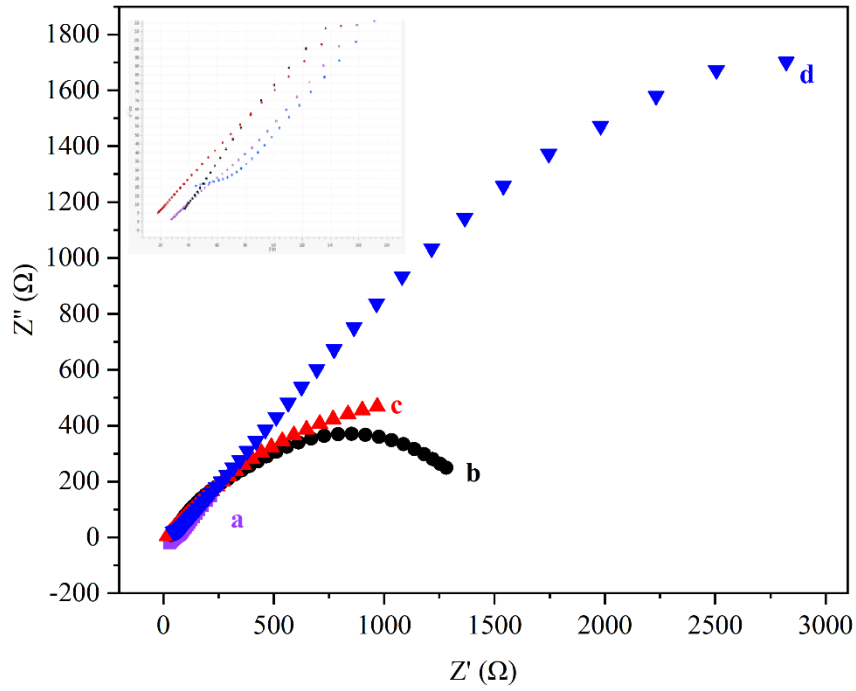
A'da 48 saatlik inkübasyondan sonra hücrelerin PGE/PAN, PGE/PAN/La_{0.25}Fe_{0.75}FeO₃ modifiye ve antikor/antijen kaplı (PGE/PAN/La_{0.25}Fe_{0.75}FeO₃/Anti-CEA/BSA/CEA) yüzey görüntüleri. B'de 48 saatlik inkübasyondan sonra hücrelerin PGE/PAN, PGE/PAN/La_{0.25}Fe_{0.75}FeO₃ modifiye ve antikor/antijen kaplı (PGE/PAN/La_{0.25}Fe_{0.75}FeO₃/Anti-CEA/BSA/CEA) yüzeylerde hücre sayıları ve hücre serileri gösterilmektedir.



Şekil 60. Sitosensörün döngüsel voltammogramları

a) PGE/PAN, b) PGE/PAN/MCF-7, c) PGE/PAN/La_{0.25}Fe_{0.75}FeO₃/MCF-7, d) PGE/PAN/La_{0.25}Fe_{0.75}FeO₃/Anti-CEA /BSA/CEA/MCF-7 voltammogramları (5 mM [Fe(CN)₆]^{3-/4-} içeren 50 mM PBS (pH 7,4) içerisinde, 100 mV s⁻¹ tarama hızında gerçekleştirilmiştir.)

MCF-7 hücre hattının PGE/PAN, PGE/PAN/La_{0.25}Fe_{0.75}FeO₃, ve PGE/PAN/La_{0.25}Fe_{0.75}FeO₃/Anti-CEA/BSA/CEA modifiye elektroduna ait döngüsel voltammogramları Şekil 60'da verilmiştir. Şekil 60a'da PGE/PAN yalın modifiye elektrodunun akım yanıtının en yüksek olduğu görülmektedir. Şekil 60b'de PGE/PAN modifiye elektroduna MCF-7 hücre immobilizasyonunda akım yanıtı düşüşü gözlemlenmiştir. Şekil 60c'de PGE/PAN/La_{0.25}Fe_{0.75}FeO₃ modifiye elektrodun MCF-7 hücre immobilizasyonunda ise akım yanıtının arttırdığı görülmektedir. PGE/PAN/La_{0.25}Fe_{0.75}FeO₃/MCF-7 modifiye sitosensörün PGE/PAN/MCF-7 modifiye sitosensörüne göre akım yanıtının arttığı, bu artışın La_{0.25}Fe_{0.75}FeO₃ nanoparçacık kaynaklı olduğu tespit edilmiştir. Şekil 60d'de PGE/PAN/La_{0.25}Fe_{0.75}FeO₃/Anti-CEA/BSA/CEA modifiye immünosensörüne MCF-7 hücresi immobilizasyonunda akım yanıtında fark edilebilir bir düşüş gözlemlenmiştir. Bu durum antikor-antijen etkileşiminin sağlıklı bir şekilde gerçekleştiğini ve aynı zamanda hücre hattının bağlanmasıyla akım yanıtının düştüğünü göstermektedir.

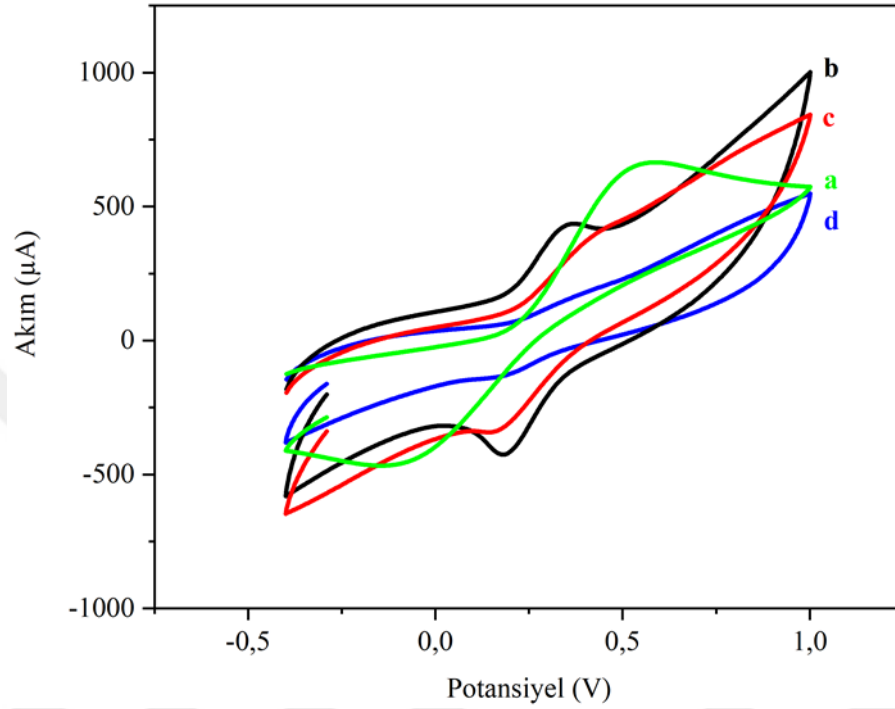


Şekil 61. Sitosensörün elektrokimyasal empedans spektrumları

a) PGE/PAN, b) PGE/PAN/MCF-7, c) PGE/PAN/La_{0.25}Fe_{0.75}FeO₃/MCF-7, d) PGE/PAN/La_{0.25}Fe_{0.75}FeO₃/Anti-CEA /BSA/CEA/MCF-7 empedans spektrumları (5 mM [Fe(CN)₆]^{3-/4-}) içeren 50 mM PBS (pH 7.4) içerisinde, frekans: 10⁴ ile 10⁻¹ Hz aralığında gerçekleştirilmiştir.

MCF-7 hücre hattının PGE/PAN, PGE/PAN/MCF-7, PGE/PAN/La_{0.25}Fe_{0.75}FeO₃ ve PGE/PAN/La_{0.25}Fe_{0.75}FeO₃/Anti-CEA/BSA/CEA modifiye elektroda ait empedans spektrumları Şekil 61’de verilmiştir. Burada PGE/ PAN/La_{0.25}Fe_{0.75}FeO₃/MCF-7 akım yanıtını arttırırken PGE/PAN/La_{0.25}Fe_{0.75}FeO₃/Anti-CEA/BSA/CEA/MCF-7 modifiye elektrot akım yanıtını azalttığı gözlemlenmiştir. Burada maksimum elektron iletimi sağlanan PGE/PAN modifiye elektrodun mor renkli spektrumunda en yüksek eğimli doğrusal kısım elde edilmiştir. (Şekil 61a). PGE/PAN/MCF-7 modifiye elektroda ait spektrumda ise PGE/PAN modifiye elektroda göre yarıçapı daha yüksek bir çember elde edilmiştir (Şekil 61b). PGE/PAN/La_{0.25}Fe_{0.75}FeO₃/MCF-7 modifiye elektrotta ise La_{0.25}Fe_{0.75}FeO₃ nanoparçacıktan kaynaklı olarak akım yanıtının arttığı dolayısıyla modifiye elektroda ait daha yüksek eğimli doğrusal bir grafik elde edilmiştir (Şekil 61c). Modifiye elektrodun CEA ile muamelesi sonunda elde edilen PGE/PAN/ La_{0.25}Fe_{0.75}FeO₃/Anti-CEA/BSA/CEA/MCF-7 modifiye immüno-sitosensör en düşük eğimli doğrusal kısmı

olan spektrumu oluşturmıştır (Şekil 61d). Bu durum antikor-antijen etkileşiminin sağlıklı bir şekilde gerçekleştiğini aynı zamanda hücre hattının bağlanmasıyla akım yanıtının düştüğü gözlemlenmiştir.

