

T.C
İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ÇİFT KATMANLI POLİMERİK MATERYALLERİN SENTEZİ,
KARAKTERİZASYONU VE ÖZELLİKLERİNİN
İNCELENMESİ

105446

FATMA BİLGE EMRE

YÜKSEK LİSANS TEZİ
KİMYA ANABİLİM DALI

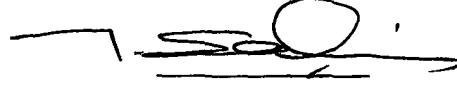
T.C. YÜKSEK ÖĞRETİM KURULU
DOKÜMANTASYON MERKEZİ

MALATYA
Mart 2001



Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü'ne


Bu çalışma jürimiz tarafından Kimya Anabilim dalında yüksek lisans tezi olarak kabul edilmiştir.



(İmza)

Doç. Dr. Turgay Seçkin

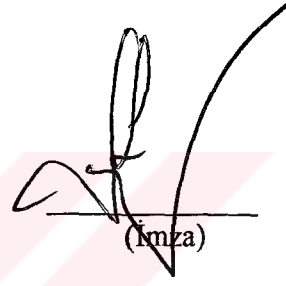
Başkan



(İmza)

Doç. Dr. Ergun Ekinci

Üye



(İmza)

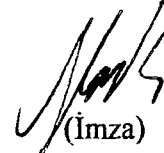
Yrd. Doç. Dr. Fikret Yalçınkaya

Üye

Onay

Yukarıdaki imzaların adı geçen öğretim üyelerine ait olduğunu onaylarım.

5.14.2011



(İmza)

Prof. Dr. Satılmış Kaya

Enstitü Müdürü



ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

Çift Katmanlı Polimerik Materyallerin Sentezi, Karakterizasyonu ve Özelliklerinin İncelenmesi

F. Bilge EMRE

İnönü Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Kimya Anabilim Dalı

65 + xi

2000

Danışman: Doç. Dr. Ergun EKİNCİ
Doç. Dr. M. Engin ŞENER

Bu çalışmada, poli(*o*-toludin)- poli(*m*-fenilendiamin) ve poli(*o*-toludin)- poli(*o*-fenilendiamin) polimer elektrotları; sabit potansiyelde çalışma elektrodu olarak platin kullanılmak suretiyle elektrokimyasal polimerizasyon yöntemiyle hazırlanmıştır.

Hazırlanan çift katmanlı her iki polimer elektrotların askorbik asit, okzalik asit ve H₂O₂ gibi elektroaktif türlere karşı seçimli geçirgenlik karakteristiklerini etkileyen faktörler sistematik bir yaklaşımla optimize edilmiştir.

DeneySEL sonuçlardan her iki polimer elektrodun askorbik asit ve okzalik asit'i geçirmediği, ancak H₂O₂ için ise düzenli yanıtlar verdikleri görülmüştür.

Özellikle, poli(*o*-toludin) çalışma elektrodu kullanılarak yapılan enzim immobilizasyonu sonucunda hazırlanan poli (*o*-toludin)-poli (*o*-fenilendiamin)-GO_x enzim elektrodunun beklendiği gibi askorbik asit ve okzalik asite yanıt vermediği, glukozaya ise düzenli yanıtlar verdiği bulunmuştur.

ANAHTAR KELİMELEER: poli(*o*-toludin), poli(*o*-fenilendiamin), poli(*m*-fenilendiamin) çift katmanlı polimerik membran, enzim elektrot, amperometrik biyosensör.



ABSTRACT
MS.c. Thesis

PREPARATION, CHARACTERIZATION AND INVESTIGATION OF PROPERTIES OF
DOUBLE LAYERED POLYMERIC MATERIALS

F. Bilge EMRE

İnönü University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Chemistry

65 + xi pages

2000

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Ergun EKİNCİ
Assoc. Prof. Dr. M. Engin ŞENER

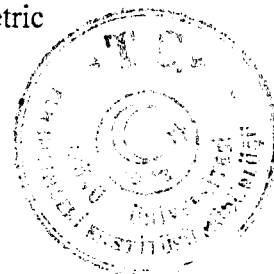
In this work, poly(*o*-toluidine)-poly(*m*-phenylenediamine) and poly(*o*-toluidine)-poly(*o*-phenylenediamine), polymer electrodes were prepared by electrochemical polymerization method using Pt electrode as working electrode at constant potential.

The factors affecting permselectivity characteristics to electroactive species such as ascorbic acid, oxalic acid and H₂O₂ of the prepared double layered-polymeric electrods, were optimized systematically.

From the experimental results, it was found that ascorbic acid and oxalic acid could not pass through polymeric films. Also, it was seen that regular responses for H₂O₂ injuctions.

As a result, it was found that poly(*o*-toluidine)-poly(*o*-phenylenediamine)-GO_x enzyme electrode prepared by enzyme immobilization using poly (*o*-toluidine) working electrode gave regular responses for the glucose injections, as expected.

KEYWORDS: poly (*o*-toluidine), poli(*o*-phenylenediamine), poli(*m*-phenylenediamine), double-layered polymeric materials, enzyme electrode, amperometric biosensor.



TEŞEKKÜR

Bu çalıőmamda, maddi ve manevi desteklerini esirgemeyen öncelikle danışman hocalarım Doç. Dr. Ergun EKİNCİ ve Doç. Dr. M. Engin ŞENER'e;

Çalıőmam boyunca bana manevi destekte bulunan sevgili hocalarım; Eğitim Fakóltesi oğretim úyelesi Yrd. Doç. Dr. Hikmet SAYILKAN'a, Fen- Edebiyat Fakóltesi Fizikokimya Anabilim Dalında görev yapan Dr. S. Tibet OėUN'e, ve yine aynı Anabilim dalında görev yapan arkadaşım ve dostum Arő.Grv. Meltem ASİLTÜRK'e;

Prof. Dr. A. Ersin KARAGÖZLER ve TÜBİTAK-KTAG-6 No'lu proje kapsamında maddi imkanlarını sağlayan TÜBİTAK'a;

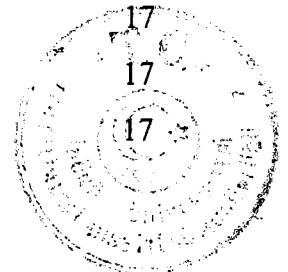
Ayrıca bütün yaőamım boyunca bana sabır gösteren, manevi desteklerini esirgemeyen annem Nafiye EMRE ve babam Doç. Dr. M.Hanefi EMRE'ye;

teşekkür ederim.

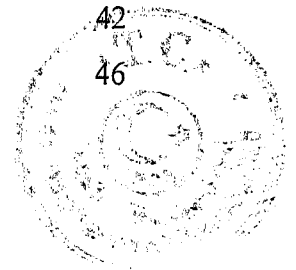


İÇİNDEKİLER

	ÖZET	i
	SUMMARY	ii
	TEŞEKKÜR	iii
	İÇİNDEKİLER	iv
	ŞEKİLLER DİZİNİ	vii
	TABLolar DİZİNİ	x
	KISALTMALAR	xi
1.	GİRİŞ VE AMAÇ	1
2.	KURAMSAL TEMELLER VE UYGULAMALAR	2
2.1.	VOLTAMETRİ	2
2.1.1.	Voltametik Teknikler	2
2.1.1.1.	Çevrimli Voltametri	2
2.1.1.2.	Elektroliz Yöntemleri	3
2.1.2.	Elektrokimyasal Pil	4
2.1.2.1.	Elektrotlar	5
2.1.2.1.1.	Referans Elektrotlar	6
2.1.2.1.1.1.	Kalomel Elektrot	6
2.1.2.1.1.2.	Ag/AgCl Elektrodu	6
2.1.2.1.1.3.	Standart Hidrojen Elektrodu	7
2.1.2.2.	Elektrolitler	7
2.1.3.	Pil Potansiyelleri ve Nernst Eşitliği	8
2.1.3.1.	Serbest Enerji ve Pil Potansiyeli	8
2.1.3.2.	Nernst Eşitliği	8
2.1.4.	Kütle Aktarımı	9
2.1.4.1.	Konveksiyon	10
2.1.4.2.	Difüzyon	10
2.1.4.3.	Migrasyon	11
2.1.5.	Yük aktarımı	11
2.2.	ELEKTROTLARIN KİMYASAL MODİFİKASYONU	12
2.2.1.	Elektrotların Kimyasal Modifikasyonunda Polimerlerin Kullanımı	13
2.3.	ELEKTROKİMYASAL SENSÖRLER	17
2.3.1.	Enzim İmmobilizasyonu	17
2.3.1.1.	Kovalent Bağlanma	17



2.3.1.2.	Tutuklanma	18
2.3.1.3.	Adsopsiyon	18
2.3.1.4.	Çapraz Bağlanma	18
2.3.1.5.	Transduser Yüzeyinin Kaplanması	19
2.4.	ELEKTROPOLİMERİZASYON PARAMETRELERİNİN SEÇİMİ	19
2.4.1.	Monomer Seçimi	19
2.4.2.	Akım Yoğunluğu	19
2.4.3.	Polimerizasyon Sıcaklığı	20
2.4.4.	Biyoajan Seçimi	20
2.4.5.	Çözücü ve Destek Elektrolit Seçimi	20
2.5.	ENZİM SENSÖRLERİNİN SINIFLANDIRILMASI	21
2.5.1.	Enzim Sensörlerin Genel Özellikleri	22
2.5.1.1.	Kararlılık	22
2.5.1.2.	Duyarlılık	23
2.5.1.3.	Seçimlilik	23
2.5.1.4.	Yanıt Süresi	24
2.5.1.5.	Doğrusallık	24
2.6.	GLUKOZ ELEKTRODU	25
3.	MATERYAL VE YÖNTEM	26
3.1	DENEYSEL ARAÇ VE GEREÇLER	26
3.1.1.	Elektrotlar	28
3.1.1.1.	Elektrotların Temizliği	28
3.1.2	Elektrotların Modifiye Edilmesi	28
3.2.	KİMYASAL MADDELER	29
4.	DENEYLER VE SONUÇLAR	30
4.1.	POLİMERLEŞME POTANSİYELİNİN BULUNMASI	30
4.1.1.	<i>o</i> -toludin	30
4.1.2.	<i>o</i> -fenilendiamin	31
4.1.3.	poli (<i>o</i> -toludin) elektrot üzerinde <i>o</i> -fenilendiamin	35
4.1.4.	poli (<i>o</i> -toludin) elektrot üzerinde <i>m</i> -fenilendiamin	41
4.2..	ÇİFT KATMANLI POLİMER ELEKTROTLARIN HAZIRLANMASI VE KARŞILAŞTIRILMASI	42
4.2.1.	poli(<i>o</i> -toludin)-poli(<i>o</i> -fenilendiamin)	42
4.2.2.	Çıplak ve Polimerik Yüzeylerdeki Monomerlerin Kitle Elektrolizi	46



4.3.	ÇİFT KATMANLI POLİMERİK ELEKTROTLARIN ELEKTROAKTİF TÜRLERE KARŞI VOLTAMETRİK DAVRANIŞLARININ İNCELENMESİ	49
4.3.1.	poli(<i>o</i> -toludin)-poli(<i>o</i> -fenilendiamin)	49
4.3.2.	poli(<i>o</i> -toludin)-poli(<i>m</i> -fenilendiamin)	52
4.4.	ÇİFT KATMANLI POLİMERİK ENZİM ELEKTROTLARIN HAZIRLANMASI VE ÖZELLİKLERİ	53
4.4.1.	poli(<i>o</i> -toludin)-poli(<i>m</i> -fenilendiamin)-GO _x	53
4.4.2.	poli(<i>o</i> -toludin)-poli(<i>o</i> -fenilendiamin)-GO _x	54
5.	SONUÇ VE ÖNERİLER	60
6.	KAYNAKLAR	62
7.	ÖZGEÇMİŞ	65

