

**NANOPARTİKÜLLER İLE MODİFİYE EDİLMİŞ KARBON
ELEKTROTLARLA ELEKTROKİMYASAL TANI**

**ELECTROCHEMICAL DETECTION USING CARBON
ELECTRODES MODIFIED WITH NANOPARTICLES**

ERKAN KARATAŞ

PROF. DR. ERHAN BİŞKİN
Tez Danışmanı

Hacettepe Üniversitesi
Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin
Biyomühendislik Anabilim Dalı için Öngördüğü
YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak hazırlanmıştır.

2015

ERKAN KARATAŞ'ın hazırladığı “**Nanopartiküller İle Modifiye Edilmiş Karbon Elektrotlarla Elektrokimyasal Tanı**” adlı bu çalışma aşağıdaki jüri tarafından **BIYOMÜHENDİSLİK ANABİLİM DALI**’ nda **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Tülin KUTSAL

Başkan

.....

Prof. Dr. Erhan BİŞKİN

Danışman

.....

Prof. Dr. A. Kevser ÖZDEN

Üye

.....

Doç. Dr. Mustafa TÜRK

Üye

.....

Yrd. Doç. Dr. Eda ÇELİK AKDUR

Üye

.....

Bu tez Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü tarafından **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak onaylanmıştır.

Prof. Dr. Fatma SEVİN DÜZ
Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

ETİK

Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, tez yazım kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada,

- tez içindeki bütün bilgi ve belgeleri akademik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- görsel, işitsel ve yazılı tüm bilgi ve sonuçları bilimsel ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda ilgili eserlere bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunduğumu,
- atıfta bulunduğum eserlerin tümünü kaynak olarak gösterdiğimi,
- kullanılan verilerde herhangi bir tahrifat yapmadığımı,
- ve bu tezin herhangi bir bölümünü bir üniversitede veya başka bir üniversitede başka bir tez çalışması olarak sunmadığımı

beyan ederim.

26.01.2015

ERKAN KARATAŞ

ÖZET

NANOPARTİKÜLLER İLE MODİFİYE EDİLMİŞ KARBON ELEKTROTLARLA ELEKTROKİMYASAL TANI

Erkan KARATAŞ

Yüksek Lisans, Biyomühendislik

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Erhan BİŞKİN

Ocak 2015, 127 Sayfa

Bu çalışmada, kalem grafit elektrot yüzeyleri polidopamin ile kaplanmış ve ardından altın ve gümüş nanopartiküller bu yüzey üzerinde biriktirilerek, yüzey alanı geniş, stabil ve katalitik özelliği arttırılmış yeni yüzeyler geliştirilmiştir. Yüzeyi modifiye edilen karbon elektrotlar, biyouyumlu ve hassas tayine yönelik bir elektrokimyasal sensör geliştirilmesi amacıyla incelenmiştir. Yüzey karakterizasyonları SEM ve EDX analizleri ile yapılmıştır. Modifiye elektrotlar, standart bir redoks probu olan potasyum ferrosiyanat çözeltisi ile voltametrik yöntemler altında karakterize edilmiştir. Sensör geliştirilmesine yönelik hazırlanan bu elektrotlar, bazı etken maddelerinin elektrokimyasal tayinine de olanak sağlamış, özellikle insanlarda ve hayvanlarda beyine ait pek çok işlevin yerine getirilmesinde öneme sahip bir nörokimyasal olan dopamin'in tayini için incelenmiştir. Modifiye ve modifiye olmayan elektrotlar standart çözelti ile karşılaştırılarak, tanı amaçlı kullanımı test edilmiştir. Bu amaçla dopamin'in tayini ve analizi için kalibrasyon çalışmaları yapılarak voltametrik yöntemler geliştirilmiş ve valide edilmiştir. Dopamin'in, adsorpsiyon ve difüzyon özellikleri incelenerek elektrot tepkimesinde aktarılan elektron sayısı, difüzyon katsayısı, yük transfer katsayısı gibi bazı elektrokimyasal parametreleri hesaplanmıştır. Buna ilaveten dopamin'in farmasötik örnekler ve biyolojik sıvılarda tayini için diferansiyel puls voltametrisi (DPV) ve kare dalga voltametrisi (KDV) yöntemleri geliştirilmiştir. Geliştirilen yöntemlerin

validasyonu yapılmıştır. Doğrusal çalışma aralığı DPV yöntemi için $4,0 \times 10^{-7}$ M - $7,6 \times 10^{-6}$ M iken; KDV yöntemi için ise $4,0 \times 10^{-7}$ M - $6,0 \times 10^{-6}$ M olarak hesaplanmıştır. Yapılan kalibrasyon çalışmalarının analitik parametreleri en küçük kareler yöntemi ile değerlendirilmiştir ve her iki yöntem için gözlenebilme sınırı ve alt tayin sınırı değerleri belirlenmiştir. Farmasötik örnekler ve biyolojik ortamlarda uygulanan bu yöntemlerle, güvenilir, tekrarlanabilir, yüksek doğruluk ve kesinliğe sahip sonuçlar elde edilmiştir. Geliştirilen yöntemler istatistiksel olarak değerlendirilmiş ve kesinlik, duyarlık, seçicilik gibi parametreler incelenerek % 95 güven seviyesinde elde edilen sonuçlar arasında anlamlı bir fark olmadığı görülmüştür.

Anahtar Kelimeler: Dopamin, polidopamin, altın nanopartikül, kalem grafit elektrot, yüzey modifikasyonu, voltametri, elektrokimyasal davranış, yöntem validasyonu

ABSTRACT

ELEKTROCHEMICAL DETECTION USING CARBON ELECTRODES MODIFIED WITH NANOPARTICLES

Erkan KARATAŞ

Master of Science, Bioengineering Division

Supervisor: Prof. Dr. Erhan BİŞKİN

January 2015, 127 Pages

In this study, new surfaces for pencil graphite electrodes with high stability, high surface area and highly catalytic activity were developed by coating them firstly with polydopamine, then with gold and silver nanoparticles. Surface modified electrodes were investigated for getting an electrochemical sensor allows biocompatible and sensitive determination. Surface characteristics of modified electrodes were examined by SEM and EDX analysis. Modified electrodes were also investigated under voltammetric techniques by using potassium ferrocyanate standart redox solution. Electrodes developed for sensor applications were allowed electrochemical analysis for some active ingredients, especially the one plays an important role for brain functions in humans and animals, a neurochemical drug dopamine, was investigated. Modified and non-modified electrodes were compared by standart redox solution and tested for diagnosis applications. For this reason, voltammetric methods were developed for analysis and determination of dopamine by performing calibration curves and validated. Some electrochemical parameters such as diffusion coefficient, number of transferred electron in electrochemical step, charge transfer coefficient were calculated for dopamine. Moreover, differential pulse voltammetric (DPV) and square-wave stripping voltammetric (SWV) methods were developed to its direct determination in pharmaceutical preparations and biological samples including human serum and

human urine. Developed methods for the determination of DA was validated. Linear working concentration range for DPV method was evaluated between $4,0 \times 10^{-7} \text{ M}$ - $7,6 \times 10^{-6} \text{ M}$ and for SWV was evaluated between $4,0 \times 10^{-7} \text{ M}$ - $6,0 \times 10^{-6} \text{ M}$. Limit of quantification and detection for these developed methods were calculated from analytical parameters of calibration studies by using least squared method. Results of these applied methods were found to have accuracy, precision, reproducible and high confidence. Developed methods were evaluated statistically and some parameters were examined such as precision, selectivity, sensitivity. Obtained results were found to be insignificant at 95 % confidence level.

Key Words: Dopamine, polydopamine, gold nanoparticle, pencil graphite electrode, surface modification, voltammetry, electrochemical behavior, method validation

TEŞEKKÜR

Tez çalışmasında bana zaman ayırarak paylaştığı engin bilgileriyle yol gösterdiği için danışmanım Prof. Dr. Erhan BİŞKİN'e; bana laboratuvarını açarak gösterdiği inceliği ve büyük desteği için Prof. Dr. Zehra DURMUŞ' a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Bilgi birikimi ve deneyimlerinden yararlandığım Biyomühendislik Anabilim Dalının başta Prof. Dr. Tülin KUTSAL olmak üzere tüm öğretim üyelerine ayrıca teşekkür ederim.

Tez çalışmasında bana ayırdıkları ekstra zamanları ve rehberlikleri için çok değerli arkadaşlarım Dr. Mehmet YILMAZ, Dilek Şura ÖZDEN ve Yüksel AKINAY'a içtenlikle teşekkür eder, yaşamlarının her alanında üstün başarılar dilerim.

Laboratuvar arkadaşlarım Kouroush SALİMİ, Duygu Deniz USTA, Elif KAYAALP, Lena MAHMOUDI AZAR, Araz NOROUZ DIZAJI, Behzad NASSERI, Ali Akbar EBRAHİMİ, Ehsan SANATTALAB, Reza DIDARIAN, Erdem HABERAL'e bana karşı gösterdikleri sabır ve hoşgörülerini için teşekkür ederim.

Bana karşı gösterdiği sabır, anlayış, tahammül ve her türlü fedakarlığı için sevgili eşim Aysel KARATAŞ'a, biricik kızım Dicle KARATAŞ'a ve anne babam başta olmak üzere tüm aile bireylerime teşekkürlerimi sunarım.

Erkan KARATAŞ

Ankara, Ocak 2015

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
ÖZET	i
ABSTRACT	iii
TEŞEKKÜR	v
İÇİNDEKİLER	vi
ÇİZELGELER	viii
ŞEKİLLER	x
SİMGELER VE KISALTMALAR	xv
1.GİRİŞ	1
2.GENEL BİLGİLER	5
2.1. Nanoteknoloji, Nanopartiküller ve Sensör Uygulamalarında Kullanımı	5
2.1.1. Nanopartikül Sentez Yöntemleri	6
2.2. Dopamin	9
2.2.1. Polimerizasyon Mekanizması	10
2.2.2 Fizikokimyasal Özellikleri	12
2.2.2.1. Kimyasal Reaktivite	12
2.2.2.2. Metal İyonları Şelat Oluşturucu Özelliği ve Redoks Aktiviteleri	14
2.2.2.3 Adhezyon Özelliği	15
2.2.2.4. Biyouyumluluk ve Biyobozunma	17
2.2.2.5. Diğer Özellikleri	18
2.3. Sensör Uygulamaları	19
2.3.1 Polidopaminin Aşılama Malzemesi olarak Kullanılması	19
2.3.1.1. Küçük Organik Moleküllerin ve Biyomoleküllerin Tanısında Kullanımı	20
2.3.1.2. Ağır Metal İyonlarının Tanısı	23
2.4. Karbon Esaslı Elektrotlar	23
2.4.1. Kalem Grafit Elektrot	24
2.5. Elektroanalitik Yöntemler	24
2.5.1. Dönüşümlü Voltametri	26
2.5.2 Diferansiyel Puls Voltametrisi (DPV)	31
2.5.3 Kare-Dalga Voltametrisi (KDV)	32
2.5.4. Bulk Elektroliz (BE)	34
3. DENEYSEL ÇALIŞMALAR	35
3.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler ve Cihazlar	35
3.2. Nanopartiküllerin Sentez ve Karakterizasyonu	37

3.2.1. Altın Nanopartiküllerin Sentezi	37
3.2.2. Gümüş Nanopartiküllerin Sentezi	38
3.3. Elektrot Yüzeyine Polidopamin Birikimi	38
3.4. Modifiye Elektrot Yüzeylerinin Nanopartiküllerle Dekore Edilmesi.....	39
3.5. Kullanılan Çözeltiler ve Hazırlanışı	39
3.5.1 Standart DA Çözeltileri	39
3.5.2. Destek Elektrolit Çözeltileri.....	39
3.5.3. Farmasötik ve Biyolojik Örneklerin Analize Hazırlanışı.....	40
3.6. Elektrokimyasal Deneylerin Yapılışı	40
4. SONUÇLAR VE TARTIŞMA.....	41
4.1. Kalem Grafit Elektrotların Nanopartiküllerle Dekorasyonuna İlişkin Karakterizasyonlar.....	41
4.2. Kalem Grafit Elektrotlarla Çeşitli Elektroaktif Maddelerin Tayini	59
4.2.1. DA'nın Elektrokimyasal Davranışı	67
4.2.1.1. DA' nın Adsorpsiyon Özelliği	72
4.2.1.2. pH' nın Pik Akımına ve Pik Potansiyeline Etkisi	73
4.2.1.3. Aktarılan Elektron Sayısının Bulunması	76
4.2.1.4 Difüzyon ve Yüzey Kaplama Katsayısının Hesaplanması	77
4.2.1.5 Önerilen Olası Reaksiyon Mekanizması.....	78
4.2.2. DA Tayini İçin Voltametrik Yöntem Geliştirme	79
4.2.2.1. Cihaz Parametrelerinin Optimizasyonu	79
4.2.2.2. Yöntem Parametrelerinin Optimizasyonu	80
4.3. Elektroanalitik Yöntemlerin Uygulamaları	80
4.3.1. Kalibrasyon Grafiği ve Doğrusal Çalışma Aralığının Belirlenmesi	80
4.3.2. Geliştirilen Yöntemlerin Farmasötik ve Biyolojik Örneklerde Uygulamaları	83
4.4. Elektroanalitik Yöntemlerin Validasyonu.....	91
4.5. Farklı Yöntem Sonuçlarının ve Parametrelerinin İstatistiksel Olarak Karşılaştırılması.....	92
4.6. Genel Sonuçlar.....	95
KAYNAKLAR.....	97
ÖZGEÇMİŞ	106

ÇİZELGELER

Sayfa

Çizelge 3.1. Polidopamin film kalınlığının zamana bağlı değişimi	39
Çizelge 4.1. 5 mM DA çözeltisinin bazı pik parametrelerinin tarama hızı ile değişimi (CV, KGE).....	71
Çizelge 4.2. 5mM DA' nın çeşitli tarama hızlarında alınan dönüşümlü voltamogramlarından hesaplanan difüzyon katsayıları ve yüzey kaplama katsayıları	78
Çizelge 4.3. Voltametrik puls yöntemleri için belirlenen optimum cihaz parametreleri	80
Çizelge 4.4. Dopamin ampullerinde iki farklı yöntemle DA tayininde doğrudan kalibrasyon yöntemi ile elde edilen bulgular	85
Çizelge 4.5. Dopamin ampullerinde iki farklı yöntemle DA tayininde standart ekleme kalibrasyon yöntemi ile elde edilen bulgular.....	85
Çizelge 4.6. KDV yöntemi ile idrar numunelerinde DA tayininde standart ekleme yöntemi ile elde edilen bulgular; KGE.....	87
Çizelge 4.7. KDV yöntemi ile idrar numunelerinde DA tayininde standart ekleme yöntemi ile elde edilen bulgular; AuNP@PDA@KGE.....	87
Çizelge 4.8. DPV yöntemi ile idrar numunelerinde DA tayininde standart ekleme yöntemi ile elde edilen bulgular ; KGE.....	88
Çizelge 4.9. DPV yöntemi ile idrar numunelerinde DA tayininde standart ekleme yöntemi ile elde edilen bulgular ; AuNP@PDA@KGE.....	88
Çizelge 4.10. KDV yöntemi ile idrar numunelerinde DA tayininde doğrudan kalibrasyon yöntemi ile elde edilen bulgular; KGE.....	89
Çizelge 4.11. KDV yöntemi ile idrar numunelerinde DA tayininde doğrudan kalibrasyon yöntemi ile elde edilen bulgular; AuNP@PDA@KGE.....	89
Çizelge 4.12. DPV yöntemi ile idrar numunelerinde DA tayininde doğrudan kalibrasyon yöntemi ile elde edilen bulgular ; KGE.....	90
Çizelge 4.13. DPV yöntemi ile idrar numunelerinde DA tayininde doğrudan kalibrasyon yöntemi ile elde edilen bulgular ; AuNP@PDA@KGE.....	90
Çizelge 4.14. DA tayini için elde edilen kalibrasyon eğrilerinin en küçük kareler yöntemi kullanılarak değerlendirilmesiyle hesaplanan regresyon parametreleri...	92

Çizelge 4.15. Standart ekleme ve doğrudan kalibrasyon yöntemlerinin DPV ve KDV yöntemleri için karşılaştırılan bazı değerleri	93
Çizelge 4.16. Dopamin tayininde kullanılan farklı materyallerle yapılan çalışmalar ile tez kapsamında yapılan çalışmanın karşılaştırılması.....	94

ŞEKİLLER

Sayfa

Şekil 2.1. Dopamin molekülünün kimyasal yapısı.....	10
Şekil 2.2. Polidopaminin oluşum mekanizması ve yapısı	12
Şekil 2.3. Polidopaminin üç tip kimyasal reaksiyonu	13
Şekil 2.4. Polidopamin oluşumunun ilk basamakları.....	15
Şekil 2.5. Glikoz biyosensörü yapımında kullanılan elektropolimerizasyon yöntemi	22
Şekil 2.6. Elektroanalitik yöntemlerin sınıflandırılması.....	26
Şekil 2.7. Dönüşümlü voltametri için uyarma sinyali ve voltamogramı	27
Şekil 2.8. Diferansiyel puls voltametrisinde puls tipi uyarma sinyalinin dalga şekli.....	32
Şekil 2.9. Kare-dalga voltametrinde puls tipi uyarma sinyali.....	33
Şekil 3.1.(a) CHI-660 elektrokimyasal çalışma ünitesi, (b) BAS C3 katı elektrot standı, (c) KGE.....	37
Şekil 4.1. Aynı büyütme oranlarında elde edilen KGE (a) ve PDA@KGE yüzeylerin (b) SEM görüntüleri.....	41
Şekil 4.2. Sitrat indirgeme yöntemiyle sentezlenen AuNP için elde edilen UV-vis spektrumu.....	42
Şekil 4.3. Sitrat indirgeme yöntemiyle sentezlenen AgNP için elde edilen UV-vis spektrumu.....	43
Şekil 4.4. Farklı büyütme oranlarında elde edilen biriktirme yöntemiyle 3 saat AuNP ile kaplanan PDA@KGE yüzeylerin SEM görüntüleri ((a, x50000) (b, x100000)).....	44
Şekil 4.5. Farklı büyütme oranlarında elde edilen biriktirme yöntemiyle 12 saat AuNP ile kaplanan PDA@KGE yüzeylerin SEM görüntüleri ((a, x10000) (b, x50000)).....	44
Şekil 4.6. Farklı büyütme oranlarında elde edilen biriktirme yöntemiyle 24 saat AuNP ile kaplanan PDA@KGE yüzeylerin SEM görüntüleri ((a, x50000) (b, x100000)).....	44
Şekil 4.7. AuNP ile dekore edilmiş (12 saat) PDA@KGE yüzeylerin farklı bölgelerinden alınan EDX spektrumları. Bu bölgeler için alınan elementel kütlece yüzdeleri iç-pencere olarak verilmiştir	46
Şekil 4.8. AuNP için boyut dağılımı (a) ve nanopartiküllerin farklı birikme sürelerindeki birim alandaki sayıca yoğunlukları (b)	46

Şekil 4.9. Farklı büyütme oranlarında elde edilen biriktirme yöntemiyle 3 saat AgNP ile kaplanan PDA@KGE yüzeylerin SEM görüntüleri ((a, x10000) (b, x50000))	48
Şekil 4.10. Farklı büyütme oranlarında elde edilen biriktirme yöntemiyle 12 saat AgNP ile kaplanan PDA@KGE yüzeylerin SEM görüntüleri ((a, x10000) (b, x50000))	48
Şekil 4.11. Farklı büyütme oranlarında elde edilen biriktirme yöntemiyle 24 saat AgNP ile kaplanan PDA@KGE yüzeylerin SEM görüntüleri ((a, x10000) (b, x50000))	48
Şekil 4.12. AgNP ile dekore edilmiş (3 saat) PDA@KGE yüzeylerin farklı bölgelerinden alınan EDX spektrumları. Bu bölgeler için alınan elementel kütlece yüzdeleri iç-pencere olarak verilmiştir	50
Şekil 4.13. AgNP için boyut dağılımı (a) ve nanopartiküllerin farklı birikme sürelerindeki birim alandaki sayıca yoğunlukları (b)	50
Şekil 4.14. Farklı büyütme oranlarında elde edilen indirgenme yöntemiyle 3 saat altınla kaplanan PDA@KGE yüzeylerin SEM görüntüleri ((a, x10000) (b, x50000))	51
Şekil 4.15. Farklı büyütme oranlarında elde edilen indirgenme yöntemiyle 12 saat altınla kaplanan PDA@KGE yüzeylerin SEM görüntüleri ((a, x10000) (b, x50000))	52
Şekil 4.16. Farklı büyütme oranlarında elde edilen indirgenme yöntemiyle 24 saat altınla kaplanan PDA@KGE yüzeylerin SEM görüntüleri ((a, x10000) (b, x50000))	52
Şekil 4.17. İndirgenme yöntemiyle altın dekore edilmiş (24 saat) PDA@KGE yüzeylerin farklı bölgelerinden alınan EDX spektrumları. Bu bölgeler için alınan elementel kütlece yüzdeleri iç pencere olarak verilmiştir	53
Şekil 4.18. Farklı altın indirgenme sürelerinde elde edilen nanopartiküllerin boyut dağılımı ((a), 3 saat, (b), 12 saat ve (c) 24 saat) ve ortalama boyutların karşılaştırılması (d)	54
Şekil 4.19. Farklı büyütme oranlarında elde edilen indirgenme yöntemiyle 3 saat gümüşle kaplanan PDA@KGE yüzeylerin SEM görüntüleri ((a, x10000) (b, x50000))	55

Şekil 4.20. Farklı büyütme oranlarında elde edilen indirgenme yöntemiyle 12 saat gümüşle kaplanan PDA@KGE yüzeylerin SEM görüntüleri ((a, x10000) (b, x50000))	55
Şekil 4.21. Farklı büyütme oranlarında elde edilen indirgenme yöntemiyle 24 saat gümüşle kaplanan PDA@KGE yüzeylerin SEM görüntüleri ((a, x10000) (b, x50000))	55
Şekil 4.22. İndirgenme yöntemiyle gümüş dekore edilmiş (24 saat) PDA@KGE yüzeylerin farklı bölgelerinden alınan EDX spektrumları. Bu bölgeler için alınan elementel kütlece yüzdeleri iç pencere olarak verilmiştir	57
Şekil 4.23. Farklı gümüş indirgenme sürelerinde elde edilen nanopartiküllerin boyut dağılımı ((a), 3 saat, (b), 12 saat ve (c) 24 saat) ve ortalama boyutların karşılaştırılması (d).....	58
Şekil 4.24. 3×10^{-4} M B12 vitamin molekülünün dönüşümlü voltamogramı.....	59
Şekil 4.25. 3×10^{-4} M $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$ molekülünün dönüşümlü voltamogramı; 3 saat boyunca PDA biriktirilen PDA@KGE elektrot yüzeyi	60
Şekil 4.26. 3×10^{-4} M $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$ molekülünün dönüşümlü voltamogramı; AuNP'nin 3 saat boyunca biriktirildiği AuNP@PDA@KGE yüzeyi.....	61
Şekil 4.27. 3×10^{-4} M $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$ molekülünün dönüşümlü voltamogramı; AuNP'nin 12 saat boyunca biriktirildiği AuNP@PDA@KGE yüzeyi.....	61
Şekil 4.28. 3×10^{-4} M $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$ molekülünün dönüşümlü voltamogramı; AuNP'nin 24 saat boyunca biriktirildiği AuNP@PDA@KGE yüzeyi.....	61
Şekil 4.29. 3×10^{-4} M $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$ molekülünün dönüşümlü voltamogramı; AgNP'nin 3 saat boyunca biriktirildiği AgNP@PDA@KGE yüzeyi.....	62
Şekil 4.30. 3×10^{-4} M $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$ molekülünün dönüşümlü voltamogramı, AgNO_3 'ün 3 saat boyunca indirgendiği AgNO_3 @PDA@KGE yüzeyi	63
Şekil 4.31. 3×10^{-4} M $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$ molekülünün dönüşümlü voltamogramı, AgNO_3 'ün 12 saat boyunca indirgendiği AgNO_3 @PDA@KGE yüzeyi	64
Şekil 4.32. 3×10^{-4} M $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$ molekülünün dönüşümlü voltamogramı, AgNO_3 'ün 24 saat boyunca indirgendiği AgNO_3 @PDA@KGE yüzeyi	64
Şekil 4.33. 3×10^{-4} M $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$ molekülünün dönüşümlü voltamogramı, HAuCl_4 'ün 3 saat boyunca indirgendiği HAuCl_4 @PDA@KGE yüzeyi.....	65
Şekil 4.34. 3×10^{-4} M $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$ molekülünün dönüşümlü voltamogramı, HAuCl_4 'ün 12 saat boyunca indirgendiği HAuCl_4 @PDA@KGE yüzeyi.....	65

Şekil 4.35. 3×10^{-4} M $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$ molekülünün dönüşümlü voltamogramı, HAuCl_4 'ün 24 saat boyunca indirgendiği $\text{HAuCl}_4/\text{PDA}/\text{KGE}$ yüzeyi.....	65
Şekil 4.36. 3×10^{-4} M p-aminobenzoik asit molekülünün çok döngülü dönüşümlü voltamogramı, AuNP'nin 3 saat boyunca biriktirildiği $\text{AuNP}/\text{PDA}/\text{KGE}$ yüzeyi	66
Şekil 4.37. Farklı derişimlerde DA'nın, PBS ortamında, KGE'de elde edilen dönüşümlü voltamogramları (v: 0,100 V/s, pH: 5,0)	68
Şekil 4.38. Farklı derişimlerde DA'nın, PBS ortamında, $\text{AuNP}/\text{PDA}/\text{KGE}$ 'de elde edilen dönüşümlü voltamogramları (v: 0,100 V/s, pH: 5,0)	68
Şekil 4.39. 0,5 mM DA' nın, PBS ortamında (pH:5,0) KGE yüzeyinde farklı tarama hızlarında (0,05 V/s- 10 V/s) alınan dönüşümlü voltamogramları, iç grafik: 0,1-1 V/s tarama hızlarında alınan voltamogramların net görünümü	70
Şekil 4.40. 0,5 mM DA' nın, PBS ortamında (pH:5,0) KGE yüzeyinde farklı tarama hızlarında alınan dönüşümlü voltamogramları: iç grafik, anodik pik potansiyelinin tarama hızının logaritması ile değişimi	70
Şekil 4.41. 0,5 mM DA' nın PBS ortamında KGE yüzeyinde farklı tarama hızlarında alınan dönüşümlü voltamogramlarından elde edilen log ip-log v grafiği (pH:5,0) .	72
Şekil 4.42. 0,5 mM DA' nın PBS'de, KGE yüzeyinde 5 ardışık döngü ile alınan dönüşümlü voltamogramları (v: 0,05 V/s, pH: 5,0)	73
Şekil 4.43. 0,5 mM DA içeren çözeltilerin farklı pH değerlerinde alınan dönüşümlü voltametri voltamogramları: iç grafik, pik potansiyelinin pH ile değişimi (CV)	74
Şekil 4.44. 0,5 mM DA içeren çözeltilerin farklı pH değerlerinde alınan diferansiyel puls voltamogramları (DPV)	75
Şekil 4.45. 0,5 mM DA içeren çözeltilerin farklı pH değerlerinde alınan kare dalga voltamogramları (KDV)	75
Şekil 4.46. DA'nın olası yükseltgenme reaksiyon mekanizması	79
Şekil 4.47. DA'nın kare dalga anodik (KDV) voltamogramları (iç grafik: pik akımının DA derişimi ile değişimi, pH: 5,0) $\text{AuNP}/\text{PDA}/\text{KGE}$	81
Şekil 4.48. DA'nın diferansiyel puls anodik (DPV) voltamogramları (iç grafik: pik akımının DA derişimi ile değişimi, pH: 5,0) $\text{AuNP}/\text{PDA}/\text{KGE}$	81
Şekil 4.49. DA'nın kare dalga anodik (KDV) voltamogramları (iç grafik: pik akımının DA derişimi ile değişimi, pH: 5,0) @KGE	82
Şekil 4.50. DA'nın diferansiyel puls anodik (DPV) voltamogramları (iç grafik: pik akımının DA derişimi ile değişimi, pH: 5,0) @KGE.....	82

Şekil 4.51. DPV ve SWV(KDV) yöntemi ile DA tayini için standart ekleme kalibrasyon grafiği; @KGE; pH: 5,0.....	83
Şekil 4.52. DPV ve SWV(KDV) yöntemi ile DA tayini için standart ekleme kalibrasyon grafiği; AuNP@DA@KGE; pH: 5,0.....	84
Şekil 4.53. KDV ve SWV(KDV) yöntemleri ile idrar numunelerinde DA ve DA Ampul tayininde elde edilen voltamogramlar	86

SİMGELER VE KISALTMALAR

Simgeler

A	Elektrodun yüzey alanı
C	Ana çözeltideki elektroaktif maddenin analitik derişim, mol/cm ³
ΔE_a	Puls genliğı, V
ΔE_i	Kare-dalga voltametrisinde uyarma sinyalinin basamak yüksekliğı
ΔE_p	Pik potansiyelleri arasındaki fark, V
ΔI	Net akım, A
ΔI_{puls}	Puls voltametrilerinde ölçülen akımların farkı, A
E	Uygulanan potansiyel, V
E^0	Standart potansiyel
E_p	Pik Potansiyeli
E_p^a	Anodik pik potansiyeli
E_p^k	Katodik pik potansiyeli
F	Faraday sabiti, 96485 C/mol e ⁻
f	Uyarma sinyalinin frekansı, 1/s
i_p	Pik akımı, A
i_p^a	Anodik pik akımı, A
i_p^k	Katodik pik akımı, A
I_d	Difüzyon akımı, A
Γ	Elektrot yüzeyine adsorbe olan madde miktarı, mol/ cm ²
Π	Pi sayısı, 22/7
V	Tarama hızı, V/s, mV/s

Kısaltmalar

AgNO ₃ @PDA@KGE	Üzerine gümüş nitrat indirgenmiş polidopamin kaplı kalem grafit elektrot
AgNP	Küresel gümüş nanopartikül
AuNP	Küresel altın nanopartikül
AgNP@PDA@KGE	Üzerine gümüş nanoküreler birikmiş polidopamin kaplı kalem grafit elektrot
AuNP@PDA@KGE	Üzerine altın nanoküreler birikmiş polidopamin kaplı kalem grafit elektrot
PBS	Fosfat tampon çözeltisi
CV	Dönüşümlü voltametri
DPAdSV	Diferansiyel puls adsorptif sıyırma voltametrisi
DPV	Diferansiyel puls voltametrisi
DA	Dopamin
EDX	Enerji dağılımlı X ışını kırınımı
GNP	Altın Nanopartikül
HAuCl ₄ @PDA@KGE	Üzerine aurik asit indirgenmiş polidopamin kaplı kalem kalem grafit elektrot
İnd	İndirgenmiş tür
KDAdSV	Kare-dalga adsorptif sıyırma voltametrisi
KDV	Kare-dalga voltametrisi
KNT	Karbon nanotüp
PDA	Polidopamin
SEM	Taramalı elektron mikroskobu
UA	Ürik asit
Yük	Yükseltgenmiş tür

1.GİRİŞ

Sensörler aktif bir algılayıcı sistem ile sinyal dönüştürücü birimlerden oluşan cihazlardır. Bu cihazlar endüstriyel proseslerde kontrol, koruma ve görüntüleme gibi çok geniş bir kullanım alanına sahiptirler. Teknik terminolojide sensör ve transducer terimleri birbirlerinin yerine sıklıkla kullanılmaktadır. Transducer en yalın haliyle enerji dönüştürücü olarak tanımlanır. Sensör ise çeşitli enerji biçimlerini elektriksel enerjiye dönüştüren cihazlardır. Ancak 1969 yılında ISA (Instrument Society of America) bu iki terimi eş anlamlı olarak kabul etmiş ve “ölçülen fiziksel özellik, miktar ve koşulların kullanılabilir elektriksel sinyallere dönüştüren bir araç” olarak tanımlamıştır. Algılayıcılar ile ölçülen büyüklükler; mekanik, termal, elektriksel, manyetik, ışıma ve kimyasal olarak gruplandırılabilir [1].

Elektrokimyasal sensörler (elektrokimyasal algılayıcı sistemler) nanoteknolojide oldukça yaygın kullanımı olan cihazlardır. IUPAC tarafından getirilen tanımı ise “Kimyasal bileşiklere ya da iyonlara seçici ve tersinir bir şekilde cevap veren ve konsantrasyona bağımlı elektriksel sinyaller oluşturan küçültülmüş cihazlara elektrokimyasal sensörler denir” şeklindedir [2]. Elektrokimyasal sensörler; elektroanalitik yöntemlere dayalı sistemlerdir.

Elektroanalitik yöntemler; elektrot-çözelti sistemine bir elektriksel etki uygulanarak akım, potansiyel, yük gibi elektriksel niceliklerin ölçümüne dayanır [3]. Elektroanalitik yöntemler ile elektrot ara yüzeylerinde meydana gelen yük aktarımının stokiyometrisi ve hızı, kütle aktarım hızı, adsorpsiyon derecesi, kimyasal tepkimelerin hızı ve denge sabitleri gibi bilgilere elektroanalitik kimya ile ulaşılabilir.

Elektroanalitik yöntemler; net akımın sıfır olduğu denge durumundaki statik ($i=0$) yöntemler ve denge durumundan uzakta net akımın gözlemlendiği dinamik ($i\neq 0$) yöntemler olarak iki ana başlıkta sınıflandırılmaktadır [4, 5]. Bu teknikler genellikle akım kontrollü ya da potansiyel kontrollüdür ve büyük genlikli veya küçük genlikli olarak uygulanır.

Elektroanalitik yöntemler, çevrenin ve endüstriyel materyallerin izlenmesinde ve bilimsel çalışmalarda geniş ölçüde kullanılmaktadır. En yaygın kullanılan

elektroanalitik yöntemlerden biri de voltametridir. Voltametri çok sayıda metal iyonunun ve organik bileşiğin tayininde 10^{-6} - 10^{-5} M gibi düşük tayin aralıklarına olanak sağlamaktadır [6]. Voltametri; durgun bir ortamda çalışma elektroduna uygulanan potansiyele karşı elektrodun akım cevabının incelenmesine dayanan potansiyel kontrollü elektrokimyasal tekniklerden biridir. Elektrokimyasal tepkimelerin kinetiğinin ve mekanizmasının incelenmesinde voltametri, güvenilir ve sıklıkla kullanılan bir yöntemdir [4,7].

Voltametrik yöntemler, elektrokimyasal hücreye zamana bağlı değiştirilebilen potansiyellerde uyarma sinyalleri uygulandığında, elde edilen karakteristik akım cevapları ve uyarma sinyallerinin dalga şekillerine bağlı olarak; polarografi, diferansiyel puls voltametri, kare dalga voltametri ve dönüşümlü voltametri gibi çeşitli yöntemlere ayrılır. Elektroanalitik yöntemler içerisinde özellikle voltametrik yöntemler; kolay uygulanabilir, basit, hızlı, diğer yöntemlerden daha az kimyasala ihtiyaç duyulması gibi pek çok avantaja sahiptirler. Bu yöntemlerin üstün yanlarından biri de, ilaç etken maddelerinin indirgenme ve yükseltgenme reaksiyonlarındaki rolü ile moleküler biyoloji alanında ve fizyolojik önem taşıyan pek çok bileşiğin farmakolojik etki mekanizmalarının açıklanmasında kullanılmasıdır. Geliştirilen yöntemlerle çok düşük derişimlerde analiz yapmak ve sensör geliştirmek mümkündür. Bu tez çalışmasında kullanılacak olan voltametrik yöntemler ile elektrokimyasal bir sensör geliştirilmesi amaçlanmıştır.

Nanoyapılı malzemelerin sentezi ve karakterizasyonundaki ilerlemelere paralel olarak, sensör dizaynı ve uygulamalarında önemli gelişmeler yaşanmıştır. Son zamanlarda pekçok nanoyapılı elektronik malzeme dikkat çekici elektriksel, optik ve mekanik özellikleri ile geliştirilmiş ve farklı uygulama alanlarında kullanılmıştır [8]. Ayrıca nanoyapılı materyaller, üstün elektrokatalitik özelliklerinden dolayı elektrokimyasal sensörlerde kullanılmaya başlanmıştır. Modern malzeme biliminde yüzey kaplamaları ve modifikasyonları, materyalin güçlü oksidant, asit ve bazlar tarafından dış erozyona maruz kalmalarını engellemekte ve yüzeyi korumaktadır. Ayrıca, yüzey modifikasyonları yüzey özelliklerini kontrol etmeyi sağlarken, yüzeylere yeni fonksiyonlar kazandırmaktadır. Örneğin, materyallerin kendiliğinden oluşum mekanizması büyük oranda yüzey enerjisine ve yüzeydeki fonksiyonel grupların doğasına bağlıdır. Biyosensör mühendisliği yaklaşımlarında yüksek

biyouyumluluğa sahip ve fonksiyonel grup açısından zengin yüzeyler kullanılmaktadır [9]. Genel olarak günümüzde materyal yüzeylerinin modifikasyonu için kullanılan kimyasal birleşme, hidroliz, tabaka-tabaka, kendiliğinden kurulum ve plazma uygulama gibi yöntemler, özellikle zaman alıcı ve karışık işlemlerdir ve her türlü yüzeye uygulanamazlar. Bundan dolayı bu alandaki başlıca araştırma ilgisi, verimli, kararlı ve herhangi bir yüzeye uygulanabilir basit kaplama yaklaşımlarının oluşturulmasıdır.

Bu çalışmalar sonucunda Messersmith grubu tarafından 2007 yılında dopaminin oksidatif polimerizasyon ile kolayca polimerleştiği ve her yüzeyde kolaylıkla kaplanabildiği gösterilmiştir. Polimerizasyon sonucu elde edilen polidopaminin en önemli avantajı, süperhidrofobik yüzeyler de dahil olmak üzere organik ya da inorganik her yüzeye, kontrol edilebilir film kalınlığı ve dayanıklılığı ile birikebilme özelliğidir. Böylece, polidopamin çok farklı yüzeylerin modifikasyonunda çığır açmıştır ve kapsamlı araştırmaların gerçekleştirilmesine olanak sağlamıştır [9,10]. Yüzey modifikasyonunda polidopaminin sahip olduğu katekol ve amin gibi gruplar sayesinde altın ve gümüş nanopartiküllerin indirgenmesi ya da birikimiyle daha hassas sensör geliştirilmesi mümkündür. Altın ve gümüş nanopartiküller ile geniş yüzey alanı elde edileceğinden, kompozit yapıda biyopolimerlerle modifikasyonu oldukça ilgi çekicidir [11].

Altın ve gümüş gibi metalik nanopartiküller kendilerine özgü optik ve katalitik özelliklere sahip olup, toksik olmayan, biyouyumlu yapılarıyla fotonik, tanı ve tedavi gibi birçok alanda kullanılmaktadır [12,13]. Özellikle çeşitli bileşenlerle fonksiyonelleştirilmiş altın nanopartiküllerin ultra-hassas tanı ve görüntüleme yöntemleri ile biyoloji ve farmakoloji alanında kullanımı, bu malzemeleri araştırmacılar için ilgi çekici hale getirmektedir.

Bu tez çalışmasında, yukarıda verilen bilgiler ışığında, kalem grafit elektrot yüzeyleri ilk aşamada polidopamin ile kaplanmış ve ardından altın ve gümüş nano partiküller bu yüzey üzerinde biriktirme ve indirgenme yöntemleriyle dekore edilerek yüzey alanı geniş, biyouyumlu ve hassas tayine olanak sağlayan bir elektrokimyasal sensör geliştirilmesi hedeflenmiştir. Yüzeyi modifiye edilmiş elektrotlar, standart bir redoks probu olan potasyum ferrosiyanat çözeltisi ile voltametrik yöntemler altında karakterize edilmiştir. Modifiye ve modifiye olmayan

elektrotlar standart çözelti ile karşılaştırıldıktan sonra, tanı amaçlı kullanımını test etmek için seçilen tanı maddelerinin tayini yapılmış ve analiz için kalibrasyon grafikleri çıkarılarak, geliştirilen yöntemlerin validasyonları gerçekleştirilmiştir.

2.GENEL BİLGİLER

Bu bölümde günümüzde yoğun şekilde çalışılan nanoteknoloji ve sensör kavramları üzerinde detaylıca durularak, ortaya konan çalışmanın çıkış ve hedef noktası ortaya konulmuştur.

2.1. Nanoteknoloji, Nanopartiküller ve Sensör Uygulamalarında Kullanımı

Nanoteknoloji kelimesinin ilk kısmını oluşturan 'nano' boyut Yunanca'da cüce anlamına gelmekte olup, nicelik olarak metrenin milyarda birine karşılık gelmektedir. Karbon-karbon bağ uzunluğunun 0.154 nm, bir bakterinin büyüklüğünün yaklaşık olarak 1000 nm olduğu göz önüne alınınca nano-ölçekte çalışmaların hangi seviyelerde gerçekleştiği gayet anlaşılırdır. Bir başka deyişle nanoteknoloji, herhangi bir boyutu 1-100 nanometre arasında olan nanoyapıların geliştirildiği, bunlara yönelik teknolojilerin ve uygulama alanları üzerine çalışmaların yoğunlaştırıldığı bir bilim dalıdır. Bu alanın temeli, nanometre boyutunda nanoyapıların oluşturulması ve boyuta bağlı olarak bu nanoyapıların gösterdikleri üstün fiziksel ve kimyasal özelliklerinin kullanılmasına dayanmaktadır. Nanoyapılar hayatımızın her alanında olmasına rağmen nanoteknoloji kavramının ortaya atılması 20. yüzyıl ortalarında olmuştur. Nobel fizik ödülü sahibi Richard Feynman 1959 yılında yaptığı meşhur konuşmasında ilk kez nanoteknoloji kavramını ortaya atmış ve zamanla bu alan birçok farklı disiplinden bilim insanının ilgisini çekmiştir. Günümüzde ise neredeyse en yoğun çalışılan bilim dalı haline gelmiştir [14].

Nanoteknolojiden söz edilirken ilk olarak nanomalzemenin tanımının yapılması gerekir. Nanomalzeme kavramı, nanoteknolojinin tanımına benzer olarak en az bir boyutu 100 nm'den daha küçük bir boyutta olan malzemeler için kullanılmaktadır. Nanomalzemeler, boyutlarına bağlı olarak sıradışı optik, elektronik ve manyetik özellikler göstermekte ve bu özelliklerinden dolayı yoğun ilgi görmektedirler. Genel anlamda nanomalzemeler yukarıdan-aşağıya ve aşağıdan-yukarıya olmak üzere iki farklı yaklaşımla üretilirler. Yukarıdan-aşağıya üretim en basit şekliyle bir heykel traşın taşın üzerindeki fazlalıkları yontmasına benzetilebilir. Bu yaklaşımla yaklaşık 50 yıldır mikro ve nano ölçekte elektronik yapılar oluşturulmaktadır. Bu sayede günümüzde 65 nm

boyutunda transistörler ve 45 nm boyutunda çipler üretilebilmektedir ve bu yaklaşım kapsamında ele alınan fotolitografi ile bu yaklaşım için en küçük sınır değerine ulaşıldığı düşünülmektedir. Yukarıdan-aşağıya üretim yığın üretim mekanizmalarının tümünü kapsamaktadır. Aşağıdan-yukarıya yaklaşımında ise malzemeler en küçük yapı birimi olan atom ya da moleküllerden başlayarak kendiliğinden kurulum mekanizmasıyla istenilen yapı ve şekilde rahatlıkla üretilebilmektedir. Bu yaklaşımın temel zorluğu her malzeme türü için uygulanamamasıdır [15].

En çok üretilen ve en fazla kullanım alanına sahip nanomalzeme türü olan nanopartiküller nanomalzeme üretim teknikleri olan yukarıdan-aşağıya ya da aşağıdan-yukarıya yaklaşımlarıyla kolaylıkla üretilebilmektedir. Sıradışı optik, elektronik, manyetik, biyouyumluluk vb. gibi özelliklerinin yanı sıra yüksek yüzey alanına sahip olmaları hem yoğun ilgi görmelerine hem de sayısız uygulama alanında kullanılmalarını sağlamıştır. Nanopartiküllerin istenen şekil ve büyüklükte sentezlenmesine yönelik olarak basit ve sürekli protokollerin geliştirilmesi nanoteknolojinin temel çalışma konularındandır [12]. İstenen büyüklük ve şekildeki nanopartiküller ise sıcaklık, pH, tepkime süresi ve tepkime bileşenleri gibi parametreler optimize edilerek sentezlenmektedir [16-18]. Günümüzde geliştirilen birçok farklı protokolle nanoküreler, nanoçubuklar, nanoprizmalar ve nanotabakalar başta olmak üzere birçok farklı nanopartikül kontrollü olarak istenen özellikte elde edilebilmektedir [19-21]. İlerleyen bölümlerde nanopartikül sentez yöntemleri konusunda daha ayrıntılı bilgi verilecektir.

2.1.1. Nanopartikül Sentez Yöntemleri

Günümüzde çok çeşitli malzemelerden çok çeşitli yöntemlerle farklı şekil ve büyüklüklerde nanopartiküller elde edilmektedir. Burada sadece tez kapsamında sentezi yapılan nanopartiküller hakkında kısa bilgiler verilir, sentez yöntemlerinden tez kapsamında kullanılanlar ayrıntılı şekilde ele alınmıştır. Tez kapsamında altın nanopartiküller ve gümüş nanopartiküller farklı büyüklüklerde üretilmiştir.