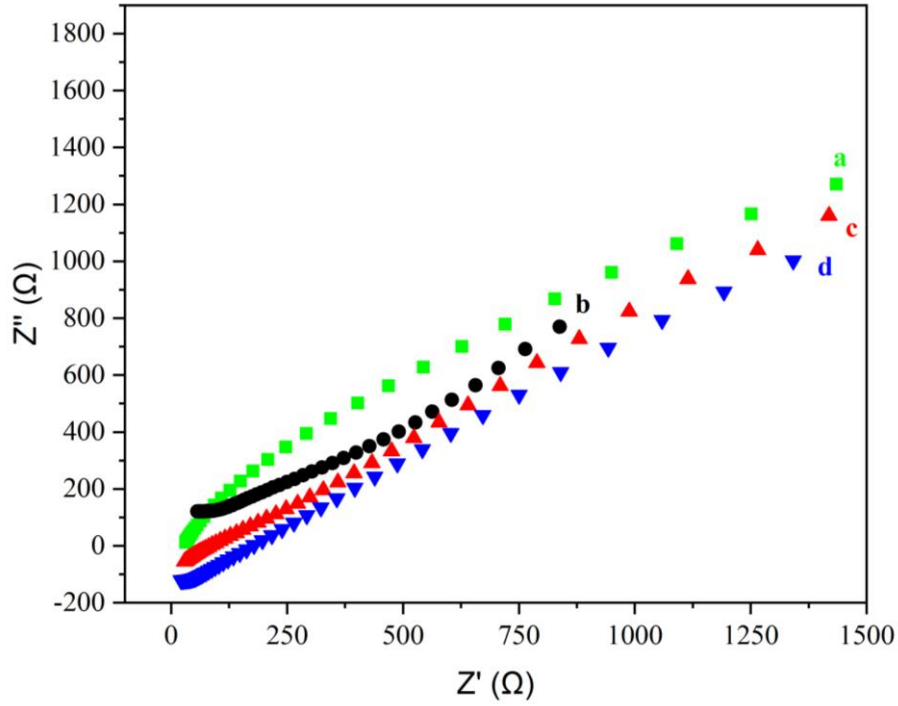


Şekil 62. Sitosensörün döngüsel voltammogramları

a) PGE/PAN/La_{0.25}Fe_{0.75}FeO₃/Anti-CEA/BSA/CEA, b) PGE/PAN/La_{0.25}Fe_{0.75}FeO₃/Anti-CEA/BSA/CEA/MDA-MB-231, c) PGE/PAN/La_{0.25}Fe_{0.75}FeO₃/Anti-CEA/BSA/CEA/T98G, d) PGE/PAN/La_{0.25}Fe_{0.75}FeO₃/Anti-CEA/BSA/CEA/MCF-7 voltammogramları (5 mM [Fe(CN)₆]^{3-/4-}) içeren 50 mM PBS (pH 7,4) içerisinde, -0.4 V- +1.0 V, 100 mV s⁻¹ tarama hızında gerçekleştirilmiştir.

Şekil 62’de nanoparçacık modifiye immüno-sitosensöre ait döngüsel voltammogramlar verilmiştir. Bu tez çalışmasında MCF-7, MDA-MB-231, T98G hücre hatları kullanıldı. MCF-7, MDA-MB-231, T98G her bir hücre hattının PGE/PAN/La_{0.25}Fe_{0.75}FeO₃/Anti-CEA/BSA/CEA modifiye immünosensöre ait voltammogram grafiklerinin karşılaştırılması Şekil 62’de verilmiştir. Şekil 62a’da PGE/PAN/La_{0.25}Fe_{0.75}FeO₃/Anti-CEA/BSA/CEA modifiye immünosensörün akım yanıtının Şekil 62b’de PGE/PAN/La_{0.25}Fe_{0.75}FeO₃/Anti-CEA/BSA/CEA/MDA-MB-231 immüno-sitosensörün akım yanıtının en yüksek olduğu görülmektedir. Şekil 62b’de PGE/PAN/La_{0.25}Fe_{0.75}FeO₃/Anti-CEA/BSA/CEA/MDA-MB-231 immüno-sitosensör, akım yanıtını arttırırken Şekil 62c’de PGE/PAN/La_{0.25}Fe_{0.75}FeO₃/Anti-

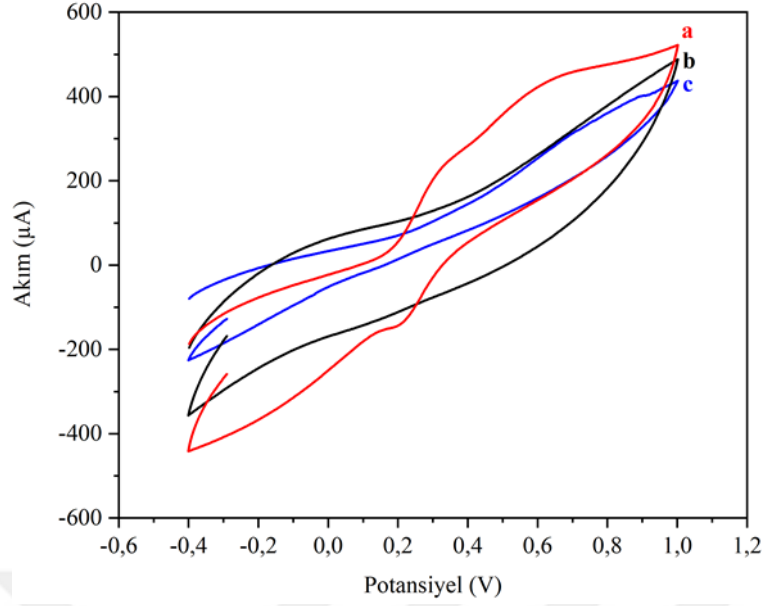
CEA/BSA/CEA/T98G modifiye immüno-sitosensör ise akım yanıtını azaldığı gözlemlenmiştir. Şekil 62d'de PGE/PAN/La_{0.25}Fe_{0.75}FeO₃/Anti-CEA/BSA/CEA/MCF-7 immüno-sitosensörün akım yanıtının en düşük olduğu görülmektedir.



Şekil 63. EIS karakterizasyonuna ait empedans spektrumları

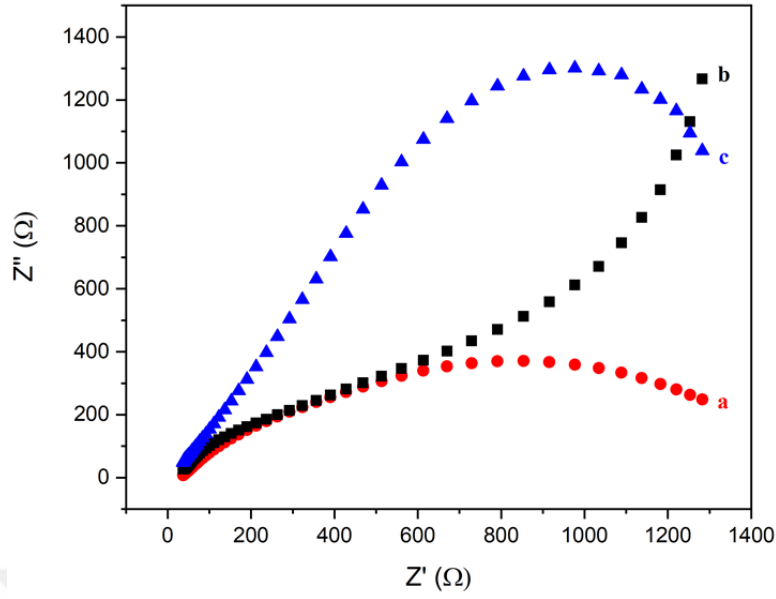
a) PGE/PAN/La_{0.25}Fe_{0.75}FeO₃/Anti-CEA/BSA/CEA, b) PGE/PAN/La_{0.25}Fe_{0.75}FeO₃/Anti-CEA/BSA/CEA/MDA-MB-231, c) PGE/PAN/La_{0.25}Fe_{0.75}FeO₃/Anti-CEA/BSA/CEA/T98G, d) PGE/PAN/La_{0.25}Fe_{0.75}FeO₃/Anti-CEA/BSA/CEA/MCF-7 empedans spektrumları (5 mM [Fe(CN)₆]^{3-/4-} içeren 50 mM PBS (pH 7.4) içerisinde, -0.4 V-+1.0 V, 100 mV s⁻¹ tarama hızında, frekans: 10⁴ ile 10⁻¹ Hz aralığında gerçekleştirilmiştir.

Şekil 63'te nanoparçacık modifiye immüno-sitosensör elektrodun elektrokimyasal empedans spektrumlarına ait görüntüleri verilmiştir. Bu tez çalışmasında MCF-7, MDA-MB-231, T98G hücre hatları kullanıldı. MCF-7, MDA-MB-231, T98G herbir hücre hattının PGE/PAN/La_{0.25}Fe_{0.75}FeO₃/Anti-CEA/BSA/CEA modifiye elektroda ait empedans grafiklerinin karşılaştırılması Şekil 63'te verilmiştir. Şekil 63a'da PGE/PAN/La_{0.25}Fe_{0.75}FeO₃/Anti-CEA/BSA/CEA modifiye immünosensörün Nquist eğrisinin en yüksek doğrusal kısıma sahip olduğu görülmektedir. Şekil 63b, 63c, 63d'de şeklinde nquist eğrisinin en yüksekten en düşüğe doğru doğrusallığın azaldığı gözlemlendi.