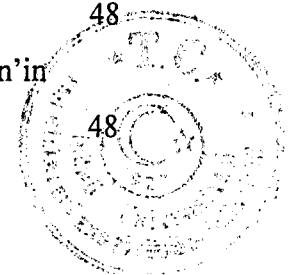


ŞEKİLER DİZİNİ

Şekil 2.1.	Çevrimli Voltametri de Potansiyel-Zaman İlişkisi.	3
Şekil 2.2.	1 M H ₂ SO ₄ içindeki Fe ²⁺ 'nin CV'si.	3
Şekil 3.1.	BAS 100W elektrokimyasal çalışma diyagramı	26
Şekil 3.2.	Mikro hücre ve montajı	27
Şekil 4.1.	Çıplak Pt elektrodun (A) 0.1 M KCl ve (B) 0.1 M KCl + 0.1 M <i>o</i> -toludin içerisindeki CV'si, $v=50$ mV/s.	30
Şekil 4.2.	Çıplak Pt elektrodun (A) 0.1 M KCl ve (B) 0.1 M KCl + 0.1 M <i>o</i> -toludin'li ortamdaki LSV'si, $v=50$ mV/s	31
Şekil 4.3.	Çıplak Pt elektrodun 0.1 M KCl içinde (A) 100 mM <i>o</i> -fenilendiamin ve (B) 200 mM <i>o</i> -fenilendiamin'in CV'si, $v= 50$ mV/s	32
Şekil 4.4.	Çıplak Pt elektrodun 0.25 M KCl içinde (A) 100 mM <i>o</i> -fenilendiamin ve (B) 200 mM <i>o</i> -fenilendiamin'in LSV'si, $v= 50$ mV/s	33
Şekil 4.5.	Çıplak Pt elektrodun 0.1 M KCl içinde (A) 100 mM <i>o</i> -fenilendiamin ve (B) 200 mM <i>o</i> -fenilendiamin'in LSV'si, $v= 50$ mV/s	34
Şekil 4.6.	poli (<i>o</i> -toludin) elektrot üzerinde 0.1 M KCl içinde 0.1 M <i>o</i> -fenilendiamin'in CV'si, $v= 50$ mV/s	35
Şekil 4.7.	poli (<i>o</i> -toludin) elektrot üzerinde 0.1 M KCl içinde 0.2 M <i>o</i> -fenilendiamin'in CV'si, $v= 50$ mV/s	35
Şekil 4.8.	poli (<i>o</i> -toludin) elektrot üzerinde 0.25 M KCl içinde 0.1 M <i>o</i> -fenilendiamin'in CV'si, $v= 50$ mV/s	36
Şekil 4.9.	poli (<i>o</i> -toludin) elektrot üzerinde 0.25 M KCl içinde 0.2 M <i>o</i> -fenilendiamin'in CV'si, $v= 50$ mV/s	36
Şekil 4.10.	poli (<i>o</i> -toludin) elektrot üzerinde PBS içinde 0.1 M <i>o</i> -fenilendiamin'in CV'si, $v= 50$ mV/s	37
Şekil 4.11.	poli (<i>o</i> -toludin) elektrot üzerinde PBS içinde 0.2 M <i>o</i> -fenilendiamin'in CV'si, $v= 50$ mV/s	37
Şekil 4.12.	poli (<i>o</i> -toludin) elektrot üzerinde 0.1 M KCl içinde 0.1 M <i>o</i> -fenilendiamin'in LSV'si, $v= 50$ mV/s	38
Şekil 4.13.	poli (<i>o</i> -toludin) elektrot üzerinde 0.1 M KCl içinde 0.2 M <i>o</i> -fenilendiamin'in LSV'si, $v= 50$ mV/s	38
Şekil 4.14.	poli (<i>o</i> -toludin) elektrot üzerinde 0.25 M KCl içinde 0.1 M <i>o</i> -fenilendiamin'in LSV'si, $v= 50$ mV/s	39



Şekil 4.15.	poli (<i>o</i> -toludin) elektrot üzerinde 0.25 M KCl içinde 0.2 M <i>o</i> -fenilendiamin'in LSV'si, $v= 50$ mV/s	39
Şekil 4.16.	poli (<i>o</i> -toludin) elektrot üzerinde PBS içinde 0.1 M <i>o</i> -fenilendiamin'in LSV'si, $v= 50$ mV/s	40
Şekil 4.17.	poli (<i>o</i> -toludin) elektrot üzerinde PBS içinde 0.2 M <i>o</i> -fenilendiamin'in LSV'si, $v= 50$ mV/s	40
Şekil 4.18.	Çift katmanlı [poli (<i>o</i> -toludin)- poli (<i>m</i> -fenilendiamin)] polimerik elektrodun (A) 0.1 M KCl ve (B) PBS içindeki CV'si, $v= 50$ mV/s	41
Şekil 4.19.	Çift katmanlı [poli (<i>o</i> -toludin)- poli (<i>m</i> -fenilendiamin)] polimerik elektrodun 0.1 M KCl LSV'si, $v= 50$ mV/s	42
Şekil 4.20.	Çift katmanlı [poli (<i>o</i> -toludin)- poli (<i>o</i> -fenilendiamin)] polimerik elektrodun 0.1 M KCl içindeki CV'si, $v= 50$ mV/s	43
Şekil 4.21.	Çift katmanlı [poli (<i>o</i> -toludin)- poli (<i>o</i> -fenilendiamin)] polimerik elektrodun 0.25 M KCl içindeki CV'si, $v= 50$ mV/s	43
Şekil 4.22.	Çift katmanlı [poli (<i>o</i> -toludin)- poli (<i>o</i> -fenilendiamin)] polimerik elektrodun PBS içindeki CV'si, $v= 50$ mV/s	44
Şekil 4.23.	Çift katmanlı [poli (<i>o</i> -toludin)- poli (<i>o</i> -fenilendiamin)] polimerik elektrodun 0.1 M KCl içindeki LSV'si, $v= 50$ mV/s	44
Şekil 4.24.	Çift katmanlı [poli (<i>o</i> -toludin)- poli (<i>o</i> -fenilendiamin)] polimerik elektrodun 0.25 M KCl içindeki LSV'si, $v= 50$ mV/s	45
Şekil 4.25.	Çift katmanlı [poli (<i>o</i> -toludin)- poli (<i>o</i> -fenilendiamin)] polimerik elektrodun PBS içindeki LSV'si, $v= 50$ mV/s	45
Şekil 4.26.	Çıplak Pt yüzeyi üzerinde 0.1 M KCl içindeki 100 mM <i>o</i> -toludin'in 0.75 V'daki BE'si.	46
Şekil 4.27.	Çıplak Pt yüzeyi üzerinde 0.1 M KCl içindeki 100 mM <i>m</i> -fenilendiamin'in 0.75 V'daki BE'si.	46
Şekil 4.28.	(10 mC) poli(<i>o</i> -toludin) elektrot üzerinde 100 mM <i>m</i> -fenilendiamin'in 0.75 V'daki BE'si.	47
Şekil 4.29.	(10 mC) poli(<i>o</i> -toludin) elektrot üzerinde <i>m</i> -fenilendiamin-GO _x 'in 0.75 V'daki BE'si.	47
Şekil 4.30.	Çıplak Pt yüzeyi üzerinde 0.1 M KCl içindeki 100 mM <i>o</i> -fenilendiamin'in 0.75 V'daki BE'si.	48
Şekil 4.31.	(10 mC) poli(<i>o</i> -toludin) elektrot üzerinde 100 mM <i>o</i> -fenilendiamin'in 0.75 V'daki BE'si.	48



Şekil 4.32.	(10 mC) poli(<i>o</i> -toludin) elektrot üzerinde <i>o</i> -fenilendiamin-GO _x 'ın 0.750 V'daki BE'si.	49
Şekil 4.33.	poli(<i>o</i> -toludin) üzerinde poli(<i>o</i> -fenilendiamin) polimer elektrodunun (A) okzalik aside ve (B) askorbik aside yanıtı	50
Şekil 4.34.	poli (<i>o</i> -toludin) üzerinde poli (<i>o</i> -fenilendiamin) polimer elektrodun askorbik asit, okzalik asit ve H ₂ O ₂ 'ye yanıtları.	51
Şekil 4.35.	poli(<i>o</i> -toludin) üzerinde poli (<i>m</i> -fenilendiamin) polimer elektrodun askorbik asit, okzalik asit ve glukozaya karşı amperometrik davranışı	52
Şekil 4.36.	poli (<i>o</i> -toludin) üzerinde 2.50x10 ⁻⁵ C'luk poli(<i>m</i> -fenilendiamin)-GO _x elektrodu'nun askorbik asit, okzalik asit ve glukozaya yanıtı.	53
Şekil 4.37.	poli (<i>o</i> -toludin) üzerinde 2.8x10 ⁻⁴ C'luk poli(<i>o</i> -fenilendiamin)-GO _x elektrodu'nun askorbik asit, okzalik asit ve glukozaya yanıtı.	55
Şekil 4.38.	poli (<i>o</i> -toludin) üzerinde 5.50x10 ⁻⁴ C'luk poli(<i>o</i> -fenilendiamin)-GO _x elektrodu'nun askorbik asit, okzalik asit ve glukozaya yanıtı.	55
Şekil 4.39.	poli (<i>o</i> -toludin) üzerinde 5.5195x10 ⁻⁴ C'luk poli(<i>o</i> -fenilendiamin)-GO _x elektrodu'nun askorbik asit, okzalik asit ve glukozaya yanıtı.	56
Şekil 4.40.	poli (<i>o</i> -toludin) üzerinde 1.00x10 ⁻³ C'luk poli(<i>o</i> -fenilendiamin)-GO _x elektrodu'nun askorbik asit, okzalik asit ve glukozaya yanıtı.	56
Şekil 4.41.	poli (<i>o</i> -toludin) üzerinde 1.045x10 ⁻³ C'luk poli(<i>o</i> -fenilendiamin)-GO _x elektrodu'nun askorbik asit, okzalik asit ve glukozaya yanıtı.	57
Şekil 4.42.	poli (<i>o</i> -toludin) üzerinde 1.700x10 ⁻³ C'luk poli(<i>o</i> -fenilendiamin)-GO _x elektrodu'nun askorbik asit, okzalik asit ve glukozaya yanıtı.	57
Şekil 4.43.	poli (<i>o</i> -toludin) üzerinde 1.8630x10 ⁻³ C'luk poli(<i>o</i> -fenilendiamin)-GO _x elektrodu'nun askorbik asit, okzalik asit ve glukozaya yanıtı.	58
Şekil 4.44.	poli (<i>o</i> -toludin) üzerinde 2.000x10 ⁻³ C'luk poli(<i>o</i> -fenilendiamin)-GO _x elektrodu'nun askorbik asit, okzalik asit ve glukozaya yanıtı.	58

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 2.1.	Elektrot Modifikasyon Şeması	16
Tablo 2.2.	Enzim Sensörlerin Sınıflandırılması	21

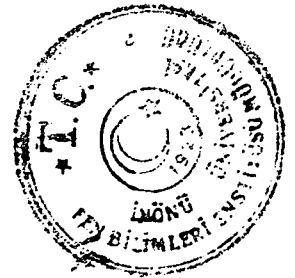


SEMBOL VE KISALTMALAR

a	aktiflik
v	potansiyel tarama hızı
μA	akım (mikroamper)
nA	akım (nanoamper)
BE	kitle elektrolizi
C	derişim
CV	çevrimli/çevrimsel voltametri
E	elektrot potansiyeli
Epil	pil potansiyeli
F	faraday sabiti
ΔG	serbest enerji
GOx	glukoz oksidaz
I	akım şiddeti
J	akım yoğunluğu
LSV	doğrusal tarama voltamogramı
M	molar derişim
n	mol sayısı
PBS	fosfat tampon tuzu
R	ideal gaz sabiti
t	zaman (s)
tb	zaman temelli
T	mutlak sıcaklık (K)
U	ünit



AİLEME VE TÛM SEVDİKLERİME



1 GİRİŞ VE AMAÇ

Elektrokimyasal biyosensörler klinik açıdan önemli türler olan glukoz, laktöz, üre, okzalik ve kolesterol gibi maddelerin analizine imkan tanıyan ve esas olarak bir biyokimyasal ajan sayesinde meydana gelen sinyalin uygun bir şekilde depolandığı, kuvvetlendirildiği ve sonuçta görüntülediği bir elektronik kısımdan oluşan sistemdir.