Altın nanopartiküller sahip oldukları sıradışı özellikleri sayesinde yoğun olarak çalışılan malzemelerdir. Kendilerine özgü optik ve katalitik özelliklere sahip

olup, toksik olmayan, biyouyumlu yapılarıyla fotonik, tanı ve tedavi gibi birçok alanda kullanılmaktadır [12,13,22]. Özellikle çeşitli bileşenlerle işlevselleştirilen altın nanopartiküllerin ultra-hassas tanı ve görüntüleme yöntemleri ile biyoloji ve farmakoloji alanında kullanımı, bu malzemeleri biyotanıma alanında araştırmacılar için ilgi çekici hale getirmektedir. Çünkü altın nanopartiküller benzersiz optik özelliklere, yüzey kaplama çeşitliliğine ve yüksek biyouyumluluğa sahiptir [13,23].

Altın nanopartiküller sadece ışığın absorpsiyonu mekanizmasına göre değil aynı zamanda ışığın Rayleigh saçılmasına göre gerçekleştirdiği elastik saçılmalar da oluşturur [24]. Altın nanopartiküllerinden saçılan ışığın plazmon bandları elektromanyetik spektrumun görünür bölgesi ile uyum içindedir. Her bir nanopartikülün pozisyonu optik yolla görüntüleme uygulamaları için hazırlanabilmektedir. Altın nanopartiküllerin ayarlanabilen fiziksel özellikleri elektronların ayarlanabilir optik özellikler sunan kolektif salınımlarını etkilemektedir. Bu durum birçok biyotanı uygulaması için uygulama kolaylığı sağlamaktadır. Ayrıca altın nanopartiküllere çok çeşitli biyofonksiyonel gruplarla modifiye edilerek çok yönlü özellikler kazandırılmaktadır [13]. Amfilik polimerler, silanoller, şekerler, nükleik asitler ve proteinler örnek gösterilmektedir. Ayrıca tiyol gruplarına altın yüzeyinin güçlü bir afinitesi vardır. Yukarıda özellikleri kısaca özetlenen altın nanopartiküller kullanılarak analitik ve biyolojik bilimlerde kimyasal sensör ve görüntüleme çalışmaları sürdürülmektedir [25]. Genel hatlarıyla özetlenen altın nanopartiküllerin kullanımına ilişkin çalışmalar günümüzde hızla çoğalmıştır [26-28].

Son yıllarda altın nanopartiküller ile ağır metal katyonlarının belirlenmesine yönelik çalışmalar yapılmıştır. Liu ve Lu, altın nanopartikülleri DNaz enzimi ile modifiye ederek ağır metal katyonlarını yerinde, eş zamanlı ve herhangi bir etiket gerektirmeyen bir yaklaşımla hızlı ve basit bir şekilde belirleyecek kolorimetrik sensör geliştirmişlerdir [29]. Ayrıca altın nanopartiküller kullanılarak DNA (deoksiriboz nükleik asit) gibi biyolojik moleküllerin belirlenmesine yönelik yoğun çalışmalar yapılmaktadır. DNA tayini için altın nanopartikül esaslı kolorimetrik yöntemler geniş çaplı kullanılmış ve literatürde çok fazla yer almaktadır [26]. Biyolojik örneklerdeki proteinlerin görüntülenmesi için antibadi konjuge edilmiş

altın nanopartikülleri ışık ve elektron mikroskopunda çok kullanılmaktadır. Altın-protein yapıları biyoanalitik tanı ve teşhis, immunohistokimyasal uygulamalarda prob olarak kullanılmaktadır. Ambrosi ve ark., altın nanopartiküllerin optik ve elektrokimyasal özelliklerini birlikte kullanarak protein tayini gerçekleştirmişlerdir. Antijen-antibadi bağlanması sonucu manyetik altın nanopartikülleri sandviç yapı oluşturarak, altın nanopartikülün hem optik hem de elektrokimyasal özelliğinden faydalanarak, karakterizasyon yapılarak protein tayini gerçekleştirilmiştir [27]. Dong ve ark., trombine yüksek affinite gösteren aptamer altın nanopartiküllere konjuge edilerek, kolorimetrik sensör geliştirmişlerdir. İnsan plazması gibi kompleks biyolojik örneklerdeki hedef molekül yüksek seçicilik ve hassasiyetle bu teknikte tayin edilebileceği bildirilmiştir [28].

Altın nanopartiküller eşsiz optik özellikleri, kolay sentezlenip fonksiyonlandırılabilmesi ve biyouyumlu olması gibi avantajları nedeniyle hücre içi tanı uygulamalarında da çok kullanılmaktadır [13]. Medley ve ark., kanser hücrelerini direkt olarak kolorimetrik yöntemle belirlemiştir. Kanser hücrelerine yüksek afinite gösteren aptamerler ile altın nanopartikülleri fonksiyonlandırılıp, hedef hücre ile örnek etkileşimi sonucu çok farklı bir renk değişimi olurken, diğer hücrelerde herhangi bir renk değişimi gözlemlenmemiştir. Bu yöntemle herhangi bir cihaza gerek kalmadan yalnızca absorbans ölçümü ve çıplak gözle yüksek hassasiyette teşhis yapılmıştır [30].

Yukarıda bazı temel uygulamaları verilen altın nanopartiküllerin eldesinde en önemli nokta düşük bir partikül boyut dağılımı ve istenen şekil ve büyüklükte sentezin yapılmasıdır. Bu özellik birçok uygulamada aranan bir zorunluluktur. Bu bağlamda altın nanopartiküllerin çok farklı boyut ve şekillerde üretimi için farklı mekanizmalar önerilmiştir. Altın nanopartiküller elde etmek için kullanılan en yaygın yöntem altın tuzlarının sitratla indirgenmesini temel alan klasik Turkevich-Frens yöntemidir [31,32]. Bu yöntemle altın nanopartikülün boyutu indirgeyici/stabilizör ajan (trisodyum sitrat) ve altın tuz türevleri arasındaki oran değiştirilerek rahatlıkla kontrol edilebilmektedir.

Bir başka sık kullanılan yöntem olan Brust-Schiffrin sentezinde ise altın nanopartiküller, altın tuz türevlerinin sodyum borhidrat (NaBH_4) ile organik bir çözücü içinde ya iki fazlı sıvı/sıvı sistemleri ya da uygun tek fazlı çözücü

kullanarak tiyol ligantların varlığında indirgenerek hazırlanmaktadır [33]. Bu yöntemde altın tuzu, tetraoktilamonyum bromür (TOAB) faz transfer ajanı kullanılarak toluene transfer edilir ve dodekanetiyol (DDT) varlığında NaBH_4 tarafından indirgenir. Daha büyük tiyol/altın mol oranları, daha küçük ortalama çekirdek büyüklüğünde altın nanopartiküllerin oluşumuna neden olmaktadır. Hızlı bir şekilde indirgeyici ajan eklenmesi ve çözeltinin soğutulması daha küçük ve tek boyutlu dağılmış partiküllerin üretimini sağlamaktadır.

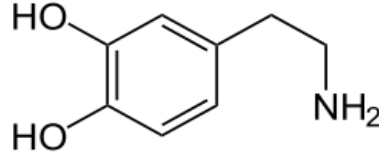
Sensör uygulamalarında altın gibi sıklıkla kullanılan bir diğer metal de gümüştür. Altın sentezi için yukarıda verilen yöntemlerin çoğu gümüş için de uygulanabilmektedir. En çok kullanılan yaklaşım Turkevich-Frens yönteminin benzeri olan Lee-Meisel yöntemidir [34]. Uygulamada tek farklılık altın tuzu yerine gümüş tuzunun kullanılmasıdır. Bu yöntemdeki temel sorun partikül boyut dağılımının çok iyi kontrol edilememesidir [35]. Ayrıca buna alternatif olarak Creighton yöntemi ile NaBH_4 indirgeyici ajan varlığında gümüş iyonları indirgenerek yaklaşık 10 nm çapında gümüş nanopartiküller elde edilmektedir [36].

Gümüş nanopartiküllerin uygulama alanları altın ile çok benzer olduğundan bu konuda ekstra bilgi verilmemiştir.

Aşağıda tez kapsamında hem analit olarak tayini yapılan hem de polimerize formda elektrot yüzeyinde biriktirilerek, yüzeyin post modifikasyonlara açılmasını sağlayan dopamin hakkında ayrıntılı bilgi verilmiştir.

2.2. Dopamin

Dopamin, beyinde dopamin reseptörlerini aktive ederek nörotransmitter olarak görev yapan bir moleküldür. Nörohormon olarak görevi hipofizin ön lobundan prolaktin salgılanmasını baskılamaktır. Sempatik sinir sistemindeki etkileri dolayısıyla ilaç olarak kalp atışlarını hızlandırmak ve kan basıncını yükseltmek için kullanılır. Kan-beyin omurilik sıvısı bariyerini geçemediği için merkezi sinir sistemini doğrudan etkileyemez [37].



Şekil 2.1. Dopamin molekülünün kimyasal yapısı

Dopaminin kimyasal formülü $C_6H_3(OH)_2-CH_2-CH_2-NH_2$ şeklindedir. IUPAC tarafından verilen sistematik adı '*4-(2-aminoetil)benzene-1,2-diol*'dür. Erime noktası 164–166°C arasındadır. Kristal formda beyaz renkli bir tozudur. Suda ve asetonitrilde çözünürlüğü az iken, metanol, etanol, 1-propanol ve 2-propanolde çözünürlüğü yüksektir. pKa değeri yaklaşık $9,75 \pm 0,30$ 'dur [38].

2.2.1. Polimerizasyon Mekanizması

Polidopamin polimerizasyonunda üç değişik protokol kullanılmaktadır. Bunların ilki olan 'çözültide oksidasyon (oksidatif polimerizasyon)' metodu polidopamin üretiminde yaygın kullanılmaktadır. Bu metotta dopamin monomerleri, alkali koşullar altında oksijen varlığında kendiliğinden oksitlenir ve çok hızlı biçimde polimerize olur. Polimerizasyon soluk kahverengi renk dönüşümüyle izlenir, çözeltinin rengi zamanla koyulaşır. Dopamin monomeri olarak sıklıkla DA-HCL kullanılmaktadır. Substratlar üzerinde dopaminin film oluşturabilmesi için dopaminin polimerize olacağı solüsyonda $>2\text{mg/ml}$ değerinde olması gerekmektedir. Dopamin film kalınlığı ortama katılan monomer konsantrasyonu ve zamanla kontrol edilmektedir. Literatür çalışmalarında film kalınlığı maksimum 50 nm olarak belirlenmiştir. Bernsmann ve ark. yaptıkları çalışmalarda monomer konsantrasyonu veya reaksiyon süresini arttırmanın film kalınlığını değiştirmediğini ortaya koymuştur [39].

Diğer bir dopamin polimerizasyon yöntemi ise 'enzimatik oksidasyon' prosesidir. Bu protokol aynı zamanda çevreye zarar vermeyen bir prosestir [40]. Enzimlerin polimer sentezini katalizlemede kullanımı günümüzde araştırmacıların yoğun ilgisini çekmektedir.

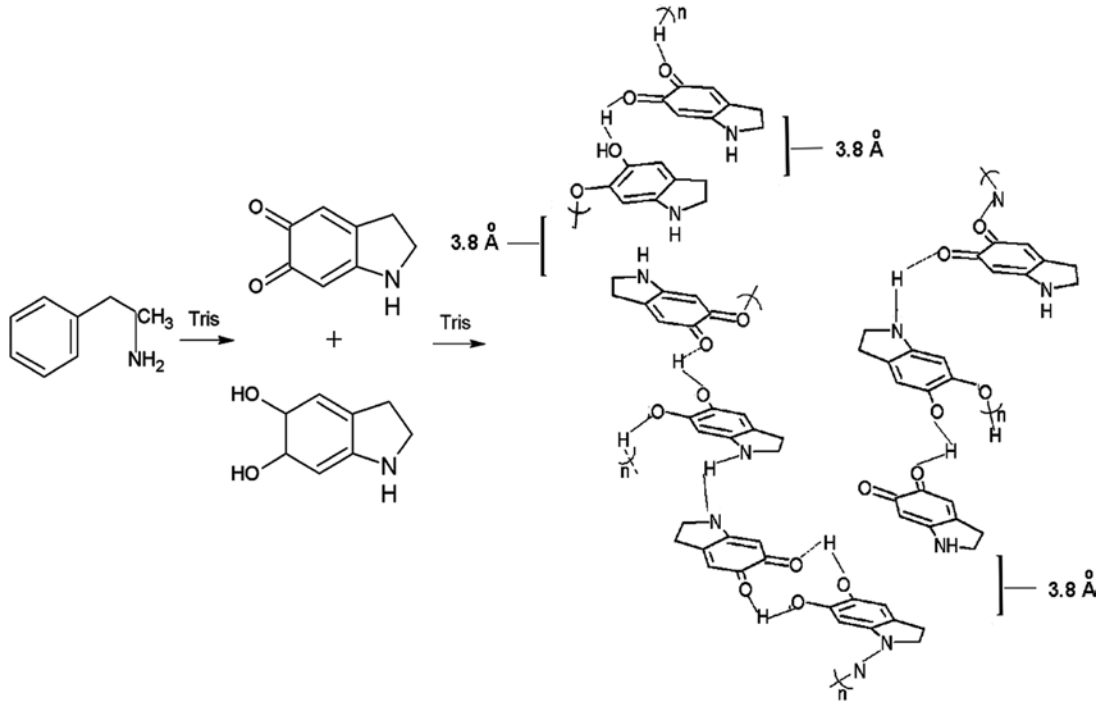
Polidopamin melaninin büyük bileşenlerinden biri olarak vücudumuzda büyük yayılım göstermektedir. Melaninin organizmalarda oluşumu temelde L-tirozinin tirozinaz enzimi tarafından katalitik oksidasyonuna dayanır.

Fenolik bileşikler, fenol türevleri ve aromatik aminlerin enzimatik polimerizasyonu çalışmaları yakın zamanda ortaya konmuştur [41,42]. Lakkaz çoklu bakır içeren polifenol oksidazın bir çeşidi olarak atık sularda fenolik bileşiklerin degradasyonu gibi endüstriyel proseslerde yaygın kullanılmaktadır. Dopaminin difenolik yapısının pH:6'da lakkaz varlığında, polimerizasyonu takiben oksitlendiği Yao ve ark. tarafından ortaya konmuştur [9]. Bu metodun bir önceki metoda karşı avantajı lakkazın polidopamin matriksi içine girmesiyle enzimatif aktivitesinin korunması ve böylece daha stabil yapıda sensör geliştirilebilmesidir.

Alternatif diğer bir yöntem olarak, dopamin monomerlerinin elektropolimerizasyonu, polidopaminin elektrotlar üzerine direkt birikimi için kullanılmaktadır [43]. Bu proses dönüşümlü voltametri cihazı kullanılarak oksijenden arındırılmış çözeltinin belirlenmiş limitlerdeki potansiyel değişim hızı kontrol edilerek yürütülmektedir. Bu yöntemde, ilk metoda göre oluşan film kalınlığı daha fazladır. Basitlik ve verimliliğine rağmen içsel kısıtlamalardan ötürü bu metod, sadece elektriksel olarak iletken malzemeler için kullanılabilir.

Polidopamin kolay ve basit bir polimerizasyon yöntemiyle üretilmesine karşın, polimerizasyondaki karmaşık redoks süreci ve reaksiyon sürecinde ortaya çıkan ara ürün çeşitliliği nedeniyle moleküler mekanizması halen iyi bilinmemektedir [44-46].

Şekil 2.2'de DA'nın hidrojen bağı, 'π-stacking' ve yük transferi gibi molekül içi ve moleküller arası nonkovalent etkileşimler yolu ile polimerize olduğu gösterilmektedir [47].



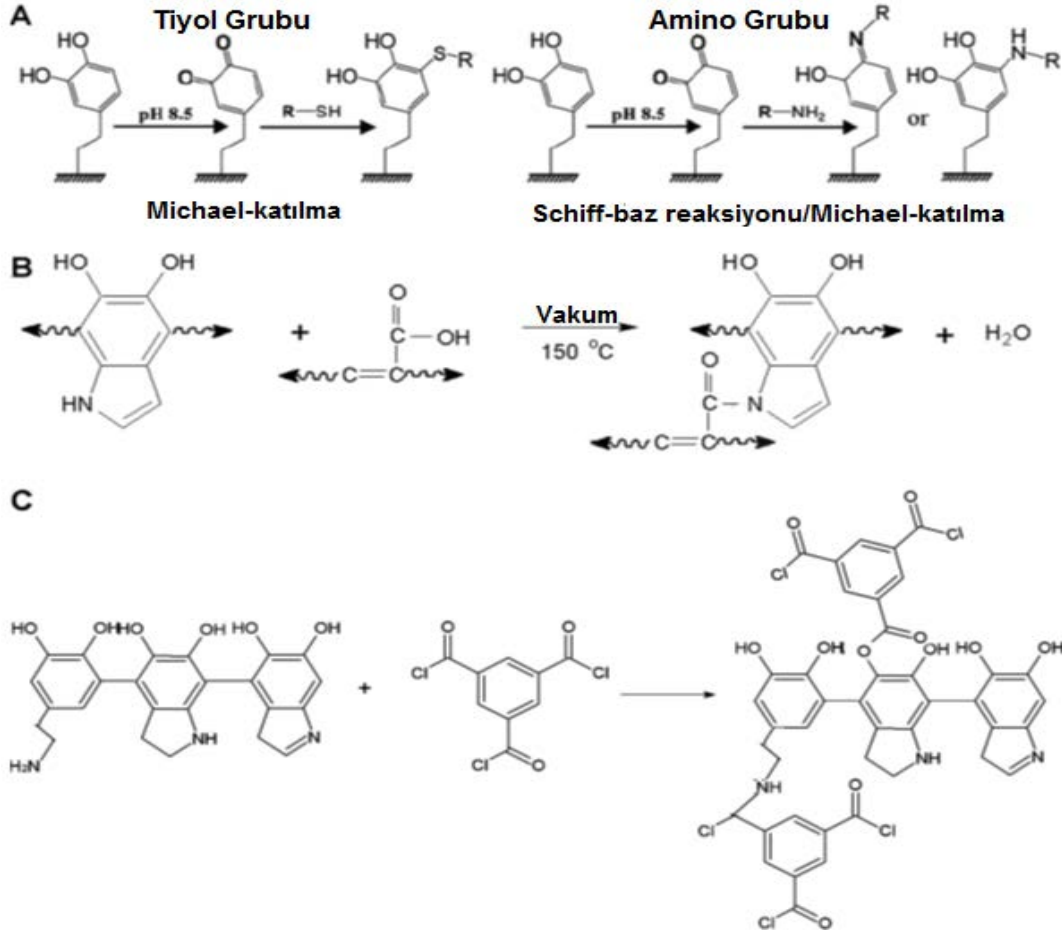
Şekil 2.2. Polidopaminin oluşum mekanizması ve yapısı

2.2.2 Fizikokimyasal Özellikleri

Polidopamin çok basit şekilde, doğadan esinlenen polimer kaplama malzemesi olarak düşünülebilir. Polidopaminin içsel adhezif özelliği yakın zaman çalışmalarının polidopamin kaplı fonksiyonel substrat oluşumuna yönelmesini sağlamıştır. Bununla beraber polidopamin işlevi adhezyonla sınırlı değildir. Polidopamin kimyasal bileşenleri ve yapısı bakımından, doğadaki 'eumelanin'e benzediği gibi, fiziksel özellikleri yönünden de benzerlikler göstermektedir. Bu bölümde, polidopaminin şimdiye kadar keşfedilen özellikleri özetlenmiştir.

2.2.2.1. Kimyasal Reaktivite

Polidopamindeki fonksiyonel gruplar çok çeşitli moleküllerle etkileşebilmektedir. Literatürde polidopaminin amin ve/veya tiyol içeren moleküllerle yaptığı çapraz bağlı reaksiyonlar sıklıkla karşımıza çıkmaktadır. Bu reaksiyonlara ilişkin mekanizmalar Şekil 2.3'te gösterilmiştir.



Şekil 2.3. Polidopaminin üç tip kimyasal reaksiyonu

Polidopaminin amin içeren moleküllerle gizli reaktivitesi daha çok polidopamin matriksi içindeki katekol/kinon kimyasal dengesinin ve amin grubunun pKa'sının bir fonksiyonu olarak karşımıza çıkmaktadır. Bazik koşullar altında, polidopamin matriksindeki katekol grubu ilk olarak kinona oksitlenmekte, sonrasında ise Schiff baz reaksiyonu yoluyla nükleofilik amin gruplarıyla etkileşmektedir. Alternatif olarak Michael-katılma yolağı ile de çapraz bağlanma reaksiyonu gerçekleşebilmektedir. Tiyol içeren molekül durumunda ise nükleofiller yukarıdaki Şekil 2.3A'da [48] görüldüğü üzere Michael-katılma yolu ile polidopaminle etkileşmektedir. Amin veya tiyol içeren moleküllerle gerçekleşen reaksiyonlar çok zor koşullar veya karmaşık işlemler gerektirmez. Bazik koşullar altında, oda sıcaklığında bu ajanların basit şekilde karışımları polidopaminin işlevselleşmesine yetmektedir. Daha da önemlisi bu nükleofillerle eşleşmeler sulu ortamda gerçekleşebilmekte ve oldukça kararlı kalabilmektedir. Substrat yüzeyleriyle amin veya tiyol içeren moleküller arasında eşleştirici ajan olarak hidrolize yatkın

Nhidroksisüksünimid (NHS) veya maleimid ajanları yaygın olarak kullanılmakta ve bunlar zayıf konjugasyon etkinliği göstermektedirler. Polidopamin matriksindeki serbest amin ve imin gruplarının varlığı, belirli koşullar altında diğer başka organik moleküllerin polidopaminle etkileşmesine olanak sağlamaktadır. Örneğin, 1,3,5-benzotrikarbonil triklorür organik bir çözücü içinde polidopamindeki serbest amin gruplarıyla etkileşebilmektedir (Şekil 2.3C) [49]. 150°C sıcaklıkta ve vakum altında, polidopamindeki imin gruplarıyla poli(akrilik asit)teki karboksil grupları arasında çapraz bağlanma meydana gelmektedir (Şekil 2.3B) [50].

Polidopaminin bu reaksiyonları büyük öneme sahiptir. Bu sayede farklı substratların spesifik işlevlerle modifikasyonlarının önü açılmakta ve hibrit malzeme üretimi için önemli bir alan açılmaktadır.

2.2.2.2. Metal İyonları Şelat Oluşturucu Özelliği ve Redoks Aktiviteleri

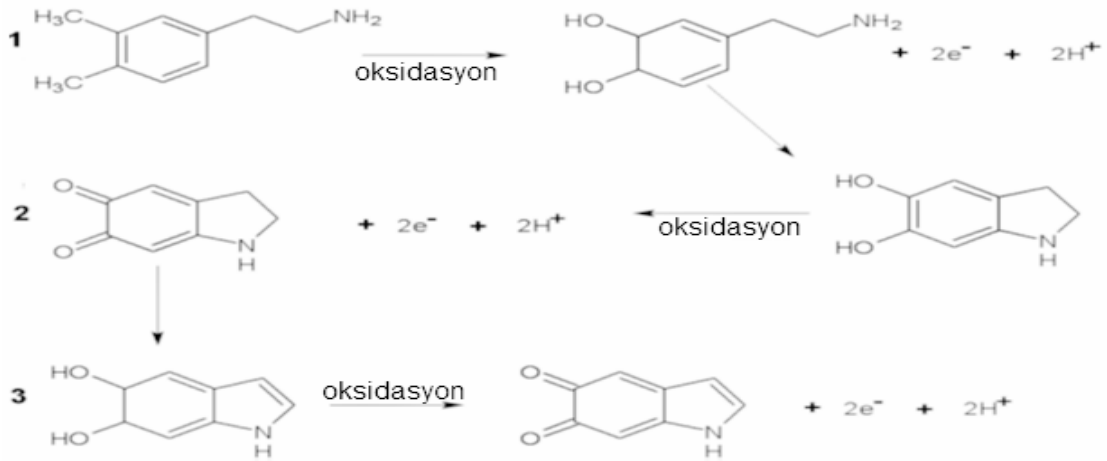
Polidopaminin çok değerlikli Fe^{3+} , Mn^{2+} , Zn^{2+} ve Cu^{2+} , vb. metal iyonlarına bağlanması diğer bir önemli özelliğidir. Metal iyonlarına bağlanma polidopamindeki o-kinon, karboksi, amino, imin ve fenol grupları gibi fonksiyonel gruplar ile ilişkilidir [51]. Farklı pH koşullarında polidopaminin bağlanma bölgeleri aktifleşmektedir. Örneğin, hem sentetik hem de doğal yolla oluşan 'eumelanin'de Cu^{2+} iyonları için bağlanma bölgeleri Cu^{2+} probu kullanılarak ESR spektroskopisi [52], sayesinde tanımlanmıştır [53, 54]. Ortaya çıkan sonuçlar aşağıda sıralanmıştır.

- pH<5 değerlerinde ESR spektrumu, Cu^{2+} iyonlarının karboksil grupları ve 'bidentate' nitrojen-karboksil gruplarıyla kompleks oluşturduğunu göstermiştir.
- pH=7'de Cu^{2+} iyonlarının fenolik hidroksil gruplarına bağlandığı görülmüştür.
- daha yüksek pH değerlerinde ise Cu^{2+} iyonlarının üç veya dört nitrojen ligandına bağlandığı gösterilmiştir.

Polidopamin iyon şelat oluşturucu özelliği yanında, bazik koşullarda bazı Au^{3+} , Ag^{+} ve Pt^{3+} gibi soy metal iyonlarını da indirgeyebilmektedir. Polidopaminin indirgeyici ajan olarak davranışı, büyük oranda monomer birimlerinin redoks karakteriyle ilişkilidir. Ball ve ark. yaptıkları bir çalışmada polidopamin filmi ESR sinyalinin gümüş nanopartikül birikiminden güçlükle etkilendiğini ve XPS sonuçlarının, kinon

grup yoğunluğunun arttığı ve yüzeydeki katekol gruplarında küçük bir azalma meydana geldiğini ispatladığını ortaya koymuşlardır [55]. Bu bulgular polidopaminin belirli miktar katekol grupları içerdiğini ve uygun kinon grubuna oksitlendiğinde katekol grubunun elektronlarının aktarıldığını ve metalik katyonların indirgenme sürecini tetiklediğini ortaya koymaktadır.

Ayrıca şunu ifade etmekte yarar vardır ki polidopamin oluşum sürecinde, Şekil 2.4'te görüldüğü üzere dopamin dopamin-kinona oksitlenirken iki elektron salıverilmektedir [39]. Ayrıca, bu süreçte metalik tuzların indirgenerek uygun formlarına dönüşümü ve sonrasında self-polimerizasyonla polidopamin filminin son oluşan metal yüzeylerine birikimi gerçekleşmektedir. Polidopaminin metal iyon şelat oluşturuca özelliği ve redoks aktivitesi organik-inorganik hibrit malzeme üretimini teşvik etmektedir.



Şekil 2.4. Polidopamin oluşumunun ilk basamakları

2.2.2.3 Adhezyon Özelliği

Polidopamin yüzey kimyasından bağımsız neredeyse bütün yüzeylere olan güçlü ve sağlam adhezyonu yönünden fizikçi ve kimyacıların ilgisini çekmektedir. Midyeden esinlenen bu durumun oluşumunda katekol gruplarının merkezi rol oynadığı kanısı genel kabul görmüş olsa da [56-58], adhezyon mekanizması kesin olarak açıklanamamıştır. Polidopaminin değişik substratlara nasıl difüze olduğunun tam olarak anlaşılması ve oluşum (assembly) proseslerinin ortaya konulması hibrit malzeme tasarımına ön ayak olacaktır. Yapılan çalışmalardan

elde edilen bilgiler ışığında polidopaminin substratlarla etkileşimleri substrat yüzey özelliklerine bağlı olarak değişmektedir. Burada kovalent bağlanma ve nonkovalent bağlanma olmak üzere iki tip bağlanma söz konusudur.

Basit şekilde kovalent bağlanma mekanizması, yüzeylerinde amin ve/veya tiyol grupları içeren bazı spesifik substratlarda, bazik koşullar altında Michael-katılma ve/veya Schiff baz reaksiyonları yolu ile gerçekleşmektedir. Çevresel koşullar altında polidopamin bir yandan da monomerine benzer şekilde substrat üzerinde difüze olma yönünde eğilim göstermektedir. Şelat oluşturma, hidrojen bağı, 'π-π stacking' ve kuinhidron yük transfer kompleksleri gibi nonkovalent bağlanmalarla etkili adsorplanmış yüzeyler elde edilebilmektedir [56,59-61].

Metal iyonları polidopamindeki katekol gruplarıyla şelat oluşturabilir ve ortam koşullarında metal veya metal oksit yüzeyleri genellikle hidroksillenir veya hidratlanır. Sonuç olarak, koordinasyon bağlanma (coordination bonding) ve şelat oluşturuucu bağ etkileşimleri polidopaminin metal veya metal oksit yüzeyleri üzerine adhezyonlarında merkezi rol oynarlar. Örneğin, Fe_2O_3 , Al_2O_3 , ZrO_2 vb. metal oksitlerinin polidopaminle kaplanmasında metal ve katekol grupları arasındaki koordinasyon bağlanma etkileşiminin rol oynadığı ortaya konmuştur.

Bazı durumlarda da direkt olarak polidopaminle substrat arasında birkaç reaksiyon gerçekleşebilmektedir. Bunun karakteristik bir örneği olarak katekolün TiO_2 yüzeyi ile etkileşimi verilebilir, ancak bu bağlanma tam olarak açıklanamamıştır. Katekolün TiO_2 yüzeyine kimyasal bağlanması (chemisorb) katekol grubu ve bir Ti atomu arasındaki koordinasyon bağlanma ile olduğu söylene de [62]. Rajh ve ark. katekolün TiO_2 yüzeyine 'bidentate chelating' ile tutturulduğunu öne sürmüşlerdir [63].

Organik ve hidrofobik yüzeylere yapışması polidopamini benzerlerinden ayıran en üstün özelliklerinden biridir. Bununla beraber detaylı bağlanma mekanizması halen iyi bilinmemektedir. Lee ve ark. AFM sayesinde polidopaminin organik yüzeylere adhezyonunun arkasındaki mekanizmanın, alkali çevrede katekolün 'quinonese' oksidasyonun yattığını ve bunun aril-aril eşleşme veya olası Michael-katılma reaksiyonları yolu ile organik yüzeylerle kovalent eşleşmeye (covalent coupling) yol açtığını ortaya koymuşlardır [64].

2.2.2.4. Biyouyumluluk ve Biyobozunma

Biyouyumluluk, deney hayvanları ve klinik uygulamalar gibi biyomedikal alandaki spesifik uygulamalarda kullanılacak bir malzemenin uygunluğunu belirlemede kullanılan temel etkidir. Vücudumuzda yaygın dağılım gösteren melaninin büyük bileşeni olan polidopaminin üstün özellikte biyouyumluluk göstermesi ve yabancı maddelerin uygulanmasından kaynaklı ciddi yan etkilerin oluşumunu azaltması beklenir. Olası polidopamin toksisitesini belirlemede ilk başlarda, *in vitro*da yaygın kullanılan MTT testi kullanılmaktaydı. Ku ve ark. yaptıkları çalışmalarda polidopaminin fibroblast, osteoblast, nöron ve endotelyal hücreler gibi birçok memeli hücresinin proliferasyonunu veya verimliliğini engellemediğini ortaya çıkarmışlardır [65]. Hatta birçok araştırmada, polidopamin ile kaplamanın substrat yüzeyine olan hücre adhezyonu ve proliferasyonunu teşvik ettiği bildirilmiştir [66, 67].

Biyomedikal uygulamalarda kullanılacak malzemelerin zamanında biyobozunmaları da son derece önemlidir. Çünkü yabancı maddelerin vücutta uzun süreli tutulmaları ciddi yan etkiler tetikleyebilmektedir. Polidopamin nanopartikülleri *in vitro*'da oksitleyici ajanlar varlığında bozunmaya uğrar. Hidrojen peroksitle inkübasyondan sonra polidopamin nanopartiküllerinin degradasyon göstergesi olarak absorpsiyon kısımlarından önemli bir parçanın kaybolduğu ve renginin solduğu yapılan araştırmacılar tarafından ortaya konmuştur [68]. Bu bulgular *in vivo*'da polidopaminin açıkça bozunabileceğini göstermiştir. Bununla beraber polidopamin malzemelerinin detaylı *in vivo* degradasyonuna ilişkin sistematik bir çalışma halen yapılmamıştır. Polidopamin biyodegradasyonu için olası bir yolak olarak oksidasyonla indüklenen degradasyon prosesi önerilmiştir, çünkü vücudumuzda H₂O₂ gibi aktif oksijen türleri ve serbest radikaller üretilmektedir [69].

Potansiyel enzimatik degradasyonun yanısıra polidopaminin mikroorganizmalarca da bozunabildiği gözlemlenmiştir. Polidopaminin sterilize edilmemiş topraktaki bozunma hızının steril topraktaki bozunma hızından fazla olduğu, polidopamin yapısından eksilen nitrojen varlığıyla ortaya konmuş ve ayrıca diğer bir veri olarak da polidopaminin steril toprakta da mikroorganizmalarca ayrıştığı gözlenmiştir [70]. Kabul edilmelidir ki günümüze kadar yapılmış bu çalışmalarda gözlenen, klinik

alışmalar için kullanılacak ajanın halen başlangıç aşamasında olduğudur. Bunda henüz kilit noktaların tanımlanamamış olması, uzun sureli toksisiteyi açıklayacak ayrıntılı mekanizmaların ve *in vivo* değredasyonu için kesin ve net bir yöntemin ortaya konamamış olması rol oynamaktadır. Ayrıca polidopamin esaslı malzemelerin toksikoloji değerlendirmelerinde partikül boyutu, yüzey özellikleri ve kolloidal stabilite parametreleri de dikkate alınmalıdır.

2.2.2.5. Diğer zellikleri

Polidopamin, yukarıda özetlenen fizikokimyasal özelliklerinin yanında absorpsiyon ve floresans gibi optik özelliklere, paramagnetizm ve elektrik iletkenliği gibi sıradışı başka üstün kabiliyetlere de sahiptir [71].

Polidopamin karboksi, amino, imin, fenol grupları içerdiğinden birçok c içinde yayılabilmekte ve yüksek hidrofilitate gösterebilmektedir. Hidrofilik ve hidrofobik substratlar polidopaminle kaplanınca, yüzey enerjileri zorunlu olarak değişmektedir [72]. Örneğin, L-poli-(laktik asit) 24 saat boyunca Tris tampon çözeltisi (pH 8.5) içinde polidopaminle etkileştirilince, (PLLA)'nın polar bileşeninin yüzey enerjisinin 9.6'dan 42.6 mJ/m²' ye çıktığı gözlenmiş ki bunda polidopaminin polar ve hidrofilik karakteri etkili olmaktadır. Ayrıca 48 saatin sonunda, su kontakt açısının 50° 'nin altına düştüğü görülmüştür [73].

Genelde, substratlar polidopaminle kaplandıktan sonra su kontakt açılarında 37–90° açı aralığında düşme görülmektedir ki bu durumun oluşumu temelde substrat doğasına dayanmaktadır. Bazı zel substratlar için bu değer 20°'nin altına düşebilmektedir.

Bir diğer özelliği, PDA farklı fonksiyonel grup içermesinden ötürü zwitteryon bir karaktere sahiptir [74]. İzoelektrik noktası 4 civarında belirlenmiştir. pH<4 değerlerinde, polidopamin yapısındaki amino grupları protonlanabilmekte ve bu durumda PDA yüzeyi pozitif hale gelebilmektedir, pH>4 değerlerinde ise fenolik grupların deprotonlanmasından ötürü de PDA yüzeyi negatif yüklü haldedir.

Elektrokimyasal tanıma (sensör) ve enerji uygulamalarında kullanılacak malzemelerin yüksek kimyasal ve termal stabilitede olmaları amaçlanır. Termal veya kimyasal stabilite zayıfsa, sıcaklıkla muameleden sonra malzemenin omurgasının (temeli) kmesi veya elektrolitle temasından sonra elektrot

yüzeyinden aktif türlerin aşınması veya pul pul dökülmesi(exfoliation) gibi yan etkiler görülür ve bu da malzemenin performansını düşürür.

Kaplamada kullanılan organik polimerlerin fizyolojik bir tamponla temas ettikten sonra genelde şişme, ayrışma veya hidrolize uğradıkları bilinmektedir [75]. Tam aksi olarak PDA bu koşullara karşı yüksek direnç göstermektedir. Yapılan bir çalışmada PDA kaplı silikanın 4 gün boyunca fizyolojik tampon içinde stabil kalabildiği gözlemlenmiştir. pH=1 değerinde bile 54 saat içinde PDA filminin sadece %14'ü aşınmıştır. Bu durum PDA başka yüzeyler üzerinde biriktirildiğinde de gözlenmiştir. 30 gün boyunca PBS'e maruz bırakılınca belli belirsiz bir şişme olduğu gözlenmiştir. Termal davranışına bakıldığında ise PDA'nın 200 °C'ye kadar olan sıcaklıklara kadar dayanabildiği ve önemli sayılabilecek bir bozunmaya uğramadığı gözlemlenmiştir [76].

Bu özelliklere ilaveten, PDA süperparamagnetizm ve ultrasonik ses dalgalarını (1 MHz) absorplama gibi başka potansiyel fonksiyonlar da gösterebilmektedir [77].

2.3. Sensör Uygulamaları

Polidopamin elektrokimyasal biyosensörlerde aşılama (grafting) malzemesi olarak küçük organik moleküller, biyomoleküller ve ağır metal iyonlarının tanısında; tanı amaçlı olarak da moleküler baskılama tekniğinde kullanılmaktadır. Ancak burada daha çok tez kapsamında ele alındığı üzere sensörlerde yapı bloğu olarak kullanımına ilişkin yapılmış çalışmaların kısa bir özeti sunulacaktır.

2.3.1 Polidopaminin Aşılama Malzemesi olarak Kullanılması

Elektrokimyasal biyosensör çalışmaları basit enstrümantasyon ve işleyiş, yüksek duyarlılık ve seçicilik, potansiyel çeşitlilik gösterme gibi avantajlarından dolayı son yıllarda büyük ilerlemeler kaydetti [78]. Elektrokimyasal etkinlik perspektifinden bakıldığında PDA'nın elektrot gibi yüzeylere biyomoleküllerin yoğun immobilizasyonları için uygun mikroçevreye sahip olduğu görülecektir. Bu sayede biyolojik aktivitelerin korunması sağlanabilmektedir.

İmmobilizasyon biyosensör sisteminin çalışması, seçicilik, duyarlılık, stabilite gibi parametrelerde büyük rol oynamaktadır. Bu açılardan yüksek performanslı

polidopamin esaslı elektrokimyasal biyosensör yapmak amacıyla yoğun şekilde çalışılmıştır [79-82].

Polidopamin esaslı biyosensörlerin çoğu genelde, üç ana yaklaşımla üretilmektedir:

- Dopamin polimerizasyonu sırasında biyomoleküllerin doğrudan kapsüllenmesi
- Polidopamin modifiyeli elektrot üzerine biyomoleküllerin post modifikasyonu
- Doğrudan biyotanıma yapacak elektrot materyallerinin üretilmesinde polidopaminin sadece yapı bloğu olarak kullanılması

2.3.1.1. Küçük Organik Moleküllerin ve Biyomoleküllerin Tanısında Kullanımı

Zheng ve ark., içine yabanturpu peroksidaz enzimi (HRP) immobilize edilmiş bilayer lipid membran üzerine elektropolimerizasyon yöntemiyle PDA filmi oluşturarak geliştirdikleri sensör ile H_2O_2 'nin mikromolar seviyelerde hızlı ve hassas tayinini gerçekleştirdiklerini bildirmişlerdir [83]. PDA filmi, bilayer lipid membran yapısının korunmasını, membran içine immobilize edilmiş HRP enziminin aktivite kaybının önlenmesini ve onu membran içinde tutarak dış etkilere korunmasını sağlayarak biyosensör sistemi stabilitesinin artmasını sağlamıştır.

Xie ve ark., 2010'da toksik fenolik bileşiklerin elektrokimyasal biyotansında kullanılmak üzere basit bir strateji ile 'polimer-enzim-çok katmanlı karbon nanotüp' hibrit sistemini sentezlemeyi başarmışlardır [84]. Tasarlanan bu sensör sisteminde dopamin polimerizasyonunu katalizleyen lakkaz, çok-katmanlı karbon nanotüp yüzeyindeki polidopamin içine konumlandırılmıştır. Lakkaz elde edilen hibrit sistem içinde enzimatik aktivitesini koruyarak hidrokinon gibi fenolik bileşiklerin katalizlenmesini sağlamaktadır. Çok ince bir ayrıntı olarak 'PDA-Lakkaz-çok katmanlı KNT' hibrit malzemesinin hidrokinon tayininde gösterdiği performansın, başka diğer polimer-enzim-çok katmanlı karbon nanotüp hibrit sistemlerinde sergilenemediği görülmüştür. Bu durum, PDA'nın Au elektroda karşı güçlü afinitesinin diğer polimer tiplerinden fazla olduğunu göstermektedir, böylelikle lakkaz immobilizasyonu yüksek seviyelerde tutulabilmektedir. Ayrıca lakkaz, PDA'nın üstün biyoyumumluluğu sayesinde polidopamin matriksinde koruduğu enzimatik

aktivitesini başka polimerlerde koruyamamıştır.

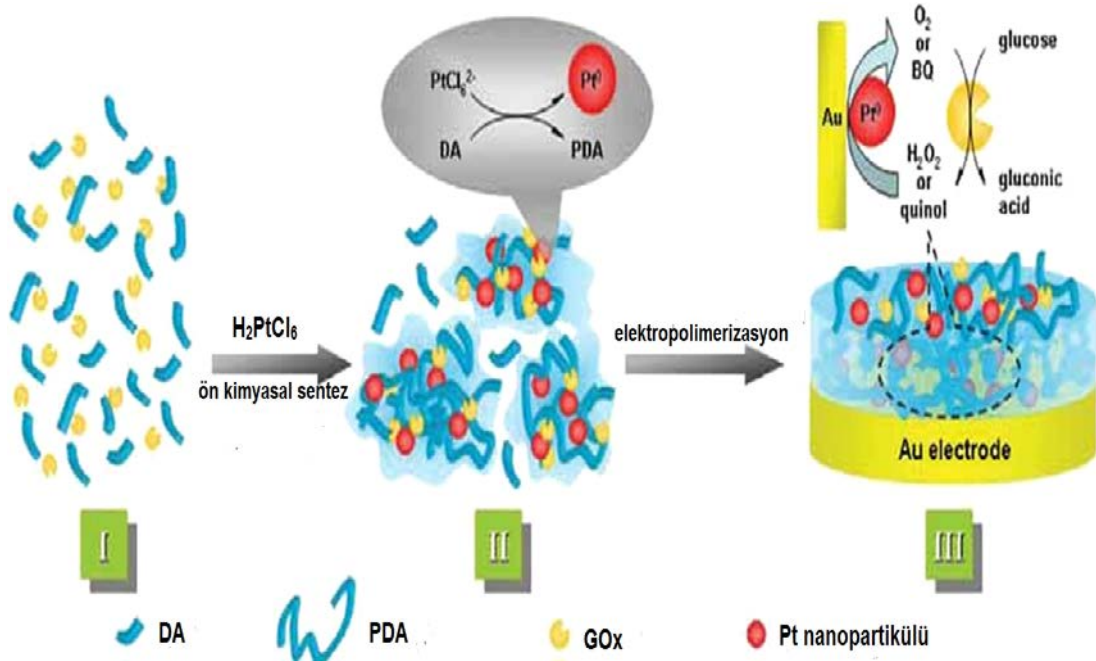
Aynı prensiple magnetik Fe_3O_4 nanopartiküllerin yüzeyinde PDA birikimi ve lakkaz enzimi immobilizasyonu ile hidrokinon tanısına yönelik elektrokimyasal başka bir sensör geliştirilerek, Magnetik Au elektrot üzerinde 'polidopamin-lakkaz- Fe_3O_4 nanokompozit' sistemi ile 30nM seviyesinde magnetik ayırma yöntemiyle tayin gerçekleştirilebilmiştir [85].

PDA'nın indirgeme ve metal bağlama özelliklerinden yararlanılarak yüksek performanslı askorbik asit sensör platformu kurgulanan başka bir çalışmada yüksek seçicilik, uzun süreli stabilite, tekrar üretilebilirlik ve etkin antiparazit kabiliyeti gibi üstünlükleriyle PDA destekli 'Au nanopartikülü-iletken polimer' hibrit malzemesi üretildiği bildirilmiştir [86]. İleriki bir çalışmada metot genişletilerek 'Pt nanopartikülleri@PDA@çok katmanlı KNT' hibrit malzemesi sentezlenerek elde edilen sensör ile DA, UA (ürik asit) ve elektroforezden yardım alarak sıçan beynindeki dört önemli monoaminin (dopamin, epinefrin, norepinefrin ve serotonin) eşzamanlı tanısının yapılabilirdiği bildirilmiştir [79].