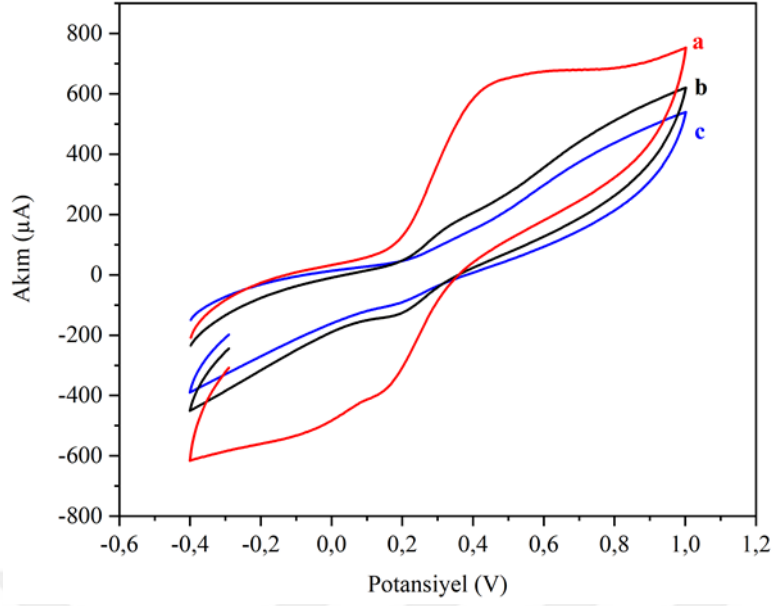
Şekil 64. Sitosensörün döngüsel voltammogramları
a) PGE/PAN/MCF-7, b) PGE/PAN/MDA-MB-231, c) PGE/PAN/T98G
voltammogramlar (5 mM $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ içeren 50 mM PBS (pH 7,4) içerisinde, 100 mV s^{-1} tarama hızında gerçekleştirilmiştir.)

Şekil 64'te nanoparçacık modifiye elektrodun döngüsel voltammogramlarına ait görüntüleri verilmiştir. Bu tez çalışmasında MCF-7, MDA-MB-231, T98G hücre hatları kullanıldı. MCF-7, MDA-MB-231, T98G herbir hücre hattının PGE/PAN modifiye elektroda ait voltammogram grafiklerinin karşılaştırılması Şekil 64'te verilmiştir. Şekil 64a'da PGE/PAN/MCF-7 modifiye sitosensörün akım yanıtının en yüksek olduğu görülmektedir. Şekil 64a'da PGE/PAN/MCF-7 modifiye sitosensörün akım yanıtını arttırırken Şekil 64b'de PGE/PAN/MDA-MB-231 modifiye sitosensörün ise akım yanıtını azalttığı gözlemlenmiştir. Şekil 64b'de PGE/PAN/MCF-7 modifiye sitosensör, akım yanıtını arttırırken Şekil 64c'de PGE/PAN/T98G modifiye sitosensörün ise akım yanıtını azalttığı gözlemlenmiştir.



Şekil 65. Sitosensörün elektrokimyasal empedans spektrumları
a) PGE/PAN/MCF-7, b) PGE/PAN/MDA-MB-231, c) PGE/PAN/T98G empedans spektrumları (5 mM $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ içeren 50 mM PBS (pH 7.4) içerisinde, -0.4 V-+1.0 V, 100 mV s^{-1} tarama hızında, frekans: 10^4 ile 10^{-1} Hz aralığında gerçekleştirilmiştir.

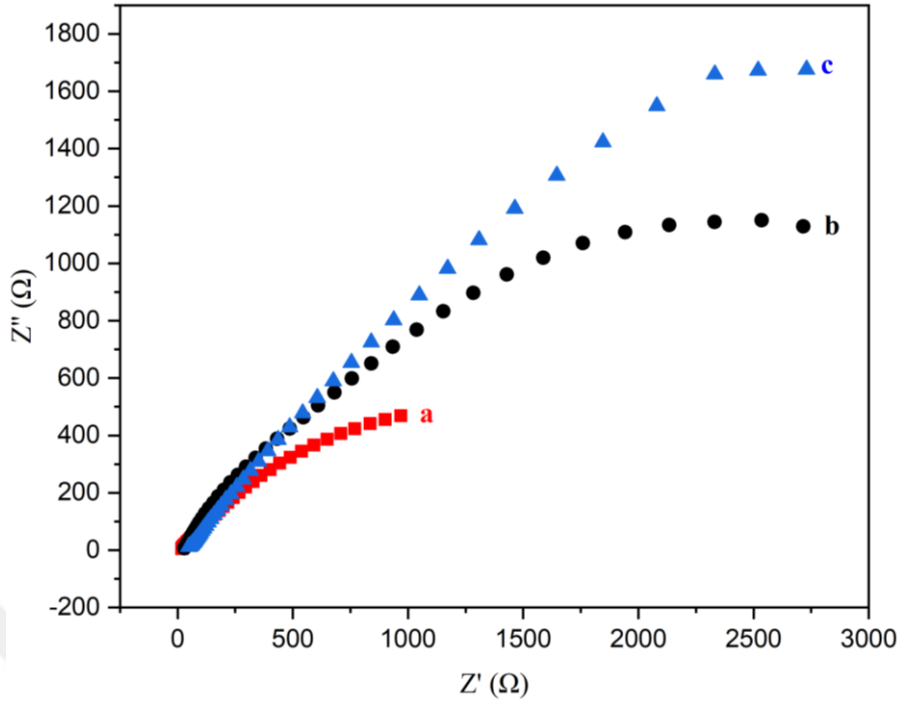
MCF-7, MDA-MB-231, T98G herbir hücre hatlarının modifiye elektroda ait elektrokimyasal empedans spektrumları Şekil 65'de verilmiştir. Şekil 65a'da PGE/PAN/MCF-7 modifiye elektrodun akım yanıtı artarken Şekil 65c'de PGE/PAN/T98G modifiye elektrodunun akım yanıtını azalttığı gözlemlenmiştir. Burada en içteki yarıçember maksimum elektron iletimi sağlanan Şekil 65a'da PGE/PAN/MCF-7 modifiye sitosensöre aittir. Daha sonraki yarıçember MDA-MB231 immobilize edilmiş Şekil 65b'de PGE/PAN/MDA-MB231 modifiye sitosensör ait Nquist eğrisi elde edilmiştir. Modifiye sitosensör T98G ile muamelesi sonunda elde edilen Şekil 65c'de PGE/PAN/T98G modifiye sitosensör en büyük yarıçaplı yarıçemberi vermiştir.



Şekil 66. Sitosensörün döngüsel voltammogramları

a) PGE/PAN/La_{0,25} Fe_{0,75}FeO₃/MCF-7, b) PGE/PAN/La_{0,25}Fe_{0,75}FeO₃/MDA-MB-231, c) PGE/PAN/La_{0,25}Fe_{0,75} FeO₃ /T98G voltammogramları (5 mM [Fe(CN)₆]^{3-/4-}) içeren 50 mM PBS (pH 7,4) içerisinde, 100 mV s⁻¹ tarama hızında gerçekleştirilmiştir.)

Şekil 66’da nanoparçacık modifiye elektrodun döngüsel voltammogramlarına ait görüntüleri verilmiştir. Bu tez çalışmasında MCF-7, MDA-MB-231, T98G hücre hatları kullanıldı. MCF-7, MDA-MB-231, T98G herbir hücre hattının PGE/PAN/La_{0,25}Fe_{0,75}FeO₃ modifiye elektroda ait voltammogram grafiklerinin karşılaştırılması Şekil 66’da verilmiştir. Yapıya hücre bağlandığında sitosensörün daha farklı bir akım yanıtı verdiği görülmektedir. MCF-7, MDA-MB-231, T98G herbir hücre hattının PGE/PAN modifiye sitosensöre ait voltammogramları Şekil 66’da verilmiştir. Burada Şekil 66a’da PGE/PAN/La_{0,25}Fe_{0,75}FeO₃/MCF-7 modifiye sitosensör akım yanıtını arttırırken Şekil 66c’de PGE/PAN/La_{0,25} Fe_{0,75}FeO₃/T98G modifiye sitosensörün ve Şekil 66b’de PGE/PAN/La_{0,25}Fe_{0,75} FeO₃/MDA-MB-231 modifiye sitosensörün akım yanıtını azalttığı gözlemlenmiştir.



Şekil 67. EIS karakterizasyonuna ait empedans spektrumları

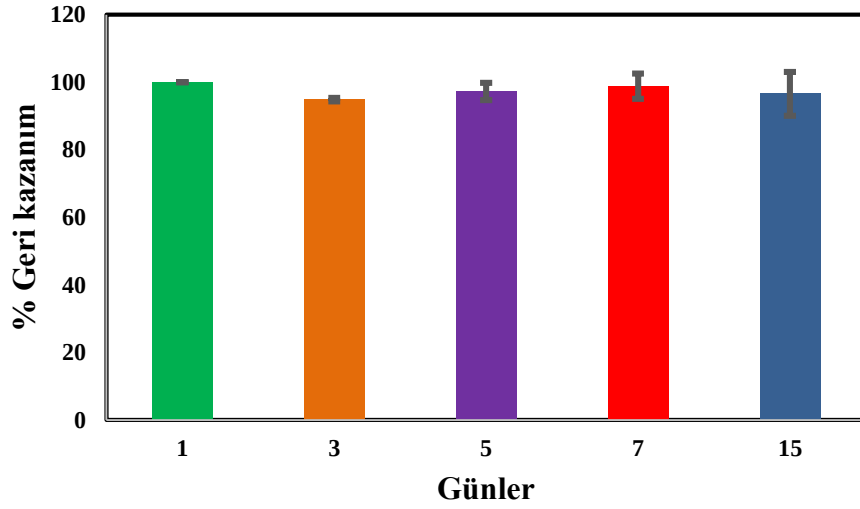
a) PGE/PAN/La_{0.25}Fe_{0.75}FeO₃/MCF-7, b) PGE/PAN/La_{0.25}Fe_{0.75}FeO₃/MDA-MB-231, c) PGE/PAN/La_{0.25}Fe_{0.75}FeO₃/T98G ait empedans spektrumları (5 mM [Fe(CN)₆]^{3-/4-}) içeren 50 mM PBS (pH 7.4) içerisinde, -0.4 V- +1.0 V, 100 mV s⁻¹ tarama hızında, frekans: 10⁴ ile 10⁻¹ Hz aralığında gerçekleştirilmiştir.