Şeker hastalarında (diabetik hastalar) kandaki glukoz düzeylerinin hızlı ve güvenilir bir şekilde ölçülmesi, hipo ve/veya hiperglisemik hastaların teşhisi açısından oldukça önemlidir. Glukoza karşı duyarlı elektrokimyasal biyosensörlerin geliştirilmesinde biyokimyasal dönüştürücü (biyoajan) olarak glukoz oksidaz ve elektronik kısım olarak da amperometrik esaslı sistemler kullanılmaktadır. Biyosensör yapımında biyoajan olarak kullanılacak olan enzimler gerek izolasyonları, gerekse saflaştırılmalarındaki güçlükler sebebiyle oldukça pahalı maddelerdir. Dolayısıyla, düzenli yapılan glukoz ölçümlerinde her ölçümde enzimin kullanılması son derece pahalı bir yöntemdir. Bu nedenle, bu ölçümlerde enzimin belirli bir matriste tutulması önem kazanmaktadır. Bu amaçla, son yıllarda iletken ya da iletken olmayan polimerik filmler enzim immobilizasyon ortamı olarak kullanılmaktadır. Glukoz ölçümünde immobilizasyon aracı olarak kullanılacak olan polimerik membranların gözenek büyüklüğü glukoz geçişine izin verecek fakat immobilize olan glukoz oksidaz enzimini ölçüm veya bekletilme ortamlarında çözeltiye geçişini önleyecek şekilde ayarlanmalıdır.

Amperometrik esaslı biyosensörlerin uygulamasında karşılaşılan en önemli sorunlardan biri kuşkusuz askorbik asit, okzalik asit vb elektroaktif türlerin ölçümün yapıldığı potansiyelde girişim yapmasıdır.

Çalışmanın amacı, askorbik asit ve okzalik asit gibi elektroaktif türlerin interferans etkisini en aza indirebilecek, çift katmanlı [poli(*o*-toludin)-poli(*o*-fenilendiamin)] ve [poli(*o*-toludin)-poli(*m*-fenilendiamin)] polimer filmlerini hazırlamak ve bu filmlerin amperometrik sensör özelliklerini incelemektir.



2. KURAMSAL TEMELLER

2.1. VOLTAMETRİ

2.1.1. Voltametrik Teknikler

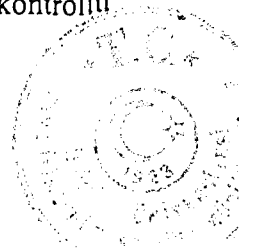
Dengedeki bir elektrokimyasal hücreye dışarıdan denge geriliminden farklı bir gerilim uygulandığında, sistem yeniden dengeye ulaşırken elektrot tepkimesi gerçekleşir yani, akım geçer. Voltametride küçük yüzey alanlı bir çalışma elektrodu ile referans elektrot arasında uygulanan ve değeri zamanla değiştirilen potansiyel farkına karşı, hücredeki çalışma elektrodu ile yardımcı elektrot arasındaki akım ölçülür. Çalışma elektroduna karşı ölçülen akım değerinin çizilen grafiğine voltamogram denir. Voltametri dinamik bir tekniktir, zira uygulanan potansiyel, elektrot yüzeyindeki türlerin derişimlerini elektrokimyasal indirgenme veya yükseltgenme tarafından meydana gelen değişmelere zorlar.

2.1.1.1. Çevrimli Voltametre

Çevrimli Voltametre (CV), durgun bir elektrodun potansiyelini doğrusal olarak değiştirerek akım-gerilim ilişkisini inceleyen ve elektrot tepkimelerinin aydınlatılmasında önde gelen yöntemlerden biridir [1]. Akım, potansiyelin veya zamanın bir fonksiyonu olarak ölçülür. Yalnızca bir anodik veya katodik tarama yapılırsa genellikle buna doğrusal taramalı voltametri (LSV) adı verilir. Her iki durumda da deney, konveksiyonu ortadan kaldırmak için durgun çözeltide yapılır [2].

Doğrusal taramalı voltametre ve çevrimli voltametre için temel eşitlikler Delahay, Shain ve diğerleri tarafından geliştirilmiştir [2]. Bir voltamogramın temel davranışı, elektrot tepkimesinin yer aldığı potansiyelde bir akım pikinin görülmesidir. Oluşan pikin şekli ve konumu, tarama hızı, elektrot materyali, çözelti bileşimi ve reaktanların derişimi gibi bazı etkenlere bağlıdır [2].

Çevrimli voltametri de durgun bir elektrodun akım yanıtı bir üçgen dalga şekilli potansiyel ile uyarılır (Şekil 2.1). Önceden belirlenen bir potansiyele ulaştığı zaman tarama yönü değişir ve aynı potansiyel aralığı ters yönde taranır. Bu çevrim birkaç kez tekrarlanabilir [3]. Taramanın yön değiştirdiği potansiyele dönüş potansiyeli denir. Voltametrik bir deney için seçilen potansiyel aralığı, bir veya daha fazla elektroaktif maddenin difüzyon kontrollü



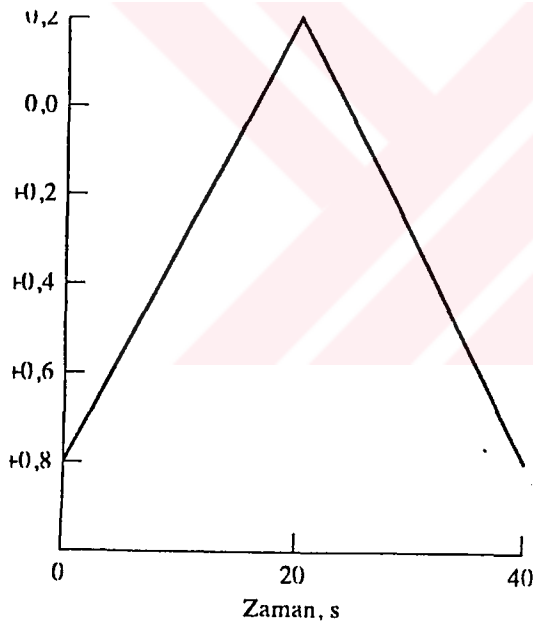
olarak yükselttiği veya indirdiği aralıktır. Başlangıç taramasının yönü, numunenin bileşimine bağlı olarak negatif veya pozitif olabilir [4]. Şekil 2.2’de, 3 mM Fe²⁺’nin 1 M H₂SO₄ çözeltisinin Şekil 2.1’de gösterilen dönüşümlü uyarma sinyaline verdiği akım yanıtı görülmektedir.

Çevrimli voltametri, elektrokimyasal ve kimyasal basamaklardan oluşan bir toplu tepkimenin basamaklarının aydınlatılması için uygun bir tekniktir [2]. CV, sıradan kantitatif analizlerde kullanılmadığı halde, özellikle organik ve metalorganik sistemlerde yükseltgenme/indirgenme işlemlerinin mekanizma ve hız çalışmaları için önemlidir[4].

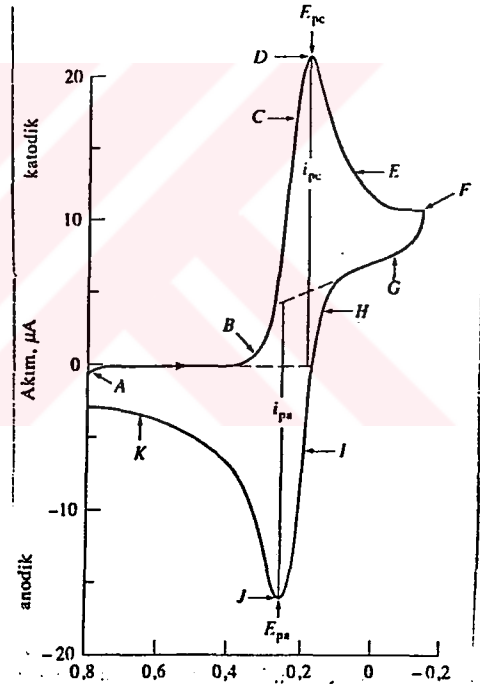
Çok yavaş tarama hızlarında genellikle sigmoidal eğriler elde edilir. Bunlar “voltametik dalga” olarak bilinir. Keskin artıştan sonraki sabit akıma sınır akımı, i_s , denir. Çünkü akım, analitin kütle aktarım işlemiyle elektrot yüzeyine taşınma hızıyla sınırlıdır. Sınır akımları genellikle analit konsantrasyonuyla doğru orantılıdır ve bu yüzden

$$i_s = kC_A$$

şeklinde yazılabilir. C_A analit konsantrasyonu, k ise orantı sabitidir. Kantitatif doğrusal taramalı voltametre bu ilişkiye dayanır [5].



Şekil 2.1. Çevrimli voltametrde Potansiyel-zaman ilişkisi.



Şekil 2.2. 1M H₂SO₄ içindeki Fe²⁺ nin CV'si, $v=50$ mV/s.

2.1.1.2. Elektroliz Yöntemleri

Elektroliz ortamında farklı potansiyellerde farklı tepkimelerin cereyan etmesi olasılığı varsa potansiyel kontrollü (sabit potansiyel) bir elektroliz ile yalnızca istenen ürünün meydana



gelmesi sağlanabilir [1]. Time-base tekniği (TB), kronoamperometrik bir tekniktir, akım zamanın bir fonksiyonu olarak ölçülür. Bu teknik genellikle, amperometrik titrasyonlar ve amperometrik sensörlerle yapılan çalışmalarda kullanılır.

Kitle elektrolizinin (BE) çalışma prensibi çok basittir. Yalnızca başlangıç ortamında yükseltgenen bir tür varsa, hızlı indirgenmenin olması için potansiyel yeterli negatif bir değere getirilir. BE deneyleri esnasında geçen toplam yük (Q), herbir molekülde transfer edilen elektron sayısı (n) ve çalışma ortamındaki yükseltgen türlerin mol sayısı (N) ilişkilidir. Yük ile elektroliz edilen tür arasındaki ilişki Faraday yasası ile verilir;

$$Q = nFN$$

eğer n veya N'den biri biliniyorsa diğeri hesaplanabilir. Bu yüzden de BE hem analitik hem de sentetik uygulamalarda kullanılır.

BE elektroliz metodu, geniş A/V şartlarında ve etkili kütle transfer durumunda karakterize edilir. A, elektrot alanı V ise çözelti hacmini göstermektedir[6].

Elektroliz hızı, çalışma elektrodunun yüzey alanı ve yardımcı elektrodun yüzey alanından etkilenir. Karıştırmanın olduğu çözeltilerde karıştırma, çalışma elektrodunun yüzeyindeki kütle aktarım hızını artırdığı için elektrolizin hızı da artar.

BE deneylerinde öncelikle çalışma potansiyeli seçilmelidir. Çalışma elektrodu için kütle transfer hızını kontrol ederek, elektroliz hızını kontrol etmek için, ideal potansiyel, redoks potansiyelinden 200 mV daha negatif seçilmelidir [3].

Bu metot, hem hızlı hem de yavaş reaksiyonlara uygulanabilir. Başlangıç ortamında çözelti içinde var olan türlerin %10'un tüketilinceye kadar veya akım, başlangıç değerinden %90'nına düşüncüye kadar deneye devam edebilir [2].