Ayrıca, polidopamin esaslı elektrokimyasal biyosensörlerin biyomoleküllerin tayininde kullanımına ilişkin literatürde çok sayıda çalışma yapılmıştır [87-89]. Bu konudaki önemli çalışmalardan biri sakkarit tanısında ortaya konulmuştur. Gao ve ark. tarafından PDA-modifiye KNT malzemesi sentezlenerek bir glikoz elektrokimyasal biyosensör geliştirildiği bildirilmiştir [88]. Sensör sisteminde elektrot materyali ile altında yer alan diğer elektrot arasındaki elektron transferini hızlandırmak amacıyla, Ag nanopartiküllerinin PDA modifiyeli KNT üzerine dekorasyonu sağlanmıştır. Elde edilen Ag@PDA@KNT malzemesinin camı karbon elektrot üzerine dökümü, glikoz oksidaz (GOx) enzimi eşliğinde gerçekleştirilmiştir. Burada polidopamin kaplama, elektronik yapısına zarar vermeden KNT'lerin çözünürlüğünü önemli ölçüde arttırdığı gibi immobilize GOx ile altındaki elektrot arasında elektron transferini de teşvik etme işlevini görmektedir. Sistemde glikozun enzim katalizleme reaksiyonunun oksijen indirgeme pik akımını düşürmesi ile glikoz konsantrasyonu rahatlıkla belirlenebilmiştir. Bu biyosensörde glikoza karşı hızlı yanıt verilmiş (<5 s) ve 17.0 μM tayin limiti belirlenmiştir.

Benzer şekilde başka bir çalışmada, polidopaminin yapısından kaynaklı üstün özellikleri grafenin devasa yüzey alanı ve hızlı elektron transfer oranı gibi avantajlarıyla birleşince ortaya çıkan üstün özelliklerdeki “GOx enzimi immobilize edilmiş elektrot modifiyeli polidopamin-grafen” hibrit filmi sistemi ile glikoz, yüksek duyarlılık ve seçicilikle tayin edilebilmiştir [89].

Fu ve ark. polimer-enzim-metalik nanopartikül sensör sisteminde polidopamini doğrudan polimer matriksi olarak kullandıklarını bildirmişlerdir. Polimer-enzim-metalik nanopartikül kompozitlerini hazırlamada klasik yöntemlerden farklı olarak bu yaklaşımın en büyük avantajı basit reaksiyon koşullarında gerçekleşen ‘one-pot’ sentez protokolüdür. Glikoz oksidaz (GOx) veya galaktoz oksidaz (GaOx) ve oldukça dağınık yerleşebilen Pt/Au nanopartikülleri, enzim, $H_2PtCl_6/HAuCl_4$ ve dopamin monomerleri bazik koşullar altında karıştırılarak eşzamanlı olarak polidopamin matriksi içine sokulabilmektedir. Şekil 2.5’te görüldüğü üzere H_2PtCl_6 oksitleyici ajan olarak dopamin polimerizasyonunu gerçekleştirirken Pt nanopartiküllerine indirgenmektedir. Elde edilen kompozit malzeme sensörün son halini vermek üzere elektropolimerizasyon yöntemi elektrokimyasal olarak Au elektrot üzerinde biriktirilmektedir [9].



Şekil 2.5. Glikoz biyosensörü yapımında kullanılan elektropolimerizasyon yöntemi

Yukarıda bahsedilen sensörden farklı olarak, enzim dış çevreye maruz kalmak yerine direkt olarak polidopamin matriksi içine immobilize edilebilmektedir, böylelikle sensör için stabilite artışı sağlanmaktadır. Glikoz ve çözünmüş O_2 varlığında GOx, glikozdan O_2 'ye elektron transferini katalizleyerek ortamda H_2O_2 ve glikonik asit oluşumunu sağlar. Üretilen H_2O_2 elektrokimyasal sinyal vermek üzere Pt nanopartikülleri tarafından katalitik oksidasyona uğrar. Polidopaminin üstün biyouyumluluk özelliği sayesinde PDA-GOx-Pt/Au elektrot sisteminde spesifik enzimatik aktivite neredeyse doğal formundakine yakın seviyede tutulabilmektedir. Söz konusu biyosensörde altmikromolar tayin limiti; ürik asit, askorbik asit, asetaminofenol ve glutatyona karşı gösterilen güçlü antiparazit kabiliyeti; glikoz ve galaktozu saptamadaki yüksek depolama stabilitesi gibi parametrelerde iyi sonuçlar alındığı bildirilmiştir. Üstelik biyosensörün kan serumu örneklerinin analizinde direkt olarak kullanılabilir olduğu ortaya konulmuş, iyi bir geri kazanım sağlanmış ve hastanede denenen diğer yöntemlerle elde edilen sonuçlara paralel sonuçlar elde edildiği ortaya konulmuştur. Sonuç itibari ile polidopamin esaslı bu biyosensörün klinik kullanım için büyük potansiyel içerdiği söylenebilir.

2.3.1.2. Ağır Metal İyonlarının Tanısı

Küçük organik moleküller veya biyomoleküller ile karşılaştırılırsa ağır metal iyonları için kullanılan polidopamin esaslı elektrokimyasal biyosensör sistemleri oldukça azdır. Wang ve ark., Hg^{+2} iyonları için tasarladıkları elektrokimyasal biyosensör sisteminde polidopamini yapı bloğu olarak kullandıklarını ve 'timidin- Hg^{+2} -timidin ($T-Hg^{+2}-T$)'in koordinasyon kimyasından yararlandıklarını bildirmişlerdir [90]. Yapılan çalışmada, yüksek iletkenlikteki karbon nanoküreleri ilk olarak polidopamin filmi ile kaplanarak Au^{+3} iyonlarının yüzeyde Au nanopartiküllerine indirgendiği ve son olarak da GNP-PDA-CNSP hibrit elektrot malzemesini elde etmek üzere Au nanopartiküllere DNA immobilize edildiği bildirilmiştir.

2.4. Karbon Esaslı Elektrotlar

Karbon elektrotlar hızlıca üretilebilme, çeşitlilik gösterme, taşınabilir sistemlere uygulanma, güvenilirlik, ucuzluk gibi yönleriyle sıklıkla kullanılmaktadır. Karbon kendi doğasındaki iletkenlikten dolayı, çok çeşitli sistemlere kolaylıkla modifiye

edilerek elektrot substratı olarak kullanılmakta ve spesifik analizlerde yüksek seçicilik göstermektedir.

Günümüzde çeşitli analit tayini ve uygulamalarında kullanılan çok çeşitli karbon elektrotlar mevcuttur. Bunların bir kaçı ; camısı karbon (GC), karbon pasta elektrot (CPE), boron doped diamond (BDD), screen printed elektrode (SPE) ve kalem grafit elektrot (KGE) örnek olarak verilebilir [91].

Burada sadece tez kapsamında çalışma elektrodu olarak kullanılan kalem grafit elektrot (KGE) üzerinde durulacaktır.

2.4.1. Kalem Grafit Elektrot

Karbon esaslı elektrotlardan karbon pasta, camısı karbon, pirolitik grafit, karbon fiber ve grafit kompozit elektrotlar voltammetrik sensör amacıyla yaygın olarak kullanılmaktadır [92]. Bunların yanında kalem grafit elektrot da kullanımı yaygınlaşmaya başlayan yeni tip bir karbon elektrot türüdür. Kalem elektrotlar, anodik, katodik ve adsorptif sıyırma voltammetrisi yöntemlerinde başarılı olarak kullanılabilir [37,93]. Kalem grafit elektrotların var olan karbon esaslı elektrotlara göre, yüksek elektrokimyasal reaktivite göstermesi, ticari olarak kolay bulunabilmesi, mekanik olarak sertlik, kolay modifiye edilebilir olması, ucuzluk ve tek kullanımlık olması nedeniyle yüzey yenileme, parlatma gibi zaman alıcı işlemler gerektirmemesi gibi üstünlükleri vardır. Kalem elektrotların modifikasyonu da kolaydır. Modifiye edilmek istenen madde elektrolit çözeltisi içine eklenir ve in-situ denilen metot ile başka hiçbir işleme gerek kalmadan doğrudan adsorpsiyonla elektrot yüzeyine kolaylıkla modifiye edilir [94].

2.5. Elektroanalitik Yöntemler

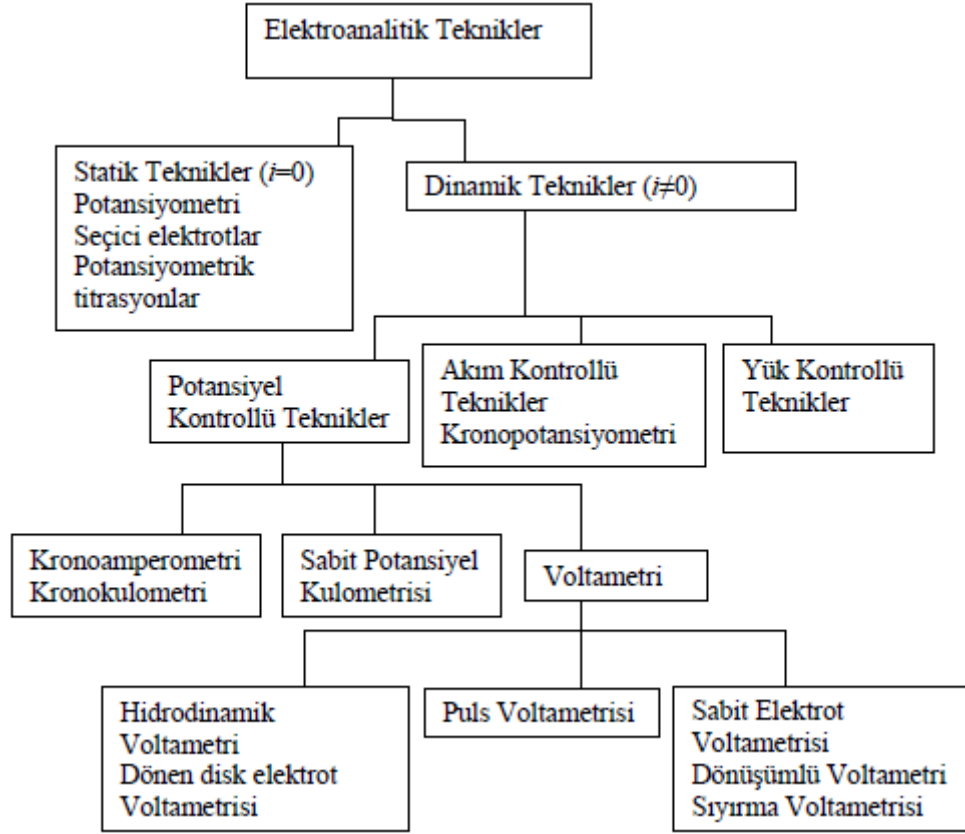
Elektroanalitik yöntemler; elektrot-çözelti sistemine bir elektriksel etki uygulanarak akım, potansiyel, yük gibi elektriksel niceliklerin ölçümüne dayanır [3].

Elektroanalitik kimya, bir elektrokimyasal hücredeki analit çözeltisinin elektrokimyasal özelliklerine dayanan nitel ve nicel yöntemleri kapsamaktadır. Elektroanalitik yöntemler ile elektrot ara yüzeylerinde meydana gelen yük aktarımının stokiometrisi ve hızı, kütle aktarım hızı, adsorpsiyon derecesi, kimyasal tepkimelerin hızı ve denge sabitleri gibi bilgilere ulaşılabilir [95].

Elektroanalitik yöntemler; net akımın sıfır olduğu denge durumundaki statik ($i=0$) yöntemler ve denge durumundan uzakta net akımın gözlemlendiği dinamik ($i \neq 0$) yöntemler olarak iki ana başlıkta sınıflandırılmaktadır [4]. En yaygın olan sınıflandırma şekil 2.6'da görülmektedir. Şekil 2.6'da görülen tekniklerin çoğunda akım gözlenmektedir. Bu teknikler genellikle akım kontrollü ya da potansiyel kontrollüdür ve büyük genlikli veya küçük genlikli olarak uygulanır.

Elektroanalitik yöntemler, çevrenin ve endüstriyel materyallerin izlenmesinde ve bilimsel çalışmalarda geniş ölçüde kullanılmaktadır. En yaygın kullanılan elektroanalitik yöntemlerden biri de voltametridir.

Voltametri; durgun bir ortamda çalışma elektroduna uygulanan potansiyele karşı elektrodun akım cevabının incelenmesine dayanan potansiyel kontrollü elektrokimyasal tekniklerden biridir. Elektrokimyasal tepkimelerin kinetiğinin ve mekanizmasının incelenmesinde voltametri, güvenilir ve sıklıkla kullanılan bir yöntemdir [4,7]. Voltametri çok sayıda metal iyonunun ve organik bileşiğin tayininde 10^{-6} - 10^{-5} M gibi düşük tayin aralıklarına olanak sağlamaktadır [6].



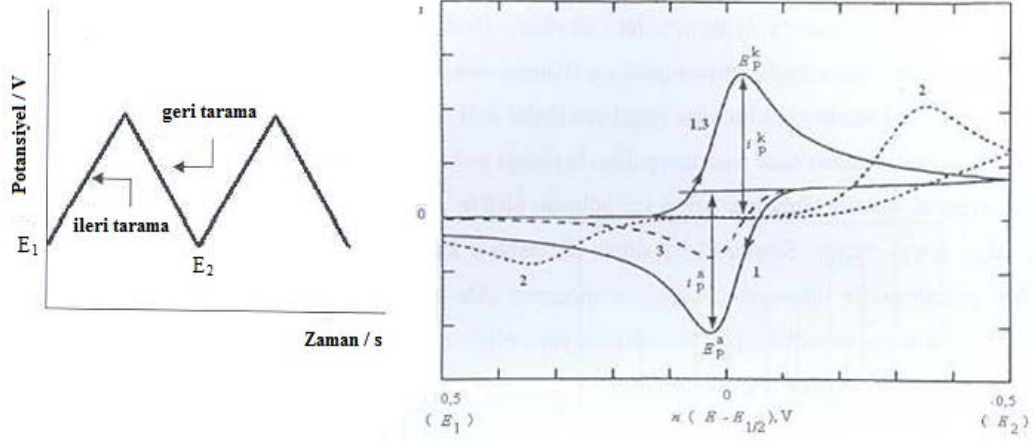
Şekil 2.6. Elektroanalitik yöntemlerin sınıflandırılması

Voltametrik yöntemler, elektrokimyasal hücreye zamana bağlı değiştirilebilen potansiyellerde uyarma sinyalleri uygulandığında, elde edilen karakteristik akım cevapları ve uyarma sinyallerinin dalga şekillerine bağlı olarak; polarografi, diferansiyel puls voltametri, kare dalga voltametri ve dönüşümlü voltametri gibi çeşitli yöntemlere ayrılır. Bu tez çalışmasında kullanılan çeşitli voltametrik yöntemler aşağıda kısaca anlatılmaktadır.

2.5.1. Dönüşümlü Voltametri

Dönüşümlü voltametri, çözeltide ve çözelti elektrot ara yüzeyinde elektroaktif türlerin incelenmesi ve oluşan elektrokimyasal tepkimeler hakkında bilgi edinmek için kullanılan en yaygın yöntemdir. Bu yöntemde, potansiyel Şekil 2.7’de görüldüğü gibi sabit bir hızla belli bir potansiyel değerine, E_1 ’den E_2 ’ye çıkarılır ve daha sonra ilk potansiyel değerine, E_2 ’den E_1 ’e geriye doğru doğrusal olarak taranır; oluşan akım ölçülür. Potansiyel taraması E_1 ve E_2 arasında yapılırsa, yöntem doğrusal taramalı voltametri (DTV) adını alır. E_2 potansiyeline ulaşıldıktan sonra aynı tarama yönüne göre ters yönden tarama yapılırsa, yöntem dönüşümlü

voltametri adını alır. Oluşan akımın, potansiyelin fonksiyonu olarak kaydedilmesiyle elde edilen akım-potansiyel eğrileri voltamogram olarak adlandırılır [7, 96].



Şekil 2.7. Dönüşümlü voltametri için uyarma sinyali ve voltamogramı

Şekil 2.7’de bir voltamogram örneği verilmiştir. Bu şekilde, $\text{Yük} + n\text{e}^- \rightarrow \text{İnd}$ reaksiyonu için çözeltide sadece Yük’ün bulunduğu dönüşümlü voltamogram örnekleri verilmektedir. Eğri 1, $\text{Yük} + n\text{e}^- \rightarrow \text{İnd}$ reaksiyonu tersinir olduğunda elde edilir.

İleri doğru taramada, doğrusal taramalı voltametri (DTV) gibi, Yük’ün İnd’e indirgenmesi ile katodik bir pik elde edilir. Geriye doğru taramada, ileri doğru tarama süresince meydana gelen İnd’in Yük’e tekrar yükseltgenmesinden kaynaklanan, anodik bir pik gözlenir. Tersinir reaksiyonlar için, katodik ve anodik pik akımlarının büyüklükleri ($|i_p^k| = |i_p^a|$) eşittir ve katodik pik potansiyeli (E_p^k) anodik pik potansiyelinden (E_p^a) $(58/n)$ mV daha negatiftir. Bunlar tersinirlik için önemli parametrelerdir. Ayrıca, formal redoks potansiyelini elde etmek için kullanılan yarı dalga potansiyeli, $(E_{1/2} = E_p^k + E_p^a)/2$ şeklinde bulunur. Tersinirliğin azalması ile iki pik potansiyeli arasındaki fark artar. Eğri 2, önemli derecede tersinmez olan sistemler içindir. Eğri 1 ile karşılaştırıldığında, katodik pik çok daha negatif, anodik pik ise çok daha pozitif potansiyeldedir. Sistem tamamen tersinmez ise, anodik pik ölçülebilen potansiyel aralığında görünmez. Tersinmez CV eğrisinden, genellikle bir simulasyon yöntemi ile elektrot reaksiyonu için hız sabiti ve transfer katsayısı gibi kinetik parametreler elde edilebilir. Eğri 3, İnd’in tersinir

olarak Yük'e tekrar yükseltgenemediği, tekrar yükseltgenmeden önce, İnd'in bir kısmının elektroaktif olmayan A türüne dönüşebildiği bir durum içindir (Yük $\leftrightarrow$ İnd $\xrightarrow{k}$ A). Katodik pik Eğri 1'deki gibi aynı şekilde görünür, fakat anodik pik akımı Eğri 1'dekinden daha küçük olur. Anodik pik akımındaki azalmadan, k hız sabitini elde edebiliriz. CV'de, potansiyel tarama hızı geniş bir aralıkta değiştirilebilmektedir [97].

Sulu ve susuz çözeltilerdeki elektrokimyasal çalışmalarda en kullanışlı yöntemlerden biri olan dönüşümlü voltametri, kararsız bir ara ürün veya ürün içeren elektrot reaksiyonlarının incelenmesinde sıklıkla tercih edilmektedir. Dönüşümlü voltametride tarama hızları değiştirilerek pik akımlarının tarama hızı ile değişmesinden akımın karakteri (adsorpsiyon, difüzyon) ve elektron aktarım tepkimesinden önce veya sonra kimyasal tepkimelerin olup olmadığı belirlenebilir. Ayrıca ileri ve geri tarama piklerinden tepkimenin mekanizması hakkında fikir edinilebilir ve ileri taramadan yararlanarak kinetik veriler elde edilebilir. Bu yöntemle, elektroaktif türlerin redoks potansiyellerinin yeri hızlı bir şekilde belirlenebilir ve ortamın redoks reaksiyonuna etkisi incelenebilir [3].

Dönüşümlü voltametri verileri ile bir elektrot tepkimesinin tersinirlik testi yapılabilir. Elektrot yüzeyinde gerçekleşen elektrokimyasal tepkimeler elektrot yüzeyinde davranışlarına göre tersinir, tersinmez ya da yarı tersinir olarak adlandırılırlar.

Tersinir sistemlerde, ileri yönde potansiyel taraması sırasında oluşan yükseltgenme piki, potansiyel taraması geriye çevrildiğinde, yükseltgenme sırasında oluşan ürünün elektrot yüzeyinde yeniden indirgenmesi ile yeniden bir pikin gözlemlendiği durumlardır.

Tersinir bir pik için pik akımı (25 °C), Randles-Sevcik eşitliğiyle verilir (Eşitlik 2.1):

$$i_p = (2,69 \times 10^5) n^{3/2} A C D^{1/2} v^{1/2} \quad (2.1)$$

Burada n, aktarılan elektron sayısı; A, elektrodun alanı (cm²); C, derişim (mol/cm³); D, difüzyon katsayısı (cm²/s) ve v, tarama hızıdır (V/s). Buna göre, akım, derişimle doğru orantılıdır ve tarama hızının kareköküyle artar. Basit bir tersinir çift için, anodik pik akımının katodik pik akımına oranı 1'dir. Bu oran, redoks reaksiyonuna

eşlik eden kimyasal reaksiyonların varlığından oldukça güçlü şekilde etkilenir. Potansiyel eksenindeki piklerin konumu, redoks işleminin formal potansiyeline bağlıdır. Tersinir bir sistem için formal potansiyel, aşağıdaki gibi verilir (Eşitlik 2.2).

$$E^{\circ} = E_p^a + E_p^k / 2 \quad (2.2)$$

Tersinir bir sistemde, pik potansiyelleri arasındaki fark aşağıdaki Eşitlik 2.3 ile verilir:

$$\Delta E_p = E_p^a - E_p^k = 0,059/n \text{ V} \quad (2.3)$$

Bu yüzden, pik potansiyelleri farkı, aktarılan elektron sayısının belirlenmesinde ve redoks çiftinin Nerst davranışı gösterip göstermediğinin belirlenmesinde kullanılabilir. Buna göre, hızlı bir 1 e⁻'lu reaksiyon, 59 mV'luk bir ΔE_p gösterir. Katodik ve anodik piklerin her ikisi de tarama hızından bağımsızdır. Çok elektronlu bir indirgenme gerçekleşiyorsa, sistemin tersinir olması için voltamogramda, birbirinden iyi bir şekilde ayrılmış ve E° değerleri birbirinden sırayla artış gösteren çok sayıda pikin olması gerekir [3].

Bir reaksiyonun tersinir olduğunun belirlenmesinde, dönüşümlü voltametri çalışmalarından yararlanılır ve bazı kriterlerin sağlanması elektrot reaksiyonunun tersinir olduğunu gösterir. Bu kriterler aşağıdaki gibi sıralanabilir:

- $E_p^k - E_p^a = 59/n \text{ mV}$ veya $E_p - E_p/2 = 57/n \text{ mV}$ 'tur.
- E_p tarama hızı ile değişmez.
- $I_{pa} / I_{pk} = 1$ ' dir ve bu oran tarama hızıyla değişmez.
- $I_p / v^{1/2}$, tarama hızıyla değişmez.
- Dalga şekli tarama hızıyla değişmez.

Tersinmez sistemlerde, elektron aktarım hızı yeterince büyük olmadığından elektrot yüzeyinde denge sağlanamaz ve Nerst eşitliği geçersizdir. Düşük tarama hızlarında elektron aktarım hızı kütle aktarım hızından fazla olduğundan sistem tersinir gibi görünebilir. Tarama hızının artmasıyla kütle aktarım hızı elektron aktarım hızı ile karşılaştırılabilir bir büyüklüğe gelir. Anodik ve katodik pik potansiyelleri tarama hızının artmasıyla birbirinden uzaklaşır [3,96].

Tersinmez sistemlerde, pik potansiyeli tarama hızı ile kayar ve bu şekilde karakterize olur (Eşitlik 2.4).

$$E_p = E^0 - \frac{RT}{\alpha n_\alpha F} \left[0,78 - \ln \frac{k^0}{D^{1/2}} + \ln \left(\frac{\alpha n_\alpha F v}{RT} \right)^{1/2} \right] \quad (2.4)$$

Bu eşitlikte; α , transfer kat sayısı; n_α , yük-transfer basamağındaki elektron sayısıdır. E_p , E^0 'dan daha yüksek potansiyellerde gözlenmektedir. Pik potansiyeli ve yarı-pik potansiyeli arasındaki fark $48/\alpha n$ mV'dur.

Tersinmez sistemler için pik akımı, aşağıdaki Eşitlik 2.5'te görüldüğü gibi, çözeltinin derişimi ile orantılıdır fakat α transfer kat sayısına bağlı olarak pik yüksekliği daha düşüktür. $\alpha=0,5$ ise, tersinir pik akımının tersinmez pik akımına oranı 1,27'dir.

$$i_p = (2,99 \times 10^5) n (\alpha n_\alpha)^{1/2} A C D^{1/2} v^{1/2} \quad (2.5)$$

Yarı tersinir sistemlerde standart hız sabiti $10^{-1} > k^0 > 10^{-5}$ cm/s aralığındadır ve akım, hem elektron akımı hem de kütle aktarımı ile kontrol edilir. Dönüşümlü voltamogramın şekli, $k^0/\sqrt{\alpha \pi D}$ 'nin bir fonksiyonudur ($\alpha = nFv/RT$). $k^0/\sqrt{\alpha \pi D}$ arttıkça, sistem tersinirliğe yaklaşır. $k^0/\sqrt{\alpha \pi D}$ 'nin, yüksek tarama hızlarındaki küçük değerleri için sistem tersinmez davranış gösterir.

Yarı-tersinir sistemlerde, pik potansiyelleri, tersinir sistemlerle karşılaştırıldığında, birbirinden oldukça ayırdır [3].

Bir reaksiyonun yarı-tersinir olduğunun belirlenmesinde de dönüşümlü voltametri çalışmalarından elde edilen verilerden yararlanılır. Bu amaçla, aşağıdaki kriterler incelenir [4, 7, 98].

- $i_p/v^{1/2}$ tarama hızına bağlı değildir.
- $i_{pa}/i_{pk} = 1$ 'dir ($\alpha=0,5$ ise).
- E_p^k tarama hızı ile değişir. Bu değişme genellikle tarama hızının artması ile negatif değerlere kayma yönündedir.

- $E_p^k - E_p^a$ farkı düşük tarama hızlarında $59/n$ 'e yaklaşıp.Yüksek tarama hızlarında bu değerden daha büyüktür ve tarama hızı ile artar.
- Tarama hızı arttıkça pik genişlemesi olur.

2.5.2 Diferansiyel Puls Voltametrisi (DPV)

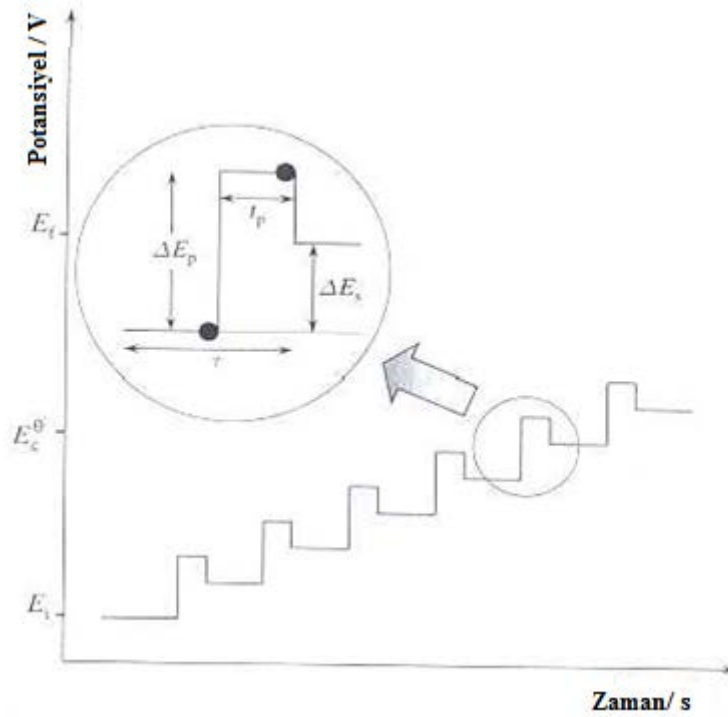
Puls teknikleri, Barker ve Jenkin tarafından (1952), voltametrik çalışmalarda tayin sınırını düşürmek amacıyla önerilmiştir. Diferansiyel puls voltametrisinde, faradayik akımın yüksek, kapasitif akımın ise düşük değerlerde olması ile iki akım arasındaki oran ve duyarlılık artırılmış ve tayin sınırları 10^{-8} M'a kadar düşürülmüştür. Kısaca DPV olarak gösterilen diferansiyel puls voltametrisi, organik ve anorganik türlerin eser miktarlarının ölçülmesinde son derece kullanışlı bir tekniktir. Diferansiyel puls voltametrisinde, doğrusal bir potansiyel artışına göre ayarlanmış sabit büyüklükte pulslar (dE/dt), çalışma elektroduna belli bir süre uygulanır (Şekil 2.8). İki kez akım ölçülür. Birincisi, puls uygulanmadan önce, yani tam pulsun başladığı anda potansiyelde bir artış olmadan, ikincisi, pulsun bitmesine yakın bir bölgede ölçülür. Bu iki akım arasındaki fark, Δi_{puls} olarak verilir. Sonunda, uygulanan potansiyele karşı bu akım farklarının grafiğe geçirilmesiyle diferansiyel puls voltamogramı elde edilir [3,96,97].

Voltamogramlardaki pik akımlarının yüksekliği, Eşitlik 2.6'da görüleceği gibi ilgili analitin derişimiyle doğru orantılı olarak değişmektedir:

$$i_p = \frac{nFACD^{1/2}}{\sqrt{\pi t}} \left(\frac{1-\sigma}{1+\sigma} \right) \quad (2.6)$$

Bu eşitlikte;

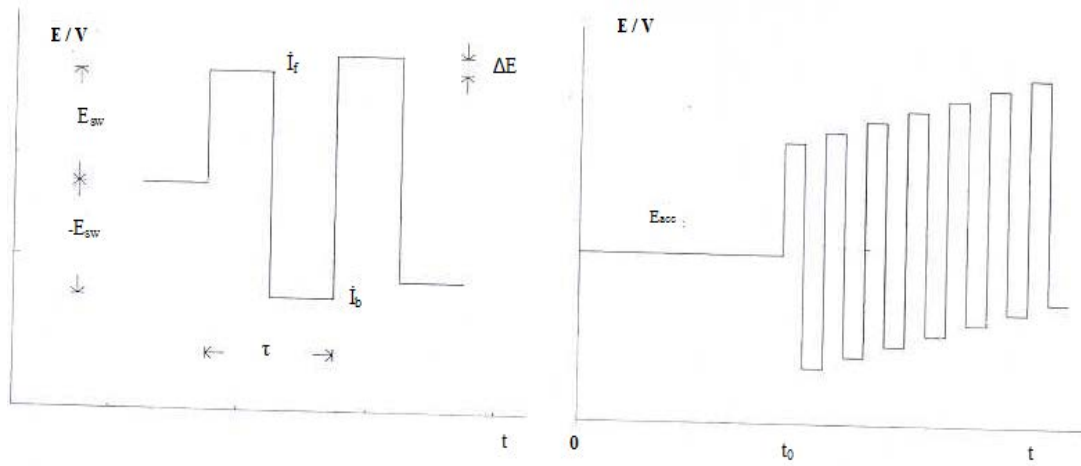
σ , $\exp[(nF/RT)(\Delta E/2)]$; $(1-\sigma)/(1+\sigma)$: 1 (yüksek puls genliklerinde); ΔE , puls genliği'dir. DPV, en çok kullanılan elektroanalitik yöntemlerden biridir. Bu yöntemle, analite bağlı olarak gözlenebilme sınırı 10^{-8} M'a kadar indirilebilmektedir [3]. DPV'de potansiyel zaman profili Şekil 2.9'da verilmiştir [99].



Şekil 2.8. Diferansiyel puls voltametrisinde puls tipi uyarma sinyalinin dalga şekli

2.5.3 Kare-Dalga Voltametrisi (KDV)

KDV, ilk defa 1930 yılında Kemula tarafından adsorpsiyon olaylarının incelenmesi için önerilmiş, fakat analitik kullanımı 1952 yılında Fujinaga ve arkadaşları tarafından fark edilmiştir. KDV'ye en büyük katkı, hem teorik hem de cihaz geliştirilmesi bakımından Barker tarafından yapılmıştır. KDV, çalışma elektroduna uygulanan potansiyel, büyük genişlikli bir diferansiyel teknik olmasını sağlayan simetrik kare dalgalar şeklindedir. Her bir kare dalga döngüsü boyunca, akım iki kez ölçülür. Birincisi, ileri yöndeki pulsun sonunda (t_1) ikincisi ise geri yöndeki pulsun sonundadır (t_2). Bu iki akım arasındaki fark, uygulanan potansiyelin bir fonksiyonu olarak grafiğe geçirildiğinde Şekil 2.9'da görüldüğü gibi bir kare dalga voltamogramı elde edilir [99].



Şekil 2.9. Kare-dalga voltametrinde puls tipi uyarma sinyali

Bir kare dalganın tamamlanma süresi periyot adını alır ve τ ile gösterilir. τ , yaklaşık 5 ms civarındadır. Birbirini takip eden kare dalgalar arasındaki yükseklik farkına basamak yüksekliği (sinyal potansiyel basamağı) denir ve ΔE_s ile gösterilir. Genelde ΔE_s 10 mV'dur. Her bir dalganın alt ve üst noktaları arasındaki farkın yarısı kare dalga yüksekliği (puls genliği) olarak bilinir ve E_{sw} şeklinde gösterilir. Çoğu zaman τ yerine, $1/\tau$ 'a eşit olan frekans kullanılır ve f ile gösterilir.

KDV, oldukça hızlı bir teknik olması bakımından üstün bir yöntemdir. Etkin tarama hızı, kare dalganın frekansı (f) ve basamak yüksekliği (ΔE_s) değiştirilerek belirlenir. Böylece, birkaç saniye içinde voltamogramlar kaydedilebilmektedir. Bu, ortalama 2-3 dakikayı bulan diferansiyel puls voltamogramının tamamlanması ile karşılaştırıldığında, kare dalga voltametrisinin analiz süresini oldukça kısalttığının bir göstergesidir [3, 99]. KDV yönteminin bir diğer üstünlüğü ise, kare dalga yoluyla toplam akıma kapasitif katkılarının minimuma indirilmiş olmasıdır. Böylece tarama hızı çarpıcı bir şekilde artırılabilir, 1 V/s'lik tarama hızına kolaylıkla ulaşılabilir. KDV'de net akım (ΔI) hem ileri hem de geri puls akımlarından daha büyüktür. Bu nedenle, voltametrik pik genellikle oldukça kolay okunmaktadır. Bu da, yöntemin doğruluğunu arttırmakta ve diferansiyel puls voltametrisinden daha yüksek duyarlılığın elde edilmesini sağlamaktadır [4]. Böylece 10^{-7} - 10^{-8} M gibi düşük tayin sınırlarına inilebilmektedir.

2.5.4. Bulk Elektroliz (BE)

Çalışma elektrodunun potansiyelinin veya akımının sabit tutulup çözeltideki yükseltgenmiş türün, elektrot yüzeyinde tamamen indirgenerek dönüştürüldüğü ve elektroliz süresince, başlangıç türünün derişiminin zamanla azalıp sıfıra yaklaştığı elektrolizdir [97]. Bulk elektoliz yönteminde çalışılan elektrodun yüzey alanı diğer yöntemlere kıyasla oldukça büyüktür. Bir saat veya daha fazla zaman alabilir ve bu süre sonunda, elektroaktif türün derişiminin başlangıç derişiminin %1'ine ulaştığında elektrolizin tamamlandığı kabul edilir.

Bulk elektroliz, yüzey alanının çözelti hacmine oranının oldukça büyük olduğu, yüksek akımlar ve uzun zaman skalasıyla karakterize edilen [97] ve deney sonunda devreden geçen toplam yük miktarını vererek elektrot reaksiyonunda aktarılan elektron sayısının hesaplanmasında kullanılan yöntemdir. Bulk elektroliz, elektrolizin belirli bir potansiyelde yapıldığı sabit potansiyelli bulk elektroliz ve elektrolizin belirli bir akımda sabit tutulduğu sabit akımlı bulk elektroliz olmak üzere iki farklı uygulamaya sahiptir.

3. DENEYSEL ÇALIŞMALAR

Tez kapsamında kurgulanan deneysel çalışmalar temelde, KGE üzerine polidopamin nanopartiküllerinin biriktirilmesi, elektrotların önceden sentezlenmiş küresel formdaki altın ve gümüş nanopartiküller ile dekore edilmesi ve nihai oluşan modifiye KGE ile dopamin vb. analitlerin tayini için farklı elektroanalitik yöntemlerin geliştirilmesi olarak üç aşamada gerçekleştirilmiştir.

3.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler ve Cihazlar

Tez çalışmasında kullanılan bütün kimyasal maddeler satın alma yolu ile temin edilmiştir. Tüm çalışma boyunca kullanılan çözeltiler ve yıkama işlemleri için yüksek saflıkta (özgül direnci $> 18 \text{ M}\Omega$) deiyonize H_2O kullanılmıştır. Tez kapsamında kullanılan kimyasallar $\text{C}_{24}\text{H}_{21}\text{F}_2\text{NO}_3$ (Sigma-Aldrich), $\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (Merck), $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (Merck), TMAOH (Sigma-Aldrich), propilen glikol (Aklar Kimya), süksinik asit (BDH Chemicals), üre (Sigma-Aldrich), HAuCl_4 (Sigma-Aldrich), tri-sodyum sitrat (Sigma-Aldrich), CTAB (Merck), AgNO_3 (BDH Chemicals), L-askorbik asit (Sigma-Aldrich) poli(vinilpirolidon) (PVP) (Sigma-Aldrich), poli(sodyum stirenesülfonat) (Sigma-Aldrich), NaBH_4 (Sigma-Aldrich) ve NaOH (Merck) şeklinde sıralanabilir. Kullanım öncesi elektrot yüzeylerinin temizliğinde etil alkol (% 99 v/v) ve deiyonize H_2O kullanılmıştır ve bu yüzeyler LİNDE firmasından temin edilen yüksek saflıkta (%99.9) azot gazı ile kurutulmuştur.

‘Çözeltide oksidasyon’ yöntemiyle hazırlanan modifiyeli ve çıplak kalem grafit elektrotların yüzey morfolojileri ve elementel analizleri sırasıyla FESEM Zeiss Ultra Plus taramalı ve geçirimli elektron mikroskobu, STEM ve enerji dağılımlı X ışını kırınımı, EDX ile gerçekleştirilmiştir. Ayrıca nanopartiküllerin UV-vis spektrumları Jasco V530 spektrofotometresi ile elde edilmiştir. Partikül boyut dağılımları, yüzeyde oluşturulan altın ve gümüş nanokürelerinin eğim açıları ve çapları ImageJ yazılımı ile incelenmiştir.

Elektrokimyasal ölçümler Şekil 3.1’de verilen CHI-660 elektrokimyasal çalışma ünitesi ve BAS C3 katı elektrot standı kullanılarak, dönüşümlü voltametri (CV), Diferansiyel puls voltametrisi (DPV) ve Kare dalga voltametrisi (KDV) yöntemleri ile karakterize edilmiştir.

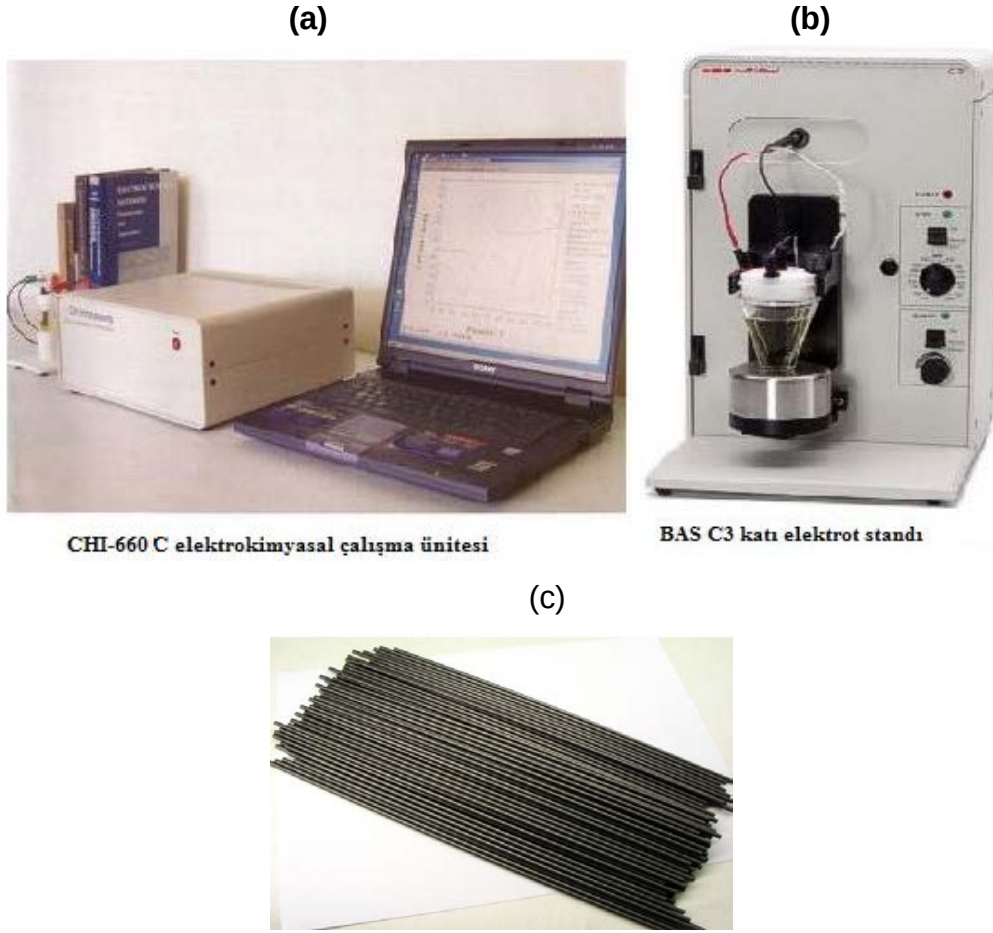
Elektrokimyasal sistemde, voltametrik çalışmalar için 0,7 mm çapında kalem grafit uç çalışma elektrot (2B Tombo marka uçlu KGE); Pt tel karşıt elektrot (CHI 115); Ag/AgCl (CHI 111) referans elektrot olarak kullanıldı. Kalem grafit uç tutucu olarak mekanik kalem kullanıldı. Grafit ucun elektrik bağlantısı kalemin metal kısmı ve uç arasına bakır tel sarılarak sağlandı. Deneysel çalışmalarda kullanılan Ag/AgCl referans elektrodu, kullanılmadığı zamanlarda 3,0 M NaCl çözeltisi içerisinde saklandı. Deneysel çalışmaların öncesinde ve sonrasında tüm elektrotlar destek elektrolit çözeltisi (Fosfat Buffer Tamponu, PBS) ve saf su ile yıkanmıştır.

Voltametrik yükseltgenme çalışmalarında hücre içinde çözünen oksijen karbon elektrot yüzeyinde yükseltgenebilir. Bu yüzden ortamdaki oksijeni uzaklaştırabilmek için her deney öncesinde çözeltiden azot gazı geçirilmiştir.

Elektrokimyasal çalışmalar süresince, kullanılan kimyasal maddeler 0,1 mg duyarlılıktaki GEC AVERY ve 0,01 mg duyarlılıkta Mettler Toledo marka elektronik terazilerde tartılmıştır.

Sulu ortamda yapılan pH ölçümleri için Orion kombine cam pH elektrodu (912600) ve onun bağlı olduğu Thermo Orion Model 720 A pH-iyon metre kullanılmıştır. Çözeltilerin karıştırılması, çözünmesi ve elektrotların temizlenmesi için Ultrasonic LC30H marka ultrasonik banyodan yararlanılmıştır.

Deneysel çalışmalarda kullanılan karbon elektrotlar hassas bir yüzeye sahiptir ve yüzeylerinin temiz olması gerekmektedir. Bu nedenle elektrot yüzeyi her ölçümden önce ve sonra saf su ile yıkanmıştır. Buna ilaveten, elektrot yüzeyinde kalabilecek kirlilikler ve süspansiyon kalıntılarını uzaklaştırmak için etanol veya metanol içerisinde kısa sürelerde karıştırma işlemi yapılmıştır.



Şekil 3.1.(a) CHI-660 elektrokimyasal çalışma ünitesi, (b) BAS C3 katı elektrot standı, (c) KGE

3.2. Nanopartiküllerin Sentez ve Karakterizasyonu

Bu başlık altında farklı nanopartiküllerin tez kapsamında hangi yöntemlerle elde edildikleri özetlenmiştir. Bu kapsamda aşağıda sırasıyla altın ve gümüş nanopartiküllerin sentezi verilmiştir.

3.2.1. Altın Nanopartiküllerin Sentezi

Tez kapsamında üzerine polidopamin biriktirilmiş kalem grafit elektrotların farklı şekil ve türdeki nanopartiküller ile dekore edilmesi ve böylece yüzey modifikasyonunun analit tayinine olan etkisinin belirlenmesi temel hedefler arasındadır. Bu amaçla belirtilen özellikte altın ve gümüş nanopartiküllerin üretimi farklı yaklaşımlar kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

AuNP sentezinde Turkevitch [100] tarafından tasarlanmış olan standart sitrat indirgeme yöntemi kullanılmıştır. Bu yöntem kapsamında kısaca deiyonize su

ortamında 50 ml, 1 mM HAuCl₄ çözeltisi kaynama noktasına kadar ısıtılmış ve Au³⁺ iyonlarının indirgenmesi manyetik karıştırma eşliğinde 1,65 ml 0.1 M trisodyum sitrat çözeltisinin eklenmesiyle sağlanmıştır. Altın iyonları 10 dakika gibi kısa bir sürede tamamen indirgenmiş ve ısıtıcı devreden çıkartılarak tepkime sonlandırılmıştır. Elde edilen koyu kırmızı renkli AuNP çözeltisi ilave bir işlem yapılmaksızın oda koşullarında daha sonraki kullanıma kadar saklanmıştır.