MCF-7, MDA-MB-231, T98G herbir hücre

hattının PGE/PAN/La_{0.25}Fe_{0.75}FeO₃ modifiye elektroda ait elektrokimyasal empedans spektrumları Şekil 67’de verilmiştir. Burada Şekil 67a’da PGE/PAN/La_{0.25}Fe_{0.75}FeO₃/MCF-7 modifiye sitosensör akım yanıtını arttırırken Şekil 67c’de PGE/PAN/La_{0.25}Fe_{0.75}FeO₃/T98G modifiye sitosensörün akım yanıtını azalttığı gözlemlenmiştir. Burada en içteki yarıçember maksimum elektron iletimi sağlanan Şekil 67a’da PGE/PAN/La_{0.25}Fe_{0.75}FeO₃/MCF-7 modifiye sitosensöre aittir. Daha sonraki yarıçember MDA-MB-231 immobilize edilmiş Şekil 67b’de PGE/PAN/La_{0.25}Fe_{0.75}FeO₃/MDA-MB-231 modifiye sitosensöre ait yarıçapı daha yüksek bir çember elde edilmiştir. Modifiye elektrodun T98G ile muamelesi sonunda elde edilen Şekil 67c’de PGE/PAN/La_{0.25}Fe_{0.75}FeO₃/T98G modifiye sitosensör en büyük yarıçaplı yarıçemberi vermiştir.

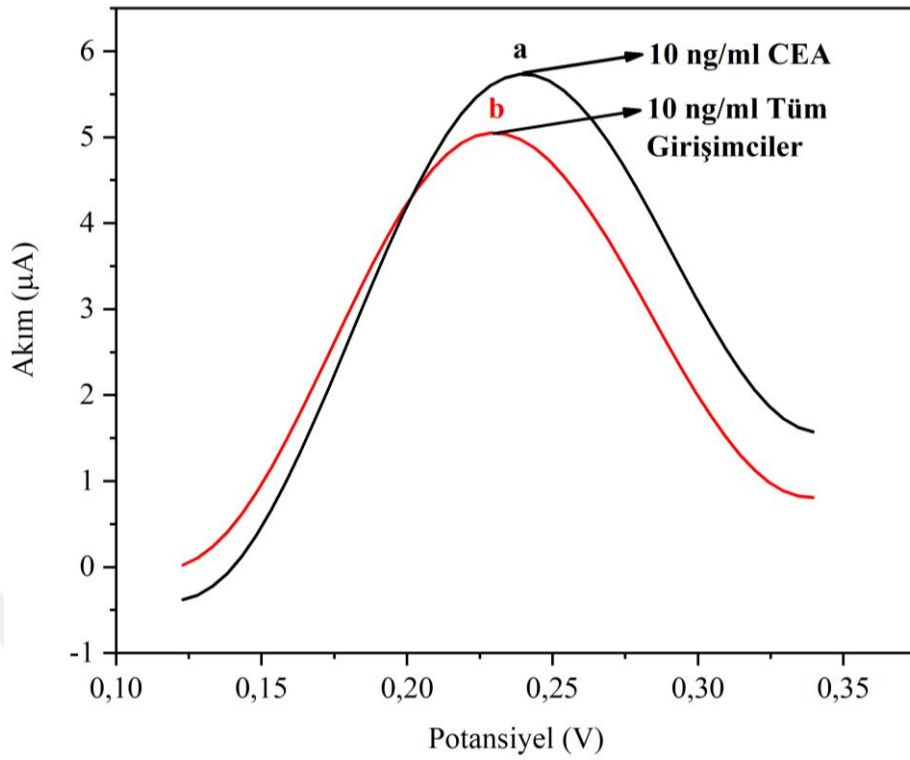
3.11. Seçimlilik ve Kararlılık

Seçimlilik ve kararlılık geliştirilmiş immünosensörün seçimliliğini incelemek üzere alınan insan serum içerisinde CEA ile eş zamanlı ve eş derişimli (10 ng/ml) olarak muhtemel girişimci ajanlardan askorbik asit ve dopamin çözeltileri eklenmiştir. Serum antijen dopamin Askorbik asit içeren çözeltide %2’lik bir azalma, serum antijen Askorbik asit içeren çözeltide ise %8’lik bir azalma, gözlemlenmiştir.



Şekil 68. Elektrodun uzun vadeli kararlılığı (n = 3)

Geliştirilen elektrodun kararlılığının değerlendirilmesi, DPV ölçümlerinden elde edilen akım değerleri kullanılarak 15 gün boyunca her gün gerçekleştirilmiştir. 1, 3, 7 ve 15 günlük sonuçlar Şekil 68’de verilmiştir. Biyosensörün ilk tepkisini 1. Günde % 0,01 3. günde %1, 7. günde %1 ve 15. günde %1 oranında azalma görülmüştür. Geliştirilen biyosensör kullanılmadığı zamanlarda buzdolabında 4 °C’de muhafaza edilmiştir. Elektrodun çok iyi bir uzun vadeli stabiliteye sahip olduğu sonucuna varılmıştır. RSD değerleri sırasıyla hesaplandı ve 15. günde (n = 3) % 6,48 olarak hesaplanmıştır.



Şekil 69. Tüm girişimci ajanların CEA immünosensörün yanıtlarına ait DPV voltammogramlar grafiği

CEA için geliştirilmiş immünosensörün seçiciliğini incelemek üzere hazırlanan çözeltiye CEA ile eş zamanlı ve eş derişimli (10 ng/mL) olarak tüm girişimci ajanlardan dopamin ve askorbik asit ilave edilerek çalışmalar yürütülmüştür. Şekil 69'daki veriler göz önünde bulundurulduğunda tüm girişimcilerin CEA belirlenmesinde açık bir şekilde farkedilebilir bir etki meydana getirmemiş olması antijen-antikor arasındaki immünoreaksiyonun seçiciliğinin makul bir seviyede olduğu tespit edilmiştir.

4. TARTIŞMA

Bu tez çalışmasında PGE/PAN+La_{0.25}Fe_{0.75}FeO₃ modifiye elektrodu üzerine anti-CEA immobilize edilerek CEA tespitinde kullanılmak üzere yeni ve duyarlı bir immünosensör geliştirilmiştir. Bir diğer aşama ise sitosensör aşaması; RT-4, MDA-MB-231 ve T98G hücrelerinde PGE/PAN/La_{0.25}Fe_{0.75}FeO₃/Anti-CEA/BSA/CEA üzerindeki hücre sayısında azalma gözlenirken, MCF-7 hücrelerinde ise PGE/PAN/La_{0.25}Fe_{0.75}FeO₃/Anti-CEA/BSA/CEA yüzeyine yapışan hücre sayısının diğer hücre hatlarına göre anlamlı derecede yüksek olduğu gözlemlendi. Elektrokimyasal çalışma sonuçlarında elektrokimyasal yanıtların hücre sonuçları ile etkileştiği görülmüştür. PGE/PAN/La_{0.25}Fe_{0.75}FeO₃ modifiye elektrotlar akımı arttırmıştır. Ancak PGE/PAN/La_{0.25}Fe_{0.75}FeO₃/Anti-CEA/BSA/CEA modifiye olunca bağlanma farklanmalarının olduğu gözlemlenmiştir.

Hem PGE/PAN hem de PGE/PAN/La_{0.25}Fe_{0.75}FeO₃ yüzeylerinde nispeten düşük sayıda MCF-7 hücresi gösterilmiştir. Normalden farklı bir şekilde, PGE/PAN ve PGE/PAN/La_{0.25}Fe_{0.75}FeO₃ yüzeylerine, MCF-7 hücrelerine kıyasla diğer hücre serilerinde belirgin bir şekilde daha fazla sayıda hücre yapışması gözlemlendi. Elde edilen sonuçlardan, PGE/PAN/La_{0.25}Fe_{0.75}FeO₃/Anti-CEA/BSA/CEA ile işlenmiş yüzeyin, CEA-pozitif hücre serisi MCF-7'nin yapışmasını artırdığı sonucuna varılabilir. Bileşiğin XRD sonucu incelendiğinde yapının perovskite yapıya sahip olduğu fakat yapıda ayrıca Fe₂O₃, Fe₃O₄ ve La₂O₃ safsızlık fazlarının olduğu tespit edilmiştir.

Literatürde CEA immünosensörleri üzerine yapılmış çalışmalara ait veriler Tablo 6'da verilmiştir. Tablo 3'de verilen çalışmalar incelendiğinde üstün iletken malzemelerle modifiye edilmiş elektrotlar kullanıldığı görülmektedir. Bu tez çalışmasında tek kullanımlık kalem grafit elektrotlar (PGE) iki boyutlu malzemeler ile modifiye edilerek kullanıldı ve üstün fiziksel ve kimyasal özellikleri ile elektrot malzemelerinin duyarlılığını arttırdığı tespit edildi. Günümüzde yaygın olarak kullanılan ELISA dahil olmak üzere diğer CEA immünosensörler ile elde edilen LOD değerleri de bu çalışmada tespit edilen değerden daha yüksek olduğu saptanmıştır. Bununla birlikte, bu tez çalışmasında kullanılan yöntem, maliyeti yüksek nanomalzemeler veya kapsamlı elektrot yüzey modifikasyonları içermemekte ve bu yöntemin literatürdeki çalışmalara kıyasla daha geniş bir doğrusal aralık gösterdiği görülmektedir.