2.1.2. Elektrokimyasal Pil

Bir çözeltiye daldırılmış ve elektriksel olarak bağlanmış iki elektrottan oluşan ve çözücüsünde iyonların bulunduğu sistemlere elektrokimyasal pil denir. Bütün pillerde elektrotların birinde indirgenme, diğesinde ise yükseltgenme olur. Bu nedenle pilleri doğrudan incelemektense pillerin yarısını oluşturan yarı pil elektrotlarını incelemek daha doğru olur. Elektrot ara yüzeyinde elektron ve iyon hareketi gerçekleşirken, elektrolit ortamında ise sadece iyon hareketi gerçekleşir.



2.1.2.1. Elektrotlar

Elektrokimyasal hücreleri öncelikle fazlarına göre dörde ayırabiliriz

- a- iki fazlı
- b- üç fazlı
- c- dört fazlı
- d- tek fazlı elektrotlar.

Elektrotların ikişer ikişer bağlanmasıyla, elektrokimyasal piller elde edilir. Kullanılan elektrotların cinsinin farklı veya aynı oluşuna ve iki elektrodun birbirine bağlanmış biçimlerine göre pilleri dört gruba ayırmak mümkündür. Farklı iki elektrodu (gümüş elektrodu ile çinko elektrodu) birbirine bağlayarak elde edilen pillere “galvanik piller” aynı iki elektrodu (iki çinko elektrodu) birbirine bağlayarak elde edilen pillere “derişim pilleri” deniyor. Derişim pilleri, ayrıca, elektronik “derişim pilleri” ve “elektrolitik derişim pilleri” olarak iki alt gruba ayrılır. Hem galvanik hem de elektrolitik derişim pilleri elektrotların bağlanış biçimine göre, taşınmalı ve taşınmasız olarak ikiye ayrılır. Taşınmalı pillerde, elektrotlardaki çözeltilerin arasında bir difüzyon gerilimi oluşmaktadır. Taşınmasız pillerde ise bu gerilim yoktur[3]. Elektrokimyasal hücreler iki ya da üç elektrotlu olmak üzere ikiye ayrılır. Elektroanalitik işlemlerde çoğunlukla üç elektrotlu sistem kullanılır.

Bu elektrotlardan birincisi çalışma elektrodu (working elektrode), ikincisi referans (karşılaştırma) elektrodu ve üçüncüsü ise yardımcı (auxiliary elektrode) elektrottur. Elektrokimyasal olayın meydana geldiği elektrot çalışma elektrotudur. Bu çalışma elektrotları metallere yapılır.

Referans elektrod, polarizlenmeyen elektrot olarakta bilinir. Pil potansiyeli sabit olduğundan, potansiyeli ölçülen elektroda kıyasla referans görevi görür.

Yardımcı elektrot ise elektronlar için havuz oluşturarak pilden akımın geçmesini temin eder. Genellikle inert metallere yapılır.

Çalışma elektrodu fonksiyonu itibarıyla diğer iki elektrotla birleştirilemez dolayısıyla ayrı bir elektrot olarak daima mevcuttur. Diğer ikisi bazen birleştirilebilir ve sistemde biri test olmak üzere iki elektrot bulunur. Potansiyeli belirlemede akımın (I) kendisinden ziyade akım yoğunluğu (J) etkilidir.

Akım, referans elektrot potansiyelinin kararlılığını olumsuz yönde etkilemektedir. Bu nedenle bu elektrottaki akım yoğunluğu pratikçe sıfır olmalıdır. Bu ise referans elektrot akımını küçük ve/veya yardımcı elektrot olarak kullanıldığında referans elektrot yüzey alanı



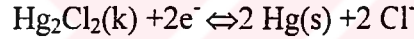
büyük tutularak gerçekleştirilebilir. Yardımcı ve çalışma elektrodundan geçen akımın eşit olması gerekirken akım yoğunluğunun çok daha küçük olması istenir. Böylece akımın pil tarafından sınırlanmasının etkilerinin çalışma elektrodunda ortaya çıkması sağlanır.

2.1.2.1.1. Referans Elektrotlar

Bir çalışma elektrodunun mutlak potansiyelini ölçmek mümkün olmadığından, böyle bir elektrodun potansiyeli bilinen sabit bir potansiyele sahip olan bir referans elektroduna kıyasla ölçülür. Yaygın olarak kullanılan referans elektrotlar Ag/AgCl ve doymuş kalomel elektrotudur.

2.1.2.1.1.1. Kalomel Elektrot

Elektrokimyada sıkça kullanılan bir referans elektrottur. Bu elektrot civa (I) klorür [kalomel (Hg₂Cl₂)] ile doyurulmuş KCl çözeltisi ile temasta olan bir civa havuzundan oluşmuştur. Platin tel diğer iletkenle elektriksel temas sağlamak üzere civaya batırılmıştır. Elektrot tepkimesi aşağıdaki gibidir:



Bu referans elektrodun potansiyeli standart hidrojen elektroduna göre 0.24 V daha pozitifdir.

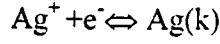
Elektrot tepkimesi yukarıda gösterildiği gibidir. Potansiyel, klorür iyonlarının aktivitesine bağlıdır. KCl çözeltisinin, 0.1 N, 1 N ve doymuş oluşuna göre kalomel elektrot; desinormal, normal ve doymuş kalomel olarak adlandırılır.

2.1.2.1.1.2. Ag/AgCl Elektrot

Kullanımı yaygın olan bir elektrottur. Hazırlanması oldukça kolaydır. Bu elektrot, seyreltik hidroklorik asit çözeltisine batırılmış bir gümüş tel'e yükseltgeyici bir potansiyel uygulanarak hazırlanır. Böylece tele sıkıca bağlanmış ince bir gümüş klorür tabakası oluşur. Bu elektrodun ikinci hazırlanma tekniği ise bir platin tel önce, AgCN çözeltisinde gümüş ile kaplanır, sonra 3M'lık klorür çözeltisi içinde anot olarak AgCl ile kaplanır. Her iki teknikte



de hazırlanan elektrotlar potasyum klorür çözeltisi içine daldırılır ve Ag/AgCl elektrodu elde edilir[4]. Bu elektrodun potansiyeli standart hidrojen elektroduna göre yaklaşık 0.2 V pozitifdir. Elektrot yarı-tepkimesi

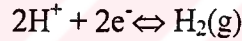


şeklindedir

2.1.2.1.1.3. Standart Hidrojen Elektrodu

25°C'de, hidrojen gazı basıncı 1 atm, çözeltideki hidrojen iyonu aktivitesi 1'e eşit olan bir elektrodur. Standart hidrojen elektrodun (SHE) tüm sıcaklıklarda standart potansiyeli sıfır volt olarak kabul edilir. Asit çözeltisine daldırılmış bir platin tel üzerine, 1 atm basınçtaki hidrojen gazı kabarcıklar şeklinde gönderilir.

Yarı pil tepkimesi için iletken olarak platinlenmiş bir platin levha kullanılır. Platinleme işlemi, H₂PtCl₆'nın hızlı kimyasal ve elektrokimyasal indirgenmesi ile oluşan ince parçacıklar halindeki platin tabakası ile metalin kaplanması işlemidir. Elektrot yüzeyindeki ince parçacıklı platin tabakası, parlatılmış platin gibi ışığı yansıtmaz; dolayısıyla elektrot siyah görünür. Bu nedenle bu parçacık *platin siyahı* olarak adlandırılır[4]. Platin siyahı



reaksiyonunun elektrot yüzeyinde hızla yürütmesini güvenceye alacak geniş bir yüzey alanı sağlar.

Hazırlanan çözeltide H⁺ iyonunun birim aktiviteye sahip olması, 1 atm basınçta hidrojen gazının patlayıcı olması nedeniyle pratik değildir ve diğer elektrotların hazırlanmasını zorunlu kılmıştır.

2.1.2.2. Elektrolitler

Çözündükleri veya eridikleri zaman iletken bir ortam oluşturan maddelerdir. Elektrokimyasal teknik için evrensel bir elektrolit yoktur. Sulu çözeltilerde çok sayıda değişik elektrolit kullanılabilir.



Örneğin klasik polografi için 0.1 M derişimde KCl, LiCl, NH₄Cl veya (CH₃)₄NCl'dir. Tampon olarak asidik ortamlarda asetik asit/asetat, bazik ortamlarda ise amonyum/ amonyak tamponu veya sitrat, malonat ve fosfat tamponları da kullanılabilir. Tampon derişiminin yeterli olması durumunda destek elektrolitine ihtiyaç olmayabilir.

Çoğu elektroanalitik ölçümler sulu ortamda yapılabilmektedir. Bu nedenle su en önemli elektrokimyasal çözenlerin başında gelir. Yüksek saflıkta elde edilebilmesi, ucuzluğu ve başka çözenlere kıyasla çok fazla sayıda ve türde maddeyi çözebilmesi suyun en önemli avantajlarıdır. Buna karşın molekül ağırlığı büyük organik bileşikler yeterince çözememesi ve protik bir çözen olması ise dezavantajıdır.

2.1.3. Pil Potansiyelleri ve Nernst Eşitliği

2.1.3.1. Serbest Enerji ve Pil Potansiyeli

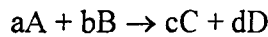
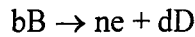
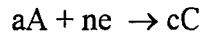
Kimyasal tepkime için serbest enerji değişimi (ΔG), tepkimenin kendiliğinden olup olmayacağını gösteren bir enerji büyüklüğüdür. Serbest enerji değişimini pil gerilimine bağlayan eşitlik aşağıdaki gibidir:

$$\Delta G = -nFE_{pil} \quad (2.1)$$

Pil potansiyeli biliniyorsa serbest enerji hesaplanabilir. Kendiliğinden gerçekleşen olaylarda ΔG negatif olduğundan $E_{pil} > 0$ dır.

2.1.3.2. Nernst Eşitliği

İki yarı tepkimeden oluşan redoks tepkimesi aşağıdaki gibidir.



serbest enerji değişimini standart serbest enerjiye bağlayan eşitlik:

$$\Delta G_{pil} = \Delta G^\circ_{pil} + nRT \ln (a_{ürünler} / a_{girenler}) \quad (2.2)$$

a, pil tepkimesindeki maddelerin aktivitesini, R gaz sabitini, T ise mutlak sıcaklığı göstermektedir. ΔG_{pil} ve ΔG°_{pil} değerleri, denklem (2.1) ile birleştirilerek Nernst eşitliğinde yerine yazılırsa



$$E_{pil} = E^{\circ}_{pil} - RT \ln (a_{ürünler} / a_{girenler}) \quad (2.3)$$

25°C için yazılırsa

$$E_{pil} = E^{\circ}_{pil} - (0.0591/n) \log (a_{ürünler} / a_{girenler}) \quad (2.4)$$

şekline dönüşür.

2.1.4. Kütle Aktarımı

Bir elektrokimyasal hücrenin çalışması sırasında maddenin elektrot yüzeyine aktarımına kütle aktarımı denir. Elektrot çözelti ara fazında, bir molekülün elektrokimyasal indirgenmesi veya yükseltgenmesi gerçekleşir.

Bir elektrot, sadece elektrot yüzeyindeki çok ince bir çözelti tabakasında etkili olabildiğinden, faradaysal bir akım, ana çözülden elektrot yüzeyine, reaksiyona giren türlerin devamlı kütle aktarımını gerektirir[1].

Konsantrasyon polarizasyonu, elektroaktif türlerin akım oluşumu için katot yüzeyine ulaşmadığı veya ürünlerin anot yüzeyinden ayrılmadığı zaman meydana gelir. Bu durum meydana geldiğinde ise akım;

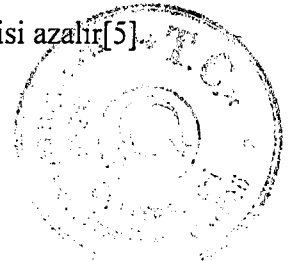
$$E_{uygulanan} = E_{katot} - E_{anot} - IR \quad (2.5)$$

eşitlikte beklenenden daha düşük değerlerle sınırlanır[4].