3.2.2. Gümüş Nanopartiküllerin Sentezi

Küresel gümüş nanopartiküller (AgNP) ayrıntıları Yang ve ark. tarafından verilen sitrat indirgeme metoduyla sentezlenmiştir [101]. Bu yöntemde 10 mM AgNO₃ ve 20 mM trisodyum sitrat içeren çözelti 70 °C'ye kadar ısıtılmış ve renk değişimi gözlemlendikten hemen sonra buz banyosunda soğutulmuştur. Elde edilen sarı renkli AgNP çözeltisi ek bir işlem yapılmadan daha sonraki kullanıma kadar oda şartlarında saklanmıştır.

3.3. Elektrot Yüzeyine Polidopamin Birikimi

DeneySEL çalışmaların bu kısmında nanopartiküller ile post modifikasyonlar için elektrot yüzeyleri üzerinde polidopamin filmi oluşturulması hedeflenmiştir. Bunun için Bernsmann ve ark.'ın ortaya koydukları yöntemle polidopamin sentezi gerçekleştirilmiştir [61]. pH'sı 8.5 Tris tampon çözeltisi içinde dopamin monomeri olarak DA-HCL, >2mg/ml oranında kullanılmıştır. Alkali solüsyona eklenen dopamin monomerleri çok hızlı biçimde polimerize olduğundan uygulama öncesi etanol ve saf su ile temizlenen çıplak kalem grafit uçları üzerine hızlı şekilde aktararak elektrotlar çözelti içerisinde 3 saat bekletilmiştir. Dopamin film kalınlığının zaman kontrollü bulguları Çizelge 3.1'de verilmiştir [102].

Çizelge 3.1. Polidopamin film kalınlığının zamana bağlı değişimi

Süre (saat)	PDA Film Kalınlığı (nm)
1	2-5
3	7-10
6	11,8
12	22,6
24	38,3
∞	50

3.4. Modifiye Elektrot Yüzeylerinin Nanopartiküllerle Dekore Edilmesi

Önceden sentezlenen altın ve gümüş nanopartiküllerin PDA@KGE üzerine birikimi, 10 mM aurik asit ve 50 mM gümüş nitrat çözeltilerindeki sırasıyla Au^{3+} ve Ag^+ iyonlarının PDA@KGE üzerine indirgenmesi 3, 12 ve 24 saat süre ile kontrol edilerek sağlanmıştır. Buna ilişkin yüzey karakterizasyonları 4.bölümde ayrıntılı olarak detaylandırılmıştır.

3.5. Kullanılan Çözeltiler ve Hazırlanışı

3.5.1 Standart DA Çözeltileri

Çalışmada kullanılan DA etanol, su ve metanolde iyi çözünürken, asetonitrilde kısmen çözünmektedir. DA'nın polimerizasyonunu engellemek için pH sı optimize edilmiş çalışmalar sonucunda, pH:5 de hazırlanmış fosfat tamponu (PBS), DA etken maddesinin çözücüsü olarak kullanılmıştır. Uygun miktarlarda DA tartılmış ve PBS ile çözülerek 25 mL $1,0 \times 10^{-3}$ M stok çözeltileri hazırlanmıştır. Hazırlanan stok çözeltiler $+4^\circ\text{C}$ 'de saklanmıştır.

Stok DA çözeltisinden uygun miktarlar alınarak, destek elektrolit çözeltisi ile belli oranlarda 25 mL' ye seyreltilmiş ve çalışma çözeltileri hazırlanmıştır.

3.5.2. Destek Elektrolit Çözeltileri

Sulu ortam çalışmaları için, belli bir pH aralığına sahip olan (5.8-8.0) fosfat tamponu (PBS) destek elektrolit olarak uygun bulunmuştur. Fosfat tamponu ideal bir tampon olup birçok uygulamada kullanılmaktadır. Çok değerlikli katyonları bağlar veya çöktürür. Tampon çözeltisi hazırlanırken 0,24 g potasyum difosfat,

1,44 g disodyum bifosfat, 0,20 g potasyum klorür ve 8 g sodyum klorür su ile seyreltilerek, hacmi 1,0 L'ye tamamlanmıştır. Tampon çözeltilerinin pH' ları 1,0 M NaOH çözeltisi kullanılarak istenilen uygun değerlere ayarlanmıştır.

3.5.3. Farmasötik ve Biyolojik Örneklerin Analize Hazırlanışı

Farmasötik örnek olarak ORNA firması tarafından üretilen Dopamine DBL 200 mg/5 ml IV infüzyon için solüsyon içeren ampul kullanılmıştır. Her ampulde 200,0 mg dopamin olduğu (1 mL'de 40,0 mg dopamin hidroklorür) belirtilmiştir. Ampul çözeltisi için 5 mL'lik 1 ampul çözeltisi 100,0 mL'lik ölçülü bir balona alınarak son derişimde 1×10^{-3} M olacak şekilde, 50,0 mL fosfat tamponu ilave edilmiş, 1 saat ultrasonik banyoda maddenin çözünmesi sağlanmış ve hacmi PBS ile 100,0 mL'ye tamamlanmıştır. Çözelti bir gece +4 °C'de buzdolabında bekletilmiştir. Ampul çözeltileri hazırlanırken 100,0 mL'lik ölçülü balondaki karışımdan belirli hacimlerde çözelti alınmış ve PBS tamponu ile seyreltilerek analizlerde kullanılmıştır.

İdrar numuneleri sağlıklı ve DA kullanmayan gönüllü bireylerden alınmıştır. İdrar çözeltileri her ölçüm için 1,0 mL idrar numunesi üzerine belli miktarda standart stok çözeltisi veya tablet çözeltisi eklenerek hazırlanmış ve hacim PBS tamponu ile 10,0 mL'ye tamamlanmıştır.

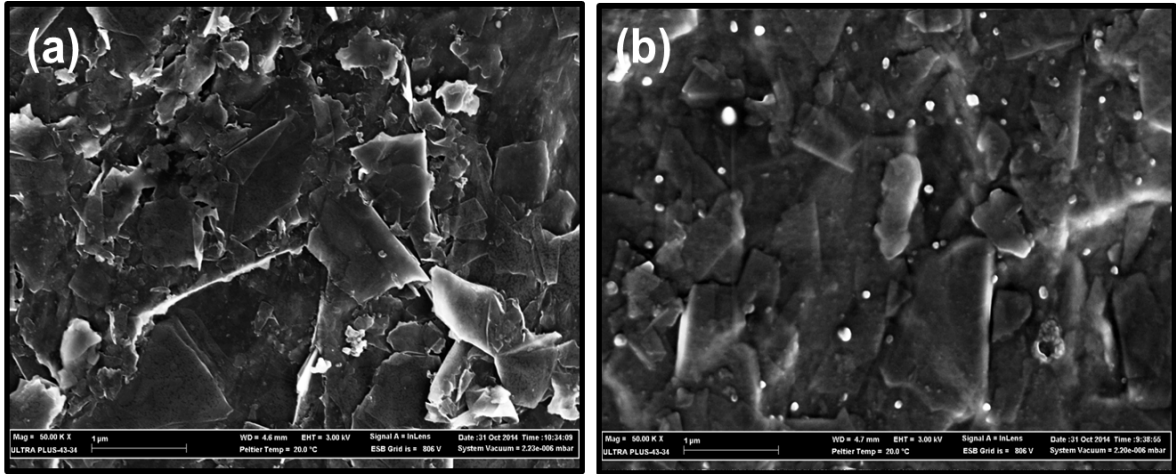
3.6. Elektrokimyasal Deneylerin Yapılışı

Elektrokimyasal deneyler Şekil 3.1'de gösterilen CHI 660 C sisteminde, BAS C3 elektrot hücre standı kullanılarak yapılmıştır. Deneysel çalışmalarda pH'ı optimum değere ayarlanmış belli hacimde tampon çözeltisi veya idrar içeren tampon çözeltisi hücreye konulmuştur ve çalışmada kullanılacak çalışma elektrot, referans elektrot ve platin elektrot ile üçlü elektrot sistemi oluşturulmuştur. Çözeltiden ilk ölçüm öncesinde 10 dakika, sonraki ölçümler arasında 30 saniye azot gazı geçirilerek, çözelti içindeki çözünmüş oksijen uzaklaştırılmıştır. DA çözeltisi eklenmeden tanık ortam olarak elektrokimyasal ölçümler alınmış ve zemin sinyali olarak kaydedilmiştir. Bu ölçümlerden yararlanılarak, çalışma potansiyel penceresi belirlenmiş ve farklı miktarlarda standart ve tablet çözeltilerinden eklemeler yapılarak, belirlenen potansiyel değerleri arasında elektrokimyasal ölçümler alınmıştır.

4. SONUÇLAR VE TARTIŞMA

4.1. Kalem Grafit Elektrotların Nanopartiküllerle Dekorasyonuna İlişkin Karakterizasyonlar

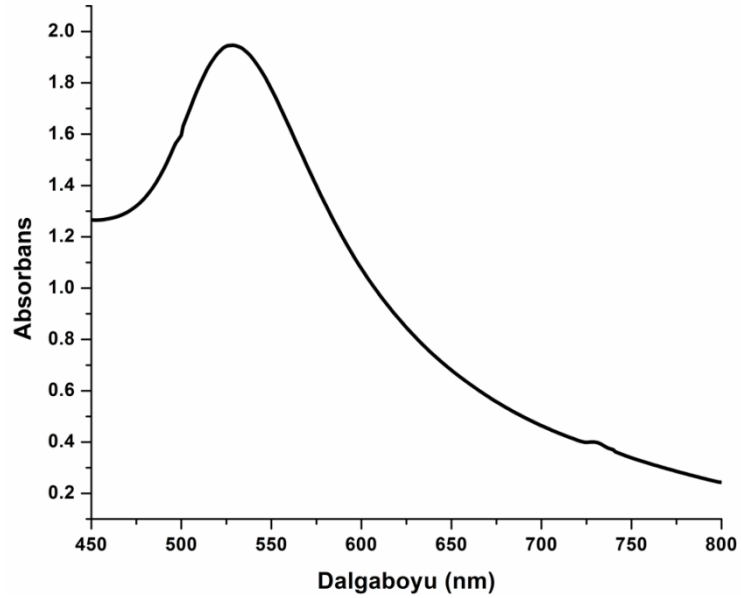
Tez kapsamında kalem grafit elektrot (KGE) yüzeyleri nanopartiküller ile dekore edilerek biyouyumlu ve hassas tayine olanak sağlayan bir elektrokimyasal sensör geliştirilmesi hedeflenmektedir. Bu bağlamda ilk aşamada grafit elektrot yüzeyleri nanopartiküllerin birikmesi ve indirgenmesini sağlamak amacıyla uygun kalınlıkta bir polidopamin (PDA, ~ 10 nm) tabakası ile kaplanmıştır. Bunun için dopamin bazik ortamda (pH ~8.5) tris-tampon çözeltisi varlığında oksidatif polimerizasyon ile polimerleştirilmiştir. Kaplama öncesi KGE ve PDA ile kaplandıktan sonraki KGE (PDA@KGE) yüzeylerine ait SEM görüntüleri Şekil 4.1'de verilmiştir. SEM görüntüleri incelendiğinde grafit elektrodun kendi doğası kaynaklı tabakalı hali dikkat çekmektedir. PDA kaplaması morfolojide herhangi bir değişikliğe neden olmamıştır. PDA kaplamasının varlığı daha sonraki kısımlarda incelenen EDX analizi ile daha ayrıntılı anlatılmış ve ispatlanmıştır.



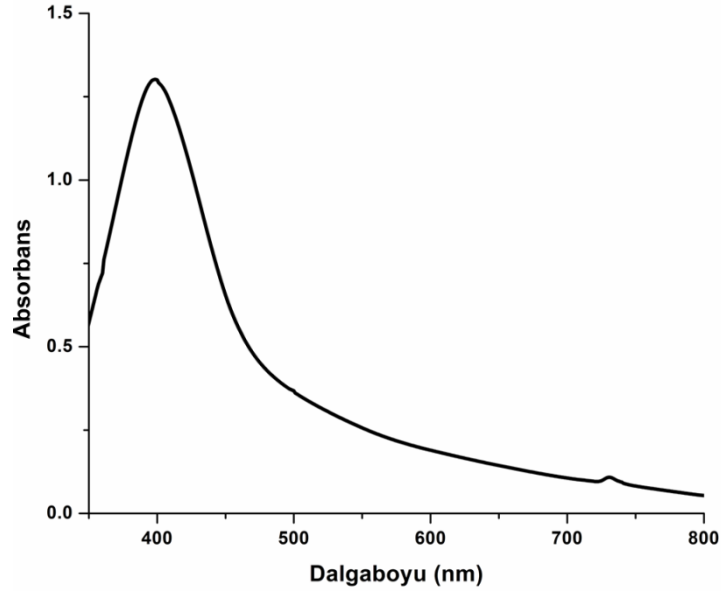
Şekil 4.1. Aynı büyütme oranlarında elde edilen KGE (a) ve PDA@KGE yüzeylerin (b) SEM görüntüleri.

KGE yüzeyleri PDA ile kaplandıktan sonra yüzeylerin metalik nanopartiküllerle dekore edilmesi kısmına geçilmiştir. Bu aşamada altın ve gümüş nanopartiküller iki farklı yaklaşımla yüzey dekorasyonunda ele alınmıştır. Bunlardan ilki nanopartiküllerin daha önceden üretilip, PDA@KGE yüzeyde biriktirilmesidir. İkinci yaklaşımda ise altın ve gümüş iyonlarının doğrudan yüzeyde indirgenerek nanoparçacıkların oluşturulmasıdır. Bu yaklaşımlar kullanılarak elde edilen sonuçlar aşağıda incelenmiştir.

Metal dekorasyonunu sağlamak amacıyla ilk yaklaşımda altın (AuNP) ve gümüş (AgNP) nanopartiküller sitrat indirgenme yöntemiyle üretilmişlerdir. Şekil 4.2 ve Şekil 4.3'te sırasıyla bu yöntemle elde edilen AuNP ve AgNP için UV-vis spektrumları verilmiştir. AuNP ve AgNP için beklenen karakteristik pikler sırasıyla 526 ve 398 nm maksimum noktaları için belirlenmiştir. Burada dikkat edilmesi gereken nokta, her iki nanopartikül için alınan UV-vis piklerinin oldukça keskin ve dar tabanlı olmasıdır. Bu durum elde edilen nanopartiküllerin boyut dağılımının önemli ölçüde dar olduğunu göstermektedir. Bu çıkarım ileride anlatılan SEM verileriyle desteklenmiştir.

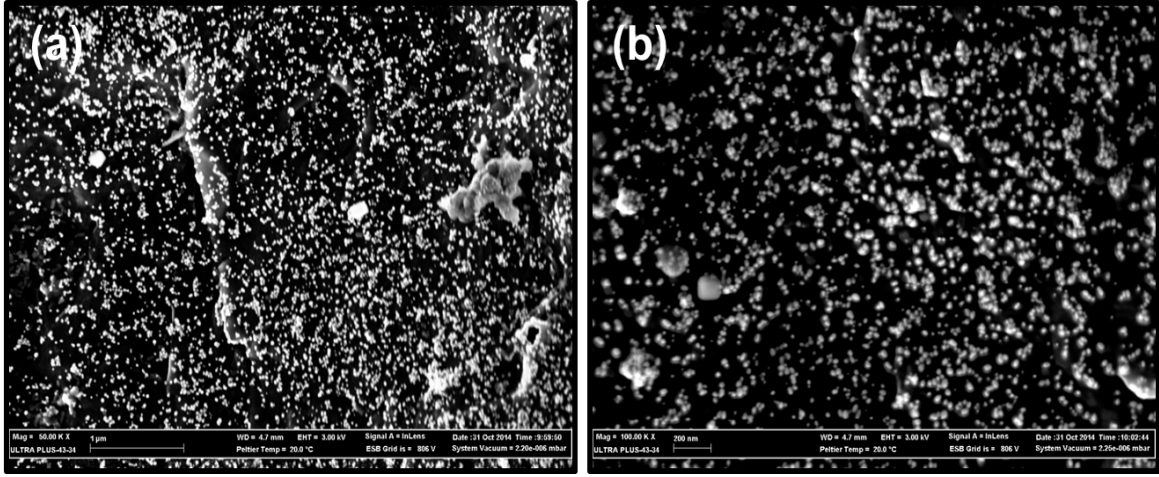


Şekil 4.2. Sitrat indirgeme yöntemiyle sentezlenen AuNP için elde edilen UV-vis spektrumu

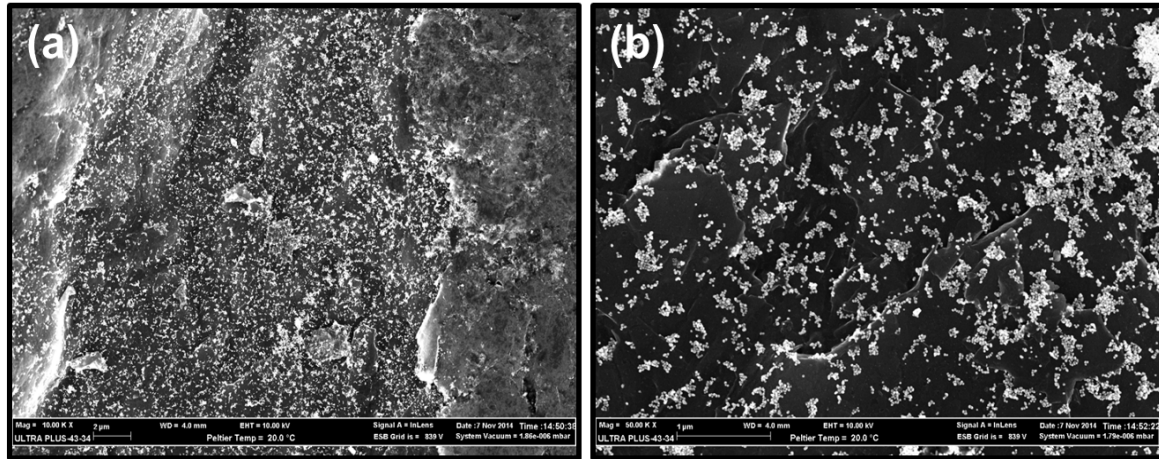


Şekil 4.3. Sitrat indirgeme yöntemiyle sentezlenen AgNP için elde edilen UV-vis spektrumu

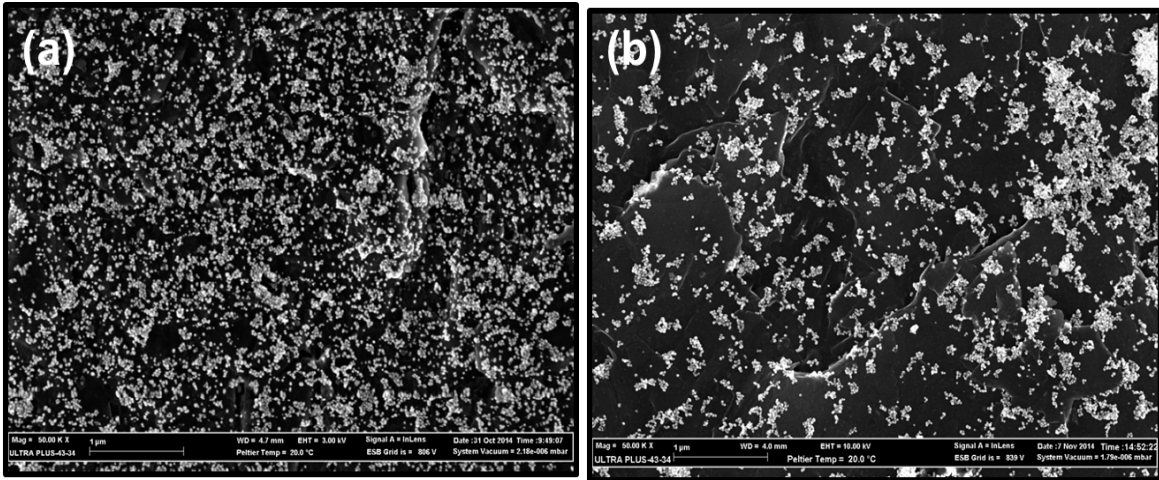
AuNP ve AgNP sitrat indirgeme yöntemiyle üretildikten sonra bu nanopartiküller PDA@KGE yüzeyler ile biraraya getirilerek, yüzey dekorasyonu sağlanmıştır. Her iki nanopartikülün yüzeydeki katekol ve amin gibi fonksiyonel gruplar üzerinden bağlanabildiği bilinmektedir [13]. Farklı nanopartikül yoğunlukları ve morfolojilerinin incelenebilmesi amacıyla farklı birikme süreleri (3, 12, 24 saat) için yüzeyler nanopartikül dispersiyonlarıyla bir arada tutulmuştur. AuNP için 3, 12 ve 24 saat birikim süreleri için elde edilen SEM görüntüleri sırasıyla Şekil 4.4, Şekil 4.5 ve Şekil 4.6'da verilmiştir. Karşılaştırma ve daha detaylı inceleme yapılabilmesi amacıyla her bir set için farklı büyütmelerde görüntülere yer verilmiştir. Görüntüler dikkatle incelendiğinde tüm birikme sürelerinde PDA@KGE yüzeyinde AuNP birikiminin yoğun bir şekilde gerçekleştiği görülmektedir. Düşük birikme sürelerinde (3 saat, Şekil 4.4) nanopartiküller birbirlerinden ayrık ve homojen dağılımdayken, yüksek birikme sürelerinde (12 ve 24 saat, Şekil 4.5 ve Şekil 4.6) nanopartiküller yüksek yüzey enerjileri ve yoğun birikimden dolayı bir araya gelerek topaklanma (aggregation) oluşturmuşlardır [103]. Bu durum ileriki bölümlerde anlatılan elektrokimyasal sensor testlerinde önemli değişimlere neden olmaktadır.



Şekil 4.4. Farklı büyütme oranlarında elde edilen biriktirme yöntemiyle 3 saat AuNP ile kaplanan PDA@KGE yüzeylerin SEM görüntüleri ((a, x50000) (b, x100000))

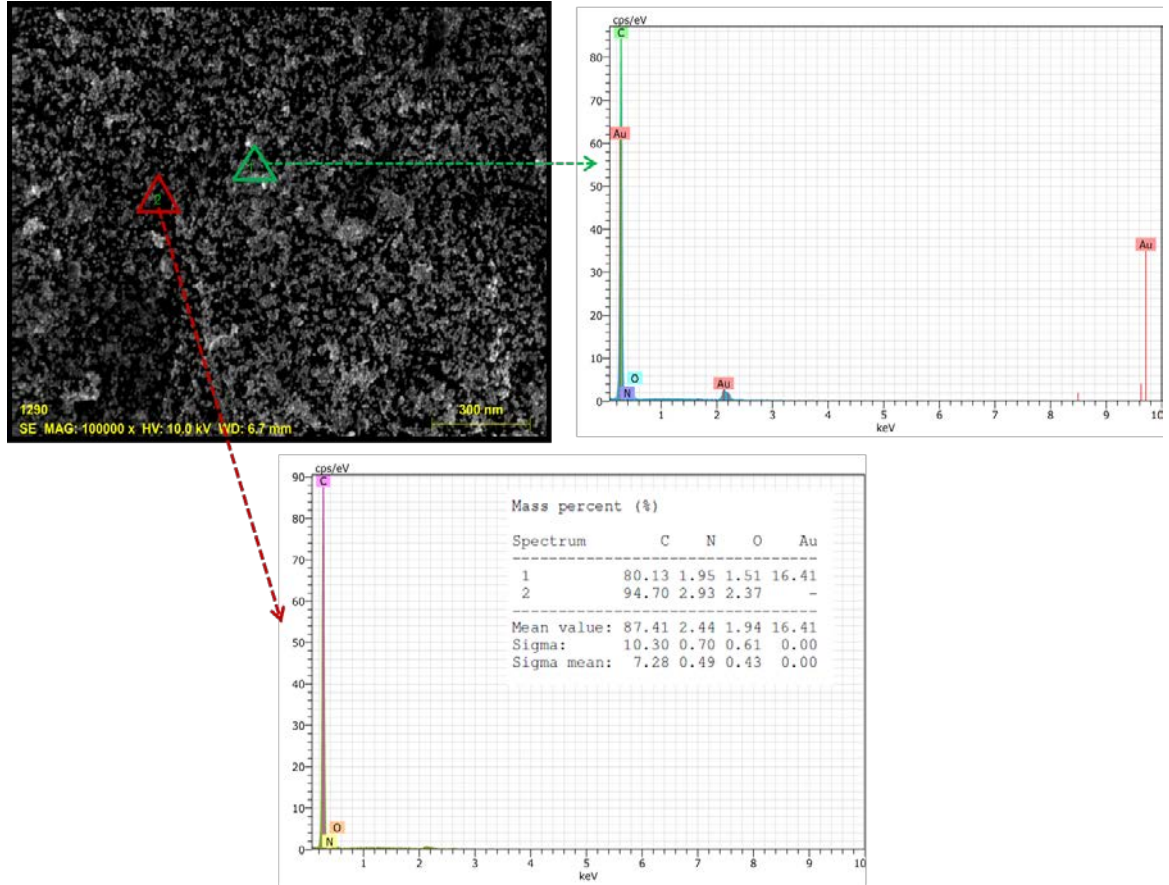


Şekil 4.5. Farklı büyütme oranlarında elde edilen biriktirme yöntemiyle 12 saat AuNP ile kaplanan PDA@KGE yüzeylerin SEM görüntüleri ((a, x10000) (b, x50000))

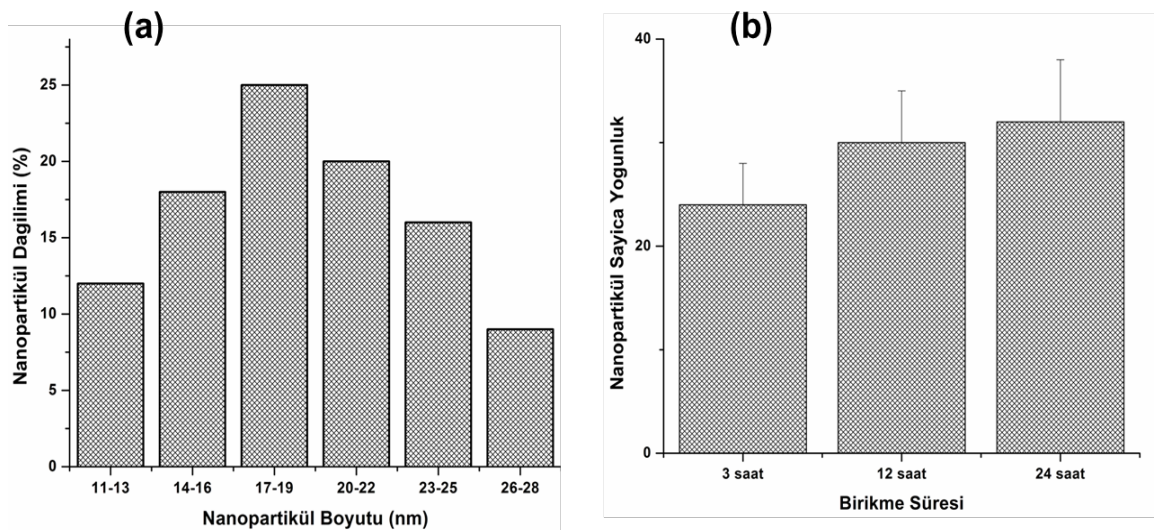


Şekil 4.6. Farklı büyütme oranlarında elde edilen biriktirme yöntemiyle 24 saat AuNP ile kaplanan PDA@KGE yüzeylerin SEM görüntüleri ((a, x50000) (b, x100000))

Yüzeydeki nanoyapıların AuNP kaynaklı olduğunu ve PDA'nın KGE yüzey üzerinde kaplanmasına bağlı olduğunu göstermek amacıyla SEM cihazı üzerindeki EDX aparatı kullanılarak ve farklı bölgelerden spotlar alınarak elementel analiz yapılmıştır. AuNP için kullanılan yüzeyin SEM görüntüsü, alınan spot bölgeleri ve bunlara karşılık gelen EDX spektrumları Şekil 4.7'de verilmiştir. Ayrıca herbir spot için elde edilen elementel analiz sonucu iç-pencere olarak gösterilmiştir. AuNP'lerin yoğun olduğu (1) nolu spot için yoğun Au piki gözlenmiş ve elementel analiz sonucu % 16.41 Au belirlenmiştir. AuNP görülmeyen (2) nolu spot için ise Au piki gözlenmemiş ve bunun sonucu olarak elementel analizde bu değer sıfır olarak belirlenmiştir. Her iki spot için C, N ve O pikleri gözlenmiştir. C hem KGE ve hem PDA varlığını gösteriyorken, N ve O yüzeyde PDA birikimini ispatlamaktadır. Buradan KGE yüzey üzerinde PDA kaplamasının gerçekleştiğini ve buna bağlı olarak AuNP birikiminin meydana geldiğini rahatlıkla söyleyebiliriz. Ayrıca yine SEM görüntülerinden ImageJ yazılımı kullanılarak nanopartiküllerin boyut ve yoğunluk analizleri yapılmıştır. AuNP için elde edilen sonuçlar Şekil 4.8'de özetlenmiştir. Buradan AuNP'lerin çok dar bir partikül aralığında olduğu (11-28 nm) ve ortalama nanopartikül büyüklüğünün 19 nm olduğunu söyleyebiliriz (Şekil 4.8a). Bu sonuç yukarıda verilen UV-vis analizini destekler niteliktedir. Ayrıca biriktirme süresi arttıkça birim alandaki nanopartikül sayısının arttığını kolaylıkla ifade edebiliriz (Şekil 4.8b). Fakat, yüksek biriktirme değerlerinde sayıca yoğunluk artışına karşılık nanopartiküllerin topaklanarak, kümelenmeler oluşturduklarını unutmamak gerekmektedir.

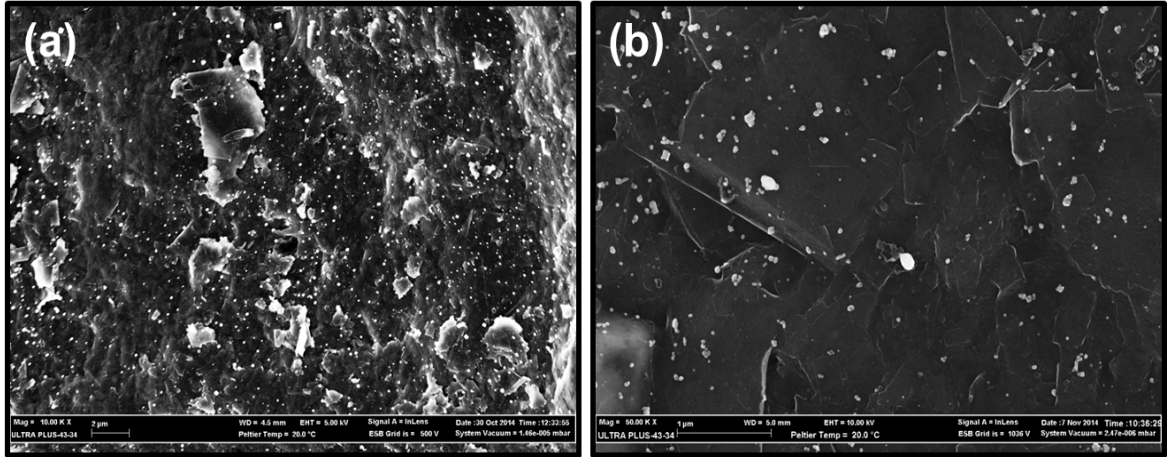


Şekil 4.7. AuNP ile dekore edilmiş (12 saat) PDA@KGE yüzeylerin farklı bölgelerinden alınan EDX spektrumları. Bu bölgeler için alınan elementel kütlece yüzdeleri iç-pencere olarak verilmiştir

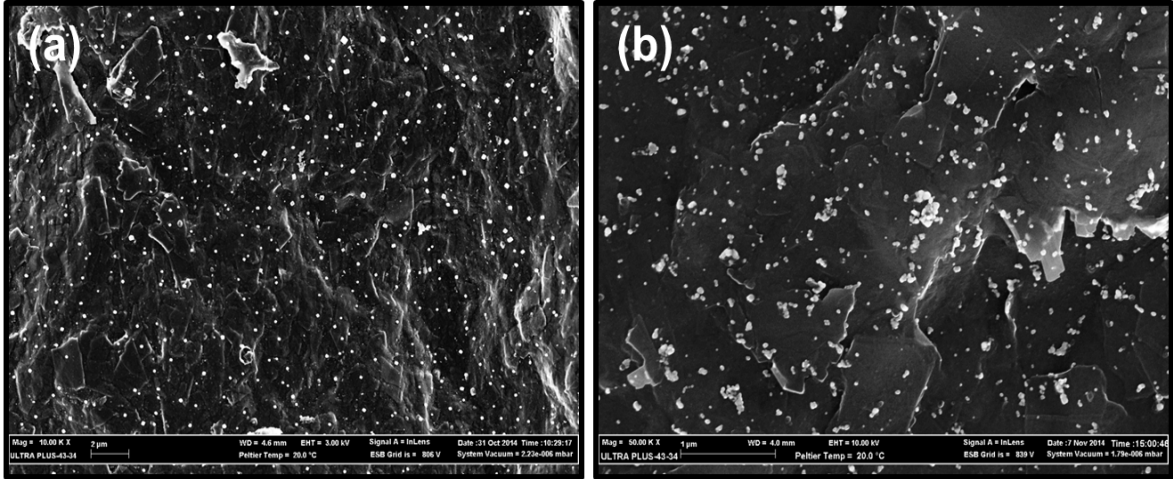


Şekil 4.8. AuNP için boyut dağılımı (a) ve nanopartiküllerin farklı birikme sürelerindeki birim alandaki sayıca yoğunlukları (b)

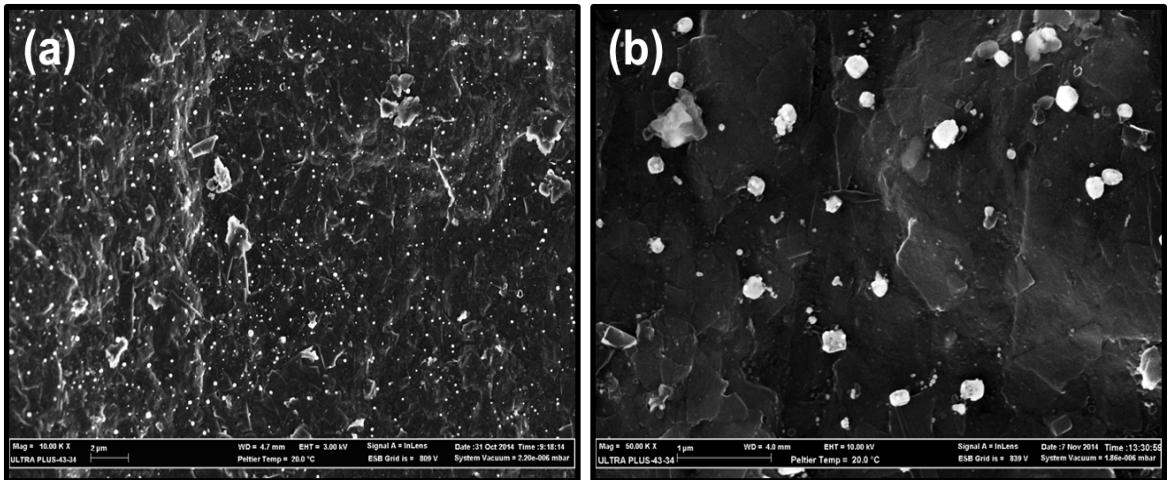
AuNP için yukarıda verilen analiz yöntemleri AgNP için de kullanılmıştır. AgNP için 3, 12 ve 24 saat birikim süreleri için elde edilen SEM görüntüleri sırasıyla Şekil 4.9, Şekil 4.10 ve Şekil 4.11’de verilmiştir. Karşılaştırma ve daha detaylı inceleme yapılabilmesi amacıyla her bir set için farklı büyütmelerde görüntülere yer verilmiştir. Görüntüler dikkatle incelendiğinde AuNP için yaşanan durumun daha yoğun haliyle AgNP için de gerçekleştiğini rahatlıkla söyleyebiliriz. Tüm birikme süreleri PDA@KGE yüzeyinde AgNP birikiminin gerçekleştiği görülmektedir. Düşük birikme sürelerinde (3 saat, Şekil 4.9) nanopartiküller birbirlerinden ayrık ve homojen dağılımdayken, yüksek birikme sürelerinde (12 ve 24 saat, Şekil 4.10 ve Şekil 4.11) nanopartiküller yüksek yüzey enerjileri ve yoğun birikimden dolayı bir araya gelerek topaklanma (aggregation) oluşturmuşlardır. Bu topaklanma durumu özellikle 24 saat birikim süresi (Şekil 4.11) için oldukça şiddetli olmuş, partiküllerin biraraya gelmesine ve partikül yoğunluğunun düşmesine paralel olarak partikül boyutunun önemli ölçüde artmasına sebep olmuştur.



Şekil 4.9. Farklı büyütme oranlarında elde edilen biriktirme yöntemiyle 3 saat AgNP ile kaplanan PDA@KGE yüzeylerin SEM görüntüleri ((a, x10000) (b, x50000))

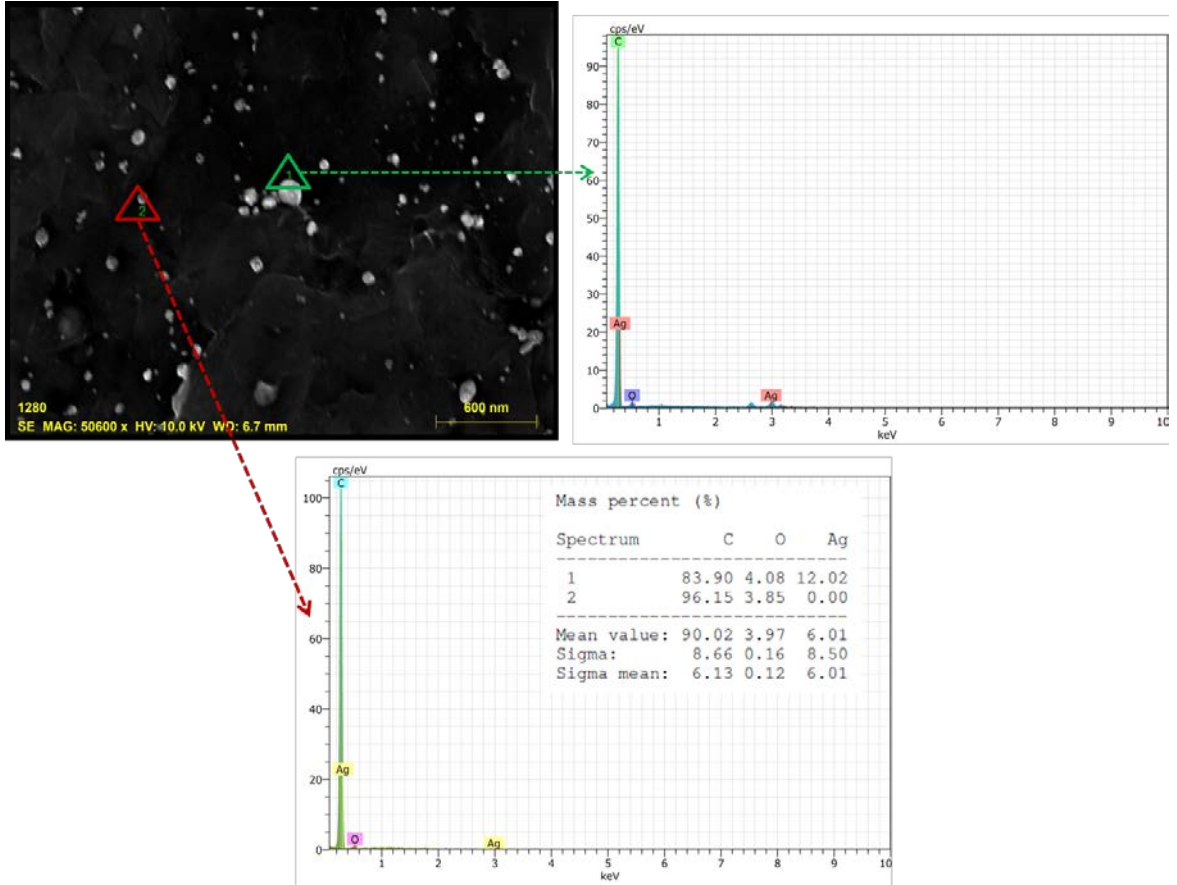


Şekil 4.10. Farklı büyütme oranlarında elde edilen biriktirme yöntemiyle 12 saat AgNP ile kaplanan PDA@KGE yüzeylerin SEM görüntüleri ((a, x10000) (b, x50000))

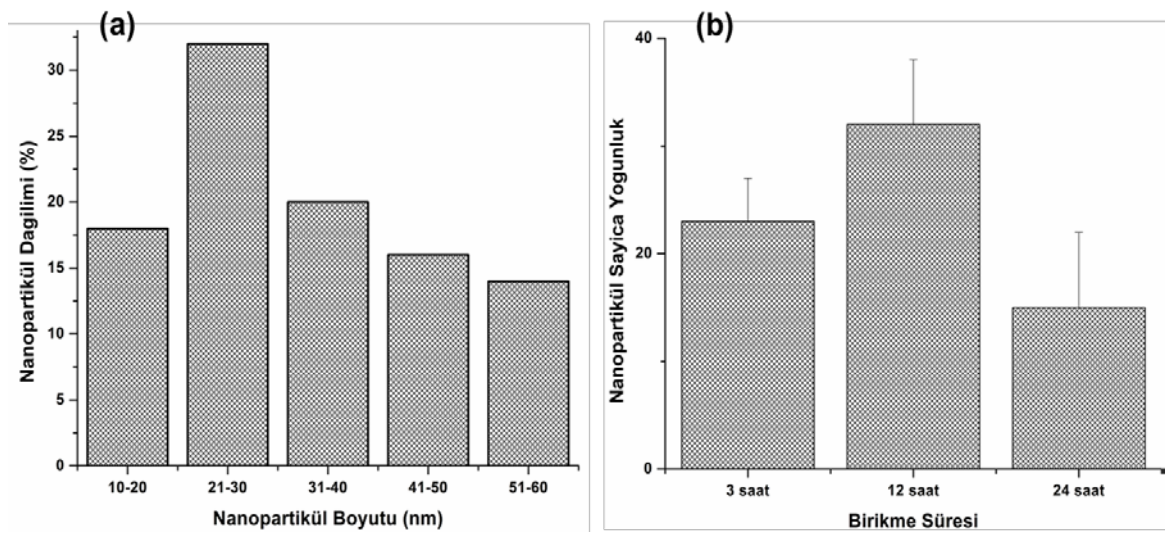


Şekil 4.11. Farklı büyütme oranlarında elde edilen biriktirme yöntemiyle 24 saat AgNP ile kaplanan PDA@KGE yüzeylerin SEM görüntüleri ((a, x10000) (b, x50000))

AgNP için kullanılan yüzeyin SEM görüntüsü, alınan spot bölgeleri ve bunlara karşılık gelen EDX spektrumları Şekil 4.12’de verilmiştir. Ayrıca herbir spot için elde edilen elementel analiz sonucu iç-pencere olarak gösterilmiştir. AgNP’lerin yoğun olduğu (1) nolu spot için yoğun Ag piki gözlenmiş ve elementel analiz sonucu % 12.02 Ag belirlenmiştir. AgNP görülmeyen (2) nolu spot için ise Ag piki gözlenmemiş ve bunun sonucu olarak elementel analizde bu değer sıfır olarak belirlenmiştir. Her iki spot için C, N ve O pikleri gözlenmiştir. C hem KGE ve hem PDA varlığını gösteriyorken, N ve O yüzeyde PDA birikimini ispatlamaktadır. Buradan KGE yüzey üzerinde PDA kaplamasının gerçekleştiğini ve buna bağlı olarak AgNP birikiminin meydana geldiğini rahatlıkla söyleyebiliriz. Ayrıca yine SEM görüntülerinden ImageJ yazılımı kullanılarak nanopartiküllerin boyut ve yoğunluk analizleri yapılmıştır. AgNP için elde edilen sonuçlar Şekil 4.13’te özetlenmiştir. Buradan AgNP’lerin 10-60 nm partikül aralığında ve ortalama nanopartikül büyüklüğünün ise 33 nm (3 saat birikme süresi için) olduğunu söyleyebiliriz (Şekil 4.13a). Bu sonuç yukarıda verilen UV-vis analizini destekler niteliktedir. Biriktirme süresi arttıkça birim alandaki nanopartikül sayısı önce artmakta daha sonra ise azalmaktadır (Şekil 4.13b). Bu durum yukarıda belirtildiği gibi AgNP’lerin yüksek birikim ve yüzey enerjilerine bağlı olarak topaklanma ile biraraya gelerek daha büyük nanopartiküllerin oluşmasını sağlamıştır. 12 ve 24 saat birikme süreleri için ortalama AgNP boyutu sırasıyla 55 ve 132 nm olarak belirlenmiştir.