Tablo 3. Geliştirilen immünosensörün önemli analitik parametrelerinin diğer elektrokimyasal CEA immünosensörleri ile karşılaştırılması

Algılama Matrisi	Metodoloji	RSD (Doğrusal aralık)	LOD (Tayin Sınır Aralığı)	Referans
AgNPs-rGO modified-SPEs	Dönüştürümlü Voltammetri (CV)	500–4000 ng / mL	42,0 ng/mL	Lee vd., 2017
GR/MBs-Ab1/CEA/Ab2-AuNPs-HRP	Dönüştürümlü Voltammetri (CV)	5–60 ng /mL	5,0 ng/mL	Jin vd., 2014
pFTO/hCCl/CEA-APBA)	Elektrokimyasal İmpedans Spektroskopisi (EIS) ve Dönüştürümlü Voltammetri (CV)	2.5 ng/mL - 1500 ng/mL	3,0 ng/mL	Truta ve Salesa, 2019
PEDOT:PSS/Ag/ anti-CEA	Elektrokimyasal İmpedans Spektroskopisi (EIS)	6-20 ng/mL	2,68 ng/mL	Kumar vd., 2016
Carbon electrode/AuNPs	Doğrusal Tarama Voltammetrisi (LSV)	15-100 ng/ml	4,4 ng/mL	Marques vd., 2014
HRPConA/CEA/MCH-Apt/gold	Dönüştürümlü Voltammetri (CV)	5-40 ng/mL	3,4 ng/mL	Wang vd., 2017
TMB ²⁺ /AuNPs/ Anti-CEA-HRP/	Geleneksel İmmünolojik Test Yöntemi	~0,075 ng/mL	2,5 ng/mL	Ma vd., 2017
SPEs/Ag/tPSA	Amperometrik Yöntem	5 - 100 ng/mL	1,86 ng/mL	Biscay vd., 2015
GSPEs/AuNPs/Anti-HER2	Elektrokimyasal İmpedans Spektroskopisi (EIS) Dönüştürümlü Voltammetri (CV)	0 - 40 ng/mL	6,0 ng/mL	Ravalli vd., 2015
Ausilicon chip	Elektrokimyasal İmpedans Spektroskopisi (EIS)	2,5-250 ng/mL	>8	Wang vd., 2010
PGE/PAN+La _{0,25} Fe _{0,75} FeO ₃ /Anti-CEA/BSA/CEA	Differansiyel Puls Voltammetrisi (DPV)	0,1-10 ng/mL	1,48 ng/mL	Bu çalışma

[LOD = 3 x (kör numunenin standart sapması) / (kalibrasyon eğimi)], n=3 ölçüm için kör numunenin standart sapması hesaplandı]

[%RSD = [(1 ng/mL CEA standart sapması) / (akım ölçümlerinin ortalaması)]x100, n=3 ölçüm için 1 ng/mL CEA standart sapması hesaplandı]

Bu çalışmada kanserin teşhis ve tanısında yardımcı olabilecek, kararlı, sağlam ve emsal teşkil edecek çalışmalarla kıyaslandığında umut vaat edici, kolay ve duyar bir immüno-sitosensör geliştirilmiştir.

4.1. Öneriler

Kanser tanısında pek çok tedavi seçeneklerinin sunulduğu günümüzde, sıralı tedavi sistemleri ile ilerlemiş veyahut metastatik kanser hastaları için doğru tedavinin seçilmesini kolaylaştırıcı ve yönlendirici biyolojik belirteçlerin çalışılması önem taşımaktadır.

Bu tez çalışmasında CEA analizi ile gerçekleştirilen 0,1-10 ng/ml LOD seviyesi elde edildi. Çok daha iyi LOD seviyesi ile birçok çalışma olmasına rağmen bu çalışmada elde edilen LOD değeri daha önce yapılanlardan daha iyi sonuçlar sunmuştur. Ayrıca; tekrarlanabilirlik, kararlılık, immünosensör sonuçlarının stabilitesi ve seçiciliği tatmin edicidir. Gelecekteki çalışmalar için geliştirilen immüno-sitosensör farklı biyobelirteçlere ve farklı yöntemlerle zenginleştirerek diğer birçok elektroanalitik çalışmalara öncülük edeceği düşünülmektedir.

RT-4 hücre ile elektrokimyasal olarak yanıt alınamadığı için değerlendirme yapılamamıştır. Ancak CEA negatif hücre hatları olarak bilinen RT-4 üzerindeki hücre sayısında azalma gözlemlendiği için bu hücre hattı için elektrokimyasal açıdan değerlendirme yapılamamıştır.

Bu hücre için ilerleyen çalışmalarda etiketleme yapılarak elektrokimyasal ölçümlerle yeni elektrotlar geliştirebilir.

KAYNAKÇA

- Aslan, M. (2019). *Okzaliptatinin elektrokimyasal özellikleri ve miktar tayini*. (Yayınlanmamış Yüksek Lisans Tezi). Batman Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Batman.
- Aslan, S. (2013). *Klinik uygulamalara yönelik nanoyapı temelli amperometrik İmmünosensörünlerin geliştirilmesi*. (Yayınlanmamış Yüksek Lisans Tezi). Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Muğla.
- Aristov, N. ve Habekost, A. (2015). Cyclic voltammetry a versatile electrochemical method investing electron transfer processes. *World J. Chem. Educ.* 3(5), 115–119. <https://doi.org/10.12691/wjce-3-5-2>.
- Azar, N. T. P., Mutlu, P., Khodadust, R. ve Gunduz, U. (2013). Poly(amidoamine) (PAMAM) Nanoparticles: Synthesis and Biomedical Applications. *Hacettepe J. Biol. & Chem.*, 41(3), 289-299.
- Asadi, H., Ghaee, A., Nourmohammadi J. ve Mashak, A. (2020). Electrospun zein/graphene oxide nanosheet composite nanofibers with controlled drug release as antibacterial wound dressing. *Int. J. Polym. Mater. Polym. Biomater.* 69, 173-185.
- Aslan, S., Bal Altuntaş, D., Koçak, Ç. ve Kara Subaşı, H. (2021). Electrochemical evaluation of titanium (iv) oxide/polyacrylonitrile electrospun discharged battery coals as supercapacitor electrodes. *Electroanalysis*, 33(1), 120-128.
- Baig, N., Kammakakam, I., Falath, W. ve Kammakakam, I. (2021). Nanomaterials: A review of synthesis methods, properties, recent progress, and challenges. *Materials Advances*, 2(6), 1821–1871. <https://doi.org/10.1039/d0ma00807a>
- Bhalla, N., Jolly, P., Formisano, N., ve Estrela, P. (2016). Introduction to biosensors. *Essays in Biochemistry*, 60(1), 1–8. <https://doi.org/10.1042/EBC20150001>
- Biswas, P., Karn, A. K., Balasubramanian, P. ve Kale, P. G. (2017). Biosensor for detection of dissolved chromium in potable water: A review. *Biosensors and Bioelectronics*, 94, 589–604. <https://doi.org/10.1016/j.bios.2017.03.043>
- Bharathi, S. ve Nogami, M. (2000) A glucose biosensor based on electrodeposited biocomposites of gold nanoparticles and glucose oxidase enzyme. *Analyst*, 126, 1919-1922.
- Baykara, O. (2016). Kanser Tedavisinde Güncel Yaklaşımlar. *Balıkesir Sağlık Bilimleri Dergisi*, 154-165. doi: 10.5505/bsbd.2016.93823
- Brownson, D. A. C. ve Banks, C. E. (2014). *The Handbook of Graphene Electrochemistry*. London: SpringerVerlag Ltd. https://doi.org/10.1007/978-1-4471-6428-9_2

- Bockris, J. O'M. ve Khan, S. U. M. (1993). *Surface electrochemistry*. New York: Plenum Press.
- Brainina, H. ve Neyman, E. (1993). *Electroanalytical stripping methods*. New York: John Wiley.
- Bard, A. J. ve Faulkner, L. R. (2001). *Electrochemical Methods: Fundamentals and Applications 2nd edn*. Printed in the United States of America:Wiley.
- Balootaki, P. A. ve Hassanshahian, M. (2014). Microbial Biosensor for Marine Environments Bulletin of Environment. *Pharmacology and Life Sciences Bull. Env. Pharmacol. Life Sci.*, 3(5), 1-13.
- Beachley V. ve Wen, X. (2009). Effect of electrospinning parameters on the nanofiber diameter and length. *Mater. Sci. Eng. C*, 29, 663-668.
- Benjamin, S. R. ve de Lima, F. (2020). *Current and Prospective of Breast Cancer Biomarkers*. In (Ed.), *Molecular Biotechnology*. IntechOpen. <https://doi.org/10.5772/intechopen.91151>
- Biscay J., Garcia, M. B. G. ve Garcia, A. C. (2015). Determination of Total PSA Using Magnetic Beads and a Re-usable Screen Printed Carbon Electrode Array. *Electroanalysis*, 27, 2773 – 2777.
- Cox, J. A., Gadd, S. E. ve Das, B. K. (1988). Modification of Glassy Carbon with a Stable Film Containing Iridium Oxide and Palladium. *J. Electroanal. Chem.*, 256, 199 –205.
- Chernousova, S. ve Epple, M. (2013). Silver as antibacterial agent: Ion, nanoparticle, and metal. *Angew. Chem. Int. Ed.* 52:1636–1653. doi: 10.1002/anie.201205923
- Cramariuc, B., Cramariuc, R., Scarlet, R., Manea, L. R., Lupu, I. G. ve Cramariuc, O. (2013). Fiber diameter in electrospinning process. *J. Electrostat*, 71(3), 189-198.
- Çitgez, S., Bülbül, E. ve Özden, S. B. (2020). Mesane Kanseri Mesane: Yapısı, işlevi ve klinik yönleri. New-York: Nova Science Publishers Inc., 17-82.
- Demirdöven Bozoğlu, J. ve Arditi, D. (2012). *Yapılarda ve Yapım Yönetiminde Nanoteknoloji Uygulamaları*. 2. Proje ve Yapım Yönetimi Kongresi, 13 – 16 Eylül 2012 İzmir Yüksek Teknoloji Enstitüsü, Urla-İzmir.
- DeSantis, C. E., Bray, F., Ferlay, J., Lortet-Tieulent, J., Anderson, B. O. ve Jemal, A. (2015). International variation in female breast cancer incidence and mortality rates. *Cancer Epidemiology Biomarkers and Prevention*, 24(10), 1495–1506. <https://doi.org/10.1158/1055-9965.EPI-15-0535>