Yani, derişim polarizasyonu bir galvanik hücrenin potansiyelinin, termodinamik potansiyel ve IR düşüşüne dayanarak tahmin edilenden daha küçük olmasına sebep olur. Benzer şekilde, bir elektrolitik hücrede akımı sürdürmek için, kuramsal olarak hesaplanandan daha negatif bir potansiyel gereklidir.

Derişim polarizasyonu bir çok elektroanalitik yöntemde önemlidir. Bazı uygulamalarda onu giderici basamaklar mevcuttur; ancak bazılarında ise derişim polarizasyonu yöntemin temelidir ve onu arttırmak için her yola başvurulur. Derişim polarizasyonunun derecesi şu deneysel parametrelerden etkilenir.

- 1 Reaktif derişimi: düşük reaktif derişimlerinde polarizasyon olasılığı daha yüksektir.
- 2 Toplam elektrolit derişimi: yüksek elektrolit derişimlerinde polarizasyon oluşma olasılığı artar.
- 3 Mekanik karıştırma: iyi karıştırılan çözeltilerde polarizasyon azalır.
- 4 Elektrot boyutu: elektrodun yüzey alanı büyüdükçe polarizasyonun etkisi azalır[5].



Elektrokimyasal tekniklerde kütle aktarımı 3 yolla gerçekleşir: konveksiyon, difüzyon ve migrasyon (göç).

2.1.4.1. Konveksiyon

Reaktifler bir elektrottan çözeltiliye veya çözeltiden elektroda doğru mekanik olarak aktarılabilir. Karıştırma veya çalkalama gibi mekanik şekilde oluşan konveksiyon, elektrot yüzeyindeki difüzyon tabakasının kalınlığının azalmasına sebep olur ve böylece derişim polarizasyonu azalır. Sıcaklık veya yoğunluk farklarıyla oluşan doğal konveksiyon da kütle aktarımına yardımcı olur[1,5]. Fakat bu voltametri de istenmeyen bir olaydır.

2.1.4.2. Difüzyon

Bir çözeltilinin iki bölgesi arasında konsantrasyon farkı varsa, iyonlar veya moleküller daha derişik bölgeden daha seyreltik bölgeye doğru hareket ederler. Bu işlem difüzyon olarak adlandırılır ve konsantrasyon farkı kalkıncaya kadar devam eder. Difüzyon hızı, konsantrasyon farkıyla doğru orantılıdır. Difüzyon hızı

$$dc/dt = k(c-c_0) \quad (2.6)$$

eşitliği ile verilir. Burada c ana çözeltideki reaktif derişimi, c_0 elektrot yüzeyindeki denge derişimidir ve k bir orantı sabitidir.

Elektroda daha yüksek potansiyeller uygulandığında c_0 zamanla küçülür ve difüzyon hızı da zamanla büyük olur. Ancak sonunda c_0 , c 'ye kıyasla ihmal edilebilir hale gelir; bu nedenle hız sabitlenir. $c_0 \rightarrow 0$ olduğunda

$$dc/dt = kc \quad (2.8)$$

olur. Bu şartlar altında derişim polarizasyonu tamamlanmıştır ve elektrot ideal bir polarize elektrot olarak çalışır[1,5].



2.1.4.3. Göç

İyonların, elektrostatik alan etkisi altında hareket etmesi işlemi, migrasyon (göç) olarak isimlendirilir. Çoğu zaman bu olay, bir hücre içinde kitle çözeltide kütle transferinin meydana gelmesi durumunda ortaya çıkar. İyonların elektrot yüzeyinden veya elektrot yüzeyine hızları elektrot potansiyeli artarken genellikle artar. Yükün bu hareketi, potansiyel ile de artan bir akım oluşturur. Çözeltide toplam elektrolit derişimi artıkça, özel bir iyonik tür ile elektrot arasındaki elektrostatik çekim (veya itme) küçülür. Bu değer reaktif türler, aynı yüklü iyonların toplam derişiminin küçük bir kesri, örneğin 1/100'ü olduğunda, sıfıra yaklaşabilir[4,5].

2.1.5. Yük Aktarımı

Kinetik polarizasyonda akımın büyüklüğü, elektrot reaksiyonlarının birinin veya her ikisinin hızı ile, yani reaktifler ve elektrotlar arasındaki elektron aktarım hızı ile sınırlıdır. Yarı-tepkimenin istenen hızda gerçekleşebilmesi için ilave bir potansiyel veya aşırı gerilim uygulamak gerekir[2]. Yük aktarım polarizasyonu ile ortaya çıkan aşırı gerilim aşağıdaki özelliklere sahiptir.

1. Aşırı gerilimler akım yoğunluğu ile artar (akım yoğunluğu elektrodun birim yüzey alanı başına geçen akım olarak tanımlanır).

2. Aşırı gerilim genellikle sıcaklıkla azalır.

3. Aşırı gerilim elektrodun kimyasal bileşimine göre değişir. Genellikle kalay, kurşun, çinko ve özellikle civa gibi daha yumuşak metaller durumunda daha büyük olur.

4. Aşırı gerilim hidrojen veya oksijen gibi gaz ürünlerin oluştuğu elektrot işlemlerinde çok önemlidir. Metalin biriktiği veya bir iyonun yükseltgenme basamağının değiştiği durumlarda aşırı gerilim küçüktür.

5. Aşırı gerilimlerin büyüklüğü bir dizi kontrol edilemeyen değişkene bağlı olarak ortaya çıktığında önceden kesin olarak tahmin edilemez [4, 5].



2.2 Elektrotların Kimyasal Modifikasyonu

Geleneksel elektrokimyasal yöntemlerle organik ve inorganik maddelerin sentezi ve analizinde önemli uygulamalar bulunmaktadır. Bu tür uygulamalarda elektrot yüzeyi kendi başına güçlü bir araçtır. Elektrokimyacılar, elektrot gerilimini kontrol ederek değişik serbest enerji değerine sahip bir elektron kaynağı elde edebilmektedirler. Buna ek olarak elektrik akımının ölçülmesiyle elektrot-çözelti ara yüzeyini geçen elektronlar büyük bir duyarlılıkla izlenebilir. Ancak istenmeyen adsorpsiyon olayları ve aşırı gerilimlerin uygulanmasını gerektiren yavaş elektrokimyasal olaylar, elektroanalizde bazı önemli kısıtlamalar ortaya çıkarır. Yüzeyin bir ön işleminden geçirilmesi ve/veya yüzeyde istenerek oluşturulan filmler, bazı yavaş elektrokimyasal olayları hızlandırarak elektroanalizde yararlı hale getirebilir. 1975'lere kadar elektroanalizde sadece C, Au, Hg ve Pt elektrot yüzeyleri kullanılırken daha sonra bu yüzeylerin polimerlerle ya da spesifik olarak adsorbe olan bir madde ile kaplanarak kullanılması elektroanalitik kimyada ilginç uygulamalara yol açmıştır [7].

İmmobilize ajan olarak genellikle elektroaktif maddeler seçilir. Polimerik filmler halindeyken elektroaktivite gerekli olmayabilir. Zira bu tür filmler ön derişim amacıyla veya substratın, polimerik filmin permselectif özelliklerinden yararlanarak elektroda taşınması amacıyla kullanılır. Elektrot modifikasyonu alanındaki çalışmalar elektroaktif ajanların monomoleküler katman halinde yüzeye adsorpsiyonu araştırmalarıyla başlamıştır. Bu ilk kemisorpsiyon çalışmalarını, ajanların belli kovalent bağlarla elektrot yüzeyindeki fonksiyonel gruplara tutturulması deneyleri izlemiştir. Örneğin C veya Pt yüzeyleri kolaylıkla oksitlenerek yüzeyde zengin hidroksil grupları oluşur [8]. Bu gruplarla da amid bağları oluşturabilir [9].

Günümüzde en yaygın olarak kullanılan kimyasal modifikasyon şeması elektroaktif polimer ve çok moleküllü katman filmleridir [10]. Bu tür ajanlar kovalent bağlı tek katmanlara kıyasla, elektrot yüzeylerine daha kolay uygulanır. Bundan başka, bu polimer filmleri 10^5 mono moleküler katmana eşdeğerde elektroaktif merkezler içerebileceklerinden elektrokimyasal özellikleri çok daha kolay gözlenir. Kimyasal olarak modifiye edilmiş elektrot kavramı, elektrokimyacıların elektrot yüzeyindeki kimyasal çevreyi doğrudan kontrol etme düşüncesinden ortaya çıkmıştır. Elektrot yüzeyine bağlanan kimyasal reaktiflerle, kullanılan reaktifin kimyasal özelliklerinin elektroda kazandırılacağı düşünülmüştür. Eğer istenen özelliklerde, özel reaktifler seçilirse elektrokimyasal tepkimelerde seçicilik ve hız kontrol edilebilir. Modifiye elektrotlar beş değişik amaç için kullanılır.



- 1 Elektrokataliz ,
- 2 Membran engeli (permselektivite),
- 3 Deriştirme (ön biriktirme),
- 4 Bazı maddelerin elektrot yüzeyinden kontrollü salınımı,
- 5 Mikroelektrotlar.

Kimyasal ajanların elektrot yüzeyine immobilizasyonu için çeşitli teknikler mevcut olup bunlar Tablo 2. 1'de gösterilmiştir.

Modifiye edilmiş elektrot yüzeyleri için en önemli uygulama alanlarından biri, önemli bazı elektrot tepkimelerinin katalizlenmesidir. Analizi yapılacak maddenin çıplak yani modifiye edilmemiş elektrot yüzeyindeki elektrot kinetiğinin yavaş olması sıkça rastlanan olaylardandır. Yükseltgenme, termodinamik potansiyelden daha pozitif; indirgenme ise termodinamik potansiyelden daha negatif potansiyellerde gerçekteşir. Yüzeyde tutuklanmış bir aracı katalizör yardımıyla aşırı gerilimin düşürülerek istenen elektrot tepkimesi hızlandırılabilir. Aracı katalizörün yükseltgenmiş türü, elektrot yüzeyinde çok hızlı bir şekilde indirgenebilir ve oluşan indirgenmiş tür çözeltide bulunan türlerle hızlı redoks tepkimesine girebilir. Böylece aracı yoluyla yapılan bu tür elektrokataliz olayında tepkime hızları yeterince artırılabilir. Bunun yanında iyi katalizlenmiş bir elektrokimyasal tepkimede, çıplak elektrottaki indirgenme gerilimi daha negatif veya yükseltgenme gerilimi daha pozitif değerlere kaydırılabilir.

Bazı durumlarda kuvvetli adsorpsiyon yapan elektroaktif türlerin elektrot yüzeyine ulaşması istenmez. Böyle bir sistemde çözeltideki türlerin bir kısmının elektrot ile teması engellenir. Bu amaçla kullanılan polimer filmler membran engeli olarak adlandırılır. Analiz edilmek istenen ve analizi istenmeyen iyonlar farklı yüklü olduklarında modifiye elektrotta önderiştirme ve membran engeli özellikleri bir arada oluşturulabilir. Elektropolimerizasyon sırasında geçirilen yük miktarı ve polimerizasyon parametreleri kontrol edilerek farklı gözenekliliğe sahip polimer filmler de oluşturulabilir.

2.2.1. Elektrotların Kimyasal Modifikasyonunda Polimerlerin Kullanımı

Polimerik filmlerle kaplanmış elektrotların hazırlanması ve bu elektrotların elektrokimyasal davranışlarının belirlenmesi çeşitli araştımacılar tarafından incelenmiştir. Polimerik filmin çalışılan ortamda çözünmemesi ve kararlı olması önemlidir. Çözeltideki elektroaktif maddelerin polimer kaplı elektrotlardaki elektrokimyasal davranışının



incelenmesi sırasında bazı durumlarda tepkime hızının düşmesi söz konusu olabilir. Kütle aktarımı çoğunlukla polimer yapıdaki ince kanallar yoluyla gerçekleşmektedir. Elektronik yük aktarım mekanizması ise değişik şekillerde yürüyebilir. Elektroaktif / inaktif polimer filmler ön deriştirme ortamı veya membran engeli olarak da kullanılabilirler. Halde mono katmanlar bu amaç için genellikle güvenilir sonuçlar vermez. Polimerik filmler, elektrot yüzeyine polimer çözeltisinin buharlaştırılmasıyla [11], polimerin elektrokimyasal çöktürülmesiyle [12] veya elektroaktif monomerin elektrokimyasal polimerizasyonu ile biriktirilebilir [7,13].