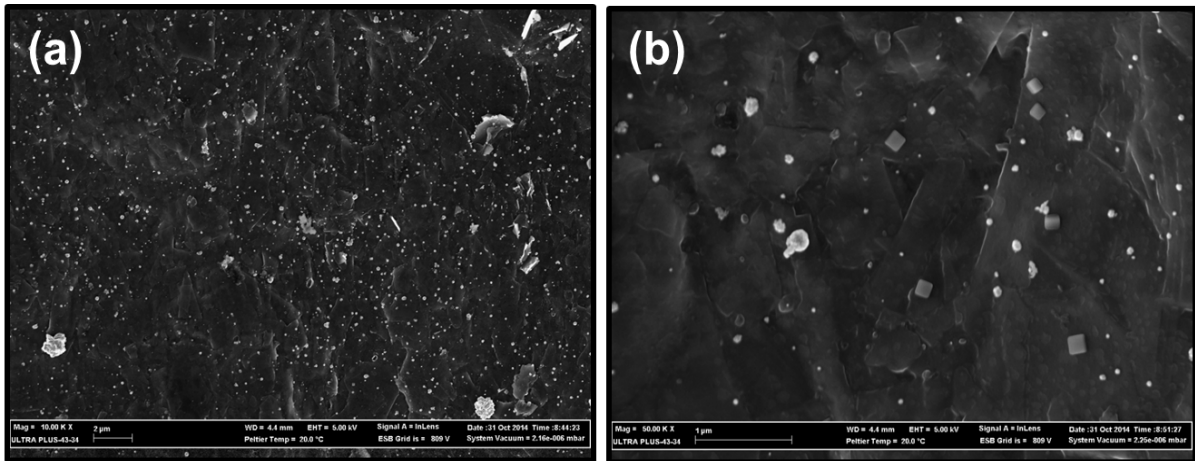
Şekil 4.12. AgNP ile dekore edilmiş (3 saat) PDA@KGE yüzeylerin farklı bölgelerinden alınan EDX spektrumları. Bu bölgeler için alınan elementel kütlece yüzdeleri iç-pencere olarak verilmiştir



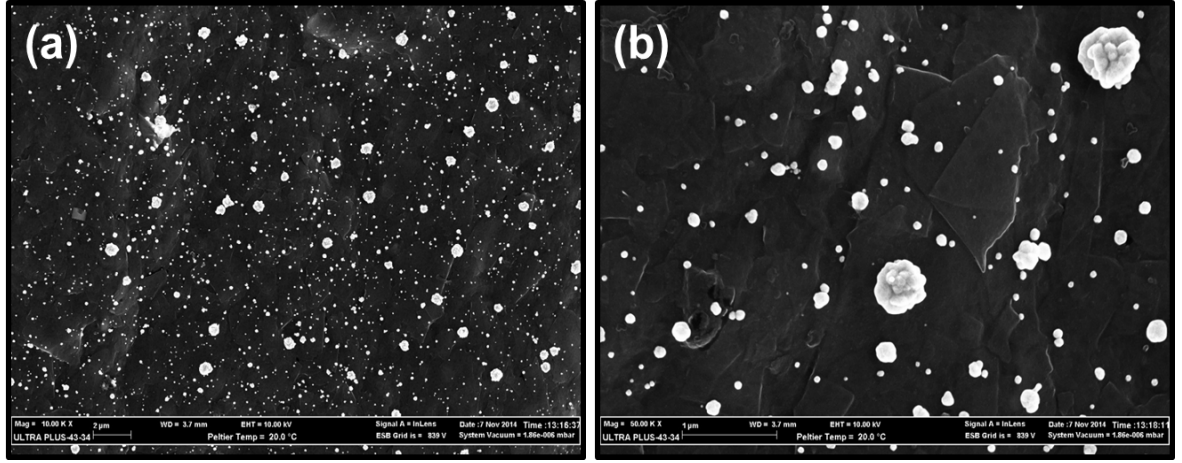
Şekil 4.13. AgNP için boyut dağılımı (a) ve nanopartiküllerin farklı birikme sürelerindeki birim alandaki sayıca yoğunlukları (b)

Metal dekorasyonunu sağlamak amacıyla ikinci yaklaşımda altın ve gümüş iyonları PDA@KGE yüzeylerde indirgenerek nanopartiküller oluşturulmuştur. Bunun için PDA@KGE yüzeyler gümüş nitrat ve aurik asit çözeltilerine daldırılmak suretiyle indirgenmeleri sağlanarak, yüzeyler nanopartiküller ile dekore edilmiştir. İndirgenme PDA üzerinde bulunan katekol ve amin gibi fonksiyonel gruplar yardımıyla olmaktadır [9]. Farklı nanopartikül yoğunlukları ve morfolojilerinin incelenebilmesi amacıyla farklı indirgenme süreleri (3, 12 ve 24 saat) için deneyler yapılmıştır. Bu kapsamda elde edilen sonuçlar aşağıda ayrıntılı olarak ele alınmıştır.

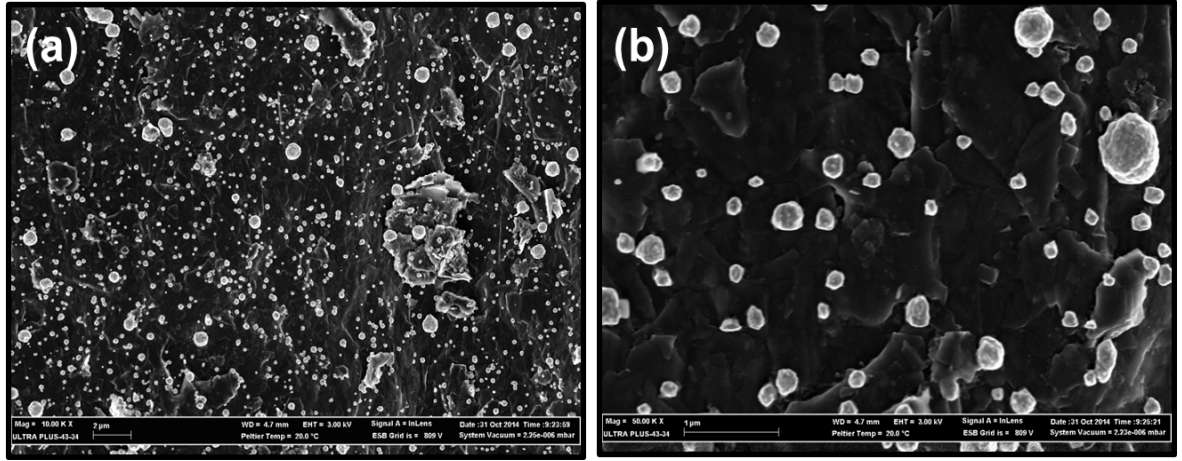
Altın indirgenmesi için 3, 12 ve 24 saat indirgenme süreleri için elde edilen SEM görüntüleri sırasıyla Şekil 4.14, Şekil 4.15 ve Şekil 4.16'da verilmiştir. Karşılaştırma ve daha detaylı inceleme yapılabilmesi amacıyla her bir set için farklı büyütmelerde görüntülere yer verilmiştir. Görüntüler dikkatle incelendiğinde tüm birikme sürelerinde PDA@KGE yüzeyinde altın indirgenmesinin indirgenme süresine bağlı olarak gerçekleştiği görülmektedir. Düşük birikme sürelerinde (3 saat, Şekil 4.14) nanopartiküller birbirlerinden ayrık ve homojen dağılımdayken, yüksek birikme sürelerinde (12 ve 24 saat, Şekil 4.15 ve Şekil 4.16) nanopartiküller yüksek yüzey enerjileri ve yoğun birikimden dolayı bir araya gelerek topaklanma (aggregation) oluşturmuşlardır [103]. Bu durumla ilgili daha ayrıntılı analize ileriki satırlarda yer verilmiştir.



Şekil 4.14. Farklı büyütme oranlarında elde edilen indirgenme yöntemiyle 3 saat altınla kaplanan PDA@KGE yüzeylerin SEM görüntüleri ((a, x10000) (b, x50000))



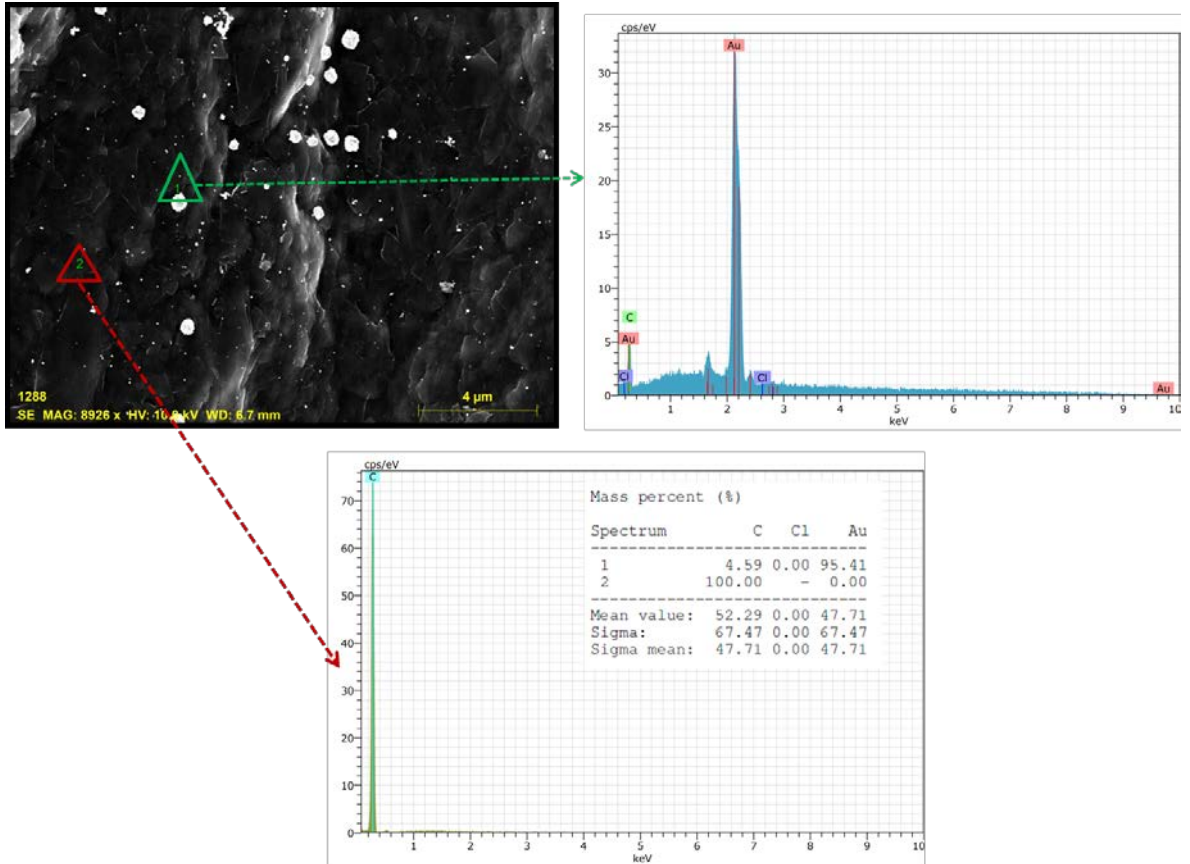
Şekil 4.15. Farklı büyütme oranlarında elde edilen indirgenme yöntemiyle 12 saat altınla kaplanan PDA@KGE yüzeylerin SEM görüntüleri ((a, x10000) (b, x50000))



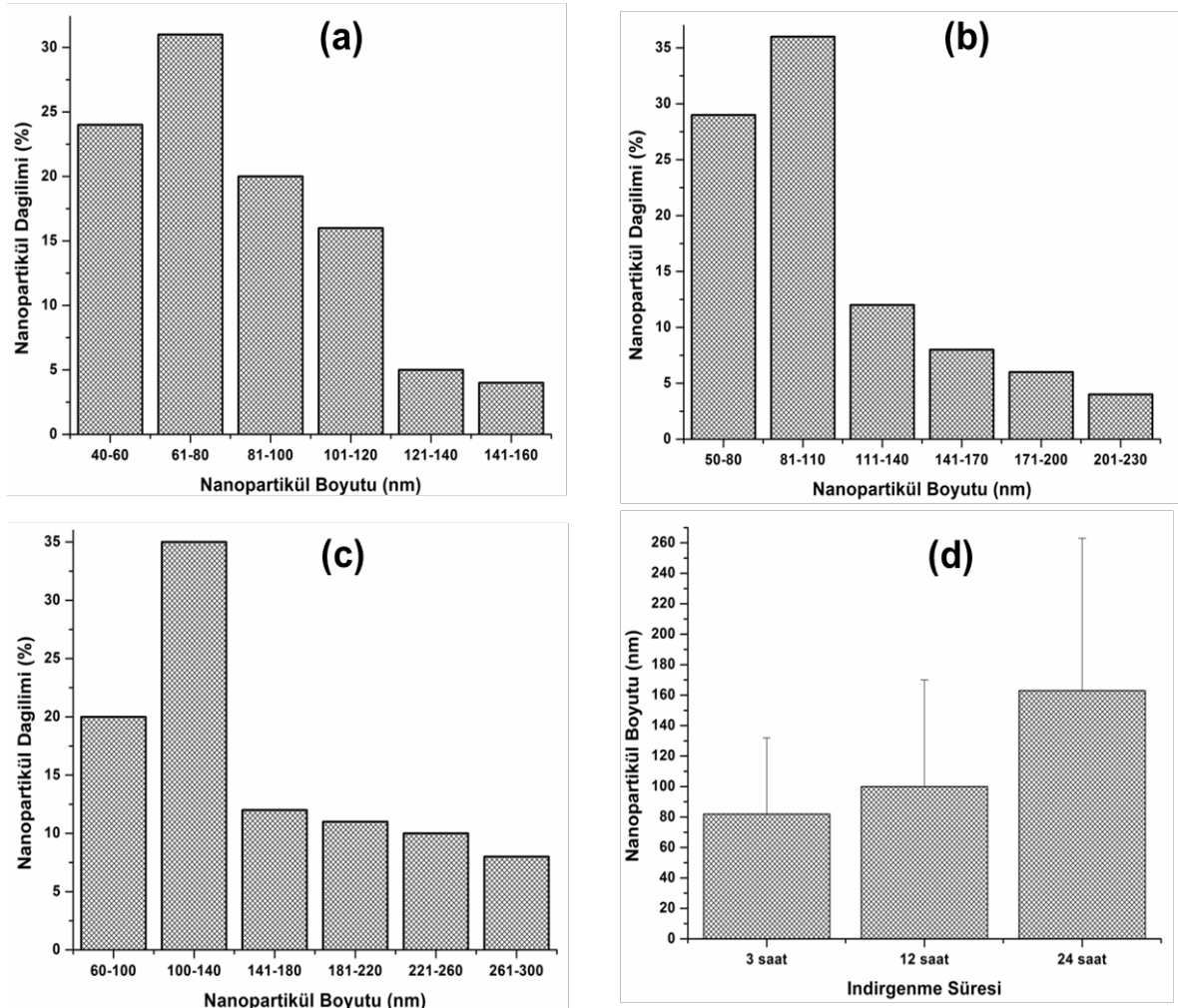
Şekil 4.16. Farklı büyütme oranlarında elde edilen indirgenme yöntemiyle 24 saat altınla kaplanan PDA@KGE yüzeylerin SEM görüntüleri ((a, x10000) (b, x50000))

Yüzeydeki nanoyapıların altın indirgenmesi kaynaklı oluştuğunu ve PDA'nın KGE yüzey üzerinde kaplanmasına bağlı olduğunu göstermek amacıyla SEM cihazı üzerindeki EDX aparatı kullanılarak ve farklı bölgelerden spotlar alınarak elementel analiz yapılmıştır. Altın indirgenmesi için kullanılan yüzeyin SEM görüntüsü, alınan spot bölgeleri ve bunlara karşılık gelen EDX spektrumları Şekil 4.17'de verilmiştir. Ayrıca her bir spot için elde edilen elementel analiz sonucu iç-pencere olarak gösterilmiştir. Altın indirgenmesinin yoğun olduğu (1) nolu spot için yoğun Au piki gözlenmiş ve elementel analiz sonucu % 95.41 Au belirlenmiştir. (2) nolu spot için ise Au piki gözlenmemiş ve bunun sonucu olarak elementel analizde bu değer sıfır olarak belirlenmiştir. Her iki spot için C, N ve O pikleri gözlenmiştir. C hem KGE ve hem PDA varlığını gösteriyorken, N ve O yüzeyde PDA birikimini ispatlamaktadır. Buradan KGE yüzey üzerinde PDA kaplamasının gerçekleştiğini

ve buna bağı olarak altın indirgenmesinin meydana geldiğini rahatlıkla söyleyebiliriz. Ayrıca yine SEM görüntülerinden ImageJ yazılımı kullanılarak nanopartiküllerin boyut analizleri yapılmış ve elde edilen sonuçlar Şekil 4.18’de özetlenmiştir. Buradan indirgenme süresinin artışına paralel olarak nanopartikül boyutu artmıştır. Bu duruma zamana bağı olarak daha çok altın iyonunun partikül yüzeyinde indirgenerek büyümeye neden olması gösterilebilir [103]. 3 (Şekil 18a), 12 (Şekil 18b), ve 24 saat (Şekil 18c) indirgenme süreleri için ortalama nanopartikül boyutları sırasıyla 82, 100 ve 163 nm olarak belirlenmiştir (Şekil 4.18d). Ayrıca indirgenme süresi arttıkça birim alandaki nanopartikül sayısı önce artmış sonra ise azalmıştır. Birim alandaki nanopartikül sayısı 3, 12 ve 24 saat için sırasıyla 21, 33 ve 15 olarak belirlenmiştir. AgNP biriktirmesine benzer şekilde uzun sürelerde artan nanopartikül sayısına bağı olarak topaklanma sonucu nanopartiküllerin biraraya geldikleri düşünülmektedir. Böylelikle daha çok indirgenen altın iyonuna karşılık daha az partikül çok daha büyük boyutlarda oluşmaktadır.

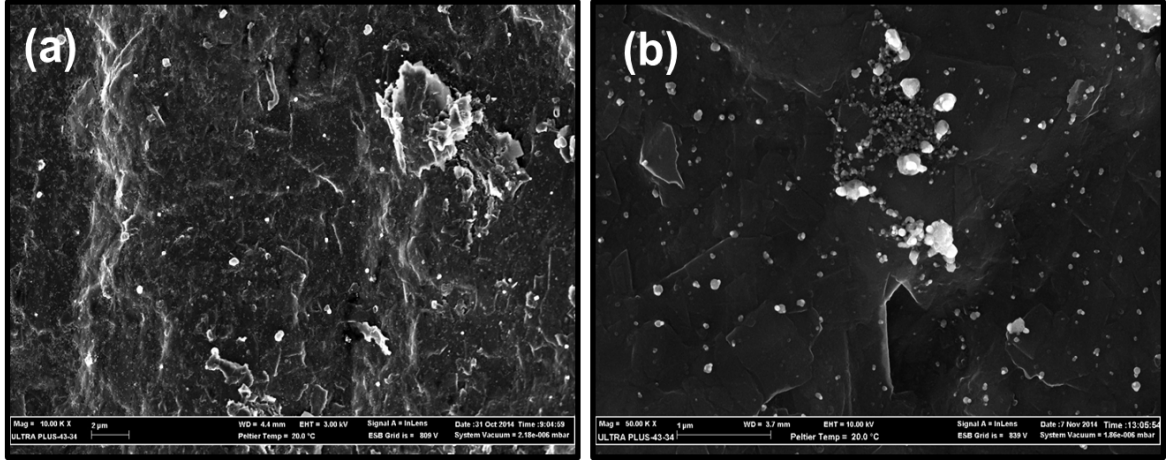


Şekil 4.17. İndirgenme yöntemiyle altın dekore edilmiş (24 saat) PDA@KGE yüzeylerin farklı bölgelerinden alınan EDX spektrumları. Bu bölgeler için alınan elementel kütlece yüzdeleri iç pencere olarak verilmiştir

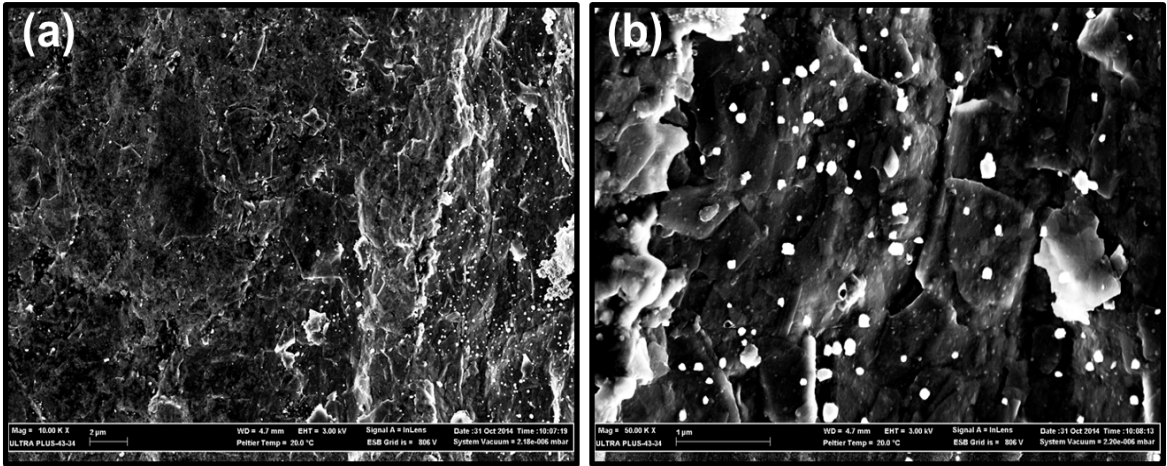


Şekil 4.18. Farklı altın indirgenme sürelerinde elde edilen nanopartiküllerin boyut dağılımı ((a), 3 saat, (b), 12 saat ve (c) 24 saat) ve ortalama boyutların karşılaştırılması (d)

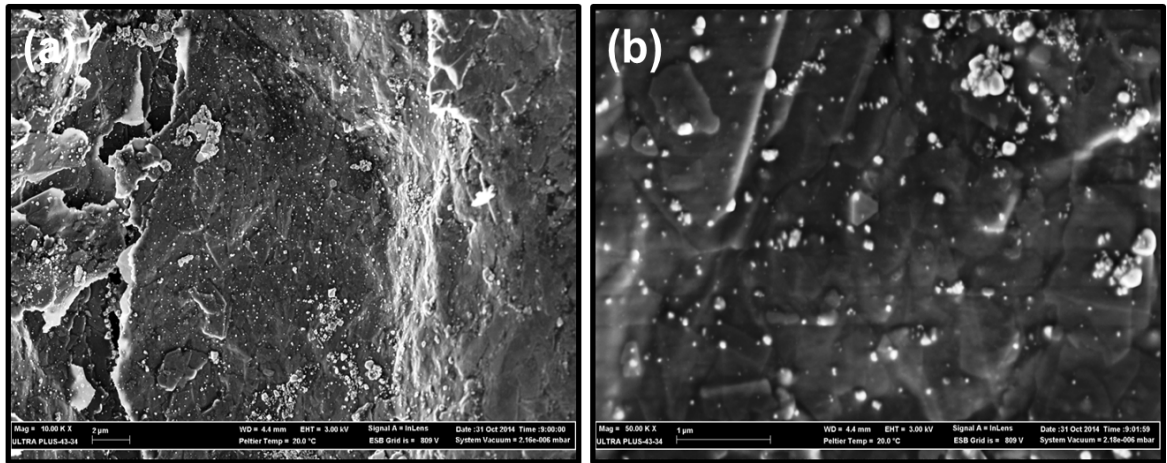
Gümüş indirgenmesi için 3, 12 ve 24 saat indirgenme süreleri için elde edilen SEM görüntüleri sırasıyla Şekil 4.19, Şekil 4.20 ve Şekil 4.21’de verilmiştir. Görüntüler dikkatle incelendiğinde tüm birikme sürelerinde PDA kaplanmış KGE yüzeyinde gümüş indirgenmesinin indirgenme süresine bağlı olarak gerçekleştiği görülmektedir. Düşük birikme sürelerinde (3 saat, Şekil 4.19) nanopartiküller birbirlerinden ayırık ve homojen dağılımdayken, yüksek birikme sürelerinde (12 ve 24 saat, Şekil 4.20 ve Şekil 4.21) nanopartiküller yüksek yüzey enerjileri ve yoğun birikimden dolayı biraraya gelerek topaklanma (aggregation) oluşturmuşlardır [104]. Bu durumla ilgili daha ayrıntılı analize ileriki bölümlerde yer verilmiştir



Şekil 4.19. Farklı büyütme oranlarında elde edilen indirgenme yöntemiyle 3 saat gümüşle kaplanan PDA@KGE yüzeylerin SEM görüntüleri ((a, x10000) (b, x50000))

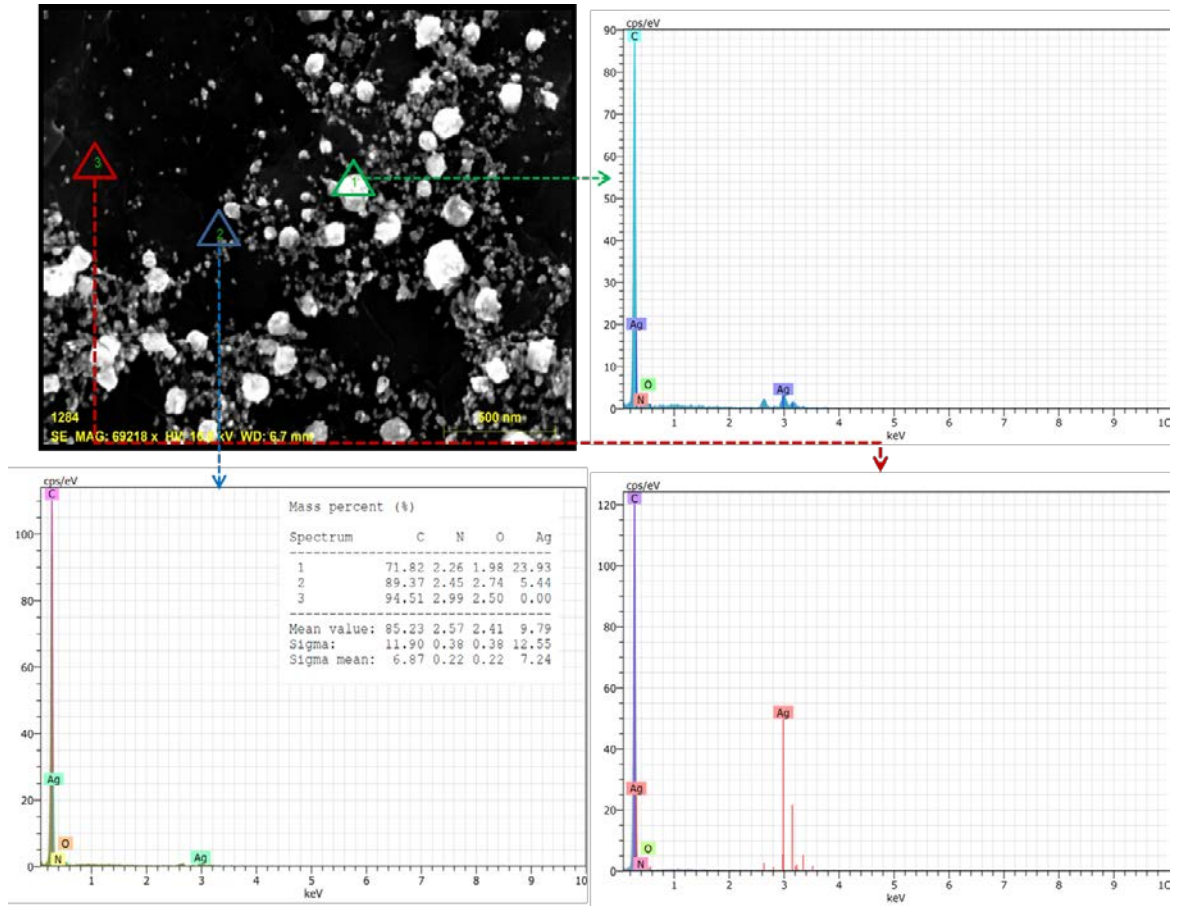


Şekil 4.20. Farklı büyütme oranlarında elde edilen indirgenme yöntemiyle 12 saat gümüşle kaplanan PDA@KGE yüzeylerin SEM görüntüleri ((a, x10000) (b, x50000))

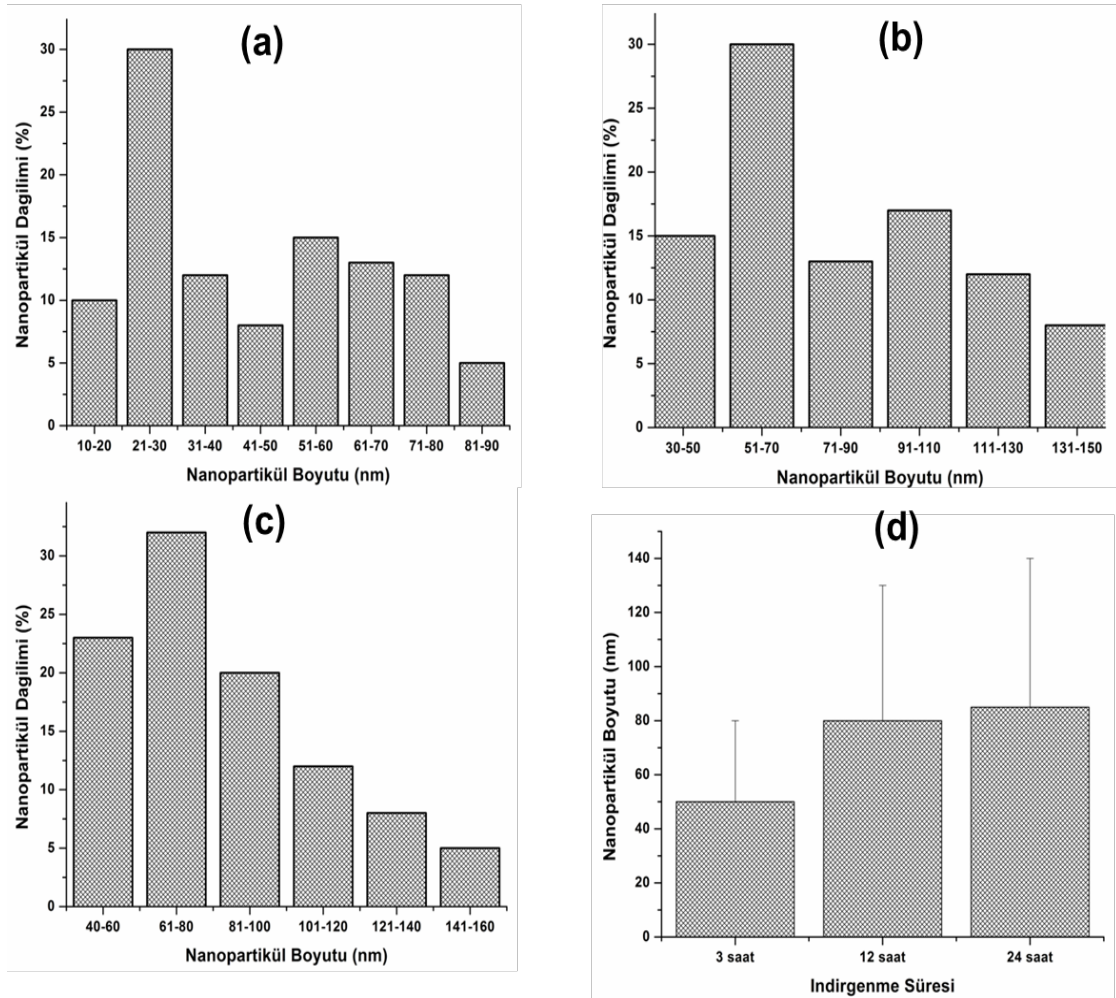


Şekil 4.21. Farklı büyütme oranlarında elde edilen indirgenme yöntemiyle 24 saat gümüşle kaplanan PDA@KGE yüzeylerin SEM görüntüleri ((a, x10000) (b, x50000))

Gümüş indirgenmesi için kullanılan yüzeyin SEM görüntüsü, alınan spot bölgeleri ve bunlara karşılık gelen EDX spektrumları Şekil 4.22’de verilmiştir. Ayrıca her bir spot için elde edilen elementel analiz sonucu iç-pencere olarak gösterilmiştir. Gümüş indirgenmesinin yoğun olduğu (1) ve (2) nolu spot için yoğun Ag pikleri gözlenmiş ve elementel analiz sonucu sırasıyla %23.93 ve %5.44 Ag belirlenmiştir. (3) nolu spot için ise Ag piki gözlenmemiş ve bunun sonucu olarak elementel analizde bu değer sıfır olarak belirlenmiştir. Her üç spot için C, N ve O pikleri gözlenmiştir. C hem KGE ve hem PDA varlığını gösteriyorken, N ve O yüzeyde PDA birikimini ispatlamaktadır. Buradan KGE yüzey üzerinde PDA kaplamasının gerçekleştiğini ve buna bağlı olarak gümüş indirgenmesinin meydana geldiğini rahatlıkla söyleyebiliriz. Ayrıca yine SEM görüntülerinden ImageJ yazılımı kullanılarak nanopartiküllerin boyut analizleri yapılmış ve elde edilen sonuçlar Şekil 4.23’te özetlenmiştir. Buradan indirgenme süresinin artışına paralel olarak nanopartikül boyutu artmıştır. Bu durum zamana bağlı olarak daha çok altın iyonunun partikül yüzeyinde indirgenerek büyümeye neden olması gösterilebilir [104]. 3 (Şekil 23a), 12 (Şekil 23b), ve 24 saat (Şekil 23c) indirgenme süreleri için ortalama nanopartikül boyutları sırasıyla 47, 77 ve 83 nm olarak belirlenmiştir (Şekil 4.23d). Ayrıca indirgenme süresi arttıkça birim alandaki nanopartikül sayısı önce artmış sonra ise azalmıştır. Birim alandaki nanopartikül sayısı 3, 12 ve 24 saat için sırasıyla 32, 41 ve 37 olarak belirlenmiştir. Uzun sürelerde artan nanopartikül sayısına bağlı olarak topaklanma sonucu nanopartiküllerin biraraya geldikleri düşünülmektedir. Böylelikle daha çok indirgenen gümüş iyonuna karşılık daha az partikül çok daha büyük boyutlarda oluşmaktadır.



Şekil 4.22. İndirgenme yöntemiyle gümüş dekore edilmiş (24 saat) PDA@KGE yüzeylerin farklı bölgelerinden alınan EDX spektrumları. Bu bölgeler için alınan elementel kütlece yüzdeleri iç pencere olarak verilmiştir



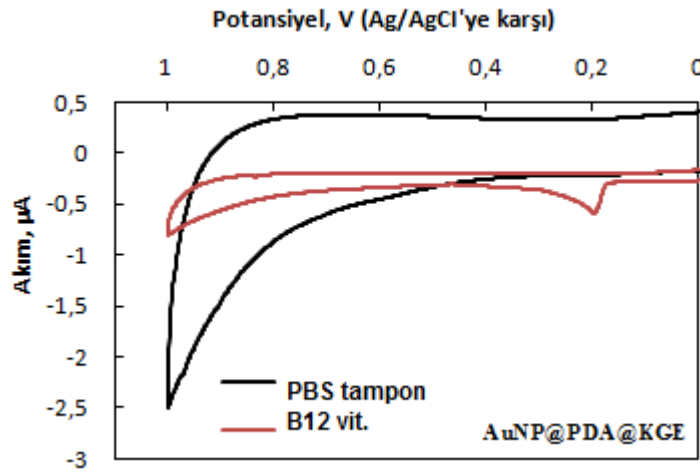
Şekil 4.23. Farklı gümüş indirgenme sürelerinde elde edilen nanopartiküllerin boyut dağılımı ((a), 3 saat, (b), 12 saat ve (c) 24 saat) ve ortalama boyutların karşılaştırılması (d)

Tez kapsamında yukarıda anlatıldığı üzere farklı morfoloji ve yoğunluklarda üretilen altın/gümüş nanokürelerin/nanoparçacıkların PDA@KGE yüzeyleri üzerinde birikimi/indirgenmeleri sağlanarak elde edilen modifiye elektrotların elektrokatalitik etkiyi artırarak daha hassas, seçici ve hızlı tanı yapması beklenmektedir. Buna ilişkin, DA tayininde kullanılan elektroanalitik metotların karşılaştırmalı analizleri ve validasyonu çalışmaları aşağıdaki bölümde ayrıntılı olarak incelenmiştir.

4.2. Kalem Grafit Elektrotlarla Çeşitli Elektroaktif Maddelerin Tayini

Bir önceki kısımda çıplak kalem grafit elektrot ve polidopamin ile modifiye edilmiş kalem grafit elektrotların taramalı elektron mikroskobu (SEM), ile ve enerji dağılımlı X ışını kırınımı (EDX) ile karakterizasyon sonuçlarına ilişkin analizlere yer verilmiştir. Çalışmanın hedef noktası olan tayin aralığını düşürmek ve seçiciliği arttırma gibi niceliklerin ölçüldüğü elektroanalitik yöntemlerden dönüşümlü voltametri (CV), Kare-Dalga Voltametrisi (SWV) ve Diferansiyel Puls Voltametrisi (DPV) yöntemlerine ilişkin sonuçlar ise burada özetlenmiştir.

Yüzeyi modifiye edilmiş kalem grafit elektrotların sensör geliştirilmesinde kullanılması için bazı moleküller ile tayin çalışmaları yapılmıştır. Bunlar potasyumferrosiyanat, B12 vitamin, p-aminobenzoik asit, dopamin gibi elektroaktif maddelerdir. Dönüşümlü voltametri ile modifiye elektrotlarla B-12 vitamini, p-aminobenzoik asit gibi elektroaktif moleküllerin tayinin yapılabilirliği gösterilmiştir. Bütün ilaç etken maddeleri, PBS tampon çözeltisi içerisinde hazırlanmıştır. Bunlardan sadece dopamin'e yönelik sensör geliştirme çalışmaları yapılmış ve yöntem geliştirilmiştir.

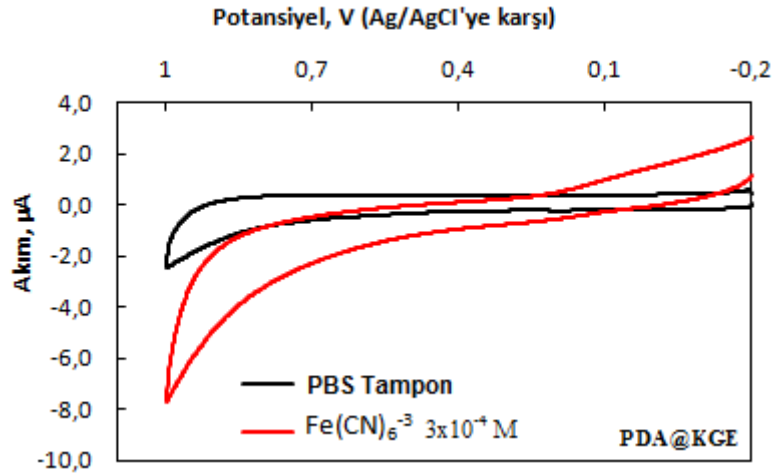


Şekil 4.24. 3×10^{-4} M B12 vitamin molekülünün dönüşümlü voltamogramı

Polidopamin kaplı kalem grafit elektrot yüzeyinde nanopartiküllerin en iyi dağılımını bulmak için altın, gümüş nanopartiküller, AgNO_3 ve HAuCl_4 çözeltilerinin daldırma ile absorpsiyon sürelerinin optimizasyonu yapılmıştır. Bu optimizasyon çalışmaları daha önce bahsedildiği gibi SEM ve EDX analizleri ile desteklenmiştir.

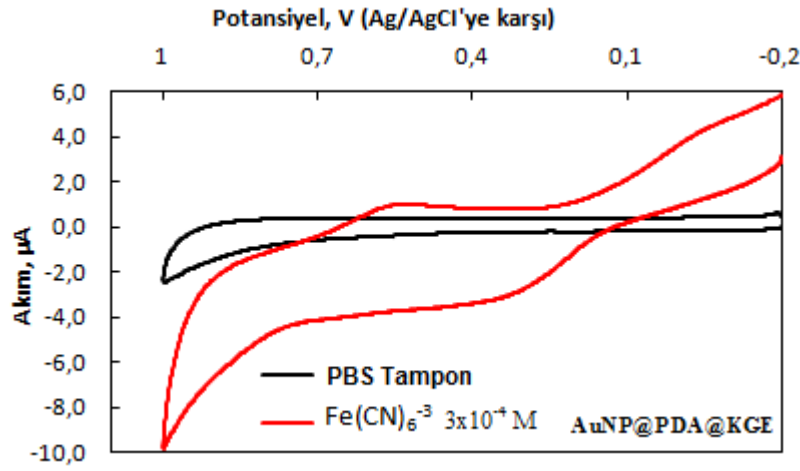
Polidopamin'in yüzeyde biriktirme süresi optimum olarak 3 saat bulunmuştur ve yüzeyde kaplanan film kalınlığı 10 nm olarak belirlenmiştir [102]. Önceki bölümde polidopamin kalınlığını seçme sebebimiz referans verilerek açıklanmıştır.

Düşük biriktirme sürelerinde (3 saat, Şekil 4.4) nanopartiküller birbirlerinden ayırık ve homojen dağılımdayken, yüksek biriktirme sürelerinde (12 ve 24 saat, Şekil 4.5 ve Şekil 4.6) nanopartiküller yüksek yüzey enerjileri ve yoğun birikimden dolayı bir araya gelerek topaklanma (aggregation) oluşturmuşlardır. Bu sonuçlar, referans molekül kullanarak alınan dönüşümlü voltamogramlarda da görülmektedir. Modifiye elektrot yüzeyinde biriken altın ya da gümüş nanopartikül konsantrasyonu ve süresi, voltamogramlarda elde edilen potansiyel ve akımı önemli oranda etkilemektedir.

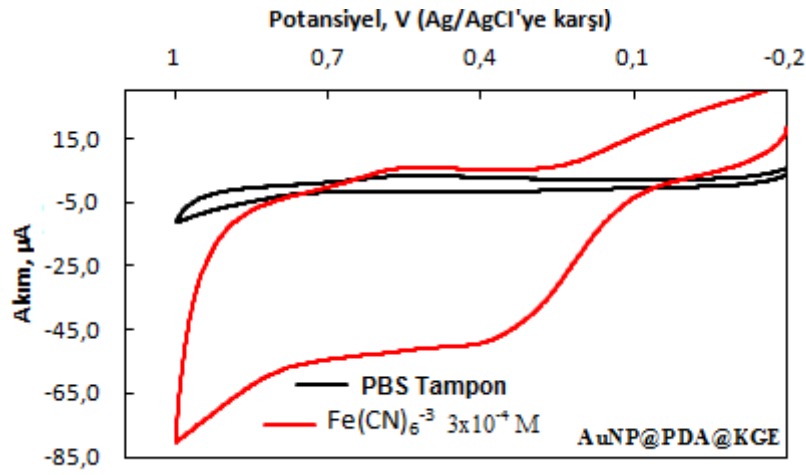


Şekil 4.25. 3×10^{-4} M $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$ molekülünün dönüşümlü voltamogramı; 3 saat boyunca PDA biriktirilen PDA@KGE elektrot yüzeyi

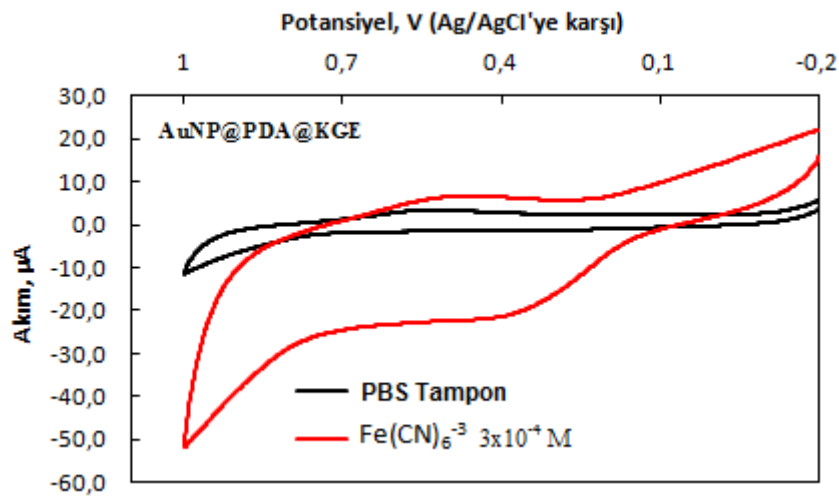
Şekil 4.25'te görüldüğü gibi, yüzeyde altın nanopartikül birikmemiş, polidopamin kaplı kalem grafit elektrot, çözeltide bulunan potasyum ferrosiyanat molekülünü adsorbe etmiştir ve maddeye ait pikin görülmesini engellemiştir. Burada gösterilen voltamogram, polidopamin kaplı kalem grafit elektrot yüzeyini altın ya da gümüş nanopartikül ile kaplama amacını ortaya koymaktadır. Polidopamin filmi aynı fonksiyonla altın ve gümüş nanopartikülleri yüzeyinde adsorbe ederek PDA filminin kapanması sağlanmış ve nanopartiküllerin KGE yüzeylerinde geniş yüzey alanı yaratmasıyla istenilen maddenin elektroanalitik tayininde hassaslığın ve seçiciliğin artmasına olanak sağlanmıştır.