- Dewan, N., Ahmed, P., Chowdhury, G., Pandit, S. ve Dasgupta, D. (2016). Nanotechnology based biosensors and its application. *The Pharma Innovation Journal*, 18(6), 18–25.
- Dewan, M. C, Mummareddy, N., Wellons, J. C. ve Bonfield, C. M. (2016). Epidemiology of Global Pediatric Traumatic Brain Injury: Qualitative Review. *World neurosurgery*, 91, 497–509. <https://doi.org/10.1016/j.wneu.2016.03.045>
- Doblhofer, K. (1994). Thin polymer films on electrodes: a physicochemical approach. In: Lipkowsky I, Ross PN (eds) *The electrochemistry of novel materials*. VCH, Weinheim, 141.
- Downard, A. J. (2000), Electrochemically Assisted Covalent Modification of Carbon Electrodes. *Electroanalysis*, 12, 1085-1096.
- Dresselhaus, M. S., Dresselhaus, G. ve Eklund, P. C. 1995. *Science of Fullerenes and Carbon Nanotubes*, San Diego: Academic Press, 965.
- Drew, C., Wang, X., Senecal, K., Schreuder-Gibson, H., He, J., Kumar, J. ve Samuelson, L. A. (2002). *J. Macromol. Sci. - Pure Appl. Chem.*, 1085–1094.
- de Levie, R. (1963). On porous electrodes in electrolyte solutions: I. Capacitance effects. *Electrochim. Acta* 8, 751–780.
- Evans, J. F. ve Kuwana, T. (1977). Radiofrequency Oxygen Plasma Treatment of Pyrolytic Graphite Electro Surface. *Anal. Chem.*, 49, 1632 – 1635.
- Fagan, D. T., Hu, I. F. ve Kuwana, T. 1985. Vacuum Heat Treatment for Activation of Glassy Carbon Electrode. *Anal. Chem.*, 57, 2759 – 2763.
- Faraji, S., Nowroozi, N., Nouralishahi, A. ve Shabani Shayeh, J. (2020). Electrospun poly-caprolactone/graphene oxide/quercetin nanofibrous scaffold for wound dressing: Evaluation of biological and structural properties. *Life Sci.* 257, 118062.
- Grieshaber, D., MacKenzie, R., Vörös, J. ve Reimhult, E. (2008). Electrochemical biosensors - Sensor principles and architectures. *Sensors*, 8(3), 1400–1458. <https://doi.org/10.3390/s8031400>
- Guo, Y. J., Sun, G. M., Zhang, L., Tang, Y. J., Luo, J. J. ve Yang, P. H. (2014). Multifunctional optical probe based on gold nanorods for detection and identification of cancer cells. *Sensors and Actuators, B: Chemical*, 191, 741–749. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2013.10.027>
- Gerischer, H. (1997). Principles of electrochemistry. In: Gellings PI, Bouwmeester HIM(eds) *CRC handbook of solid state electrochemistry*. Boca Raton: CRC Press, 9.

- Huang, K. J., Niu, D. J., Xie, W. Z. ve Wang, W. (2010). A disposable electrochemical immunosensor for carcinoembryonic antigen based on nano-Au/multi-walled carbon nanotubes-chitosans nanocomposite film modified glassy carbon electrode. *Anal. Chim. Acta.* 659, 102–108.
- Hameed, A. S. (2016). Phosphate Based Cathodes and Reduced Graphene Oxide Composite Anodes for Energy Storage Applications, Springer Theses, Springer, Singapore. https://doi.org/10.1007/978-981-10-2302-6_2.
- Hu, I. F., Karweik, D. H, Kuwat, T. (1985). Activation Ad Deactivation of Glassy Carbon Electrodes. *J. Electroanal. Chem.*, 188, 59 – 72.
- Hershenhart, E., Mc Creey, R. L. ve Knight, R. D. (1984). In Situ Cleaning and Activation of Solid Electrode Surface by Pulsed Laser Light. *Anal. Chem.*, 56, 2256 – 2257.
- Heyrovsky, I. ve Kuta, I. (1966). Principles of polarography. New York: Academic Press.
- Harpaz, D., Eltzov, E., Seet, R., Marks, R. S. ve Tok, A. (2017). Point-of-Care-Testing in Acute Stroke Management: An Unmet Need Ripe for Technological Harvest. *Biosensors*, 7(3), 30. <https://doi.org/10.3390/bios7030030>
- Hall, E. A. H. (1990). Biosensors, Ch.1: Biosensors in context. İngiltere: Open University Press, 3-30.
- Huang, Z. M., Zhang, Y. Z., Kotaki, M. ve Ramakrishna, S. (2003). A review on polymer nanofibers by electro-spinning applications in nanocomposites. *Composites Sci. Tech.*, 63, 2223-2253.
- Haider, A., Haider, S.ve Kang, I. K. (2018). A comprehensive review summarizing the effect of electrospinning parameters and potential applications of nanofibers in biomedical and biotechnology., *Arabian Journal of Chemistry.* 11(8), 1165-1188.
- Holland A. J. ve Cleveland, D. W. (2009). Boveri revisited: chromosomal instability, aneuploidy and tumorigenesis. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 10(7), 478–87.
- Johnson, B. N. ve Mutharasan, R. (2012). Biosensing using dynamic-mode cantilever sensors: A review. *Biosensors and Bioelectronics*, 32(1), 1–18. <https://doi.org/10.1016/j.bios.2011.10.054>
- Christie, J. H., Jackson, L. L. ve Osteryoung, R. A. (1976). Alternate drop pulse polarography. *Analytical Chemistry*, 48 (2), 242-247.
- Justino, C. L, Duarte, A. C. ve Rocha-Santos, T. A. P. (2017). Recent Progress in Biosensors for Environmental Monitoring: A Review. *Sensors*. 17, 2918-2943. DOI:10.3390/s17122918

- Jacobs, V., Anandjiwala, R. D. ve Maaza, M. J. (2010). The influence of electrospinning parameters on the structural morphology and diameter of electrospun nanofibers. *Appl. Polym. Sci.* 115(5), 3130-3136.
- Jin, B., Wang, P., Mao, H. J., Hu, B., Zhang, H. L., Cheng, Z. L., Wu, Z. H., Bian, X. J., Jia, C. P., Jing, F. X., Jin Q. H. ve Zhao, J. L. (2014). Biosens. *Bioelectron.*, 15, 464-469.
- Kalele, S., Gosavi, S. W., Urban, J. ve Kulkarni, S. K. (2006). Nanoshell particles: Synthesis, properties and applications. *Current Science*, 91(8), 1038-1052.
- Kastan, M. B. ve Bartek, J. (2004). Cell-cycle checkpoints and cancer. *Nature*, 432, 316-323.
- Keskin, M. ve Arslan, F. (2020). Biyosensörler. *Gazi Üniversitesi Fen Fakültesi Dergisi*, 60, 51-60.
- Kirsch, J., Siltanen, C., Zhou, Q., Revzin, A. ve Simonian, A. (2013). Biosensor technology: Recent advances in threat agent detection and medicine. *Chemical Society Reviews*, 42(22), 37. <https://doi.org/10.1039/c3cs60141b>
- Kougianos, E. (2006). *Biosensors: A tutorial review*. April, 35-40.
- Kour, R., Arya, S., Young, S.-J., Gupta, V., Bandhoriya, P. ve Khosla, A. (2020). Review—Recent Advances in Carbon Nanomaterials as Electrochemical Biosensors. *Journal of The Electrochemical Society*, 167(3), 037555. <https://doi.org/10.1149/1945-7111/ab6bc4>
- Kamat, A. M., Hahn, N. M., Efstathiou, J. A., Lerner, S. P., Malmström, P. U., Choi, W. ve Kassouf, W. (2016). Bladder cancer. *The Lancet*, 388(10061), 2796-2810.
- Küçükyıldırım, B. O. ve Akdoğan Eker, A. (2012). Karbon nanotüpler, sentezleme yöntemleri ve kullanım alanları. *TMMOB MMO Mühendis ve Makina Dergisi, Sayı: 630*(Cilt: 53), s. 34-44.
- Kilic, T., Topkaya, S. N. , Ozkan, Ariksoysal, D., Ozsoz, M., Ballar, P., Erac, Y. ve Gozen, O. (2012). Electrochemical based detection of microRNA, mir21 in breast cancer cells, *Biosensors and Bioelectronics*, 38 (1), 195-201. <https://doi.org/10.1016/j.bios.2012.05.031>.
- Krause, D.S. ve Van Etten, R.A. (2005). Tyrosine Kinases as Target for Cancer Therapy, *The New England Journal of Medicine*, 353, 172-187.
- Kumar S., Kumar, S., Pandey C. M. ve Bansi D. M. (2016). Conducting paper based sensor for cancer biomarker detection. *Journal of Physics: Conference Series* 704 (2016) 012010 doi:10.1088/1742-6596/704/1/012010.
- Krause M.S. ve Ramaley L. (1969). Theory of square wave voltammetry *Anal. Chem.*, 41 (1), 1362-1365