Bu filmler yüzeye kemisorpsiyon kuvvetleri ile tutunurlar. Genel olarak, polimer filmlerin kararlılığı mono katmanlardan çok daha iyidir, bundan dolayı elektroanalitik kimya uygulamalarında, özellikle sensör geliştirme çabalarında oldukça önemlidir.

Polimer film ile kaplanmış elektrot yapımında ya monomer doğrudan elektrot yüzeyinde polimerleştirilir, ya da önceden kimyasal polimerizasyon ile elde edilmiş olan polimerler uygun bir yöntemle elektrot yüzeyinde kaplanır. Elektrot yüzeyinde doğrudan polimerik film oluşturmasında kullanılan üç yöntem vardır:

- a) elektrokimyasal polimerizasyon
- b) organosilan kondenzasyonu
- c) plazma polimerizasyonu

Elektrokimyasal yolla radikal oluşturabilen tepkimelerde elektrot yüzeyinde başlatılan polimerizasyon sonucu elde edilen bileşiğin yüzeyde çöktürülmesi ya da adsorpsiyonu ile polimerik film oluşturulabilir. Bunlar elektroaktif veya elektroaktif olmayan filmler olabilir.

Kimyasal polimerizasyonla elde edilmiş polimerlerin elektrot yüzeyinde kaplanmasında ise polimer çözeltilerinden,

- a) elektrot yüzeyine elektrokimyasal çöktürme,
- b) daldırıp kurutma,
- c) damlatma, döndürerek-buharlaştırma yöntemleri kullanılabilir.

Elektrokimyasal çöktürme yönteminde polimer çözeltisine daldırılan elektroda, uygun bir gerilim uygulanarak kaplama yapılırken; daldırıp kurutma yönteminde elektrot polimer çözeltisinde bir süre bekletildikten sonra kurutulur; damlatma-döndürerek buharlaştırma yönteminde ise elektrot yüzeyine polimer çözeltisi damlatılıp elektrodun döndürülmesi yoluyla çözücü buharlaştırılır.

Elektroaktif polimer filmler kendiliğinden hem iyonik (katyon veya anyonlar akımın iletilmesini sağlarlar) hem de elektronik iletkenlik gösterirler [10]. Polimerik filmler üç sınıfta ele alınabilir:



1. redoks polimerleri,
2. iletken polimerler,
3. iyon değiştirme polimerleri.

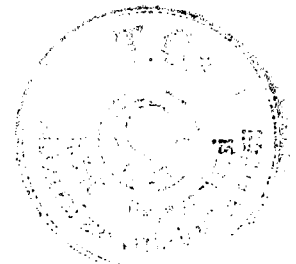
Redoks merkezleri içeren polimer filmler; indirgenmiş ve yükseltgenmiş redoks merkezlerinde elektron sıçraması (hopping) ile elektriği ileten polimerler olarak bilinir. En belirgin örnekleri ise *o*-kinon [14], sübstitüe porfirin [15] ve ferrosendir [16].

İyon seçimli elektrotlar ise, istenen yanıt karakteristiklerini sağlayabilen bileşenleri içeren polimerik bir yapıdır. Anyonik gruplar içeren polimerlerle katyona duyarlı elektrotlar yapılmıştır. İyon değiştirici polimer filmleri yüklerini dengeleyen karşı iyonların elektroaktif iyonlarla yer değiştirmesiyle elektroaktif yapılabilir.

Elektrik akımını ileten polimerlere iletken polimerler denir. Bunlar bazı monomerlerin elektrotta yükseltgenmesiyle oluşur. Herhangi bir elektrot materyalinin istenen en temel özeliği yük transfer edebilmesi veya en azından yük transferinde sınırlayıcı olmamasıdır.

Elektrokimyasal olarak başlatılan polimerizasyonlarda iletken polimerler genellikle anot yüzeyinde yükseltgenme sonucunda büyümeye başlarlar. Çözelti içerisinde de belirli oranda polimer oluşabilir. Katot bölgesinde oluşan polimerizasyonlara daha ender rastlanır. Yükseltgenen monomer genellikle radikal katyon oluşturur ve yeni monomer katılmasını takip eden elektron aktarımları sonucunda yüzeyde artı yüklü polimer zincirleri oluşur. Yükseltgenmiş polimer iletkendir ve elektrolizle indirgenince nötürleşir ve anyonlar (dopant) çözeltiye geçerek indirgenmiş (nötür) polimer iletkenliğini kaybeder.

İletken polimerlerin elektrokimyasal olarak hazırlamaları sırasında polimerlere mediatörler, enzimler, kompleks yapıcı ligandlar ve antikorlar bağlanabilir. İletken polimerlerin substrat veya ürün ile kimyasal uyumu veya ayırıcı davranışı yanında, elektronik devrelere elektronik sinyal gönderebilme özelliklerine de sahip oluşu tercih nedeni olmaktadır. İletken polimerin kullanıldığı biyosensörler; amperometri, potansiyometri ve çözelti iletkenliği ölçümü gibi yöntemlerden yararlanılarak kullanılırlar.



Tablo 2.1 Elektrot modifikasyon şeması

Monomoleküler Tabakalar

Ajanın Kemisorpsiyonu,
Platin yüzeyine,
Karbon yüzeyine,
Civa yüzeyine,
Altın yüzeyine.

Elektrot-elektroaktif ajan arasında kovalent bağ oluşumu

Metal oksit yüzeylerde,
Karbon yüzeylerde,
Yarıiletken yüzeylerde,
Elektroinaktif kiral maddelerde.

Elektrot üzerine polimer film kaplanmış multimoleküler tabakalar

Redoks polimerleri,
Elektrostatik olarak kurulmuş tuzaklarda iyon değişimi,
Elektronik iletken polimerler,
İyonik iletken polimerler,
Taç eter veya kompleksleşme ajanı,
Elektroinaktif kiral polimerler.

Heterojen multimoleküler tabakalar

Karbon pastası ile karıştırılmış modifiye ajanlar,
Modifiye edilmiş kil,
Modifiye edilmiş zeolit,
Elektroaktif polimerlerdeki elektroaktif türler.



2.3. Elektrokimyasal Sensörler

Elektrokimyasal sensörlerde yanıt, kimyasal tepkimeler ile sinyal arasındaki ilişkiyi kaynaklanmaktadır. Potansiyometrik sensörler hücre potansiyelinin, amperometrik sensörler hücre akımının ve iletkenlik sensörleri ise hücre direncinin ölçümüne dayanmaktadır. Biyosensörler farklı özellikteki iki elemanın (transduser ve biyoreseptör) kombinasyonu ile oluşur. Uygun transduser ve biyoreseptör seçildikten sonra bunların birbirine bağlanması aşılması gereken en önemli sorundur. Bu bağlama işlemine biyoreseptör immobilizasyonu denir. Biyosensör immobilizasyonunda başlıca beş yöntem kullanılmaktadır [17]. Bunların içinden ise ilk dört yöntem yoğun biçimde kullanılmaktadır.

- a) Kovalent bağlanma [17]
- b) Tutuklama [17, 18]
- c) Çapraz bağlanma [17]
- d) Adsorpsiyon [17]
- e) Biyolojik bağlanma [19].

Biyosensörlerin kimyasal yapısı ve fiziksel durumuna göre immobilizasyon yöntemi belirlenir. Enzimler için uygulanan tüm immobilizasyon yöntemleri protein yapısındaki diğer biyoreseptörler için de kullanılabilir.

2.3.1 Enzim İmmobilizasyonu

2.3.1.1. Kovalent Bağlanma

Enzimler, doğrudan transduser veya uygun bir film/tabaka ile kaplanmış transduser, kovalent olarak bağlanabilirler. Enzimler aktive edilmiş transduser yüzeylerine bağlanabileceği gibi önceden uygun bir materyale kovalent bağlanarak, immobilize edilen enzim preparatın transduser yüzeyinde bir film/tabaka oluşturmasıyla da biyosensör hazırlanabilir [19].

Enzimlerin kovalent bağlanmasında dikkat edilecek önemli nokta bağlanmanın enzim aktivitesi için esas olan amino asitler üzerinden gerçekleşmemesi ve bu grupların bağlanma sırasında sterik olarak rahatsız edilmemesidir.



2.3.1.2. Tutuklanma

Enzimler, makromoleküler proteinler olup polimer jel matrikslerde ve daha basit olarak diyaliz membranlarında tutuklanabilirler. Bu yöntem enzimler yanında organeller, hücreler ve antikorlar için de uygulanabilir. Enzim aktivitesi çözeltide hızla düştüğünden fiziksel tutuklama yerine kimyasal kovalent bağlanma tercih edilir [19]. Tutuklama için en yaygın kullanılan ortamlar nişasta, poliakrilamid, silikon lastiği, polivinil klorür ve polivinil alkoldür [20].

Elektrokimyasal polimerizasyon diğer bir tutuklama yöntemidir. Bu yöntem, çok katlı tabakaların elde edilebilmesi, polimerizasyon boyunca geçen yükü izlemek suretiyle film kalınlığının ve immobilize enzim miktarının kontrol edilebilmesi ve metodun tek basamaklı bir proses ile uygulanabilmesi gibi avantajlara sahiptir.

2.3.1.3. Adsorpsiyon

İmmobilizasyonda kullanılan en eski ve en basit yöntemdir. Genellikle, enzim veya biyoreseptör çözeltilisine, yüzeyi membran/film ile kaplanmış transduser daldırılır ve belirli bir süre beklenir. Membran veya film immobilize edilecek reseptöre göre hidrofilik veya hidrofobik karakterde seçilir. Enzimler için en çok hidrofilik membranlar kullanılır. En çok kullanılan adsorbanlar ise selüloz asetat membranları, polistiren, polivinil klorür ve silikadır [19].

2.3.1.4. Çapraz Bağlanma

Bu yöntem, daha çok tutuklama ve kovalent bağlanmanın kombinasyonu şeklindedir. Çapraz bağlayıcı reaktif olarak glutaraldehid, hegzametilen diizosiyanat, diflorodinitrobenzen, disüksinil süberat sıklıkla kullanılır. Bifonksiyonel reaktifler, enzimlerin yanı sıra organeller, hücreler ve antijenlerin immobilizasyonunda da uygulanır.



2.3.1.5. Transduser Yüzeyinin Kaplanması

Değişik şekillerde uygulanabilir. Ya polimerizasyon doğrudan transduser yüzeyinde gerçekleştirilip bir film elde edilir ya da önceden hazırlanan polimer ile transduser yüzeyi kaplanır. Dört şekli vardır:

- a) Daldırma yöntemi
- b) Doğrudan bağlama yöntemi
- c) Aerosol kullanımı
- d) Membran kullanımı[19]

2.4. Elektropolimerizasyon parametrelerinin seçimi

2.4.1. Monomer Seçimi

Monomer seçiminde, düşük yükseltgenme potansiyellerine sahip bileşiklerin, elektrokimyasal teknikler kullanılmak suretiyle elektrofilik süstitüsyon reaksiyonuna uğratılmasıyla elektrot yüzeyinde iletken polimerik filmlerin elde edilebileceği düşünülmektedir[20].

Elektrokimyasal olarak polimerleşebilecek monomerler genel olarak 2.1 V'dan daha düşük potansiyellere sahiptir. Böyle düşük bir potansiyel; polimerizasyon esnasında, çözücü ve elektrolitin oksidatif bozunmasından kaynaklanabilecek komplikasyonları önlemektedir.