Şekil 4.26. 3×10^{-4} M $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$ molekülünün dönüşümlü voltamogramı; AuNP'nin 3 saat boyunca biriktirildiği AuNP@PDA@KGE yüzeyi



Şekil 4.27. 3×10^{-4} M $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$ molekülünün dönüşümlü voltamogramı; AuNP'nin 12 saat boyunca biriktirildiği AuNP@PDA@KGE yüzeyi

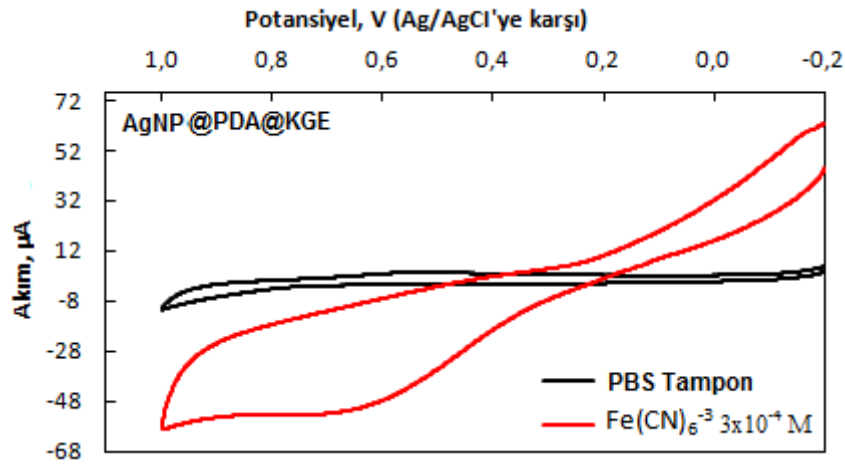


Şekil 4.28. 3×10^{-4} M $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$ molekülünün dönüşümlü voltamogramı; AuNP'nin 24 saat boyunca biriktirildiği AuNP@PDA@KGE yüzeyi

Şekil 4.26'da, 3 saat AuNP biriktirme süresi ile elde edilen potasyum ferrosiyanat dönüşümlü voltamogramında indirgenme ve yükseltgenme piki açık bir şekilde görülürken; Şekil 4.27'de, partikül agregasyonunun SEM görüntüleriyle desteklendiği 12 saat biriktirme süresindeki voltamogramlarda indirgenme piki belirginliğini kaybetmiştir. Ayrıca Şekil 4.28'de, 24 saat boyunca AuNP biriktirilen PDA kaplanmış elektrot yüzeylerine ait 3×10^{-4} M $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$ molekülünün dönüşümlü voltamogramlarında, partikül agregasyonundan kaynaklandığı düşünülen, akımda düşmeye rastlanmıştır.

3×10^{-4} M $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$ molekülünün tersinir elektrot mekanizmasının daha net görülmesi, pik şekli, potansiyeldeki kayma ve akımdaki düşüş değerlendirildiği zaman, en güvenilir sonuçların 3 saat altın nanopartikül biriktirilmesiyle alınacağı belirlenmiştir. Bu yüzden validasyon çalışmaları için, 3 saat boyunca AuNP immobilize edilen PDA@KGE" yüzeyleri kullanılmıştır.

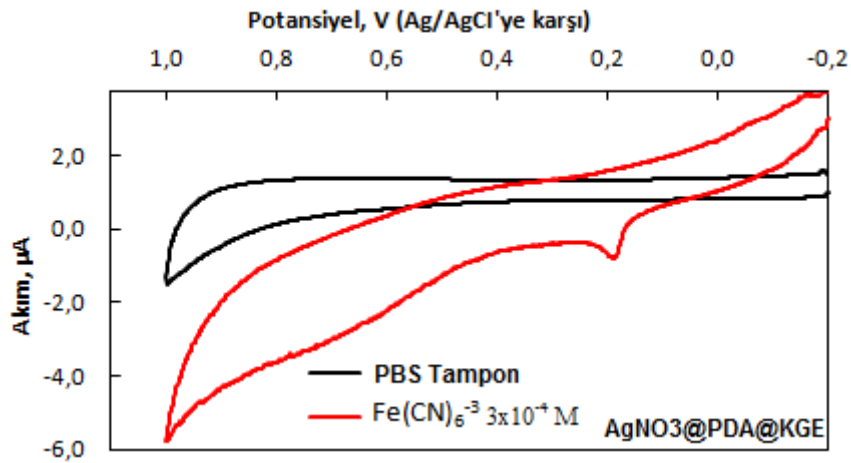
Gümüş nanopartikül ile yapılan deneme sonuçlarında, ilk denemelerde iyi sonuçlar alınsa da, çözelti içinde oksidasyona maruz kalan gümüş nanopartiküllerle yapılan çalışmalar, bozulan elektrot yüzeyi ve akımdaki azalmadan dolayı, daha sonra geliştirilmesi amacıyla ertelenmiş ve ağırlıklı altın nanopartikül modifiye elektrot üzerinde incelemeler yapılmasına karar verilmiştir.



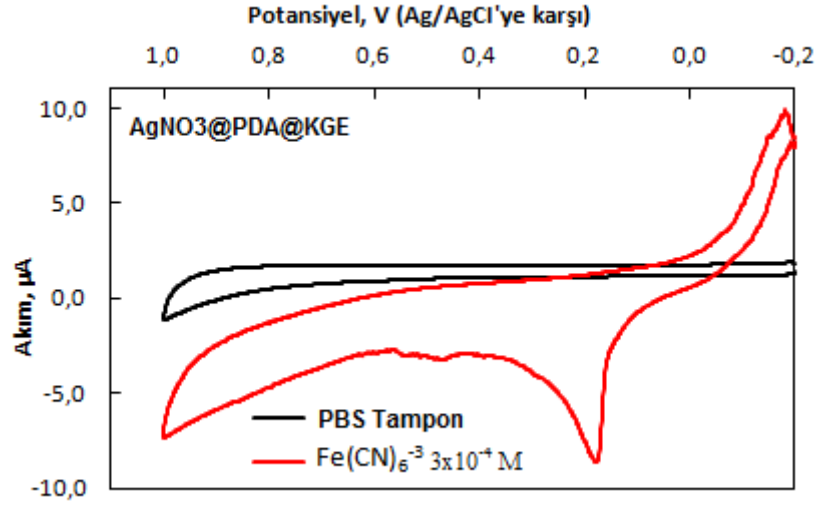
Şekil 4.29. 3×10^{-4} M $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$ molekülünün dönüşümlü voltamogramı; AgNP'nin 3 saat boyunca biriktirildiği AgNP@PDA@KGE yüzeyi

Polidopamin, üzerinde bulunan katekol ve amin grupları ile indirgeyici karakter göstermektedir. Bu özelliğinden yararlanılarak PDA@KGE yüzeylerine Ag ve Au indirgenen elektrotlarla yapılan çalışmalara ilişkin elektroanalitik analizler aşağıda özetlenmiştir.

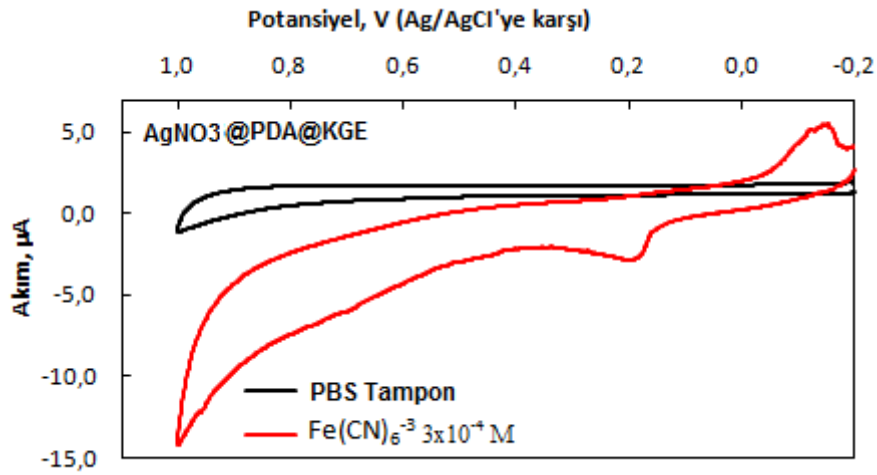
50 mM AgNO₃ ve 10 mM HAuCl₄ çözeltisi içerisine daldırılan, PDA@KGE yüzey karakterizasyonlarına ilişkin SEM ve EDX analizleri Bölüm 4.1’de ayrıntılı olarak ele alınmıştır. Bu analizlerde ispatlandığı üzere elektrot yüzeylerinde, zamanla nanoparçacık sayı ve boyutunda meydana gelen artış ile sensördeki katalitik etkinin artması beklenmektedir. Ancak aşağıdaki grafiklerde görüldüğü üzere, Au ve Ag iyonuna ait pik çok daha net görülürken, potasyum ferrosiyanat’a ait olan pik akımı çok azalmıştır. 3, 12 ve 24 saat yüzeyde biriktirme süreleri sonunda yapılan elektrokimyasal karakterizasyonlarda, Au ve Ag iyonlarının yüzeydeki indirgenmesinin rastgele ve kontrolsüz oluşu nedeniyle PDA@KGE yüzeyinde açık kalan bölgeler olduğu tespit edilmiştir. Açık kalan bu bölgelerde, çok iyi bir adhezif özelliği gösteren PDA ferrosiyanat ile etkileşerek onu adsorbe etmiştir.



Şekil 4.30. 3×10^{-4} M Fe(CN)₆³⁻ molekülünün dönüşümlü voltamogramı, AgNO₃'ün 3 saat boyunca indirgendiği AgNO₃@PDA@KGE yüzeyi



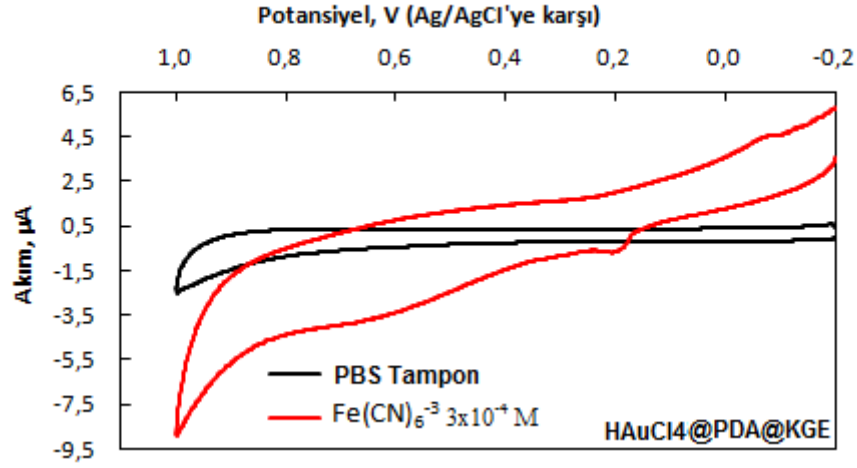
Şekil 4.31. 3×10^{-4} M $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$ molekülünün dönüşümlü voltamogramı, AgNO_3 'ün 12 saat boyunca indirgendiği $\text{AgNO}_3@\text{PDA}@\text{KGE}$ yüzeyi



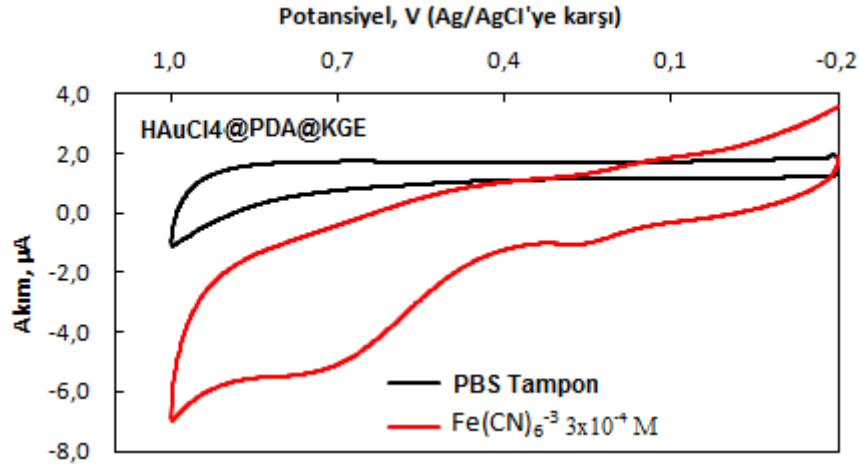
Şekil 4.32. 3×10^{-4} M $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$ molekülünün dönüşümlü voltamogramı, AgNO_3 'ün 24 saat boyunca indirgendiği $\text{AgNO}_3@\text{PDA}@\text{KGE}$ yüzeyi

Şekil 4.31'da 0,2 V civarında görülen keskin pik, gümüş iyonunun yükseltgenme pikidir. 0,5 V civarında görülen küçük pik ise ferrosiyanat molekülüne aittir.

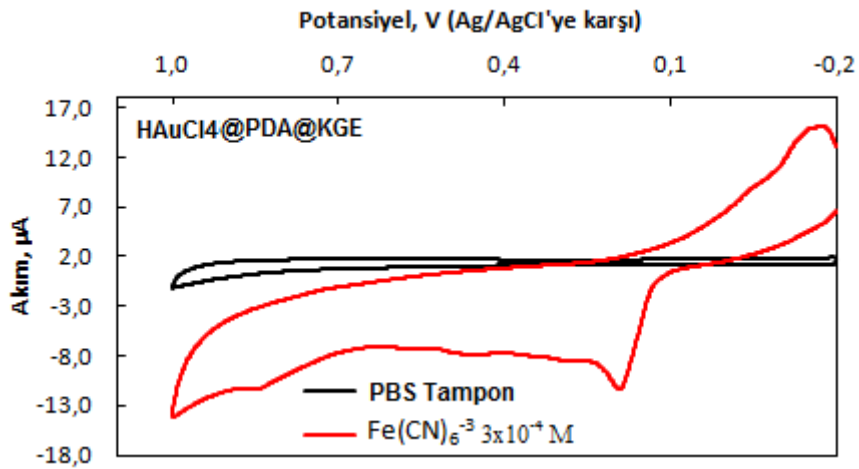
Şekil 4.30, Şekil 4.31 ve Şekil 4.32'de, AgNO_3 çözeltisine daldırılan elektrotlarla alınan ferrosiyanat ve diğer moleküllerin dönüşümlü voltamogram sonuçları kararsız ve düşük akımların görüldüğünü göstermiştir. Bu yüzden daha sonra üzerinde çalışılması düşünüldükçe, $\text{AgNO}_3@\text{PDA}@\text{KGE}$ yüzeyleri ile yapılacak validasyon işlemleri ertelenmiştir.



Şekil 4.33. 3×10^{-4} M $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$ molekülünün dönüşümlü voltamogramı, HAuCl_4 'ün 3 saat boyunca indirgendiği $\text{HAuCl}_4@\text{PDA}@\text{KGE}$ yüzeyi



Şekil 4.34. 3×10^{-4} M $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$ molekülünün dönüşümlü voltamogramı, HAuCl_4 'ün 12 saat boyunca indirgendiği $\text{HAuCl}_4@\text{PDA}@\text{KGE}$ yüzeyi

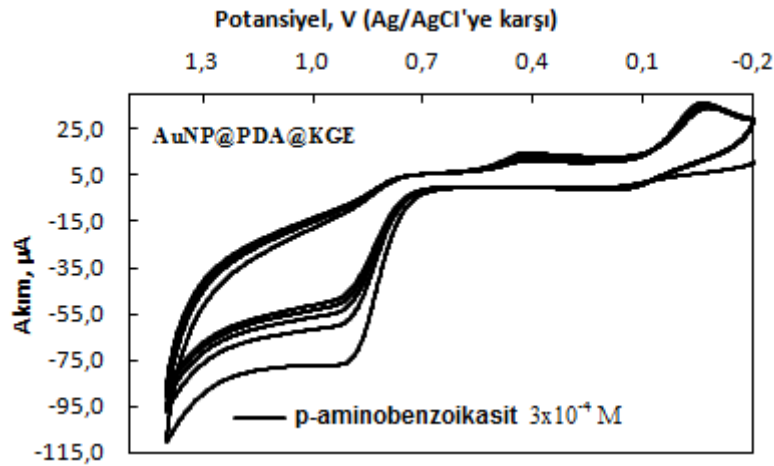


Şekil 4.35. 3×10^{-4} M $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$ molekülünün dönüşümlü voltamogramı, HAuCl_4 'ün 24 saat boyunca indirgendiği $\text{HAuCl}_4@\text{PDA}@\text{KGE}$ yüzeyi

Şekil 4.33'te 3×10^{-4} M $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$ molekülünün, $\text{HAuCl}_4@\text{PDA}@KGE$ üzerinde yükseltgenmesi ile, yalın haldeki KGE'ye (Şekil 4.25) göre akımın düştüğü, Au iyonunun çok iyi indirgenmediği ve yüzeyi tamamen kaplamadığı gözlenmiştir. Ayrıca bu durum Bölüm 4.1'de ayrıntılı olarak ele alınan SEM ve EDX analizleri ile desteklenmiştir. Au iyonlarının özellikle 24 saat indirgenme süresi sonunda agregasyonu, ferrosiyanat molekülüne ait akımdaki azalma ile gözlenmiştir. Dönüşümlü voltametri, kare dalga voltametrisi ve diferansiyel puls voltametrisi ile yapılan tekrar deneylerinde, tekrarlanabilir ve kararlı sonuçlar alınamamasından kaynaklı $\text{HAuCl}_4@\text{PDA}@KGE$ yüzeyleri için validasyon çalışmaları yapılmamıştır.

Gümüş nanopartiküller, sulu çözelti içerisindeki kararsız davranışlarından ötürü, ileri çalışmamızda geliştirilmek suretiyle burada detaylı olarak incelenmemiş ve validasyon çalışmaları yapılmamıştır.

Yukarıda açıklanan nedenlerden ötürü sadece altın nanopartikül immobilize edilmiş polidopamin kaplı, disposable KGE'lerin ($\text{AuNP}@\text{PDA}@KGE$) tanı ve tayin amaçlı kullanımına yönelik incelemeler yapılmıştır.



Şekil 4.36. 3×10^{-4} M p-aminobenzoik asit molekülünün çok döngülü dönüşümlü voltamogramı, AuNP'nin 3 saat boyunca biriktirildiği $\text{AuNP}@\text{PDA}@KGE$ yüzeyi

AuNP@PDA@KGE yüzeyinde yükseltgenme ön çalışmaları yapılan p-aminobenzoik asit, difüzyon etkisi altında absorpsiyon davranışı göstermiştir. Şekil 4.36'da görüldüğü gibi, ön çalışmaları yapılan p-aminobenzoik asit 0,85 V civarında yükseltgenme piki göstermiştir.

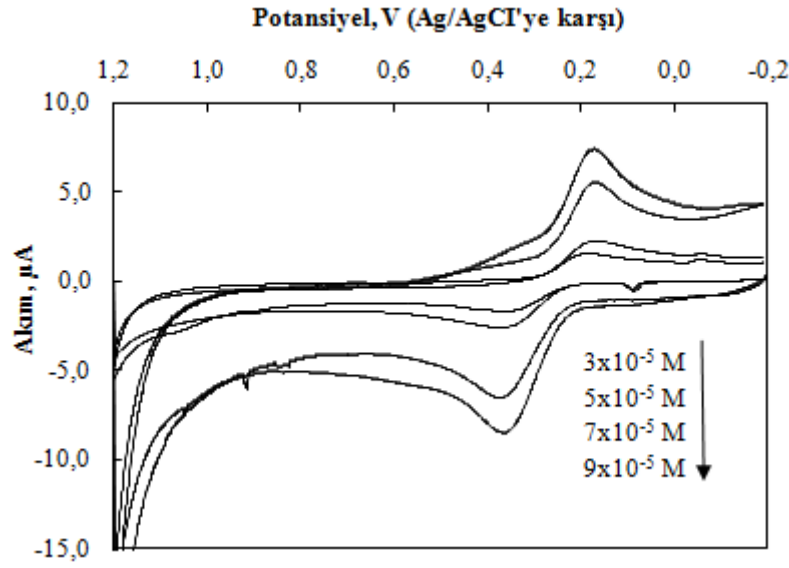
Dopamin (DA), önemli bir nörokimyasal madde olması nedeniyle tayin çalışmalarında öncelikli olarak tercih edilmiştir. Tez kapsamında yapılan çalışmada, voltametrik yöntemler kullanılarak DA molekülünün (Şekil 2.1) KGE yüzeyindeki elektrokimyasal yükseltgenme davranışı incelenmiş ve olası elektrot tepkime mekanizması önerilmiştir. Dopaminin biyolojik örneklerde ve tabletlerde analizi için voltametrik tayin yöntemleri geliştirilmiştir. Voltametrik analizlerde kullanılan KGE, elektrodun mekanik ve elektriksel özelliklerinin iyi olması, geniş potansiyel aralığına sahip olması, kimyasal olarak inertliği ve gazlar için geçirmezlik özelliği sebebiyle tercih edilmiştir.

DA'nın elektrokimyasal davranışının incelenmesinde ilk olarak dönüşümlü voltametri yöntemi kullanılmıştır. Ardından, diferansiyel puls anodik voltametri ve kare dalga anodik voltametri yöntemleri ile tayini için optimum deney koşulları belirlenmiştir. Belirlenen optimum koşullarda, DA içeren ticari ampul ve idrar numunelerinde anodik voltametrik yöntemler ile analiz ve geri kazanım çalışmaları yapılmıştır. Çalışma sonucu elde edilen bulgular aşağıda ayrıntılı şekilde ele alınmıştır.

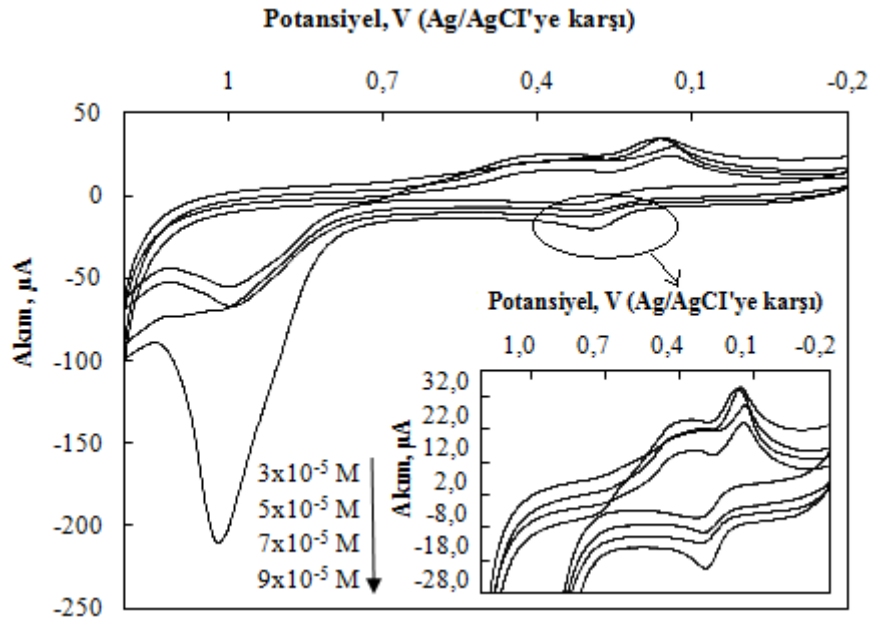
4.2.1. DA'nın Elektrokimyasal Davranışı

DA'nın elektrokimyasal çalışmalarında, öncelikle PBS ortamı için potansiyel penceresi belirlenmiş ve optimum değer olan pH 5,0'de PBS tamponunda farklı derişimlerde hazırlanan çözeltilerinin (-0,2)-(1,2) V aralığında dönüşümlü voltamogramları alınmıştır. Şekil 4.36'da görüldüğü üzere, (-0,2)-(1,2) V aralığında PBS çözeltisinden alınan ölçümlerde herhangi bir anodik pik gözlenmemiştir. Bu çözeltiliye DA ilavesiyle + 0,30 V'luk bir yükseltgenme piki gözlenmiştir. DA derişiminin artması ile bu pikin akımının arttığı belirlenmiştir. Buna göre DA moleküllerinin KGE yüzeyinde yükseltgendiği sonucuna varılmıştır. Ayrıca, + 0,30 V'da DA'ya ait bir anodik pik gözlenirken, katodik bir pike rastlanmıştır ve bu durum DA'nın KGE yüzeyindeki yükseltgenmesinin tersinir olabileceğini

düşündürmüştür.



Şekil 4.37. Farklı derişimlerde DA'nın, PBS ortamında, KGE'de elde edilen dönüşümlü voltamogramları (v : 0,100 V/s, pH: 5,0)



Şekil 4.38. Farklı derişimlerde DA'nın, PBS ortamında, AuNP@PDA@KGE'de elde edilen dönüşümlü voltamogramları (v : 0,100 V/s, pH: 5,0)

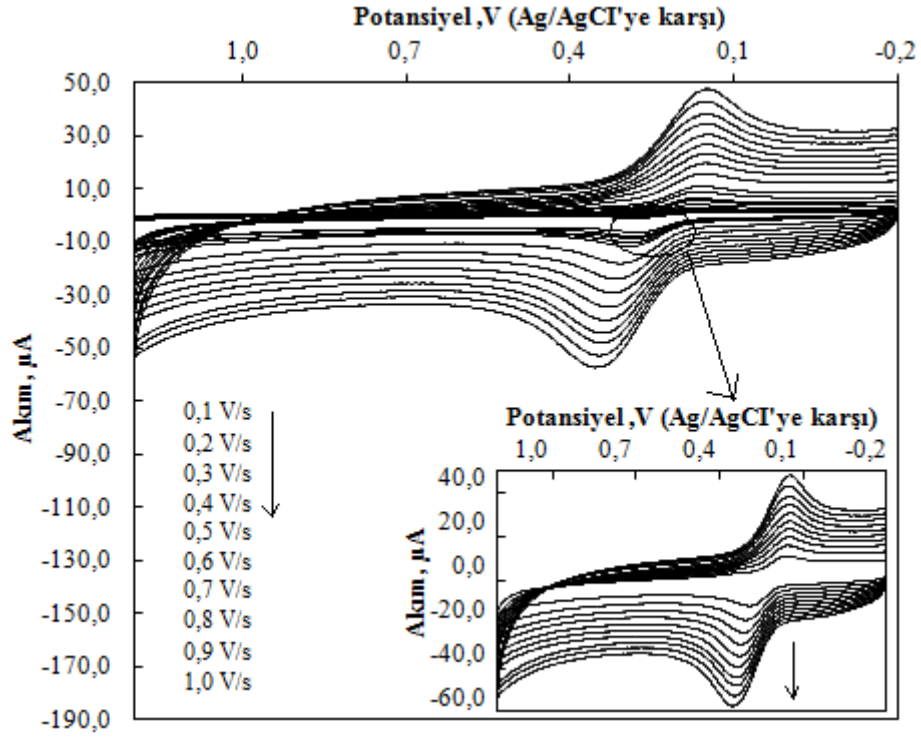
Polidopamin üzerine biriktirilen altın nanopartiküllerin katalitik aktivitesini incelemek amacıyla dönüşümlü voltametri tarama hızı çalışmaları yapılmıştır. Ayrıca bu modifiye elektrot yüzeyinde yükseltgenen dopamine ait pik, konsantrasyon artışıyla teyit edilmiştir.

Şekil 4.37’de yalın haldeki KGE yüzeyinde 0,39 V civarında yükseltgenme potansiyeli gösteren dopamin, Şekil 4.38’de AuNP@PDA@KGE yüzeyinde 0,30 V civarında, daha yüksek akımlarda gözlenmiştir. Yükselen akım ve potansiyelin daha negatif değerlere kayması altın nanopartiküllerin katalitik etkisi ile açıklanabilir.

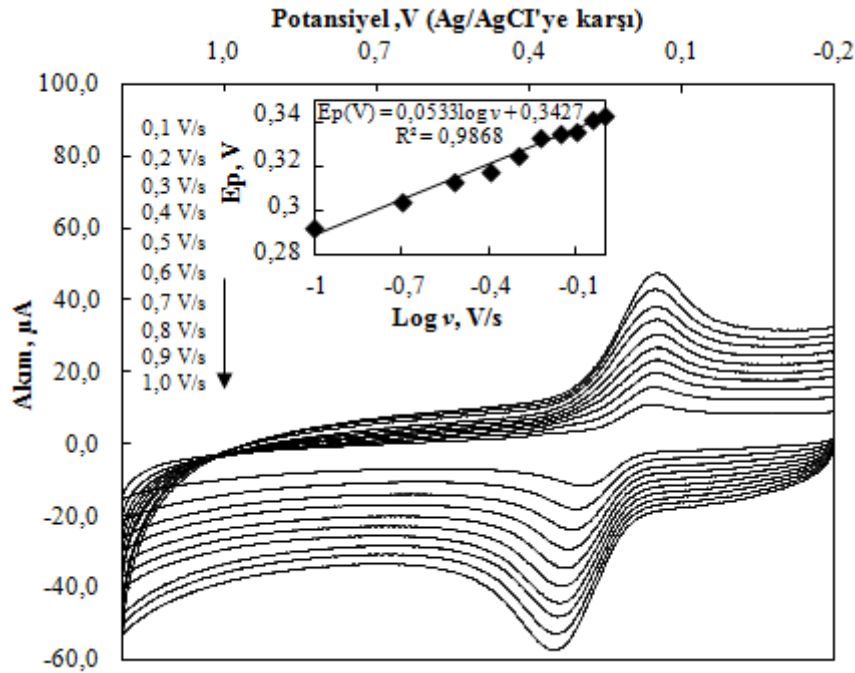
Elektrokimyasal davranışın belirlenmesinde en sık kullanılan yöntemlerden birisi dönüşümlü voltametri yöntemidir. Dönüşümlü voltametri yönteminde elektroda uygulanan potansiyelin zamanla değişim hızını ifade eden tarama hızı çalışması, çalışılan maddenin elektrokimyasal davranışına ve mekanizması ile ilgili birçok bilgiye ışık tutmaktadır [105]. Buna göre, tarama hızının pik potansiyeline ve pik akımına etkisi incelenmiştir.

Şekil 4.39’da 0,5 mM DA içeren çözeltilerin 0,05-10,0 V/s arasındaki farklı tarama hızlarında alınan dönüşümlü voltamogramlarında, tarama hızı arttıkça pik akımlarının arttığı ve pik potansiyelinin anodik değerlere kaydığı görülmektedir.

Tarama hızı ile pik potansiyelinin değişmesi incelenen elektrot reaksiyonunun tersinmez olduğunu göstermektedir [5,96,105]. Tarama hızı ile pik potansiyeli doğrusal değişmediğinden, elektrot yüzeyinde gerçekleşen reaksiyonun tersinir olduğunu söyleyebiliriz.



Şekil 4.39. 0,5 mM DA' nın, PBS ortamında (pH:5,0) KGE yüzeyinde farklı tarama hızlarında (0,05 V/s- 10 V/s) alınan dönüşümlü voltamogramları, iç grafik: 0,1-1 V/s tarama hızlarında alınan voltamogramların net görünümü



Şekil 4.40. 0,5 mM DA' nın, PBS ortamında (pH:5,0) KGE yüzeyinde farklı tarama hızlarında alınan dönüşümlü voltamogramları: iç grafik, anodik pik potansiyelinin tarama hızının logaritması ile değişimi

Tarama hızının pik potansiyeline etkisinin incelenmesi için tarama hızlarının logaritmasına karşı pik potansiyel değerleri grafiğe geçirilmiştir ve pik potansiyelinin tarama hızının logaritması ile $E_p (V) = 0,0533\log v + 0,3427$; $R^2 = 0,9868$ eşitliğine göre ifade edilebileceği görülmüştür (Şekil 4.40, iç grafik). Buna dayanarak, söz konusu $E_p (V) - \log v$ grafik eğimi $59 (mV)/n\alpha$ 'ya eşittir [106]. Bu eşitlikte n ; hız belirleyen basamakta transfer edilen elektron sayısı ve α yük aktarım katsayısıdır. Buna göre $n\alpha$ değeri 0,97 olarak hesaplanmıştır. Buna ilaveten tersinmez elektrot mekanizmalarında pik potansiyeli (E_p) ile yarı pik potansiyeli ($E_{p1/2}$) arasındaki farktan yararlanılarak $n\alpha$ hesaplanmıştır (Eşitlik 4.1).

$$|E_p - E_{p1/2}| = 59/n\alpha (mV) (25^\circ C) \quad (4.1)$$

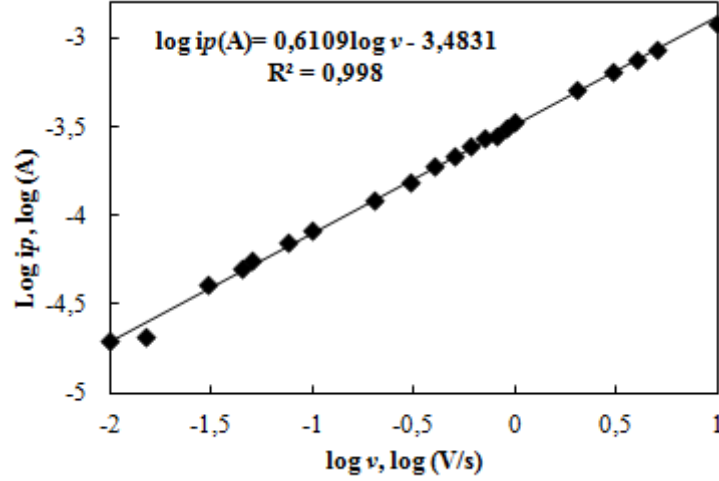
Eşitlikteki formülden hesaplanarak elde edilen sonuçlar Çizelge 4.1'de verilmektedir. Bu eşitliğe göre hesaplanan $n\alpha$ değeri 0,787 olarak bulunmuştur.

Çizelge 4.1. 0,5 mM DA çözeltisinin bazı pik parametrelerinin tarama hızı ile değişimi (CV, KGE)

Tarama hızı, V/s	E_p, V	$E_{p1/2}, V$	$\Delta E, V$	$\Delta E, mV$	$n\alpha = 47,7/\Delta E$
0,01	0,284	0,227	0,0565	56,50	0,844
0,01	0,288	0,227	0,0610	61,00	0,782
0,02	0,273	0,225	0,0475	47,50	1,004
0,03	0,272	0,221	0,0505	50,50	0,945
0,05	0,282	0,225	0,0565	56,50	0,844
0,05	0,282	0,225	0,0565	56,50	0,844
0,08	0,287	0,229	0,0580	58,00	0,822
0,10	0,292	0,232	0,0600	60,00	0,795
0,20	0,305	0,238	0,0665	66,50	0,717
0,30	0,314	0,244	0,0695	69,50	0,686
0,40	0,318	0,249	0,0690	69,00	0,691
0,50	0,325	0,253	0,0720	72,00	0,663
0,60	0,333	0,256	0,0770	77,00	0,619
0,70	0,336	0,260	0,0755	75,50	0,632
0,80	0,337	0,261	0,0755	75,50	0,632
0,90	0,342	0,263	0,0790	79,00	0,604
1,00	0,344	0,266	0,0775	77,50	0,615
2,00	0,378	0,285	0,0925	92,50	0,516
3,00	0,390	0,296	0,0935	93,50	0,510
4,00	0,408	0,309	0,0990	99,00	0,482
5,00	0,422	0,318	0,1040	104,00	0,459
10,00	0,462	0,347	0,1145	114,50	0,417
					Ort: 0,787

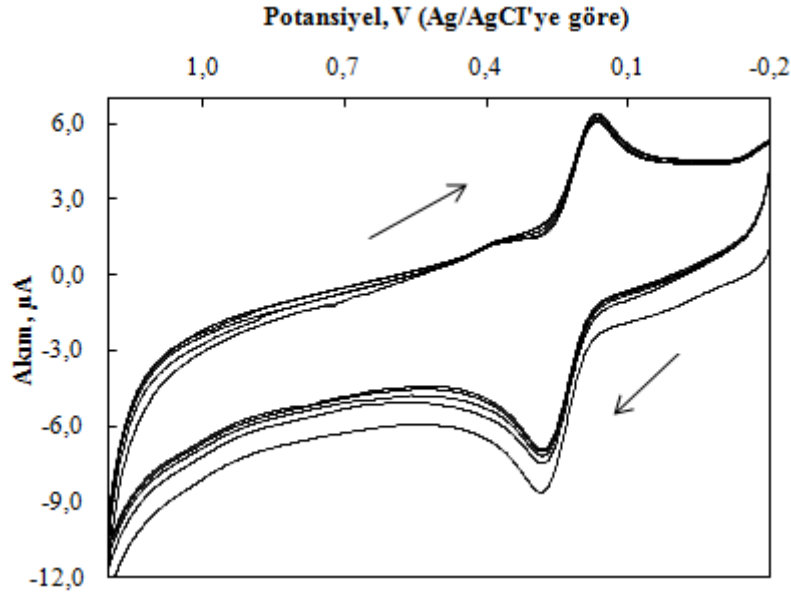
4.2.1.1. DA' nın Adsorpsiyon Özelliği

DA' nın KGE yüzeyinde elektrokimyasal davranışının incelenmesi için yapılan tarama hızı çalışmalarında, tarama hızının pik akımına etkisi incelenmiştir. 0,5 mM DA içeren çözeltiler kullanılarak, farklı tarama hızlarında alınan dönüşümlü voltamogramların pik akımlarının tarama hızı ile değişimini gözlemlemek için log ip- log v grafikleri çizilmiştir (Şekil 4.41).



Şekil 4.41. 0,5 mM DA' nın PBS ortamında KGE yüzeyinde farklı tarama hızlarında alınan dönüşümlü voltamogramlarından elde edilen log ip-log v grafiği (pH:5,0)

Şekil 4.41'de pik akımının logaritma değerlerinin tarama hızının logaritma değerleri ile değişimi incelendiğinde, log ip ve log v arasında, $\log i_p (\log A) = 0,6109 \times \log v (\log V/s) - 3,4831$ ($R^2 = 0,998$) şeklinde ifade edilebilecek bir eşitlik görülmüştür. Difüzyon kontrollü sistemler göz önüne alınarak türetilen ve dönüşümlü voltametrideki pik akımını veren Randless- Sevcik eşitliğine göre, log ip ve log v arasında eğimi 0,5 olan bir doğru elde edilir. Elektrot yüzeyinde adsorpsiyon gerçekleşiyorsa, bu değerden sapmalar meydana gelir ve bu durum söz konusu olduğunda grafiklerin eğimi 0,5'den büyük olur [95]. DA'ya ait log ip ve log v arasındaki eşitliğin eğimi adsorpsiyon kontrollü reaksiyonlar için önerilen 1,0 değeri ile difüzyon kontrollü reaksiyonlar için önerilen 0,5 değerinin arasında ancak 0,5'e yakın bir değerdir. Buna göre, DA' nın elektrokimyasal yükseltgenme reaksiyonunun adsorpsiyon etkisi altında difüzyonun da etkili olduğu düşünülmüştür. Ayrıca, DA'nın elektrot yüzeyindeki adsorpsiyon etkisini değerlendirmek amacıyla, 0,5 mM DA molekülü içeren çözeltinin çok döngülü (5 döngü) dönüşümlü voltamogramı alınmıştır ve akım değerleri incelenmiştir.



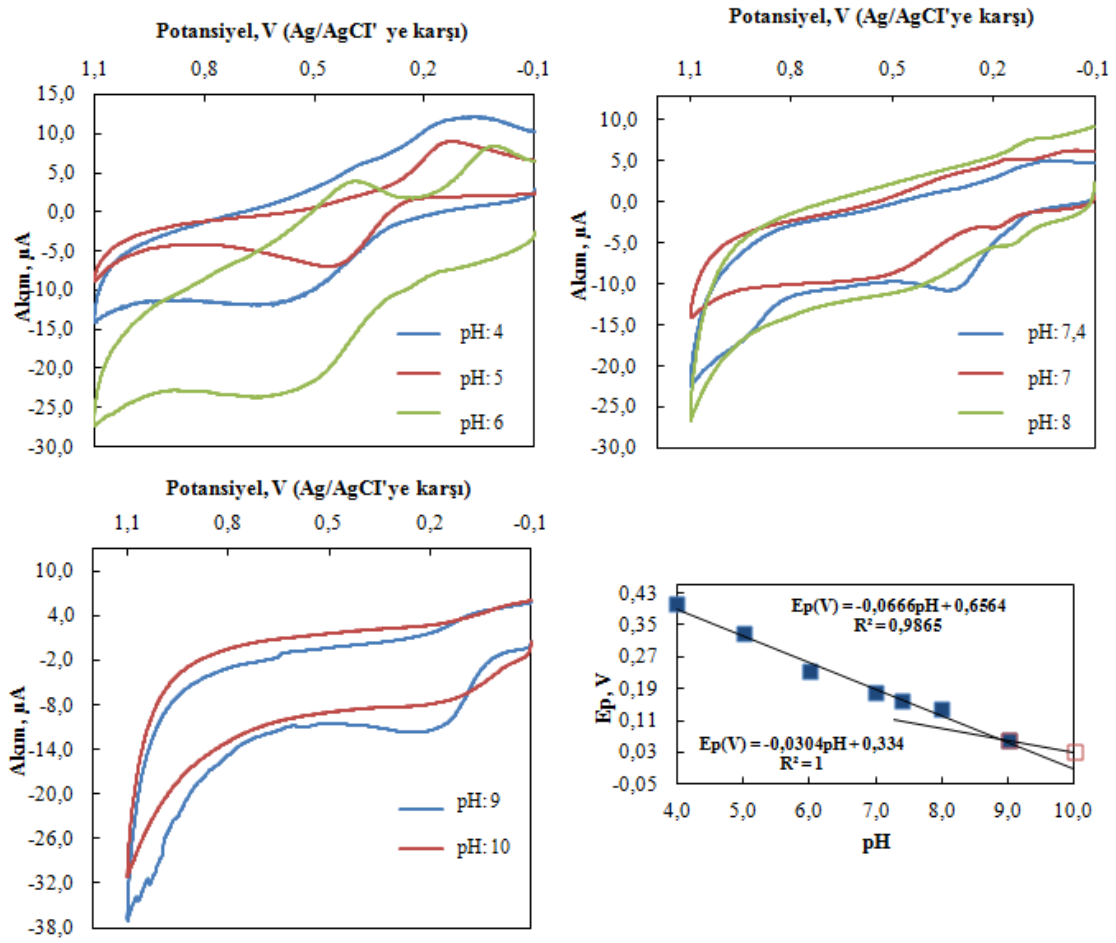
Şekil 4.42. 0,5 mM DA' nın PBS'de, KGE yüzeyinde 5 ardışık döngü ile alınan dönüşümlü voltamogramları (v: 0,05 V/s, pH: 5,0)

Bu çalışmalar sonucunda, Şekil 4.42'de DA'ya ait ilk voltametrik döngüde akım 6.88×10^{-6} A iken, daha sonraki döngülerde akım değerinin azaldığı görülmüştür. Bu durum, DA molekülünün elektrot yüzeyinde adsorbe olduğunu düşündürmüştür. Bu sonuçlara göre, DA molekülünün elektrot reaksiyonunda adsorpsiyonun da etkili olduğu ileri sürülmüştür.

4.2.1.2. pH' nın Pik Akımına ve Pik Potansiyeline Etkisi

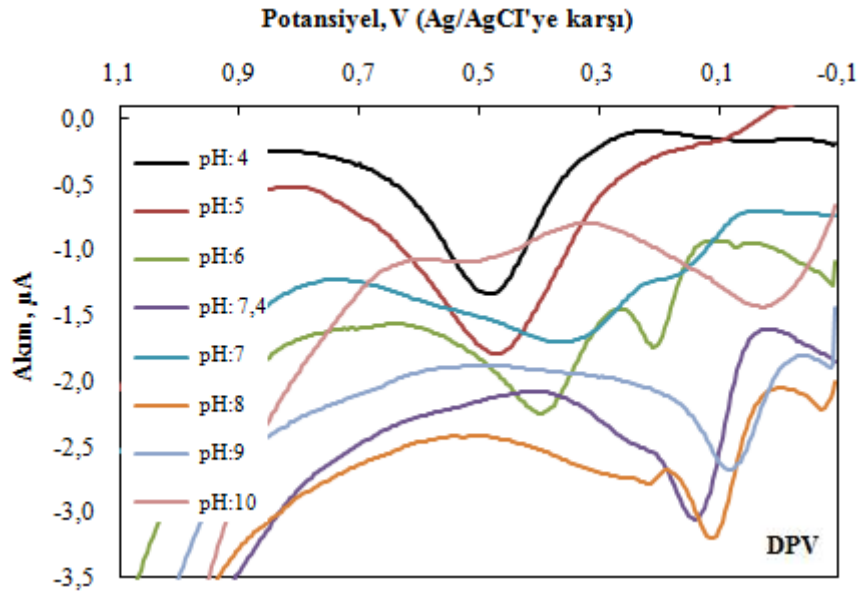
Elektrokimyasal sinyalin konumu (potansiyel) ve şiddetini (akım) değiştirebilen en önemli parametrelerden birisi olarak pH, çalışma ortamında bulunan H^+ iyonları derişiminin DA moleküllerine etkisini incelemek açısından önemlidir.

DA'nın KGE yüzeyindeki elektrokimyasal davranışının ayrıntılı olarak incelenmesinde, pik akımına ve pik potansiyeline pH'nın etkisi incelenmiştir.