- Kinoshita, K. (1988) Carbon. John Wiley, New York.
- Kohlrausch, F. ve Nippoldt, W. A. (1869). Ueber die Gültigkeit der Ohm'schen Gesetze für Elektrolyte und eine numerische Bestimmung des Leitungswiderstandes der verdünnten Schwefelsäure durch alternirende Ströme [German]. *Ann. Phys.* 214, 280–298 (1869).
- Kohlrausch, F. (1873). Ueber die elektromotorische Kraft sehr dünner Gasschichten auf Metallplatten [German]. *Ann. Phys.* 224, 143–154.
- Kılınç, M. E. (1996). *Enzime dayalı elektrokimyasal biyosensörlerin mediyatör kullanarak tasarımı*, Yüksek Lisans Tezi, Ege Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İzmir.
- Keskin, M., Arslan F., 2020. Biyosensörler. *Gazi Üniversitesi Fen Fakültesi Dergisi*, 1(1-2,: 51-60.
- Koo, Y. E. L., Reddy, G. R., Bhojani, M., Schneider, R., Philbert, M. A., Rehemtulla, A., ve Kopelman, R. (2006). Brain cancer diagnosis and therapy with nanoplatfroms. *Advanced drug delivery reviews*, 58(14), 1556-1577.)
- Key, T. J., Verkasalo, P. K. ve Banks, E. (2001). Epidemiology of breast cancer. *The lancet oncology*, 2(3), 133-140.
- Kahveci, K. ve Türkoğlu Laçın, M., (2019). İmmün Kontrol Noktası İnhibitörleri Ctl4-4 ve Pd-1/Pd-11'in İmmünoterapideki Yeri. *Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi* 10(2), 210-218.
- Labuda, J. (1992). Stripping Voltammetry. *Select Electrode Rev.*, 14, 33.
- Lee, S. X., Lim, H.N., Ibrahim, I., Jamil, A., Pandikumar, A., Huang, N. M. (2017). Horseradish peroxidase-labeled silver/reduced graphene oxide thin film-modified screen-printed electrode for detection of carcinoembryonic antigen. *Biosensors and Bioelectronics*, 89, 673–680.
- Mar, R., Marazuela, D., ve Moreno-bondi, C. (2002). Fiber-optic biosensors – an overview. *Anal Bioanal Chem*, 372, 664–682. <https://doi.org/10.1007/s00216-002-1235-9>
- Mohanraj, V. J. ve Chen, Y. (2007). Nanoparticles - A review. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, 5(1), 561–573. <https://doi.org/10.4314/tjpr.v5i1.14634>
- Mukhopadhyay, A. K. (2011). Construction Products : A Review. *Nanotechnology in Civil Infrastructure*, 207–223.
- Manea, F. Electrochemical techniques for characterization and detection application of nanostructured carbon composite, in: M. Aliofkhazraei (Ed.), *Modern Electrochemical Methods in Nano, Surface and Corrosion Science*, InTech, Rijeka: Croatia. ISBN 978-953-51-1586-1.

- Meng, F., Kun H., Bidou W., Tao L., Guangxing L., Yueran L., and Peng M. (2016). Nanoarchitected Electrochemical Cytosensor for Selective Detection of Cancer Cells. *ChemistrySelect*, 1, 1515 – 1517. DOI: 10.1002/slct.201600193
- Mohammadi, M., Tavakoli, A. ve Saba, J. (2014). Effects of foliar application of 6-benzylaminopurine on yield and oil content in two spring safflower (*Carthamus tinctorius* L.) cultivars. *Plant Growth Regulation*, 73(3), 219–226. doi: <https://doi.org/10.1007/s10725-013-9882-8>
- Marques, Raquel, C. B., Viswanathan, S., Nouws, Henri P. A., Delerue-Matos, C., M. González-García, B. (2014). Electrochemical immunosensor for the analysis of the breast cancer biomarker HER2 ECD. *Talanta* 129, 594–599.
- Navalakhe, R. M. ve Nandedkar, T. D. (2007). Application of nanotechnology in cosmetics. *Pharmaceutical Research*, 45(8), 160–165. <https://doi.org/10.1007/s11095-010-0139-1>
- Nikhil, B., Pawan, J., Nello, F. ve Pedro, E. (2016). Introduction to biosensors. Essays in *Biochemistry*, 60(1), 1-8.
- Nigam, V. K., Shukla, P. (2015). Enzyme Based Biosensors for Detection of Environmental Pollutants - A Review. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 25(11), 1773-1781. <https://doi.org/10.4014/jmb.1504.04010>
- Nayak, K. A.ve Pal, D. (2010). Nanotechnology for Targeted Delivery in Cancer Therapeutics. *Seemanta Institute of Pharmaceutical Sciences*, 1(1), 1-7.
- Oylar, Ö. ve Tekin, İ. (2011). Kanserin Teşhis Ve Tedavisinde Nanoteknolojinin Önemi. *Nanotechnology in Cancer Diagnosis and Treatment*, 16, 147–154.
- Osteryoung, J. ve Hasebe, K. (1976). Pulse Polarography-Theory and Application. *Review of Polarography*, 22(1-2), 1-25.
- Ozkan S.A, Ozkan Y ve Senturk Z, 1998. Electrochemical Reduction of Metronidazole at Activated Glassy Carbon Electrode and Its Determination in Pharmaceutical Dosage Forms. *J. Pharm. Biomed. Anal.*, 17, 3299 – 3305.
- Ozkan, S. A., Uslu, E., Yılmaz, B., Biryol I. (2000). Study on Electrooxidation of Cefadroxil Monohydrate and Its Determination by Differential Pulse Voltammetry. *J. Pharm. Biomed. Anal.*, 17, 3299 – 3305.
- Orazem, M. E. ve Tribollet, B. (2017). *Electrochemical Impedance Spectroscopy* 2nd edn, Wiley.
- Oleinick, A., Svir, I. ve Amatore, C. (2019). A few key theoretical issues of importance in modern molecular electrochemistry. *Curr. Opin. Electrochem.* 13, 33–39.
- Okutan, N., Terzi, P., ve Altay, F. (2014). Affecting parameters on electrospinning process and characterization of electrospun gelatin nanofibers. *Food Hydrocoll.* 39, 19-26.

- Özdem, B. (2021). *Meme Epiteli Ve Meme Kanseri Hücre Hatlarında Sinarin Bileşiminin Apoptoz Üzerine Olan Etkilerinin Araştırılması*. (Yayınlanmamış Yüksek Lisans Tezi). İnönü Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü. Malatya.
- Özer, B. O. (2014). Kolesterol tayini için amperometrik bir biyosensör hazırlanması. (Yayınlanmamış Yüksek Lisans Tezi). Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü. Ankara.
- Pal, D. ve Nayak, A. K. (2010). Nanotechnology for targeted delivery in cancer therapeutics. *Editorial Article Nanotechnology For Targeted Delivery Introduction*, 1(1), 1–7.
- Perker, Z. S. (2010). Nanoteknoloji Ve Yapı Malzemesi Alanına Etkileri. *E-Journal of New World Sciences Academy*, 5, 10.
- Parry, E. P ve Osteryoung, R. A. (1965). Evaluation of Analytical Pulse Polarography. *Anal. Chem.*, 37(13), 1634–1637
- Pejcic, B., Marco, R.D. ve Parkinson, G. (2006). The role of biosensors in the detection of emerging infectious diseases. *Analyst*, 131, 1079–1090.
- Ravalli A., da Rocha, C. G., Yamanaka, H., ve Marrazza, G. (2015). A label-free electrochemical affisensor for cancer marker detection: The case of HER2. *Bioelectrochemistry*, 106, 268–275.
- Ramsden, J. J. (2018). What is Nanotechnology. *Applied Nanotechnology*, May, 3–13. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-813343-9.00002-0>
- Rogers, K. R. (2000). Principles of affinity-based biosensors. *Applied Biochemistry and Biotechnology - Part B Molecular Biotechnology*, 14(2), 21. <https://doi.org/10.1385/mb:14:2:109>
- Rusling, J. F. (1984). Variations in Electron-Transfer Rate at Polished Glassy Carbon Electrodes Exposed to Air 1984. *Anal. Chem.*, 56, 557 – 575.
- Ronkainen, N. J., Halsall, H. B., Heineman, W. R. (2010). Electrochemical biosensor., *Chem. Soc. Rev.* 39, 1747–1763.
- Reneker, D. H. ve Chun, I., (1996). Nanometre diameter fibres of polymer, produced by electrospinning. *Nanotechnology*, 7, 216.
- Reyes, C. G., Sharma, A. ve Lagerwall, J. P. F. (2016). Non-electronic gas sensors from electrospun mats of liquid crystal core fibres for detecting volatile organic compounds at room temperature. *Liq. Cryst.* 43, (13-15).
- Saba, H. (2014). A Review on Nanoparticles : Their Synthesis and Types. *Research Journal of Recent Sciences Res . J . Recent . Sci . Uttar Pradesh (Lucknow Campus)*, 4(February), 1–3.

- Singh, A., Sharma, A., Ahmed, A., Sundramoorthy, A. K., Furukawa, H., Arya, S. ve Khosla, A. (2021). Recent advances in electrochemical biosensors: Applications, challenges, and future scope. *Biosensors*, 11(9), 1–31. <https://doi.org/10.3390/bios11090336>
- Singh, O. P., Nehru, R. M., Energy, A., Board, R., Bhavan, N. ve Nagar, A. (2008). Nanotechnology and Cancer Treatment. *Asian J. Exp. Sci*, 22(2), 45–50.
- Schwartz, G. K. ve Shah, M. A. (2005). Targeting the cell cycle: a new approach to cancer therapy. *J Clin Oncol*, 23(36), 9408–21.
- Sharma, G. N., Dave, R., Sanadya, J., Sharma, P., Sharma, K. K. (2010). Various types and management of breast cancer: An overview. *J Adv Pharm Technol Res.*, 1, 109-126.
- Song, M., Lin, X., Peng, Z., Xu, S., Jin, L., Zheng, X. ve Luo, H. (2021). Materials and Methods of Biosensor Interfaces With Stability. *Frontiers in Materials*, 7(January), 1–11. <https://doi.org/10.3389/fmats.2020.583739>
- Su, L., Jia, W., Hou, C. ve Lei, Y. (2011). Microbial biosensors: A review. *Biosensors and Bioelectronics*, 26(5), 1788–1799. <https://doi.org/10.1016/j.bios.2010.09.005>
- Skoog, D. A., Holler, F. J. ve Nieman, T. A. (1998). Enstrümental Analiz İlkeleri. Ankara: Bilim Yayıncılık. 975-55-041-6.
- Stutts, K. J, Kovach, P. M, Kuhr, W. G. ve Whitman, R. M. (1983). Enhanced Electrochemical Reversibility at Heat Treated Glassy Carbon Electrodes. *Anal. Chem.*, 55, 1632 – 1634
- Shearer, C. M., Christenson, K., Mujherji, A. ve Papariello, C. J. (1972). Peak Voltammetry at Glassy Carbon Electrode of Acetaminophen Dosage Forms. *J. Pharm. Sci.*, 61, 1627.
- Schmid, G. M. ve Curley-Fiorino, M. E. (1975). Gold. In: Bard AJ (ed) Encyclopedia of electrochemistry of the elements, vol IV. Marcel Dekker, New York, p 87
- Scholz, F. (2010). Electroanalytical Methods, 2nd ed., , C Springer-Verlag Berlin Heidelberg. doi:10.1007/978-3-642-02915-8_15
- Smith, S. C. ve Rodrigues, D. F. (2015). Carbon-Based nanomaterials for removal of chemical and biological contaminants from water: A review of mechanisms and applications. *Carbon*, 91, 122–143.
- Sharma, P. ve Bhargava, M. (2013). Applications and Characteristics of Nanomaterials in Industrial Environment. *International Journal of Civil, Structural, Environmental and Infrastructure Engineering Research and Development*, 3(4), 63-72.