Elektrokimyasal polimerizasyon esnasında, biyomolekül (enzim); monomerle, oligomerlerle ve nihayet polimerlerle yakın temas halindedir. Dolayısıyla, kullanılacak olan monomer özellikle enzimin katalitik aktivite gösterdiği kısımları için zehir etkisi göstermemelidir.

2.4.2. Akım Yoğunluğu

Akım yoğunluğu, elektrokimyasal polimerizasyon esnasında elektrot yüzeyinde elde edilecek olan polimerik filmin başta iletkenliği olmak üzere birçok özelliğini etkileyen parametrelerden biridir. Belirli bir dereceye kadar artan akım yoğunluğunun artması, elde edilen polimerik filmin elektriksel iletkenliğini artışı ile açıklanabilir.



Yüksek akım yoğunluğunun en büyük dezavantajı ise oluşan polimerik filmin sert ve kırılğan olmasıdır. Öte yandan akım yoğunluğu söz konusu monomerin elektrokimyasal polimerizasyon hızının bir ölçüsüdür[5].

2.4.3. Polimerizasyon Sıcaklığı

Elektropolimerizasyon tepkimeleri genellikle oda sıcaklığında gerçekleştirilir. Çoğu enzimatik tepkimeler optimal olarak sulu çözeltilerde ve orta derecede pH ve sıcaklık şartlarında gerçekleştirilir.

Oda sıcaklığından yüksek sıcaklıklarda enzimin elektrokimyasal yanıtı daha büyük olmakla beraber, biyosensörün operasyonel kararlılığı hızlı bir şekilde düşmektedir.

Dolayısıyla, her bir enzim için ideal çalışma sıcaklığı, elde edilen elektrokimyasal yanıt ve film kalınlığının birlikte optimize edildiği sıcaklık olmalıdır.

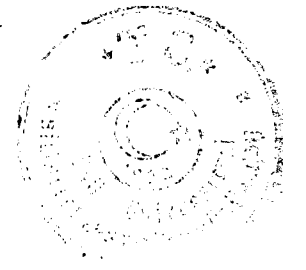
2.4.4. Biyoajan Seçimi

Enzimler yüzeylerinde belirli elektrik yükü taşırlar. Eğer biyosensör yapımında kullanılacak olan monomer elektrot yüzeyinde pozitif yüklü polimer halinde tutulacaksa enzim negatif, polimer negatif yüklü olarak tutunacaksa enzim pozitif yüküyle yüklenmelidir. Bu durum, elektrot yüzeyinde oluşan polimerin yükü polimerik yapıda bulunan anyon ve enzim tarafından kompanse edilmek suretiyle elektronötrallik sağlanıncaya kadar devam eder.

2.4.5. Çözücü ve Destek Elektrolit Seçimi

Elektrokimyasal polimerizasyon reaksiyonu radikal katyonik ara ürünler vasıtasıyla yürüdüğünden. çözücü ve elektrolitin nükleofilik karakteri onların seçimi hakkında bazı sınırlamalar getirmektedir[21].

Uygun bir destek elektrolit çözeltisi, hücreye daldırılan elektrotlar arasında iletken bir ortam oluşturur. Bu temel amaçtan başka, destek elektrolit meydana gelen polimer içerisinde dop olur. Destek elektrolitin seçimi, onun çözünürlüğüne, ayrışma derecesine ve nükleofilik karakterine bağlıdır[20].



2.5. Enzim Sensörlerinin Sınıflandırılması

Enzim sensörlerinin sınıflandırılması en yaygın şekilde, enzimatik reaksiyon uyarınca oluşan sinyalin ölçüm yöntemine göre yapılmaktadır. Tablo 2.2'de bu sınıflandırma gösterilmektedir [19].

Tablo 2.2 Enzim Sensörlerin Sınıflandırılması

- 1- Elektrokimyasal Esaslı Enzim Sensörleri;
 - Amperometrik Esaslı Enzim Sensörleri;
 - Birincil nesil,
 - İkincil nesil,
 - Üçüncü nesil.
 - Potansiyometrik Esaslı Enzim Sensörleri;
 - Proton duyar,
 - Amonyak duyar,
 - Karbon dioksit duyar,
 - Diğer İyon duyar.
 - Yarı İletkenleri Esas Alan Enzim Sensörleri;
 - Enzim Alan Etki Transistörler (ENFET)
- 2- Optik Esaslı Enzim Sensörleri;
 - Absorpsiyon esaslı,
 - Flouresans esaslı,
 - Biyoluminesans esaslı..
- 3- Kalorimetrik Esaslı Enzim Sensörleri
- 4- Piezoelektrik Esaslı Enzim Sensörleri



2.5.1. Enzim Sensörlerin Genel Özellikleri

Hazırlanan bir biyosensörün hedeflenen amaçlar çerçevesinde kullanılabilir olup olmadığına ancak genel özelliklerinin yani performans faktörlerinin ayrıntılı bir şekilde belirlenmesinden sonra karar verilebilir. Genel anlamda bir enzim sensörü (elektrokimyasal biyosensörü) karakterize eden, onun çalışma niteliklerini ve verimini belirleyen beş temel özellik vardır.

- 1- Kararlılık (Stability),
- 2- Duyarlılık (Sensitivity),
- 3- Seçimlilik (Selectivity),
- 4- Yanıt süresi (Response Time).
- 5- Tekrarlanabilirlik (Reproducibility).

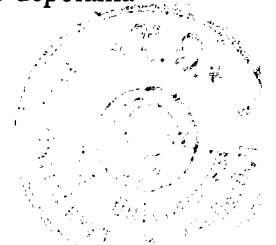
2.5.1.1. Kararlılık

Pratikte, bir enzim elektrodun kararlılığı, en başta aranan özelliklerinden biridir. Kararlılığını ne kadar uzun süre korursa bir biyosensörün ömrü o kadar uzun olacaktır. Bu ise aynı materyal ile çok sayıda ölçüm yapılabileceği anlamına geldiğinden iş gücü ve maliyet açısından önemli avantajlar sağlar. Biyosensörlerin ömrü, onların saklanma ve çalışma koşulları açısından incelenir.

Enzim sensörleri açısından baktığımızda, hibrit bir yapıya sahip olmaları nedeniyle, durumun hem sensör hem de enzim kararlılığı açısından değerlendirmesi gerekir. Örneğin, iyon seçimli sensörler genelde yüksek bir kararlılığa sahipken, gaz duyar olanların doldurma çözeltilerinin belirli aralıklarla değiştirilmesi gerekir. Amperometrik sensörlerde özellikle yüksek potansiyelde çalışıldığı zaman reaksiyon ürünleri tarafından yüzeyin bozulması problemi ile karşılaşılabilir.

Biyolojik materyal açısından enzim sensörünün kararlılığı incelendiğinde enzimin saflık düzeyi, kaynağı ve immobilizasyon yöntemi gibi parametreler önemli olmaktadır. Enzimin saflık düzeyi yükseldikçe kararlılığında bir azalma söz konusu olabilir. Ancak düşük saflık durumunda ise ilgilenilen enzimatik reaksiyonla girişim yapacak türlerin performans faktörlerini etkileyeceği düşünülmelidir.

Hazırlanan bir biyosensör ile rutin uygulamalara geçmeden önce çalışma ve depolama kararlılığının spesifik olarak belirlenmesi gereklidir.



2.5.1.2. Duyarlılık

Potansiyometrik enzim sensörlerinde kalibrasyon grafiği substrat (ürün) konsantrasyonunun logaritması ile potansiyel arasında çizilir. Amperometrik esaslı enzim sensörlerinde ise ürün konsantrasyonu ile akım arasında doğrusal grafikler elde edilir. Genelde tayin sınırının 10^{-5} M'dan düşük olması istenir [24].

Biyosensörün yanıtını etkileyen parametrelerin sensör kalibrasyonunu etkileyeceği unutulmamalıdır. Örneğin, bir enzim sensör incelendiğinde pH, sıcaklık ve girişim yapıcı türlerin sensörün yanıtını etkileyeceği dolayısıyla tayin sınırının değişeceği unutulmamalıdır.

Dolayısıyla bir sensör seçilirken analiz ortamında onu etkileyecek unsurların olduğu ve bunların minimize edilmesi gerektiği göz önüne alınmalıdır.

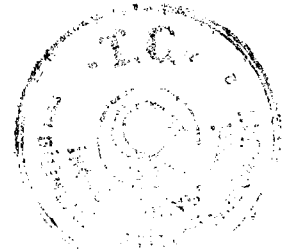
2.5.1.3. Seçimlilik

Biyomateryaller açısından baktığımızda enzimler, seçimlilik açısından antikor ve nükleik asitlerden sonra gelir. Spesifik enzimlerin söz konusu olduğu durumlarda bu yaklaşım geçersizdir.

Spesifikliği düşük enzimler, grup spesifik enzimler, kısmi saflaştırılmış enzim preparatları, dokular ve mikroorganizmalar seçimlilik açısından bazı dezavantajlara sahiptir. Bunların başında sensörle girişimler, biyokatalizatörle girişimler ve pH bulunmaktadır.

Sensörde meydana gelebilecek girişimleri önlemenin en iyi yolu, örnekteki diğer maddelere cevap vermeyen yalnızca ilgili reaksiyonu izleyebilecek bir sensör kullanmaktır[22].

Amperometrik sensörler sabit bir potansiyelde çalışmalarına rağmen potansiyometrik olanlara nazaran daha spesifiktir. Glukoz ölçümünde kullanılan potansiyel, gerçek örneklerde bulunan girişim yapıcı türlerin aktivite göstermesine izin vermekte ve dolayısıyla ölçülecek amperometrik akıma katkıda bulunabilmektedir. Dolayısıyla ölçüm esnasında bu girişimlerden kaçınmak için girişim yapabilecek türlerin geçişine izin vermeyecek büyüklükte gerilimlerin kullanılması sağlanmalıdır [22].



2.5.1.4. Yanıt süresi

İdeal bir biyosensörün, temel niteliklerinden olan pratik bir işleme kısa sürede sonuç alınabilmesi biyosensörlerin yaygınlaşmasını sağlamıştır. Bir biyosensörün yanıt süresi üç aşamadan meydana gelir.

- i. Substratın analiz ortamından membran yüzeyine ne kadar hızlı difüzlendiği,
- ii. Sustratın membran içine ne kadar hızlı difüzlendiği ve biyokatalizörün aktif merkezi ile ne kadar çabuk reaksiyon verdiği,
- iii. Oluşan ürünün sensör yüzeyine ne kadar hızlı difüzlendiği.

Bu üç olayı etkileyen başlıca unsurlar ise çözeltinin karıştırma hızı, substrat derişimi, enzim derişimi, pH, sıcaklık ve sensör yüzeyinde herhangi bir membranın kullanılıp kullanılmadığı ve kullanılıyorsa membranın niteliğidir [23]. Ayrıca, hızlı yanıt süreli biyosensör yapımı için kullanılan polimerik otamın enzimin, dışarıya çıkışına izin vermeyecek kalınlıkta olmalıdır.

2.5.1.5. Doğrusallık

Hazırlanan bir biyosensörün tekrarlanabilirlik denemelerinin en basiti aynı örnekte ard arda ölçüm yapılması ve elde edilen değerlerden sapma ve korelasyon katsayısının hesaplanmasıdır.

Bir enzim sensöründe kullanılan enzim preparatının aktivitesi, kararlılığı ve saflık düzeyi hazırlanacak olan enzim sensörü ile tekrarlanabilir sonuçlar alınmasında oldukça önemlidir.



2.6. Glukoz Elektrodu

Pankreas hormonu kandaki glukoz seviyesini insulin salarak kontrol etmektedir. Bu hormonun görevini kısmen veya tamamen yapamadığı şeker hastalarında ise kandaki glukoz düzeyi normal sınırların dışında kalmaktadır.