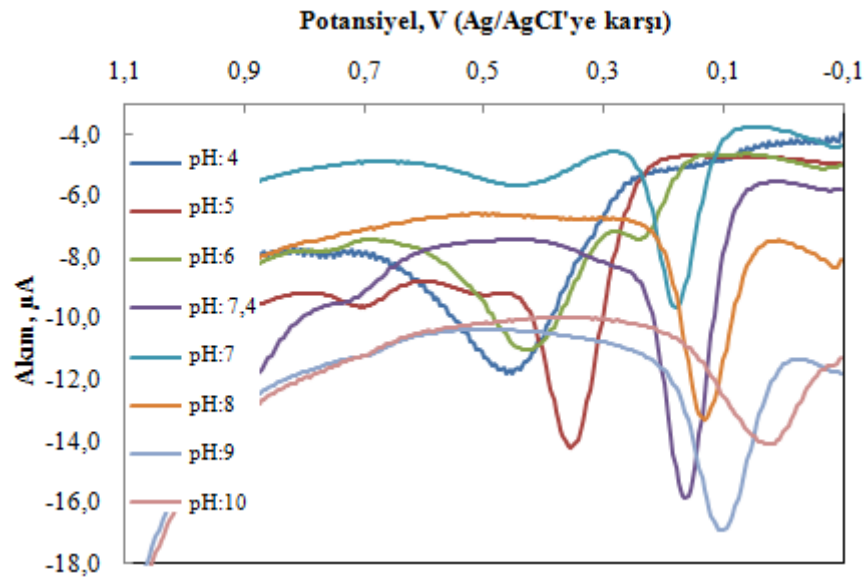


Şekil 4.43. 0,5 mM DA içeren çözeltilerin farklı pH değerlerinde alınan dönüşümlü voltametri voltamogramları: iç grafik, pik potansiyelinin pH ile değişimi (CV)

Bu amaçla, istenilen pH aralığında çalışmaya elverişli olan (4,0-10,0) PBS tamponu kullanılmıştır. Şekil 4.43'te görüldüğü üzere, DA derişimi 0,5 mM olan çözeltilerin pH'sı PBS tamponu kullanılarak 4,0-10,0 arasında değiştirilerek dönüşümlü voltametri, kare dalga ve diferansiyel puls voltametrisi voltamogramları alınmıştır. Çalışmalar sonucunda pik akımlarının pH değerine etkisi incelendiğinde, pH 6,0'a kadar pik akımının arttığı, pH 6,0'dan sonra ise pik akımında azalma olduğu görülmüştür. En uygun pik şekli, simetrisi ve en yüksek akım göz önünde bulundurularak optimum pH 5,0 seçilmiştir. Buna ilave olarak dopamin molekülü polimerizasyona pH:7,0 itibari ile başladığından pH:5,0 seçilmesi uygun görülmüştür.



Şekil 4.44. 0,5 mM DA içeren çözeltilerin farklı pH değerlerinde alınan diferansiyel puls voltamogramları (DPV)



Şekil 4.45. 0,5 mM DA içeren çözeltilerin farklı pH değerlerinde alınan kare dalga voltamogramları (KDV)

Pik potansiyellerinin pH ile değişimi incelendiğinde artan pH ile pik potansiyellerinin daha katodik değerlere kaydığı görülmüştür (Şekil 4.43; iç grafik). Pik potansiyelinin pH ile değişmesi, elektrot reaksiyonunda protonun da yer aldığını göstermektedir. Pik potansiyeli pH ile iki farklı bölgede doğrusal olarak değişmektedir ve bu iki doğrunun pH'nın yaklaşık 9,00 olduğu değerde kesiştiği belirlenmiştir. Belirlenen bu pH değerinin DA için hesaplanan pK_a (8,9) değerine çok yakın olduğu görülmüştür [38].

DA'nın elektrokimyasal yükseltgenme reaksiyonuna eşlik eden proton sayısı, pik potansiyelinin pH ile değişimine ait Eşitlik 4.2'de verilen denklemden yararlanarak hesaplanmıştır [3].

$$E_p = E^0 + \frac{RT}{nF} \ln \frac{[O]}{[R]} - \frac{\partial RT}{nF} \ln [H^+] \quad (4.2)$$

Bu eşitlikte; E_p , pik potansiyeli (V); E^0 , standart pik potansiyeli (V); R, ideal gaz sabiti (J/mol K); T, mutlak sıcaklık (K); n, elektrokimyasal değişimde transfer edilen elektron sayısı (mol elektron/mol molekül); F, faraday sabiti (C/mol elektron); [O], yükseltgenmiş türün analitik derişimi (mol/cm³); [R], indirgenmiş türün analitik derişimi (mol/cm³); ∂ , mekanizmaya eşlik eden proton sayısı (mol proton/ mol molekül)' dır.

Pik potansiyelinin ortamın pH değeri ile değişim grafiğinde, deneysel olarak asidik bölge için elde edilen doğrunun eğiminden (Şekil 4.43, iç grafik) ve Eşitlik 4.2'den yararlanarak, DA'nın KGE yüzeyindeki yükseltgenmesinde yer alan proton sayısının mekanizmada aktarılan elektron sayısına oranı (∂/n) hesaplanmıştır ve bazik ortamlarda (pH $\geq$) 0,44 olarak bulunmuştur. Bu sonuçlara göre, elektrokimyasal basamakta transfer edilen her 2e⁻ karşı, 2 H⁺ iyonu mekanizmaya katılmaktadır.

4.2.1.3. Aktarılan Elektron Sayısının Bulunması

DA'nın elektrokimyasal yükseltgenme reaksiyonunda transfer edilen elektron sayısının hesaplanması için sabit potansiyelde bulk elektroliz çalışmaları yapılmıştır. Bulk elektroliz deneyleri için 1,65 $\times$ 10⁻⁵ M DA içeren 75,0 mL PBS çözeltileri hazırlanmıştır. Bulk elektroliz için hazırlanan DA çözeltisinin elektroliz öncesi ve sonrasında dönüşümlü voltamogramları alınmıştır. Bulk elektrolizin yapılacağı potansiyel değeri, DA'nın anodik pik potansiyelinin tamamlandığı ve başka pikin gözlenmediği daha anodik bir değer olan + 0,50 V olarak belirlenmiştir. Sabit potansiyel değerinde çözelti sürekli karıştırılarak elektroliz edilmiştir. Elektroliz sonrasında, elektroliz için gerekli olan yük miktarından yararlanılmıştır ve Eşitlik 4.3'ten yükseltgenme tepkimesinde aktarılan elektron sayısı hesaplanmıştır [4].

$$N = Q / nF \quad (4.3)$$

Eşitlikte verilen N, elektroliz olan maddenin miktarı (mol); Q, toplam yük (C); n, aktarılan elektron sayısı (mol e⁻/mol molekül); F, faraday sabiti (96485 C/mol e⁻) değerleri sonucunda elektron sayısı 1,8±0,02 bulunmuştur. Bu değere göre aktarılan elektron sayısı yaklaşık 2 olarak kabul edilmiştir. Ayrıca DA'nın transfer edilen elektron sayısı, farklı tarama hızlarında gerçekleştirilen dönüşümlü voltametri deneylerinden elde edilen sonuçlara göre hesaplanmıştır. Buna göre aşağıdaki Eşitlik 4.4 ve Eşitlik 4.5 kullanılmıştır [3].

$$i_p = \frac{n^2 F^2 \Gamma A \nu}{4RT} \quad (4.4)$$

$$Q = nFA\Gamma \quad (4.5)$$

Eşitlik 4.5'teki Γ değeri Eşitlik 4.4'te yerine konulduğunda, elektron sayısını hesaplamak için Eşitlik 4.6 elde edilmiştir.

$$i_p = \frac{nF\nu Q}{4RT} \quad (4.6)$$

Eşitlik 4.6'dan yararlanılarak 0,005-1,0 V/s aralığında yapılan çalışma sonucunda, DA'nın elektrot reaksiyonunda aktarılan elektron sayısı 1,98±0,13 (yaklaşık 2) olarak bulunmuştur.

4.2.1.4 Difüzyon ve Yüzey Kaplama Katsayısının Hesaplanması

DA'nın elektrot yüzeyine adsorpsiyon etkisi altında difüzenmesinden yola çıkılarak, Garrido tarafından adsorpsiyon göz önüne alınarak türetilen, aşağıda verilen eşitlik (Eşitlik 4.7) kullanılarak difüzyon katsayısı hesaplanmıştır [107].

$$i_p = 1.06 \times 10^6 n^2 AC\nu D^{1/2} t_p^{1/2} \quad (4.7)$$

Difüzyon katsayısı, adsorpsiyonun etkin olduğu düşük tarama hızlarında hesaplanmıştır ve sonuçlar Çizelge 4.2'de verilmiştir. Bu eşitlikte; KGE'nin yüzey alanı A= 2,24 mm² olarak kullanılmıştır. Çizelge 4.2'den elde edilen verilere göre düşük tarama hızlarında hesaplanan ortalama difüzyon katsayısı (5,71±1,77)×10⁻⁴

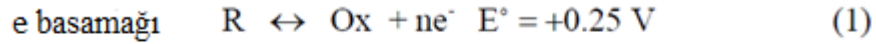
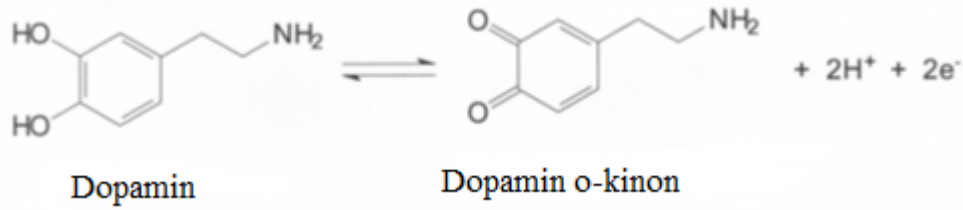
$\text{cm}^{-2}\text{s}^{-1}$ olarak bulunmuştur. Bu değerin difüzyon kontrollü mekanizmalar için önerilen 10^{-5} - 10^{-6} cm^2s^{-1} aralığının dışında ve daha yüksek olduğu görülmektedir [95]. Buna göre DA'nın elektrot yüzeyinde difüzyon etkisi altında yükseltgendiği söylenebilir. Buna ilaveten, DA'nın elektrot yüzeyinde biriken madde miktarı, Eşitlik 4.5'te verilen eşitlikten yararlanılarak hesaplanmıştır. Ortalama yüzey kaplama katsayısı $(2,64 \pm 2,23) \times 10^{-8}$ mol/cm^2 olarak bulunmuştur ve bu değer adsorpsiyon kontrollü mekanizmalar için pek çok kaynakta verilen yüzey kaplama katsayısı 10^{-8} - 10^{-10} mol cm^{-2} aralığındadır [3, 95, 106]. Hesaplanan bu değere göre DA'nın KGE yüzeyinde yükseltgenmesinde adsorpsiyon etkisi altında kaldığı söylenebilir.

Çizelge 4.2. 5mM DA' nın çeşitli tarama hızlarında alınan dönüşümlü voltamogramlarından hesaplanan difüzyon katsayıları ve yüzey kaplama katsayıları

v (mV/s)	D (cm^2/s)	Γ (mol/cm^2)
5	5,91E-03	1,6813E-07
10	1,14E-04	2,3342E-08
15	5,77E-05	1,6607E-08
30	5,46E-05	1,6152E-08
45	3,77E-05	1,3428E-08
50	3,63E-05	1,3179E-08
75	2,63E-05	1,1209E-08
100	2,01E-05	9,8122E-09
200	1,09E-05	7,213E-09
300	7,94E-06	6,1619E-09
400	6,53E-06	5,5873E-09
Ortalama	5,71E-04	2,6438E-08

4.2.1.5 Önerilen Olası Reaksiyon Mekanizması

Yapılan tüm elektrokimyasal çalışmaların sonuçları değerlendirildiğinde, DA'nın KGE yüzeyinde pH:5,0'e ayarlanmış PBS ortamında yükseltgenme reaksiyonunun tersinirliği ve tek bir yükseltgenme pikinin varlığı belirlenmiştir. Dönüşümlü voltametri çalışmalarında geri döngüde bir pike daha rastlanmıştır. DA'nın bazı adsorpsiyon etkileri altında difüzyonunun etkin olduğu şartlarda $2e^-$ ve $2H^+$ aktarımının gerçekleştiği ortaya konulmuştur. DA'nın kimyasal yapısına göre kimyasal çevrede bulunan elektronegatif gruplar göz önüne alındığında aromatik hidroksil grubunun alifatik amin grubuna göre daha kolay yükseltgenebileceği ve yükseltgenmesinin bu grup üzerinde başladığı düşünülmüştür.



Şekil 4.46. DA'nın olası yükseltgenme reaksiyon mekanizması

DA için önerilen yükseltgenme reaksiyonu literatürde benzer moleküller için önerilen mekanizmalarla uyduğu görülmüştür [108]. Buna göre yukarıdaki gibi bir yükseltgenme mekanizması önerilmiştir.

4.2.2. DA Tayini İçin Voltametrik Yöntem Geliştirme

DA'nın elektrokimyasal davranışı incelendikten sonra, elde edilen veriler maddenin farmasötik örnekler ile biyolojik sıvılardaki analizleri için voltametrik yöntem geliştirilebileceğini desteklemiştir. DA'nın hızlı, güvenilir, tekrarlanabilir ve yüksek doğrulukta tayini için yöntem geliştirilmeye çalışılmıştır. Bu amaçla daha düşük alt tayin sınırlarında analizler için voltametrik sıyırma yöntemlerinden yararlanılmıştır.

4.2.2.1. Cihaz Parametrelerinin Optimizasyonu

Voltametrik yöntemlerde kullanılan yazılım ve cihazın sinyal parametreleri, maddeye ait pik şekli ve simetrisini doğrudan etkilemektedir. Bu sebeple çalışmaların yapılacağı her madde için cihaz ve yazılım parametrelerinin optimizasyonu önemlidir. Optimum koşullar belirlenirken DA'ya ait pik akımı öncelikli olarak, pik şekli ve simetrisi de göz önünde bulundurularak optimizasyon çalışmalarının sonuçları belirlenmiştir ve çizelge 4.3'te verilmiştir.

Çizelge 4.3. Voltametrik puls yöntemleri için belirlenen optimum cihaz parametreleri

Parametre	DPV	KDV
Başlangıç potansiyeli, mV	-200	-200
Bitiş potansiyeli, mV	1200	1200
Tarama hızı, mV/s	4	60
Genlik, mV	30	25
Frekans, 1/s	-	50
Basamak potansiyeli, mV	5	4
Örnekleme genişliği, ms	16	-
Puls genişliği, ms	15	-
Puls periyodu, ms	300	-
Durulma süresi, s	3	3

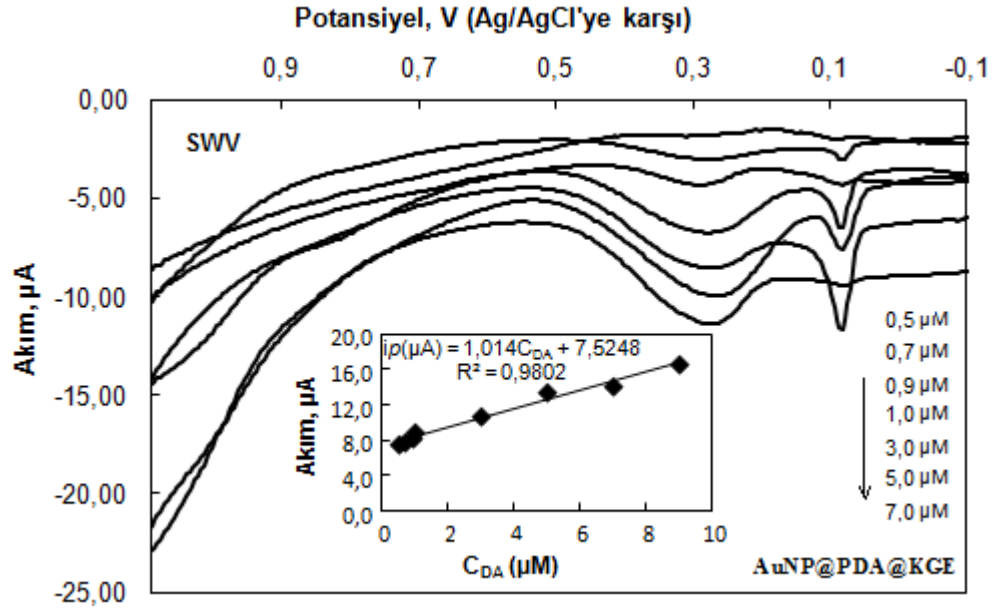
4.2.2.2. Yöntem Parametrelerinin Optimizasyonu

Bu çalışmalarda, diferansiyel puls anodik ve kare dalga anodik voltametri yöntemleri ile iki ayrı yöntem geliştirilmiştir.

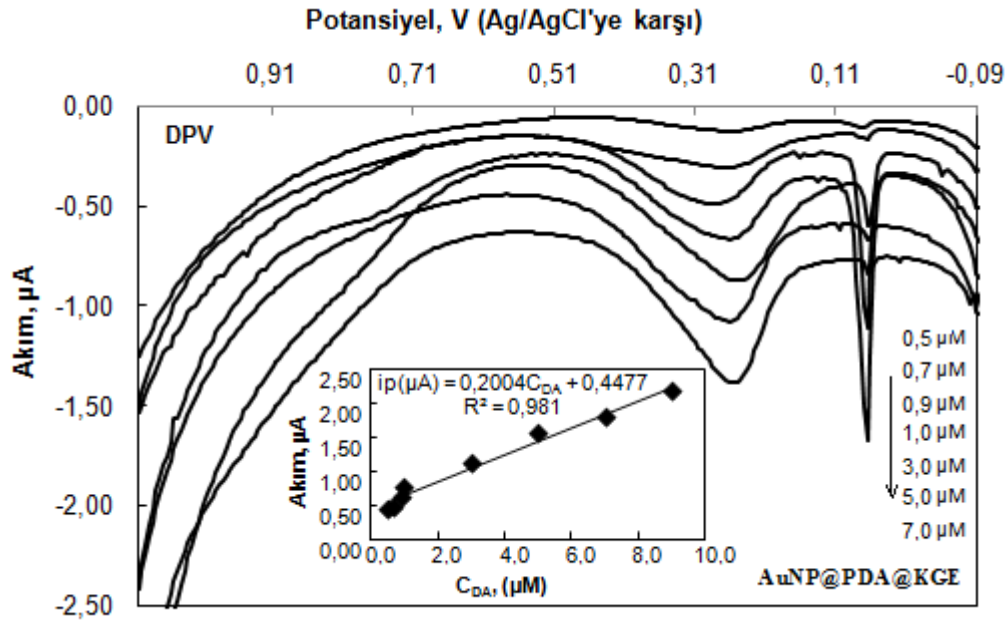
4.3. Elektroanalitik Yöntemlerin Uygulamaları

4.3.1. Kalibrasyon Grafiği ve Doğrusal Çalışma Aralığının Belirlenmesi

Kalibrasyon çalışmalarında, optimum pH'sı ayarlanmış PBS tamponuna, stok DA ($1,52 \times 10^{-3}$ M) çözeltisinden bilinen miktarlarda eklenerek çalışma çözeltileri oluşturulmuştur. Geliştirilen her iki yöntem için çizelge 4.3'te verilen optimum cihaz parametreleri kullanılarak, çeşitli derişimler için ortalama pik akımları derişime karşı grafiğe geçirilmiş ve kalibrasyon doğruları oluşturulmuştur. Bu derişimlere karşı değişen akımların voltamogramları alınmıştır ve kaydedilmiştir (Şekil 4.47-4.48). Yönteme ait bazı kalibrasyon parametreleri hesaplanarak, doğrusal çalışma aralığı belirlenmiştir. Elde edilen sonuçlar istatistiksel olarak değerlendirilmiştir.

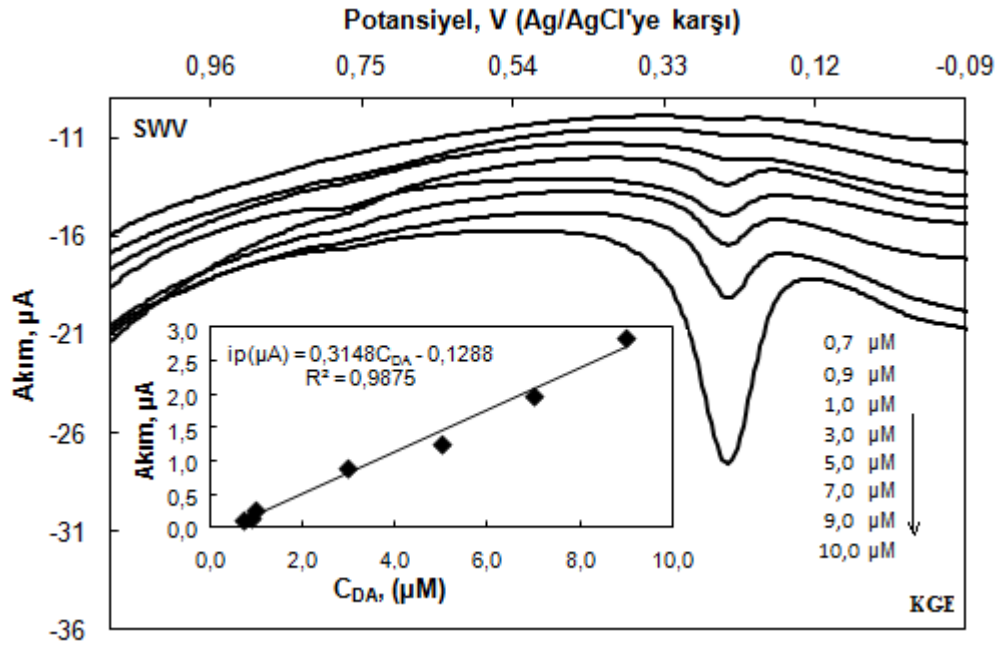


Şekil 4.47. DA'nın kare dalga anodik (KDV) voltamogramları (iç grafik: pik akımının DA derişimi ile değişimi, pH: 5,0) AuNP@PDA@KGE

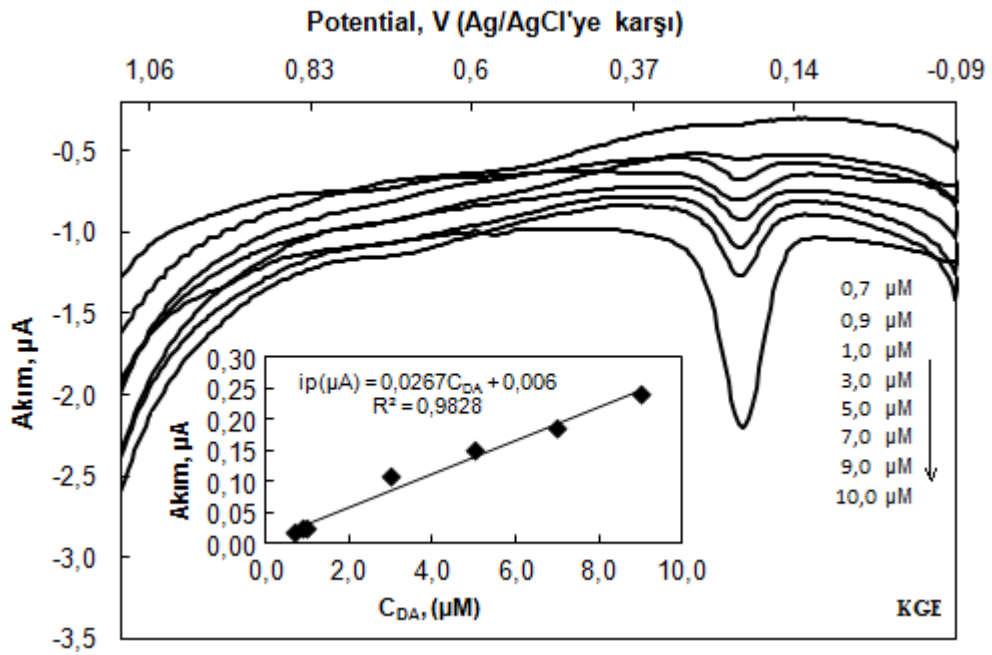


Şekil 4.48. DA'nın diferansiyel puls anodik (DPV) voltamogramları (iç grafik: pik akımının DA derişimi ile değişimi, pH: 5,0) AuNP@PDA@KGE

Şekil 4.48'de görüldüğü üzere dopamine ait pik potansiyeli 0,3 V civarında iken, 0,11 V civarında görülen yükseltgenme piki elektrot yüzeyindeki altın nanopartiküllere aittir. Altın nanopartikül pik şiddeti, immobilizasyon yapılan altın çözeltisinin derişimindeki seyrelmelerden dolayı değişmektedir.



Şekil 4.49. DA'nın kare dalga anodik (KDV) voltamogramları (iç grafik: pik akımının DA derişimi ile değişimi, pH: 5,0) @KGE



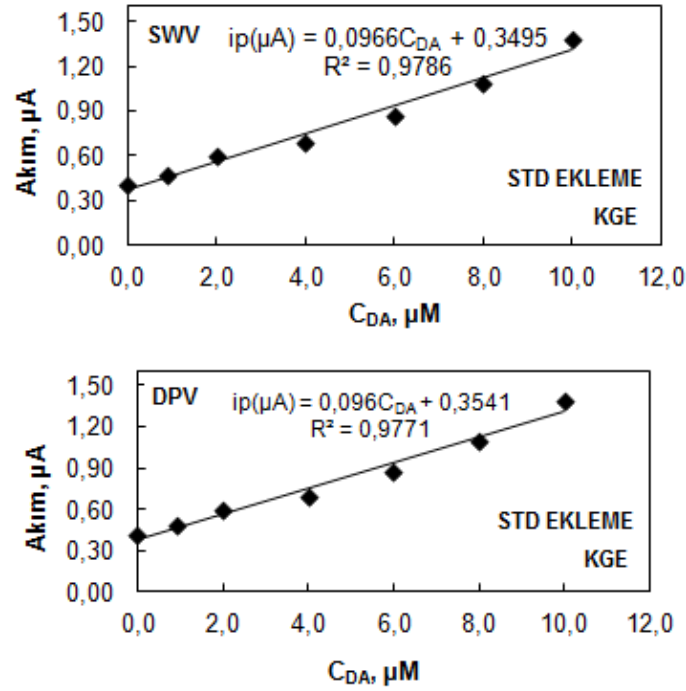
Şekil 4.50. DA'nın diferansiyel puls anodik (DPV) voltamogramları (iç grafik: pik akımının DA derişimi ile değişimi, pH: 5,0) @KGE

AuNP@PDA@KGE yüzeyler (Şekil 4.47-4.48), KGE yüzeyler (Şekil 4.49-4.50) ile karşılaştırıldığında, modifiye elektrotlarla daha düşük derişimlerde tayine olanak verildiği görülecektir. Geliştirilen elektrot ile DA' nın seçici, hassas ve düşük alt tayin sınırlarında tayinleri yapılabilmiştir.

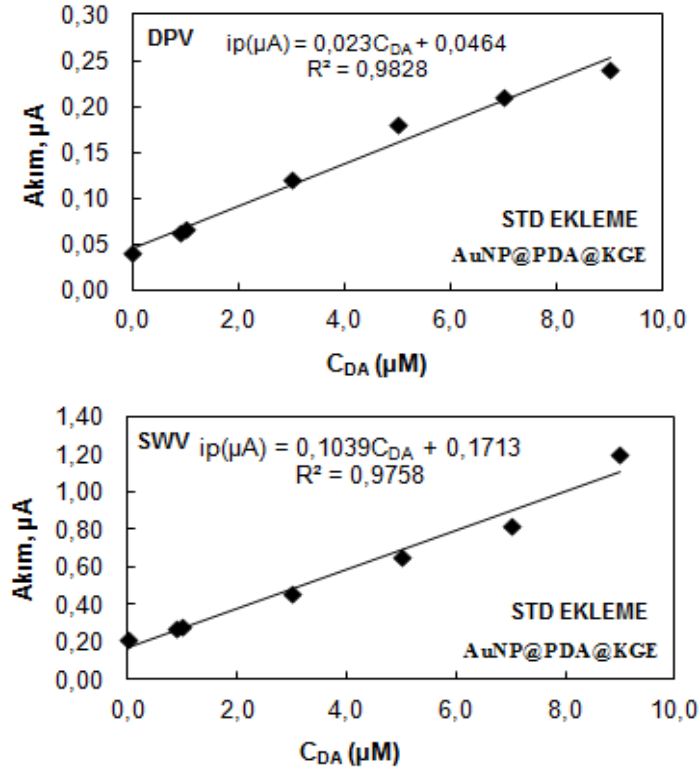
4.3.2. Geliştirilen Yöntemlerin Farmasötik ve Biyolojik Örneklerde Uygulamaları

Çizelge 4.3'te elde edilen optimum koşullardan ve Bölüm 4.3.1'de verilen kalibrasyon çalışmalarının parametrelerinden yararlanılarak, farmasötik preparatlarda ve idrar örneklerinde geri kazanım çalışmaları yapılmıştır. Bu amaçla, DA ampul tabletleri ve idrar numuneleri Bölüm 3.5.3'te anlatıldığı şekilde analize hazırlanmıştır ve söz konusu yöntemler ile voltamogramları alınmıştır.

Farmasötik preparatlarda DA etken maddesi analizlerinde numune matrisinin yöntem performansına anlamlı bir etkisinin olup olmadığını belirlemek için KDV(SWV) ve DPV yöntemlerinde standart ekleme yöntemi ile de kalibrasyon grafikleri oluşturulmuş, Şekil 4.51-4.52'de verilmiştir.



Şekil 4.51. DPV ve SWV(KDV) yöntemi ile DA tayini için standart ekleme kalibrasyon grafiği; @KGE; pH: 5,0



Şekil 4.52. DPV ve SWV(KDV) yöntemi ile DA tayini için standart ekleme kalibrasyon grafiği; AuNP@DA@KGE; pH: 5,0

Doğrudan kalibrasyon yöntemi ile oluşturulan kalibrasyon grafiklerinin eğimi (Şekil 4.47-4.48-4.49-4.50) standart ekleme yöntemi ile oluşturulan (Şekil 4.52-4.51) kalibrasyon grafiklerinin eğimleri ile karşılaştırılmıştır ve eğimler arasında anlamlı bir farkın (t testi) olmadığı gözlenmiştir. Buna dayanarak, ampul çözeltilerinde kullanılan destek maddelerinin geliştirilen yöntemlerin performansına etkisinin olmadığı söylenebilir. Farmasötik preparatlarda yapılan analizler hem doğrudan kalibrasyon yöntemi hem de standart katma yöntemi ile uygulanmıştır. Farmasötik preparatlarda DA tayininde her iki yöntemle hesaplanan etken madde derişimleri hesaplanmıştır ve % geri kazanım değerleri bulunmuştur. Elde edilen sonuçlar Çizelge 4.4 ve Çizelge 4.5'te verilmektedir. Çizelgelere bakıldığında, doğrudan kalibrasyon ve standart katma yöntemi ile, KDV ve DPV yöntemleri kullanılarak hesaplanan geri kazanım değerlerinin % 100'e yakın olduğu ve bağıl standart sapma değerlerinin ise % 2'den küçük olduğu görülmektedir. Buna göre, geliştirilen yöntemlerin ilaçlardaki etken madde tayinine yüksek doğruluk ve kesinlikle uygulanabileceği söylenebilir.

Çizelge 4.4. Dopamin ampullerinde iki farklı yöntemle DA tayininde doğrudan kalibrasyon yöntemi ile elde edilen bulgular

Yöntem	KDV	DPV
Beyan edilen DA miktarı, mg	40	40
Bulunan DA miktarı*, mg	39,86±0,28 40,13±0,14 40,12±0,26	39,89±0,20 40,1±0,08 40,07±0,17
Geri kazanım değeri*, %	98,7±0,17	98,9±0,68
% BSS**	0,07	0,32

* Ortalama $\pm$ ts/ $\sqrt{N}$ (N=5) eşitliğine göre , % 95 güven seviyesinde hesaplanmıştır.

** Hesaplanan geri kazanım değerleri için de bağıl standart sapma değerleri hesaplanmıştır.

Çizelge 4.5. Dopamin ampullerinde iki farklı yöntemle DA tayininde standart ekleme kalibrasyon yöntemi ile elde edilen bulgular

Yöntem	KDV	DPV
Beyan edilen DA miktarı, mg	40	40
Bulunan DA miktarı*, mg	39,83±0,2 40,08±0,3 40,14±0,32	40,0±0,27 40,07±0,25 39,81±0,20
Geri kazanım değeri*, %	99,2 $\pm$ 0,71	100,1±2,36
% BSS**	0,31	0,97

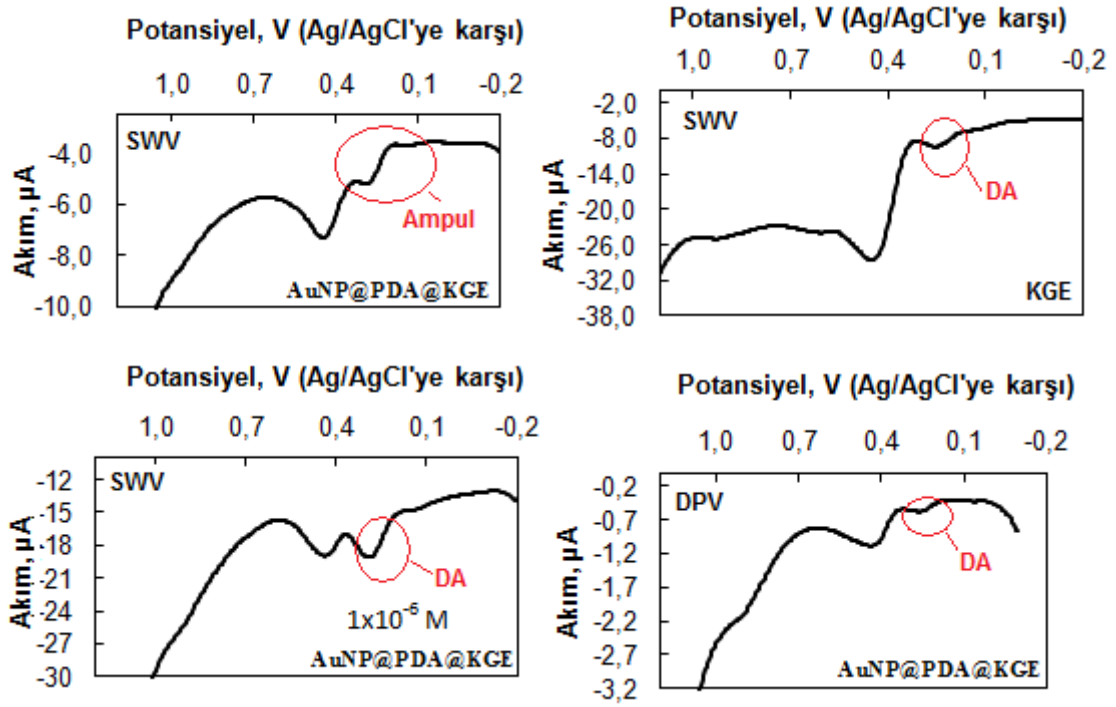
* Ortalama $\pm$ ts/ $\sqrt{N}$ (N=5) eşitliğine göre , % 95 güven seviyesinde hesaplanmıştır.

** Hesaplanan geri kazanım değerleri için de bağıl standart sapma değerleri hesaplanmıştır.

DA içeren ampul çözeltilerinde, DA yükseltgenme potansiyel bölgesinde DA'nın yükseltgenme pikine girişim etkisi yapabilecek herhangi bir pik gözlenmemiştir. Buna dayanarak, ampul çözeltilerinde kullanılan destek ve koruyucu maddelerin bozucu bir etkiye sahip olmadığı söylenebilir.

DA'nın idrar örneklerinde tayini DPV ve KDV yöntemleri ile incelenmiştir. Bu amaçla idrar numunelerine, standart DA veya ampul çözeltileri eklenmiştir. Bölüm 3.5.3'te anlatıldığı şekilde hazırlanan idrar numunelerine çeşitli derişimlerde olacak şekilde standart DA ve ampul çözeltilerinden eklenmiş ve her iki yöntemde voltamogramları kaydedilmiştir (Şekil 4.53). DA içermeyen idrar numunesinde

DA'nın yükseltgenme potansiyel bölgesinde herhangi bir pik gözlenmemiştir. DA derişimi arttıkça, artan pik akımlarının voltamogramları kaydedilmiştir. Doğrudan kalibrasyon ve standart ekleme yöntemi ile analizler yapılmış ve standart ekleme yöntemi ile elde edilen sonuçlar Çizelge 4.6-4.7'de, doğrudan kalibrasyon yöntemi ile elde edilen sonuçlar ise Çizelge 4.8-4.9'da verilmiştir. Çizelgelerde verilen % geri kazanım ve bağıl standart sapma değerleri, her iki yöntemle idrarda DA tayininin başarılı bir şekilde uygulanabileceğini göstermektedir.



Şekil 4.53. KDV ve SWV(KDV) yöntemleri ile idrar numunelerinde DA ve DA Ampul tayininde elde edilen voltamogramlar

Şekil 4.53'te görüldüğü gibi, bütün idrar analiz voltamogramlarında idrarda bulunan ürik asit ile dopamin pikleri çakışmamıştır ve geliştirilen yöntemlerle idrarda dopamin tayinin kolaylıkla yapılabileceği görülmüştür. 0,52 V civarında görülen pik, idrarda bulunan ürik asite ait bir piktir.

Çizelge 4.6. KDV yöntemi ile idrar numunelerinde DA tayininde standart ekleme yöntemi ile elde edilen bulgular; **KGE**

Örnek	Eklenen DA,µg	Bulunan DA, µg	% Geri Kazanım*	BSS %**
İdrarda DA	5,68 9,48 13,274	5,21; 5,93; 6,31; 6,19 9,38; 9,33; 9,40; 9,53 14,84;13,63;14,43;14,56	98,67±1,35 98,50±2,86 99,18±2,94	0,98 2,09 2,13
İdrarda DA Ampul	5,68 9,48 13,274	6,00; 6,07; 6,14; 5,80 9,56; 9,61; 9,74; 9,78 14,65;14,80;14,22;13,75	97,70 ± 1,26 99,03 ± 0,70 99,83 ± 1,50	0,92 0,51 1,07

* Ortalama ± ts/ √N (N=5) eşitliğine göre , % 95 güven seviyesinde hesaplanmıştır.

** Hesaplanan geri kazanım değerleri için de bağıl standart sapma değerleri hesaplanmıştır.

Çizelge 4.7. KDV yöntemi ile idrar numunelerinde DA tayininde standart ekleme yöntemi ile elde edilen bulgular; **AuNP@PDA@KGE**

Örnek	Eklenen DA,µg	Bulunan DA, µg	% Geri Kazanım*	BSS %**
İdrarda DA	5,68 9,48 13,274	6,21; 5,93; 6,31; 6,19 9,38; 9,33; 9,40; 9,53 13,84;13,63;14,43;14,26	99,13±0,67 98,65±1,82 99,07±1,18	0,73 0,62 1,45
İdrarda DA Ampul	5,68 9,48 13,274	6,00; 6,07; 6,14; 5,80 9,56; 9,61; 9,74; 9,78 13,65;14,80;14,22;13,75	98,60 ± 1,14 98,94 ± 0,64 98, 75± 0,81	0,53 0,81 1,29

* Ortalama ± ts/ √N (N=5) eşitliğine göre , % 95 güven seviyesinde hesaplanmıştır.

** Hesaplanan geri kazanım değerleri için de bağıl standart sapma değerleri hesaplanmıştır.

Çizelge 4.6'ya bakıldığında, idrarda standart DA maddesinin ve Dopamin ampulunun geri kazanım değerleri % 100'e yakın bulunmuştur. Elde edilen sonuçlar KDV yönteminin idrarda uygulamalarının yüksek doğrulukta olduğunu desteklemektedir.

Çizelgelerde verilen % geri kazanım ve bağıl standart sapma değerleri, idrarda DA tayini için DPV ve KDV yöntemlerinin her ikisinin de başarılı bir şekilde uygulanabileceğini göstermektedir.

Çizelge 4.8. DPV yöntemi ile idrar numunelerinde DA tayininde standart ekleme yöntemi ile elde edilen bulgular ; **KGE**

Örnek	Eklenen DA,µg	Bulunan DA, µg	% Geri Kazanım*	BSS %**
İdrarda DA	5,68 9,48 13,274	5,86; 6,01; 6,29; 5,95 9,59; 9,26; 9,02; 9,09 14,13; 14,56; 13,87;14,31	97,87±1,54 97,65±1,92 98,58±1,66	1,13 1,40 1,21
İdrarda DA Ampul	5,68 9,48 13,274	6,41; 6,07; 5,64; 5,76 9,76; 9,27; 9,15; 9,88 14,79; 14,78; 13,55;14,26	97,50± 2,94 97,42 ± 1,52 98,00 ± 1,79	2,17 1,13 1,32

* Ortalama ± ts/ √N (N=5) eşitliğine göre , % 95 güven seviyesinde hesaplanmıştır.

** Hesaplanan geri kazanım değerleri için de bağıl standart sapma değerleri hesaplanmıştır.

Çizelge 4.9. DPV yöntemi ile idrar numunelerinde DA tayininde standart ekleme yöntemi ile elde edilen bulgular ; **AuNP@PDA@KGE**

Örnek	Eklenen DA,µg	Bulunan DA, µg	% Geri Kazanım*	BSS %**
İdrarda DA	5,68 9,48 13,274	5,66; 5,51; 5,49; 5,75 9,59; 9,26; 9,02; 9,09 14,13;13,56;13,87;14,31	99,02±1,43 98,14±0,87 97,49±1,36	2,07 1,82 0,96
İdrarda DA Ampul	5,68 9,48 13,274	5,41; 6,07; 5,64; 5,76 9,76; 9,27; 9,15; 9,88 13,59; 13,28; 13,45;13,36	99,47± 1,86 98,17 ± 1,26 99,63 ± 2,05	1,91 0,74 1,97

* Ortalama ± ts/ √N (N=5) eşitliğine göre , % 95 güven seviyesinde hesaplanmıştır.

** Hesaplanan geri kazanım değerleri için de bağıl standart sapma değerleri hesaplanmıştır.

Çizelge 4.9'da görüldüğü gibi, DPV yöntemi ile standart ekleme yöntemine göre yapılan geri kazanım çalışmalarında, DA etken maddesi içeren idrarda, ampul çözeltisi içeren numunelere kıyasla daha yüksek geri kazanımlar elde edilmiştir. Buna göre DA etken maddesinin idrarda yapılan analizleri daha yüksek doğruluğa ve kesinliğe sahiptir.

Çizelge 4.10. KDV yöntemi ile idrar numunelerinde DA tayininde doğrudan kalibrasyon yöntemi ile elde edilen bulgular; **KGE**

Örnek	Eklenen DA,µg	Bulunan DA, µg	% Geri Kazanım*	BSS %**
İdrarda DA	5,68 9,48 13,274	5,57; 5,43; 5,66; 5,56 9,93; 9,21; 9,88; 9,04 13,15; 13,13; 14,38; 14,15	100,3±2,18 97,78±0,99 98,54±0,68	1,36 0,43 0,79
İdrarda DA Ampul	5,68 9,48 13,274	6,03; 6,10; 5,29; 5,59 9,44; 9,27; 9,41; 9,33 13,38; 13,00; 14,64; 13,41	97,82 ±2,37 99,31 ±2,20 98,84 ±2,32	1,25 1,81 1,29

* Ortalama ± ts/ √N (N=5) eşitliğine göre , % 95 güven seviyesinde hesaplanmıştır.

** Hesaplanan geri kazanım değerleri için de bağıl standart sapma değerleri hesaplanmıştır.

Çizelge 4.11. KDV yöntemi ile idrar numunelerinde DA tayininde doğrudan kalibrasyon yöntemi ile elde edilen bulgular; **AuNP@PDA@KGE**

Örnek	Eklenen DA,µg	Bulunan DA, µg	% Geri Kazanım*	BSS %**
İdrarda DA	5,68 9,48 13,274	6,07; 5,43; 5,66; 5,56 9,63; 9,21; 9,18; 9,04 13,15; 14,13; 13,38; 14,15	98,3±2,18 97,78±0,99 98,54±0,68	0,91 1,12 0,77
İdrarda DA Ampul	5,68 9,48 13,274	6,20; 6,30; 5,69; 5,89 9,44; 9,27; 9,71; 9,03 13,38; 13,00; 13,64; 13,41	97,82 ±2,37 99,31 ±2,20 98,84 ±2,32	0,85 1,27 0,99

* Ortalama ± ts/ √N (N=5) eşitliğine göre , % 95 güven seviyesinde hesaplanmıştır.

** Hesaplanan geri kazanım değerleri için de bağıl standart sapma değerleri hesaplanmıştır.

Çizelge 4.12. DPV yöntemi ile idrar numunelerinde DA tayininde doğrudan kalibrasyon yöntemi ile elde edilen bulgular ; **KGE**

Örnek	Eklenen DA,µg	Bulunan DA, µg	% Geri Kazanım*	BSS %**
İdrarda DA	5,68 9,48 13,274	5,99; 6,23; 5,67; 6,13 9,79; 9,58; 9,16; 9,40 13,39; 13,10; 13,98; 13,69	99,26±2,48 98,87±2,33 99,90±2,66	1,79 1,65 1,91
İdrarda DA Ampul	5,68 9,48 13,274	6,21; 6,33; 6,35; 5,82 9,45; 9,01; 9,35; 9,64 13,29; 13,47; 14,25; 13,76	98,77± 2,0 100,5 ±1,8 99,50 ±2,5	1,52 1,30 1,81

* Ortalama ± ts/ √N (N=5) eşitliğine göre , % 95 güven seviyesinde hesaplanmıştır.