- Si, W., Zhang, Y., Wu, G., Sha, J., Liu, L., Chen, Y., 2014. DNA sequencing technology based on nanopore sensors by theoretical calculations and simulations. *Chin. Sci. Bull.*, 59(35), 4929–4941. DOI 10.1007/s11434-014-0622-x
- Şimşek, A. B. ve Dicle A. (2013). Primer Beyin Tümörü: Klinik Özellikler, Tedavi ve Bakım. *DEUHYO ED*, 6(2), 102-113.
- Swift, L. H. ve Golsteyn, R. M. (2016). Chapter 22 - The Relationship Between Checkpoint Adaptation and Mitotic Catastrophe in Genomic Changes in Cancer Cells, Editor(s): Igor Kovalchuk, Olga Kovalchuk, Genome Stability, Academic Press, 373-389, ISBN 9780128033098, <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-803309-8.00022-7>.
- Senturk, Z., Ozkan, S. A. ve Ozkan, N. (1998). Electroanalytical Study of Nifedipine Using Activated Glassy Carbon Electrode. *J. Pharm. Biomed. Anal.*, 16, 801 – 807.
- Şenkuş, E. (2021). Biyobelirteçler ve Kanser. *Bezelye Dergi*. <https://www.bezelyedergi.net/post/biyobelirte%C3%A7ler-ve-kanser>
- Tepeli, Y. (2015). Kanser Hücresi Belirlenmesine Yönelik Elektrokimyasal Yöntemlerin ve Elektrokimyasal Platformların Geliştirilmesi. (Yayınlanmamış Yüksek Lisans Tezi). Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Muğla.
- Torre, L. A., Bray, F., Siegel, R. L., Ferlay, J., Lortet-Tieulent, J. ve Jemal, A. (2015). Global cancer statistics, 2012. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, 65(2), 87–108. <https://doi.org/10.3322/caac.21262>
- Tüylek, Z. (2016). Küçük Şeylerin Hikayesi: Nanomalzeme. *Nevşehir Bilim ve Teknoloji Dergisi*, 5(2), 12. <https://doi.org/10.17100/nevbittek.284737>
- Tüylek, Z. (2021). Biyoteknolojide Biyosensör ve Biyoçip Uygulamaları. *International Journal of Life Sciences and Biotechnology*, 4(3), 468–490. <https://doi.org/10.38001/ijlsb.876231>
- Tural, H., Gökçel, H. İ, Ertaş, F. N. (2003). Enstrümental Analiz I Elektroanalitik Yöntemler. *Ege Üniversitesi Fen Fakültesi Yayınları*, 186, 131 .
- Tunçel, T., Bergisadi, M., Akın, L., Otuk, G., Kuscü, I. (1996). In-Vitro and In-Vivo Studies on Micro Capsules and Tabletted Micro Capsules Cephadrine. *Pharmazie*, 51, 168-171.
- Thornton, D. C, Corby, K. T., Spendel, V. A., Jordan, J., Robbat, A., Rutstorm, D. J., Eros, M. ve Ritzler, G. (1985). Pretreatment and Validation Procedure for Glassy Carbon Voltammetric Indicator Electrodes. *Anal. Chem.*, 57, 150 - 155.
- Taylor, R. J. ve Humpff, A. A. (1973). Electrochemical Studies on Glassy Carbon Electrodes. *Electroanal. Chem. and Interfacial Electrochem.*, 42, 347 – 354.

- Tjaden, U. R., Lankelma, J., Poppe, H. ve Muusze, R. G. (1976). Anodic Coulometric Detection with a Glassy Carbon Electrode in Combination with Reversed Phase High Performance Liquid Chromatography. *J.Chromatogr.*, 125, 275 – 286.
- Thota, S., Wang, Y. ve Zhao, J. (2018). Colloidal Au–Cu alloy nanoparticles: synthesis, optical properties and applications. *Materials Chemistry Frontiers*, 2, 1074-1089, doi:10.1039/c7qm00538e.
- Trutaa, Liliana, A. A. N. A. ve Sales, M. Goreti F. (2019). Carcinoembryonic antigen imprinting by electropolymerization on a common conductive glass support and its determination in serum samples. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 287, 53-63.
- Velasco-Garcia, M. N. ve Mottram, T. (2003). Biosensor technology addressing agricultural problems. *Biosystems Engineering*, 84(1), 1–12. [https://doi.org/10.1016/S1537-5110\(02\)00236-2](https://doi.org/10.1016/S1537-5110(02)00236-2)
- Vassos, B. H. ve Osteryoung, R. A. (1974). Low Noise Pulse Polarograph Suitable for Automation. *Instrumentation Science & Technology*, 5 (4), 257-270. <https://doi.org/10.1080/10739147308543376>
- Weinberg, R. A. (1996). Fundamental Understandings. *Scientific American*, 275(3), 62–70. <https://doi.org/10.1038/scientificamerican0996-61>
- Wu, Q., Miao, W. S., Zhang, Y. Du, Gao, H. J. ve Hui, D. (2020). Mechanical properties of nanomaterials: A review. *Nanotechnology Reviews*, 9(1), 259–273. <https://doi.org/10.1515/ntrev-2020-0021>
- Wu, J., Tang, J., Dai, Z., Yan, F., Ju, H. ve Murr, E.N. (2006) A disposable electrochemical immunosensor for flow injection immunoassay of carcinoembryonic antigen. *Biosens Bioelectron*, 22, 102–108.
- Wang, J. (1994). Analytical electrochemistry, *VCH Publishers*, 44.
- Wang, J. ve Hutchins, L. D., (1985). Activation of Glassy Carbon Electrodes by Alternating Current Electrochemical Treatment. *Anal. Chim. Acta.*, 167, 325 – 334.
- Wightman, R. M., Deakin, M. R., Kovach, P. M., Kuhr, W. G. ve Stutts, K. J. (1984). Methods to Improve Electrochemical Reversibility at Carbon Electrodes. *J. Electrochem. Soc.*, 131, 1578 – 1583
- Wang, Y., Zhang, Z., Jain, V., Yi, J., Mueller, S., Sokolov, J., Liuf, Z., Levong, K., Rigas, B. ve Rafailovich, M. H. (2010). Potentiometric sensors based on surface molecular imprinting: Detection of cancer biomarkers and viruses. *Sensors and Actuators B* 146, 381–387.

- Wang, Q. L., Cui¹, H. F., Song, X., Fan, S. F., Chen, L. L., Li¹, M. M. ve Li, Z. Y. (2017). A label-free and lectin-based sandwich aptasensor for detection of carcinoembryonic antigen. *Sensors and Actuators B*, 4005(17), 32437-1. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2017.12.105>.
- Wien, M. (1986). Ueber die polarisation bei Wechselstrom [German]. *Ann. Phys.* 294, 37–72.
- Wilson, J. S. (2005). *Sensor Technology Handbook*. Elsevier Inc., ISBN: 0-7506-7729-5.
- Xiao, Y., Ju, H. X. ve Chen H. Y. (1999). Hydrogen peroxide sensor based on horseradish peroxidase-labeled Au colloids immobilized on gold electrode surface by cysteamine monolayer. *Anal. Chim. Acta*, 391, 73-82.
- Yuca, N. (2010). *Karbon nanotüpleren çeşitli yöntemlerle saflaştırılması*. (Yayınlanmamış Yüksek Lisans Tezi). İstanbul Teknik Üniversitesi Enerji Enstitüsü, İstanbul.
- Yılmaz, N. ve Biryol, I. (1998). Anodic Voltammetry of Cefotaxime J. Pharm. *Biomed. Anal.*, 17, 349 – 355.
- Yalçın, B., Güneş, M., Ciğerci, İ. H. ve Kaya, B. (2021). Demir (III) oksit (Fe₂O₃) nanopartiküllerinin genotoksitesinin Drosophila hemositlerinde Komet yöntemi ile araştırılması. *GÜFBED/GUSTIJ*, 11(3), 643-652.
- Zhu, X. Liu, P. Xue, T. Ge, Y. Ai, S. Sheng, Y. Wu, R. Xu, L. Tang, K. ve Wen, Y. (2021). A novel graphene-like titanium carbide MXene/Au–Ag nanoshuttles bifunctional nanosensor for electrochemical and SERS intelligent analysis of ultra-trace carbendazim coupled with machine learning. *Ceram. Int.*, 47, 173–184.
- Zhang, Z., Cong, Y., Huang Y. ve Du, X. (2019). Nanomaterials-based Electrochemical Immunosensors. *Micromachines*, 10, 397. doi:10.3390/mi10060397
- Zhang, G. J. ve Ning, Y. (2012). Silicon nanowire biosensor and its applications in disease diagnostics: A review. *Analytica Chimica Acta*, 749, 1-15.