** Hesaplanan geri kazanım değerleri için de bağıl standart sapma değerleri hesaplanmıştır.

Çizelge 4.13. DPV yöntemi ile idrar numunelerinde DA tayininde doğrudan kalibrasyon yöntemi ile elde edilen bulgular ; **AuNP@PDA@KGE**

Yöntem	Eklenen DA,µg	Bulunan DA, µg	% Geri Kazanım*	BSS %**
İdrarda DA	5,68 9,48 13,274	5,37; 5,79; 5,44; 6,02 9,38; 9,59; 9,21; 9,42 13,25; 13,55; 13,73;13,67	98,13±0,74 99,04±1,39 98,65±1,27	0,64 1,48 0,98
İdrarda DA Ampul	5,68 9,48 13,274	5,60; 5,28; 6,46; 5,70 9,45; 9,26; 9,44; 9,78 13,31; 13,41; 13,25; 13,16	97,94±1,26 98,26±1,23 98,70±1,18	0,92 0,88 0,73

* Ortalama ± ts/ √N (N=5) eşitliğine göre , % 95 güven seviyesinde hesaplanmıştır.

** Hesaplanan geri kazanım değerleri için de bağıl standart sapma değerleri hesaplanmıştır.

Çizelge 4.10-4.11-4.12-4.13'teki geri kazanım tablolarında görüldüğü gibi, KGE ile yapılan kalibrasyon çalışmalarından elde edilen sonuçlardaki standart sapmalar, AuNP@PDA@KGE'ye kıyasla daha yüksektir. Bu sonuçlar bize, geliştirilen elektrodun daha hassas ve seçici tayinlere olanak sağladığını göstermektedir.

Doğrudan kalibrasyon ve standart ekleme yöntemleri kullanılarak yapılan geri kazanım çalışmalarında, DPV ve KDV yöntemlerinden elde edilen sonuçlar yukarıdaki çizelgelerde verilmektedir. Buna göre DA tayini için, yüksek doğrulukta bir yöntem olmasının yanı sıra, daha basit ve kısa bir yöntem olması sebebiyle

doğrudan kalibrasyon yönteminin kullanılması uygun görülmüştür. Standart katma yöntemi ile yapılan çoklu numune analizleri daha uzun sürede tamamlanmaktadır. İlacın kalite kontrolleri sırasında çok sayıda numune analizleri yapılması gerekmektedir ve doğrudan kalibrasyon yöntemi zaman kazandırması bakımından tercih edilmektedir.

4.4. Elektroanalitik Yöntemlerin Validasyonu

Validasyon; bir cihazın, yöntem veya sistemin başarısının belirli koşullarda uygunluğunu göstermek için yapılan işlemlerin bütünüdür. Analitik yöntemlerin validasyonu, bilimsel bütünlük ve uygunluğun sağlanması, yeterli güvenilir ve tekrarlanabilir sonuçların elde edilmesi bakımından önemlidir. Geliştirilen yöntemler aşağıdaki çizelgede verilen parametreler değerlendirilerek valide edilmiştir.

Geliştirilen analitik yöntemlerle, değişen DA derişimine karşılık ortalama pik akımları grafiğe geçirilerek dört farklı kalibrasyon eğrisi oluşturulmuştur.

DPV yöntemi için elde edilen kalibrasyon grafiğinde, yalın haldeki KGE yüzeyinde ortalama pik akımları $7,0 \times 10^{-7}$ mol/L ile $9,0 \times 10^{-6}$ mol/L derişim aralığında doğrusal sınırlar oluşturmaktadır (Şekil 4.50). KDV yönteminde ise derişimler $7,0 \times 10^{-7}$ ile $9,0 \times 10^{-6}$ mol/L aralığında doğrusal olarak değişmektedir (Şekil 4.49).

AuNP@PDA@KGE yüzeyinde DPV yöntemi için ortalama pik akımları $5,0 \times 10^{-7}$ mol/L ile $7,0 \times 10^{-6}$ mol/L derişim aralığında doğrusal sınırlar oluşturmaktadır (Şekil 4.48). KDV yönteminde ise derişimler $5,0 \times 10^{-7}$ ile $7,0 \times 10^{-6}$ mol/L derişim aralığında doğrusal olarak değişmektedir (Şekil 4.47). Kalibrasyon çalışmalarından elde edilen değerler en küçük kareler yöntemi ile değerlendirilmiştir ve elde edilen kalibrasyon parametreleri Çizelge 4.14'te verilmiştir.

Çizelge 4.14. DA tayini için elde edilen kalibrasyon eğrilerinin en küçük kareler yöntemi kullanılarak değerlendirilmesiyle hesaplanan regresyon parametreleri

Parametreler	KGE KDV	KGE DPV	AuNP@PDA@KGE KDV	AuNP@PDA@KGE DPV
Doğrusal çalışma aralığı, μM	0,7 - 9,0	0,7 - 9,0	0,5-7,0	0,5-7,0
Potansiyel, V	0,270	0,250	0,30	0,290
Regresyon eşitliğinin eğimi (m), $\mu\text{A}/\mu\text{M}$	0,3148	0,0267	1,014	0,2004
Regresyon eşitliğinin kesim noktası (b), μA	-0,1288	0,0059	7,5248	0,4477
Eğimin standart sapması (s_m), $\mu\text{A}/\mu\text{M}$	0,0158	0,0015	0,0887	0,0164
Kesim noktasının standart sapması (s_b), μA	0,0772	0,0075	0,3100	0,0573
Regresyon katsayısı (R^2)	0,9875	0,9828	0,9802	0,9810
Gözlenebilme sınırı (LOD), μM	0,7360	0,8368	0,4903	0,5222
Alt tayin sınırı (LOQ), μM	2,4534	2,7894	0,8302	0,7408
Gün-İçi akım tekrarlanabilirliği (% BSS)*	0,21	0,36	0,17	0,13
Günler-arası akım tekrarlanabilirliği (% BSS)**	1,53	1,78	0,86	0,94
Gün-İçi potansiyel tekrarlanabilirliği (% BSS)*	0,35	0,41	0,54	0,77
Günler-arası potansiyel tekrarlanabilirliği (% BSS)**	2,39	1,68	1,45	1,92

* Ortalama $\pm$ ts/ $\sqrt{N}$ (N=5) eşitliğine göre, % 95 güven seviyesinde hesaplanmıştır.

** Hesaplanan geri kazanım değerleri için de bağıl standart sapma değerleri hesaplanmıştır.

4.5. Farklı Yöntem Sonuçlarının ve Parametrelerinin İstatistiksel Olarak Karşılaştırılması

DA tayininde geliştirilen DPV ve KDV yöntemlerin doğruluk ve kesinlikleri % 95 güven seviyesinde t testi ve F testi uygulanarak karşılaştırıldı. Bu iki yöntemin, doğrudan kalibrasyon ve standart katma yöntemlerinin kesinlikleri arasında bir fark olup olmadığını incelemek amacıyla F testi uygulanmıştır. F_d değerlerini bulmak için eşitlik 4.8'den yararlanılmıştır. Eşitlik 4.8'de verilen standart sapma değerleri (eğimin standart sapması, s_m), kalibrasyon çalışmalarında elde edilen değerlerin en küçük kareler yöntemi ile değerlendirilmesiyle hesaplanmıştır. DPV ve KDV yöntemlerinden elde edilen geri kazanım değerlerinin doğrulukları arasında bir fark olup olmadığını araştırmak için de t testi uygulanmıştır. t testi Eşitlik 4.9 ve eşitlik 4.10'dan yararlanılarak uygulanmıştır. %95 güven seviyesinde 6 serbestlik

derecesi için $t_{kritik} = 2,45$ olarak belirlenmiştir. Hesaplanan değerler çizelge 4.15'te verilmiştir.

Çizelge 4.15. Standart ekleme ve doğrudan kalibrasyon yöntemlerinin DPV ve KDV yöntemleri için karşılaştırılan bazı değerleri

Yöntem	KGE-KDV	KGE-DPV
Eğim (Doğrudan kalibrasyon)	0,3148	0,0267
Eğim (Standart ekleme)	0,0966	0,0271
Eğimin standart sapması, s_m (Doğrudan kalibrasyon)	0,0158	0,0015
Eğimin standart sapması, s_m (Standart ekleme)	0,0104	0,0020
$F_{deneysel}$	5,66	5,25
F_{kritik}	5,05	4,95
$t_{deneysel}^*$	3,24	3,59
t_{kritik}	2,45	2,45

*Aynı yöntem için, doğrudan kalibrasyon ve standart ekleme yöntemleriyle elde edilen geri kazanım değerleri karşılaştırılmıştır.

Çizelge 4.15'te hesaplanan veriler yorumlandığında, KDV ve DPV yöntemleri için $F_{deneysel} > F_{kritik}$ olarak bulunmuştur. Bu sonuçlara göre, DPV ve KDV yöntemleri için standart ekleme ve doğrudan kalibrasyon yöntemleri arasında az da olsa anlamlı bir fark olduğu görülmüştür. Doğrudan kalibrasyon ve standart ekleme yöntemleri ile elde edilen geri kazanım değerlerinin doğrulukları incelendiğinde, KDV ve DPV yöntemleri için $t_{deneysel} > t_{kritik}$ olarak bulunmuştur. DPV yönteminin (Çizelge 4.15), duyarlılığının KDV yönteminden daha düşük olduğu söylenebilir. Bu sonuçlara göre, KDV yöntemi ile doğrudan kalibrasyon ve standart ekleme yöntemleri ile dopaminin idrarda, ve ampul çözeltilerinde spike analizlerinin yapılması ile daha iyi sonuçlar elde edilebilir.

$$F = \frac{(s_1)^2}{(s_2)^2} \quad (4.8)$$

$$s_b = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^{N_1} (x_i - \bar{x}_1)^2 + \sum_{j=1}^{N_2} (x_j - \bar{x}_2)^2 + \sum_{k=1}^{N_3} (x_k - \bar{x}_3)^2 + \dots}{N_1 + N_2 + N_3 + \dots - N_1}} \quad (4.9)$$

$$t_{deneyisel} = \frac{x_1 - x_2}{s_b \sqrt{\frac{(N_1 + N_2)}{(N_1 \cdot N_2)}}} \quad (4.10)$$

Çizelge 4.16. Dopamin tayininde kullanılan farklı materyallerle yapılan çalışmalar ile tez kapsamında yapılan çalışmanın karşılaştırılması

Elektrot	Analit oks. Pot. (V)	Doğrusal Çalışma Aralığı (µM)	Gözlenebilme Sınırı	Referans
Poli(dopamin)film kaplı indiyum tin oksit	DA= +0,28	0,001-1	1 nM	[109]
Bakır modifiye/PEDOT	DA= -0,24	6-200 DPV	Rapor Edilmemiş	[110]
PEDOT/CKE	DA=+0,15	20-80 DPV	Rapor Edilmemiş	[111]
PEDOT/SDS içinde Pt	DA=+0,22	0,5-25 DPV	61 nM	[112]
PEDOT/ Pd kompozit	DA=+0,18	0,5-1,0	0,5 µM	[113]
PEDOT/ CKE	DA=+0,21	100-500 SWV	Rapor Edilmemiş	[114]
Pt/PEDOT/PDA	DA=+0,17	1,5-50 Ch	0,65 µM	[115]
AuNP/PDA/KGE	DA=+0,27	0,5- 7,0 DPV	0,5222 µM	Bu çalışma
AuNP/PDA/KGE	DA=+0,30	0,5- 7,0 SWV	0,4903 µM	Bu çalışma
KGE	DA=+0,22	0,7 - 9,0 DPV	0,8368 µM	Bu çalışma
KGE	DA=+0,25	0,7 - 9,0 SWV	0,7360 µM	Bu çalışma

CKE: camısı karbon elektrot; KGE: kalem grafit elektrot; PDA: polidopamin; PEDOT: (poly(3,4-ethylenedioxy)thiophene), SDS: sodyum dodesil sülfat ; DPV: diferansiyel puls voltametri; SWV: kare dalga voltametri

Çizelge 4.16'da diğer çalışmalarla yapılan karşılaştırmalar doğrultusunda, geliştirdiğimiz yöntemlerin doğrusal çalışma aralığının daha geniş olduğu ve geliştirdiğimiz yöntemler ile daha düşük alt tayin sınırları elde ettiğimiz gösterilmiştir.

4.6. Genel Sonuçlar

Bu tez çalışmasında, bazı ilaç etken maddelerinin ve özellikle dopamin'in analitik yöntemlerle tayini için yüzeyi nanopartiküller ile modifiye edilmiş, polidopamin kaplı kalem grafit elektrotlar geliştirilmiştir. Yalın haldeki kalem grafit elektrot, dopamin kaplı kalem grafit elektrot, nanopartiküller ile modifiye edilmiş polidopamin kaplı elektrotların yüzey morfolojileri taramalı elektron mikroskobu, SEM ile görüntülenmiştir.

Yüzey alanını genişlettiğimiz elektrotlarla elektrokimyasal sensör geliştirilmesine yönelik çalışmalar yapılmıştır. B-12 vitamini, potasyum ferrosiyanoferat, p-aminobenzoik asit gibi çeşitli moleküllerin elektroaktif oldukları ve geliştirilen elektrot yüzeylerinde hassas tayine olanak sağlandığı belirlenmiştir. Dopamin, beyin fonksiyonları üzerinde önemli etkileri olan nörokimyasal bir ilaç etken maddesidir, hızlı ve hassas tayini önemlidir. Bu sebeple dopamin (DA) tayinine yönelik yöntemler geliştirilmiş ve valide edilmiştir. Çeşitli voltametrik yöntemler kullanılarak, dopamin'in elektrokimyasal yükseltgenme davranışı incelenmiştir. Voltametrik davranışlarına bağlı olarak DA'nın hem DA Ampul çözeltilerinde hem de biyolojik numularda (idrar) analizi için yöntemler geliştirilmiştir. Geliştirilen yöntemler kendi aralarında karşılaştırılmıştır. Bu çalışmada elde edilen sonuçlar aşağıda verilmiştir.

- DA'nın elektrokimyasal özellikleri, H₂O ortamında ve PBS tampon çözeltisi ortamında pH: 5,0'de KGE'da, polidopamin kaplı KGE'de, altın nanopartikül immobilize edilmiş polidopamin kaplı KGE'de incelenerek yükseltgenme potansiyeli, transfer edilen e⁻ sayısı, transfer katsayısı, difüzyon katsayısı, elektrot yüzeyine adsorplanan madde miktarı ve pKa değerleri tespit edilmiştir.
- DA'nın elektrokimyasal yükseltgenme mekanizmasının 2e⁻, 2H⁺ vererek, kimyasal yapısına göre kimyasal çevrede bulunan elektronegatif gruplar göz önüne alındığında aromatik hidroksil grubunun alifatik amin grubuna göre daha kolay yükseltgenebileceği ve yükseltgenmesinin bu grup üzerinde başladığı düşünülmüştür. Olası reaksiyon mekanizması önerilmiştir.
- DA'nın, hem ampul çözeltisinde hem de idrar numunelerinde tayini için KDV

ve DPV yöntemleri geliştirilmiştir. Geliştirilen yöntemlerin duyarlılıklarının birbirinden çok farklı olmadığı, DPV yönteminin duyarlılığın daha iyi olduğu tespit edilmiştir.

- Geliştirilen her iki yöntemin doğruluğunu belirlemek için, hem ampul çözeltisinde hem de idrar numulerinde geri kazanım çalışmaları yapılmıştır. İlaç katkı maddelerinin ve biyolojik numunelerde bulunabilecek diğer türlerin herhangi bir etkisinin olmadığı sonucuna varılmıştır.
- Gün içi ve günler arası tekrarlanabilirliğin BSS değerlerinin % 5 değerinin altında olduğu bulunmuştur. Her iki yöntemin de kesinliğinin oldukça iyi olduğu sonucuna varılmıştır.
- Geliştirilen voltametrik yöntemlerin, hızlı, kesin, herhangi bir önderiştirme işlemine gerek duyulmayan, ekonomik, duyarlı olması, az miktarda numune ile çalışılması ve ayırma gibi zaman alıcı işlemlere gerek duyulmadan analiz yapılabilmesi gibi üstünlüklerinden dolayı literatürde verilen bazı yöntemlere alternatif olabileceği sonucuna varılmıştır.
- Geliştirdiğimiz yöntemlerle, geri kazanım çalışmalarının doğruluklarını karşılaştırmak için, *t* testi uygulanmıştır ve % 95 güven seviyesinde yöntemler arasında anlamlı bir fark olmadığı tespit edilmiştir.
- AuNP@PDA@KGE yüzeyi ile yapılan tayin çalışmalarında yalın haldeki KGE'lere göre tayin aralığı düşürülerek daha hassas tayine olanak sağlanmıştır. Böylelikle altın nanopartiküllerin elektrokatalitik aktiviteyi arttırdığı ispatlanmıştır.

KAYNAKLAR

- [1] Yogeswaran, U. , Chen, S.-M., A review on the electrochemical sensors and biosensors composed of nanowires as sensing material, *Sensors*, 8, 290-313, **2008**.
- [2] Cammann, K., Lemke, U., Rohen, A., Sander, J., Wilken, H. , Winter, B., Chemical sensors and biosensors—principles and applications, *Angewandte Chemie International Edition in English*, 30, 516-539, **1991**.
- [3] Wang, J., *Analytical electrochemistry*, John Wiley & Sons, **2006**.
- [4] Kissinger, P. , Heineman, W.R., *Laboratory Techniques in Electroanalytical Chemistry, revised and expanded*, CRC press, **1996**.
- [5] Kissinger, P.T., Heineman, W.R., Cyclic voltammetry, *Journal of Chemical Education*, 60, 702, **1983**.
- [6] Braşnina, K.e.Z., Neyman, E., *Electroanalytical stripping methods*, John Wiley & Sons, **1993**.
- [7] Gosser, D.K., *Cyclic voltammetry: simulation and analysis of reaction mechanisms*, VCH New York, **1993**.
- [8] Liu, C., Yun, F., Morkoc, H., Ferromagnetism of ZnO and GaN: A review, *Journal of Materials Science: Materials in Electronics*, 16, 555-597, **2005**.
- [9] Liu, Y., Ai, K., Lu, L., Polydopamine and its derivative materials: Synthesis and promising applications in energy, environmental, and biomedical fields, *Chemical reviews*, **2014**.
- [10] Yang, Y., Qi, P., Ding, Y., Maitz, M.F., Yang, Z., Tu, Q., Xiong, K., Leng, Y., Huang, N., A biocompatible and functional adhesive amine-rich coating based on dopamine polymerization, *Journal of Materials Chemistry B*, 3, 72-81, **2015**.
- [11] Zhang, W., Tang, Y., Liu, J., Ma, Y., Jiang, L., Huang, W., Huo, F.-w., Tian, D., An electrochemical sensor for detecting triglyceride based on biomimetic polydopamine and gold nanocomposite, *J. Mater. Chem. B*, 2, 8490-8495, **2014**.
- [12] Alexandridis, P., Gold nanoparticle synthesis, morphology control, and stabilization facilitated by functional polymers, *Chemical Engineering & Technology*, 34, 15-28, **2011**.
- [13] Saha, K., Agasti, S.S., Kim, C., Li, X. , Rotello, V.M., Gold nanoparticles in chemical and biological sensing, *Chemical reviews*, 112, 2739-2779, **2012**.
- [14] Poole Jr, C.P. , Owens, F.J., *Introduction to nanotechnology*, John Wiley & Sons, **2003**.
- [15] Vollath, D., *Nanomaterials: an introduction to synthesis, properties and applications*, John Wiley & Sons, **2013**.

- [16] Sau, T.K., Rogach, A.L., Nonspherical Noble Metal Nanoparticles: Colloid-Chemical Synthesis and Morphology Control, *Advanced Materials*, 22, 1781-1804, **2010**.
- [17] Sohn, B.-H., Choi, J.-M., Yoo, S.I., Yun, S.-H., Zin, W.-C., Jung, J.C., Kanehara, M., Hirata, T., Teranishi, T., Directed self-assembly of two kinds of nanoparticles utilizing monolayer films of diblock copolymer micelles, *Journal of the American Chemical Society*, 125, 6368-6369, **2003**.
- [18] Xia, Y., Xiong, Y., Lim, B., Skrabalak, S.E., Shape-Controlled Synthesis of Metal Nanocrystals: Simple Chemistry Meets Complex Physics?, *Angewandte Chemie International Edition*, 48, 60-103, **2009**.
- [19] Burda, C., Chen, X., Narayanan, R., El-Sayed, M.A., Chemistry and properties of nanocrystals of different shapes, *Chemical reviews*, 105, 1025-1102, **2005**.
- [20] Sau, T.K., Rogach, A.L., Jäckel, F., Klar, T.A., Feldmann, J., Properties and applications of colloidal nonspherical noble metal nanoparticles, *Advanced Materials*, 22, 1805-1825, **2010**.
- [21] Talapin, D.V., Lee, J.-S., Kovalenko, M.V., Shevchenko, E.V., Prospects of colloidal nanocrystals for electronic and optoelectronic applications, *Chemical reviews*, 110, 389-458, **2009**.
- [22] Boisselier, E., Astruc, D., Gold nanoparticles in nanomedicine: preparations, imaging, diagnostics, therapies and toxicity, *Chemical Society Reviews*, 38, 1759-1782, **2009**.
- [23] Niazov, T., Pavlov, V., Xiao, Y., Gill, R., Willner, I., DNAzyme-functionalized Au nanoparticles for the amplified detection of DNA or telomerase activity, *Nano Letters*, 4, 1683-1687, **2004**.
- [24] Murphy, C.J., Gole, A.M., Stone, J.W., Sisco, P.N., Alkilany, A.M., Goldsmith, E.C., Baxter, S.C., Gold nanoparticles in biology: beyond toxicity to cellular imaging, *Accounts of Chemical Research*, 41, 1721-1730, **2008**.
- [25] Mirkin, C.A., Letsinger, R.L., Mucic, R.C., Storhoff, J.J., A DNA-based method for rationally assembling nanoparticles into macroscopic materials, *Nature*, 382, 607-609, **1996**.
- [26] Hill, H.D., Vega, R.A., Mirkin, C.A., Nonenzymatic detection of bacterial genomic DNA using the bio bar code assay, *Analytical Chemistry*, 79, 9218-9223, **2007**.
- [27] Ambrosi, A., Castañeda, M.T., Killard, A.J., Smyth, M.R., Alegret, S., Merkoçi, A., Double-codified gold nanolabels for enhanced immunoanalysis, *Analytical Chemistry*, 79, 5232-5240, **2007**.

- [28] Dong, X., Lau, C.M., Lohani, A., Mhaisalkar, S.G., Kasim, J., Shen, Z., Ho, X., Rogers, J.A., Li, L.J., Electrical Detection of Femtomolar DNA via Gold-Nanoparticle Enhancement in Carbon-Nanotube-Network Field-Effect Transistors, *Advanced Materials*, 20, 2389-2393, **2008**.
- [29] Liu, J., Lu, Y., Non-base pairing DNA provides a new dimension for controlling aptamer-linked nanoparticles and sensors, *Journal of the American Chemical Society*, 129, 8634-8643, **2007**.
- [30] Medley, C.D., Smith, J.E., Tang, Z., Wu, Y., Bamrungsap, S., Tan, W., Gold nanoparticle-based colorimetric assay for the direct detection of cancerous cells, *Analytical Chemistry*, 80, 1067-1072, **2008**.
- [31] Frens, G., Controlled nucleation for the regulation of the particle size in monodisperse gold suspensions, *Nature*, 241, 20-22, **1973**.
- [32] Turkevich, J., Stevenson, P.C., Hillier, J., The size and shape factor in colloidal systems, *A General Discussion of the Faraday Society*, 11, 55, **1951**.
- [33] Brust, M., Walker, M., Bethell, D., Schiffrin, D.J., Whyman, R., Synthesis of thiol-derivatised gold nanoparticles in a two-phase liquid-liquid system, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, 801-802, **1994**.
- [34] Lee, P., Meisel, D., Adsorption and surface-enhanced Raman of dyes on silver and gold sols, *The Journal of Physical Chemistry*, 86, 3391-3395, **1982**.
- [35] Evanoff, D.D., Chumanov, G., Synthesis and optical properties of silver nanoparticles and arrays, *ChemPhysChem*, 6, 1221-1231, **2005**.
- [36] Creighton, J.A., Blatchford, C.G., Albrecht, M.G., Plasma resonance enhancement of Raman scattering by pyridine adsorbed on silver or gold sol particles of size comparable to the excitation wavelength, *Journal of the Chemical Society, Faraday Transactions 2: Molecular and Chemical Physics*, 75, 790-798, **1979**.
- [37] Chandra, U., Swamy, B.K., Gilbert, O., Reddy, S., Sherigara, B.S., Determination of dopamine in presence of uric acid at poly (eriochrome black T) film modified graphite pencil electrode, *American Journal of Analytical Chemistry*, 2, 262, **2011**.
- [38] Borstnar, R., Repič, M., Kamerlin, S.C.L., Vianello, R., Mavri, J., Computational Study of the p K a Values of Potential Catalytic Residues in the Active Site of Monoamine Oxidase B, *Journal of Chemical Theory and Computation*, 8, 3864-3870, **2012**.
- [39] Bernsmann, F., Ball, V., Addiego, F., Ponche, A., Michel, M., Gracio, J.J.d.A., Toniazio, V., Ruch, D., Dopamine- Melanin Film Deposition Depends on the Used Oxidant and Buffer Solution, *Langmuir*, 27, 2819-2825, **2011**.

- [40] Kobayashi, S. , Makino, A., Enzymatic polymer synthesis: an opportunity for green polymer chemistry, *Chemical reviews*, 109, 5288-5353, **2009**.
- [41] Hosny, M. , Rosazza, J.P., Novel oxidations of (+)-catechin by horseradish peroxidase and laccase, *Journal of agricultural and food chemistry*, 50, 5539-5545, **2002**.
- [42] Marjasvaara, A., Torvinen, M., Kinnunen, H. , Vainiotalo, P., Laccase-catalyzed polymerization of two phenolic compounds studied by matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight and electrospray ionization Fourier transform ion cyclotron resonance mass spectrometry with collision-induced dissociation experiments, *Biomacromolecules*, 7, 1604-1609, **2006**.
- [43] Ouyang, R., Lei, J., Ju, H. , Xue, Y., A molecularly imprinted copolymer designed for enantioselective recognition of glutamic acid, *Advanced Functional Materials*, 17, 3223-3230, **2007**.
- [44] Dalsin, J.L. , Messersmith, P.B., Bioinspired antifouling polymers, *Materials today*, 8, 38-46, **2005**.
- [45] Wei, Q., Zhang, F., Li, J., Li, B. , Zhao, C., Oxidant-induced dopamine polymerization for multifunctional coatings, *Polym. Chem.*, 1, 1430-1433, **2010**.
- [46] Zhang, Y., Thingholm, B., Goldie, K.N., Ogaki, R. , Städler, B., Assembly of poly (dopamine) films mixed with a nonionic polymer, *Langmuir*, 28, 17585-17592, **2012**.
- [47] Dreyer, D.R., Miller, D.J., Freeman, B.D., Paul, D.R. , Bielawski, C.W., Elucidating the structure of poly (dopamine), *Langmuir*, 28, 6428-6435, **2012**.
- [48] Xu, L.Q., Yang, W.J., Neoh, K.-G., Kang, E.-T. , Fu, G.D., Dopamine-induced reduction and functionalization of graphene oxide nanosheets, *Macromolecules*, 43, 8336-8339, **2010**.
- [49] Hu, M. , Mi, B., Enabling graphene oxide nanosheets as water separation membranes, *Environmental science & technology*, 47, 3715-3723, **2013**.
- [50] Wang, L., Wang, D., Dong, Z., Zhang, F. , Jin, J., Interface chemistry engineering for stable cycling of reduced GO/SnO₂ nanocomposites for lithium ion battery, *Nano Letters*, 13, 1711-1716, **2013**.
- [51] d'Ischia, M., Napolitano, A., Pezzella, A., Meredith, P. , Sarna, T., Chemical and Structural Diversity in Eumelanins: Unexplored Bio-Optoelectronic Materials, *Angewandte Chemie International Edition*, 48, 3914-3921, **2009**.
- [52] Brian Nofsinger, J. , Simon, J.D., Radiative Relaxation of Sepia Eumelanin is Affected by Aggregation¶, *Photochemistry and photobiology*, 74, 31-37, **2001**.
- [53] Froncisz, W., Sarna, T. , Hyde, J.S., Cu²⁺ probe of metal-ion binding sites in melanin using electron paramagnetic resonance spectroscopy: I.

Synthetic melanins, *Archives of biochemistry and biophysics*, 202, 289-303, **1980**.

[54] Sarna, T., Froncisz, W. , Hyde, J.S., Cu²⁺ probe of metal-ion binding sites in melanin using electron paramagnetic resonance spectroscopy: II. Natural melanin, *Archives of biochemistry and biophysics*, 202, 304-313, **1980**.

[55] Ball, V., Nguyen, I., Haupt, M., Oehr, C., Arnoult, C., Toniazzo, V. , Ruch, D., The reduction of Ag⁺ in metallic silver on pseudomelanin films allows for antibacterial activity but does not imply unpaired electrons, *Journal of colloid and interface science*, 364, 359-365, **2011**.

[56] Lee, B.P., Chao, C.-Y., Nunalee, F.N., Motan, E., Shull, K.R. , Messersmith, P.B., Rapid gel formation and adhesion in photocurable and biodegradable block copolymers with high DOPA content, *Macromolecules*, 39, 1740-1748, **2006**.

[57] Lee, B.P., Dalsin, J.L. , Messersmith, P.B., Synthesis and gelation of DOPA-modified poly (ethylene glycol) hydrogels, *Biomacromolecules*, 3, 1038-1047, **2002**.

[58] Tsai, W.-B., Chien, C.-Y., Thissen, H. , Lai, J.-Y., Dopamine-assisted immobilization of poly (ethylene imine) based polymers for control of cell–surface interactions, *Acta biomaterialia*, 7, 2518-2525, **2011**.

[59] Anderson, T.H., Yu, J., Estrada, A., Hammer, M.U., Waite, J.H. , Israelachvili, J.N., The Contribution of DOPA to Substrate–Peptide Adhesion and Internal Cohesion of Mussel-Inspired Synthetic Peptide Films, *Advanced Functional Materials*, 20, 4196-4205, **2010**.

[60] Pop-Georgievski, O., Verreault, D., Diesner, M.-O., Proks, V., Heissler, S., Rypáček, F.e. , Koelsch, P., Nonfouling Poly (ethylene oxide) Layers End-Tethered to Polydopamine, *Langmuir*, 28, 14273-14283, **2012**.

[61] Ye, Q., Zhou, F. , Liu, W., Bioinspired catecholic chemistry for surface modification, *Chemical Society Reviews*, 40, 4244-4258, **2011**.

[62] Moser, J., Punchihewa, S., Infelta, P.P. , Graetzel, M., Surface complexation of colloidal semiconductors strongly enhances interfacial electron-transfer rates, *Langmuir*, 7, 3012-3018, **1991**.

[63] Rajh, T., Chen, L., Lukas, K., Liu, T., Thurnauer, M. , Tiede, D., Surface restructuring of nanoparticles: An efficient route for ligand-metal oxide crosstalk, *The Journal of Physical Chemistry B*, 106, 10543-10552, **2002**.

[64] Lee, H., Scherer, N.F. , Messersmith, P.B., Single-molecule mechanics of mussel adhesion, *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 103, 12999-13003, **2006**.

[65] Ku, S.H., Ryu, J., Hong, S.K., Lee, H. , Park, C.B., General functionalization route for cell adhesion on non-wetting surfaces, *Biomaterials*, 31, 2535-2541, **2010**.

- [66] Ku, S.H., Lee, M. , Park, C.B., Carbon-Based Nanomaterials for Tissue Engineering, *Advanced healthcare materials*, 2, 244-260, **2013**.
- [67] Luo, R., Tang, L., Zhong, S., Yang, Z., Wang, J., Weng, Y., Tu, Q., Jiang, C. , Huang, N., In vitro investigation of enhanced hemocompatibility and endothelial cell proliferation associated with quinone-rich polydopamine coating, *ACS applied materials & interfaces*, 5, 1704-1714, **2013**.
- [68] Liu, Y., Ai, K., Liu, J., Deng, M., He, Y. , Lu, L., Dopamine-Melanin Colloidal Nanospheres: An Efficient Near-Infrared Photothermal Therapeutic Agent for In Vivo Cancer Therapy, *Advanced Materials*, 25, 1353-1359, **2013**.
- [69] Cave, A.C., Brewer, A.C., Narayanapanicker, A., Ray, R., Grieve, D.J., Walker, S. , Shah, A.M., NADPH oxidases in cardiovascular health and disease, *Antioxidants & redox signaling*, 8, 691-728, **2006**.
- [70] Ma, Z., Jia, X., Hu, J., Liu, Z., Wang, H., Zhou, F., Mussel-Inspired Thermosensitive Polydopamine-graft-Poly (N-isopropylacrylamide) Coating for Controlled-Release Fertilizer, *Journal of agricultural and food chemistry*, 61, 12232-12237, **2013**.
- [71] McGinness, J., Corry, P., Proctor, P., Amorphous semiconductor switching in melanins, *Science*, 183, 853-855, **1974**.
- [72] Zhang, W., Yang, F.K., Han, Y., Gaikwad, R., Leonenko, Z., Zhao, B., Surface and tribological behaviors of the bioinspired polydopamine thin films under dry and wet conditions, *Biomacromolecules*, 14, 394-405, **2013**.
- [73] Ball, V., Del Frari, D., Michel, M., Buehler, M.J., Toniazzo, V., Singh, M.K., Gracio, J., Ruch, D., Deposition mechanism and properties of thin polydopamine films for high added value applications in surface science at the nanoscale, *BioNanoScience*, 2, 16-34, **2012**.
- [74] Liu, Q., Yu, B., Ye, W., Zhou, F., Highly Selective Uptake and Release of Charged Molecules by pH-Responsive Polydopamine Microcapsules, *Macromolecular bioscience*, 11, 1227-1234, **2011**.
- [75] Besch, W., Foest, R., Schröder, K., Ohl, A., Allylamine plasma polymer coatings of interior surfaces in small trench structures, *Plasma Processes and Polymers*, 5, 105-112, **2008**.
- [76] Park, J., Brust, T.F., Lee, H.J., Lee, S.C., Watts, V.J., Yeo, Y., Polydopamine-Based Simple and Versatile Surface Modification of Polymeric Nano Drug Carriers, *ACS nano*, 8, 3347-3356, **2014**.
- [77] Lynge, M.E., van der Westen, R., Postma, A. , Städler, B., Polydopamine—a nature-inspired polymer coating for biomedical science, *Nanoscale*, 3, 4916-4928, **2011**.
- [78] Chen, D., Feng, H., Li, J., Graphene oxide: preparation, functionalization, and electrochemical applications, *Chemical reviews*, 112, 6027-6053, **2012**.

- [79] Lin, M., Huang, H., Liu, Y., Liang, C., Fei, S., Chen, X., Ni, C., High loading of uniformly dispersed Pt nanoparticles on polydopamine coated carbon nanotubes and its application in simultaneous determination of dopamine and uric acid, *Nanotechnology*, 24, 065501, **2013**.
- [80] Wang, A.-J., Liao, Q.-C., Feng, J.-J., Yan, Z.-Z., Chen, J.-R., *In situ* synthesis of polydopamine–Ag hollow microspheres for hydrogen peroxide sensing, *Electrochimica Acta*, 61, 31-35, **2012**.
- [81] Xi, F., Zhao, D., Wang, X., Chen, P., Non-enzymatic detection of hydrogen peroxide using a functionalized three-dimensional graphene electrode, *Electrochemistry Communications*, 26, 81-84, **2013**.
- [82] Zheng, L., Xiong, L., Li, Y., Xu, J., Kang, X., Zou, Z., Yang, S., Xia, J., Facile preparation of polydopamine-reduced graphene oxide nanocomposite and its electrochemical application in simultaneous determination of hydroquinone and catechol, *Sensors and Actuators B: Chemical*, 177, 344-349, **2013**.
- [83] Zheng, L., Xiong, L., Zheng, D., Li, Y., Liu, Q., Han, K., Liu, W., Tao, K., Yang, S., Xia, J., Bilayer lipid membrane biosensor with enhanced stability for amperometric determination of hydrogen peroxide, *Talanta*, 85, 43-48, **2011**.
- [84] Li, Y., Qin, C., Chen, C., Fu, Y., Ma, M., Xie, Q., Highly sensitive phenolic biosensor based on magnetic polydopamine-laccase-Fe₃O₄ bionanocomposite, *Sensors and Actuators B: Chemical*, 168, 46-53, **2012**.
- [85] Tan, Y., Deng, W., Li, Y., Huang, Z., Meng, Y., Xie, Q., Ma, M., Yao, S., Polymeric bionanocomposite cast thin films with in situ laccase-catalyzed polymerization of dopamine for biosensing and biofuel cell applications, *The Journal of Physical Chemistry B*, 114, 5016-5024, **2010**.
- [86] Li, F., Yang, L., Zhao, C., Du, Z., Electroactive gold nanoparticles/polyaniline/polydopamine hybrid composite in neutral solution as high-performance sensing platform, *Anal. Methods*, 3, 1601-1606, **2011**.
- [87] Li, J., Wang, Z., Li, P., Zong, N., Li, F., A sensitive non-enzyme sensing platform for glucose based on boronic acid–diol binding, *Sensors and Actuators B: Chemical*, 161, 832-837, **2012**.
- [88] Wang, Y., Liu, L., Li, M., Xu, S., Gao, F., Multifunctional carbon nanotubes for direct electrochemistry of glucose oxidase and glucose bioassay, *Biosensors and Bioelectronics*, 30, 107-111, **2011**.
- [89] Ruan, C., Shi, W., Jiang, H., Sun, Y., Liu, X., Zhang, X., Sun, Z., Dai, L., Ge, D., One-pot preparation of glucose biosensor based on polydopamine–graphene composite film modified enzyme electrode, *Sensors and Actuators B: Chemical*, 177, 826-832, **2013**.
- [90] Wang, G., Huang, H., Zhang, X., Wang, L., Electrically contacted enzyme

based on dual hairpin DNA structure and its application for amplified detection of Hg^{2+} , *Biosensors and Bioelectronics*, 35, 108-114, **2012**.

[91] Toghill, K.E., Lu, M., Compton, R.G., Electroanalytical determination of antimony, *Int J Electrochem Sci*, 6, 3057-3076, **2011**.

[92] Tavares, P.H.C.P., Barbeira, P.J.S., Influence of pencil lead hardness on voltammetric response of graphite reinforcement carbon electrodes, *Journal of Applied Electrochemistry*, 38, 827-832, **2008**.

[93] Abdul Aziz, M., Kawde, A.-N., Gold nanoparticle-modified graphite pencil electrode for the high-sensitivity detection of hydrazine, *Talanta*, 115, 214-221, **2013**.

[94] Wang, J., Kawde, A.-N., Sahlin, E., Renewable pencil electrodes for highly sensitive stripping potentiometric measurements of DNA and RNA, *Analyst*, 125, 5-7, **2000**.

[95] Bard, A.J., Faulkner, L.R., *Electrochemical methods: fundamentals and applications*, 2nd, Hoboken: Wiley and Sons, **2001**.

[96] Pletcher, D., Greff, R., Peat, R., Peter, L., Robinson, J., *Instrumental methods in electrochemistry*, Elsevier, **2001**.

[97] Izutsu, K., *Electrochemistry in nonaqueous solutions*, John Wiley & Sons, **2009**.

[98] Bard, A.J., Faulkner, L.R., *Electrochemical methods: fundamentals and applications*, Wiley New York, **1980**.

[99] Scholz, F., *Electroanalytical methods: guide to experiments and applications*, Springer, **2009**.

[100] Cooper & Stevenson, P., A study of the nucleation and growth processes in the synthesis of colloidal gold, *Discussions of the Faraday Society*, 11, 55-75, **1951**.

[101] Yang, Y., Xiong, L., Shi, J., Nogami, M., Aligned silver nanorod arrays for surface-enhanced Raman scattering, *Nanotechnology*, 17, 2670, **2006**.

[102] Akin, M.S., Yilmaz, M., Babur, E., Ozdemir, B., Tamer, U., Demirel, G., Large Area Uniform Deposition of Silver Nanoparticles Through Bio-inspired Polydopamine Coating on Silicon Nanowire Arrays for Practical SERS Applications, *Journal of Materials Chemistry B*, **2014**.

[103] Cordray, M.S., Amdahl, M., Richards-Kortum, R.R., Gold nanoparticle aggregation for quantification of oligonucleotides: Optimization and increased dynamic range, *Analytical biochemistry*, 431, 99-105, **2012**.

[104] Canameres, M., Garcia-Ramos, J., Gomez-Varga, J., Domingo, C.,

Sanchez-Cortes, S., Comparative study of the morphology, aggregation, adherence to glass, and surface-enhanced Raman scattering activity of silver nanoparticles prepared by chemical reduction of Ag⁺ using citrate and hydroxylamine, *Langmuir*, 21, 8546-8553, **2005**.

[105] Nicholson, R.S., Theory and Application of Cyclic Voltammetry for Measurement of Electrode Reaction Kinetics, *Analytical Chemistry*, 37, 1351-1355, **1965**.

[106] Brett, C.M., Brett, A.M.O., *Electrochemistry: principles, methods, and applications*, Oxford university press Oxford, **1993**.

[107] Garrido, J., Rodriguez, R., Bastida, R., Brillas, E., Study by cyclic voltammetry of a reversible surface charge transfer reaction when the reactant diffuses to the electrode, *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 324, 19-32, **1992**.

[108] Safavi, A., Maleki, N., Moradlou, O., Tajabadi, F., Simultaneous determination of dopamine, ascorbic acid, and uric acid using carbon ionic liquid electrode, *Analytical biochemistry*, 359, 224-229, **2006**.

[109] Kim, B.K., Son, S., Lee, K., Yang, H. , Kwak, J., Dopamine Detection Using the Selective and Spontaneous Formation of Electrocatalytic Poly (dopamine) Films on Indium Tin Oxide Electrodes, *Electroanalysis*, 24, 993-996, **2012**.

[110] Stoyanova, A., Tsakova, V., Copper-modified poly (3,4-ethylenedioxythiophene) layers for selective determination of dopamine in the presence of ascorbic acid: I. Role of the polymer layer thickness, *Journal of Solid State Electrochemistry*, 14, 1947-1955, **2010**.

[111] Mathiyarasu, J., Senthilkumar, S., Phani, K., Yegnaraman, V., PEDOT-Au nanocomposite film for electrochemical sensing, *Materials Letters*, 62, 571-573, **2008**.

[112] Atta, N.F., Galal, A., Ahmed, R.A., Poly (3, 4-ethylene-dioxythiophene) electrode for the selective determination of dopamine in presence of sodium dodecyl sulfate, *Bioelectrochemistry*, 80, 132-141, **2011**.

[113] Harish, S., Mathiyarasu, J., Phani, K. , Yegnaraman, V., PEDOT/Palladium composite material: synthesis, characterization and application to simultaneous determination of dopamine and uric acid, *Journal of applied electrochemistry*, 38, 1583-1588, **2008**.

[114] Vasantha, V., Chen, S.-M., Electrocatalysis and simultaneous detection of dopamine and ascorbic acid using poly (3, 4-ethylenedioxy) thiophene film modified electrodes, *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 592, 77-87, **2006**.

[115] Salgado, R., del Rio, R., del Valle, M., Armijo, F., Selective electrochemical determination of dopamine, using a poly (3, 4-ethylenedioxythiophene)/polydopamine hybrid film modified electrode, *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 704, 130-136, **2013**.

ÖZGEÇMİŞ

Kimlik Bilgileri

Adı Soyadı : Erkan KARATAŞ
Doğum yeri : Hakkari
Doğum Tarihi : 07.06.1988
Medeni Hali : Evli
E-posta : erkan.karatass@hotmail.com
Adresi : Kimya Müh. Böl., Beytepe Kampüsü, Hacettepe Üniv.

Eğitim Durumu

Lise : Fethiye Kemal Mumcu Anadolu Lisesi (Keçioren/Ankara)
Lisans : İstanbul Üniv./Fen Fak./Moleküler Biyoloji ve Genetik Böl.
Yüksek Lisans : Hacettepe Üniv./Fen Bil. Enst. Biyomühendislik ABD

Yabancı Dil ve Düzeyi

İngilizce (İyi, KPDS 2010:90)

İş Deneyimi

Bingöl Üniversitesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, Arş. Gör., Ağustos 2011-Ocak 2012

Erzurum Teknik Üniversitesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, ÖYP Arş. Gör., Ocak 2012-Haziran 2012

Hacettepe Üniversitesi, Biyomühendislik Anabilim Dalı, ÖYP Arş. Gör., Haziran 2012-

Deneyim Alanları

Mikrobiyal yakıt hücresi, Elektrokimya, Nanopartiküller, Biyoteknoloji

Tezden Üretilmiş Projeler ve Bütçesi

—

Tezden Üretilmiş Yayınlar

—

Tezden Üretilmiş Tebliğ ve/veya Poster Sunumu ile Katıldığı Toplantılar

—