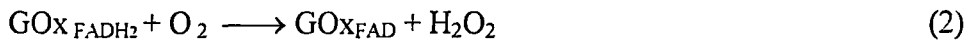
Bu hastalara, glukoz seviyelerini normal düzeyde tutmak amacıyla dışarıdan insulin verilmektedir. Dolayısıyla, kandaki glukoz tayininde, daha düşük zemin akımı sebebiyle, enzimatik ürün olan hidrojen peroksit'in izlenmesi yöntemi, oksijen harcanması yönteminden daha hassastır. Aynı zamanda, bu yöntemin en büyük avantajı, glukoz oksidazın glukozu karşı oldukça seçici davranmasıdır. Bununla birlikte, kullanılan potansiyelde diğer yükseltgenbilir örnek bileşenlerin oksidasyonu bir dezavantaj olarak değerlendirilebilir.

Anılan dezavantaj, yüzeyin uygun bir membran ile kaplanması sonucu ortadan kaldırılabılır[25]. Glukoz ölçümü için kullanılacak olan diğer elektrokimyasal enzimatik ölçüm aleti, Nagy ve arkadaşları tarafından geliştirilen iyot iyon seçici elektrot bazlı potansiyometrik glukoz elektrotudur. Bu yöntemde, örnek çözeltiye konan iyodür iyonları enzimatik reaksiyon sonucu meydana getirilen hidrojen peroksit tarafından yükseltgenmek suretiyle, iyodaki değişim sensör yüzeyinde ölçülmektedir [26]. Benzer şekilde, florür iyon seçici elektrot da bu amaçla kullanılmaktadır [27].

Son zamanlarda, amperometrik glukoz ölçümü için tek basamakta uygulanabilirliği ve özellikle de film kalınlığı ve immobilize olmuş enzim miktarının kontrol edilebildiği değişik polimerik matrikslerde glukoz oksidazı immobilize etmek suretiyle hazırlanan polipirol [28-36], politiyofen[37], poli(N-metilpirol) [38], poliindol [39], polifenilenler [40-43] ve polivinilferrosen [44] gibi çok sayıda polimerik biyosensörler geliştirilmiştir.

Bu yöntemde, elektrokimyasal polimerizasyon esnasında glukoz oksidaz enzimi polimerik matris içerisine immobilize olmaktadır.

Elektron akseptör olarak kullanılan O₂ varlığında glukoz ile glukoz oksidaz arasındaki enzimatik reaksiyon aşağıdaki denklemlerle gösterilebilir[32].



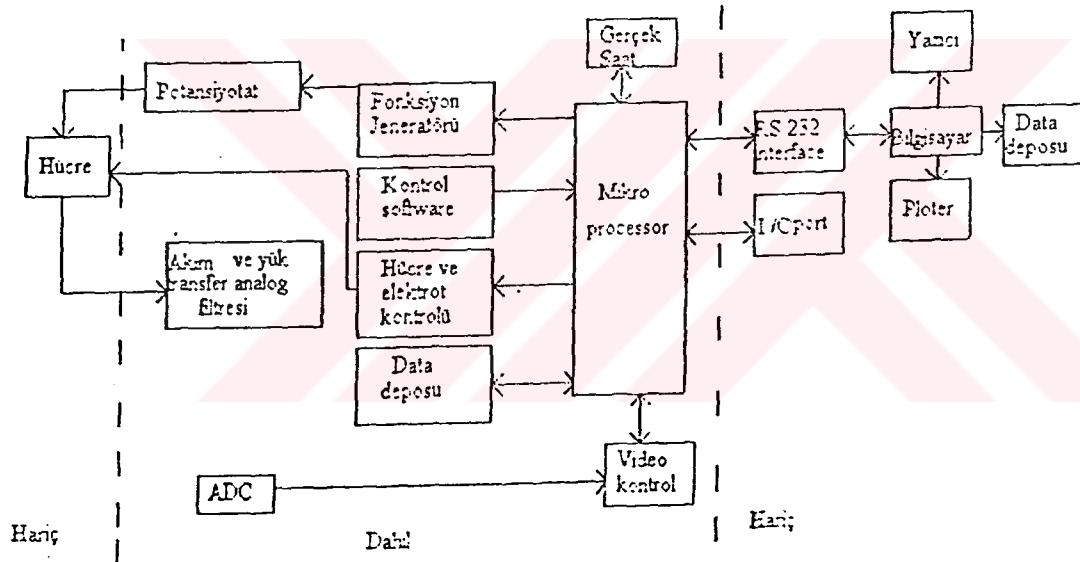
Yukarıdaki reaksiyon sonucunda oluşan hidrojen peroksit polimerik matris içerisinden elektrot yüzeyine difüzyonlanmakta ve orada 0.7 V (vs. Ag/AgCl) civarında amperometrik olarak tayin edilmektedir [45].



3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Deneysel Araç ve Gereçler

Voltametik ölçümlerde BAS (Bioanalytical Systems, Inc) 100W elektrokimyasal analizör kullanılmıştır. Bu analizör kişisel bir bilgisayara bağlanarak cihazın kontrolü, veri depolaması ve işlenmesi bilgisayara yüklenmiş ve MS-Windows altında çalışan bir program vasıtasıyla gerçekleştirilmiştir. Çalışma diyagramı aşağıda gösterildiği gibidir.



Şekil 3.1 BAS 100W elektrokimyasal çalışma diyagramı.

Analizör hücre çözeltisinden gaz geçirilmesine ve çözeltinin karıştırılmasına imkan vermektedir.

T.C. YÜKSEKÖĞRETİM KURULU
DOKÜMANTASYON BİRİMİ

Çalışmada kullanılan elektrokimyasal hücre, aynı firmanın C2 hücre kafesi (cell stand) içine yerleştirilmiş, böylece Faraday kafesi görevini gören bu düzenek sayesinde dış elektrik ve manyetik etkilerden yalıtılmıştır.

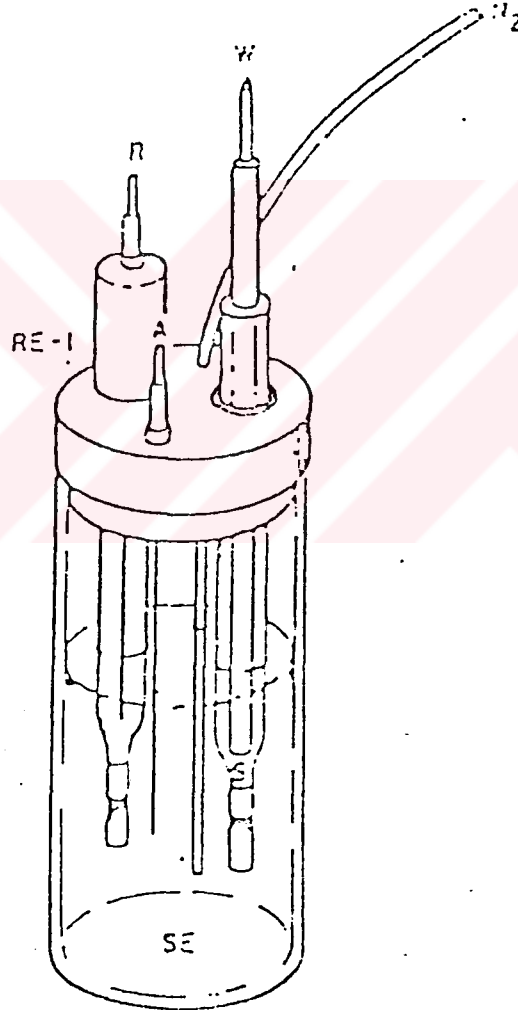
Kullanılan referans elektrot, hiç kullanılmamış bir referans elektroduna karşı Orion marka 601A model iyon analizörü ile periyodik olarak karşılaştırmalı ölçümlerle kontrol edilmiştir.

Çözeltilerin hazırlanmasında ve elektrotların temizlenmesinde Bandelin Sonorex marka RX 100 model ultrasonik banyo kullanılmıştır.

Stereo mikroskop kullanarak, polimerin oluşup oluşmadığı, elektrot yüzeyinin temizliği ve homojenliği kontrol edilmiştir.

Kimyasalların tartımı için Chyo marka JL-200 model terazi kullanılmıştır.

Çalışmalarda yaklaşık 15 ml hacimli pyrex cam hücreler kullanılmıştır (Şekil 3.2).



Şekil 3.2 Mikro hücre ve montajı A:yardımcı, W:çalışma ve R:referans elektrot

Hücrelerin ve diğer cam malzemelerin kurutulması için Nüve marka EN 400 model etüv kullanılmıştır.



3.1.1. Elektrotlar

Yardımcı elektrot olarak spiral disk şeklinde hazırlanmış platin, referans elektrot olarak 3 M KCl içinde Ag/AgCl elektrodu (BAS, MF-2063) ve çalışma elektrodu olarak ise polimerlerle modifiye edilmiş Pt (BAS, MF-2013, 1.98 mm²) elektrodu kullanılmıştır.

3.1.1.1. Elektrotların Temizliği

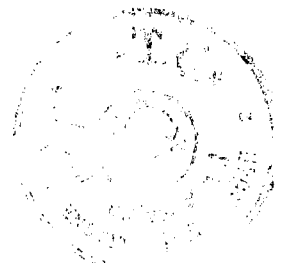
Referans elektrotlar distile su ile yıkanmış ve devamlı olarak 3 M KCl çözeltisi içinde saklanmıştır. Yardımcı elektrot olarak kullanılan platin elektrotların temizliği, zaman zaman ateşle ısıtılarak veya 3 M HNO₃ çözeltisi içinde ultrasonik banyoda 2-3 dakika tutularak, daha sonra distile su ile temizlenmiştir.

Çalışma elektrodu olarak kullanılan Pt elektrotların temizliği için her zaman olmamakla birlikte önce zımpara disk ıslatılıp, üzerine "8" çizilecek şekilde fazla bastırmadan 1-2 dakika hareket ettirilir. Daha sonra elektrot 90° döndürülerek aynı işlem tekrarlanmıştır. Zımpara disk üzerinde yapılan işlemlerin aynısı naylon disk (BAS, MF-2058) üzerinde gittikçe azalan derişimlerde (15 mM, 3mM ve 1mM) sulu elmas pastası damlatılarak yapılmış, distile su ile yıkanıp ultrasonik banyoda 2-3 dakika tutulmuş ve tekrar distile su ile yıkanmıştır.

3.1.2. Elektrotların Modifiye Edilmesi

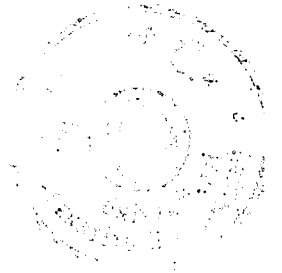
o-toludin: Çalışma elektrodu olarak kullanılan Pt elektrot, 100 mM KCl çözeltisinin 4 ml'si içindeki derişimi 100 mM olacak şekilde *o*-toludin ilave edildi, farklı sürelerde kitle elektrolizi (BE) tekniğiyle 750 mV sabit potansiyelde filmler büyütülerek poli (*o*-toludin) filmleri elde edildi.

o-fenilendiamin-GO_x, *m*-fenilendiamin-GO_x: Çalışma elektrodu olarak kullanılan poli (*o*-toludin) elektrot; 100 mM KCl çözeltisinin 4 ml'si içindeki derişimi 100 mM olacak şekilde monomer ve 40 U/μl olacak şekilde GO_x ilave edildi, farklı sürelerde kitle elektrolizi (BE) tekniğiyle 750 mV sabit potansiyelde filmler büyütülerek ve çift katmanlı polimerik enzim elektrotlar elde edildi.



3.2. Kimyasal Maddeler

Polimerlerin hazırlanmasında kullanılan monomerler: *o*-toludin, *o*-fenilendiamin, *m*-fenilendiamin, elektrolit çözeltilerinde kullanılan KCl, NaCl, Na₂HPO₄ ve PBS (125 mM NaCl, 2.7 mM KCl ve 5 mM fosfat tamponu) çözeltisi, interferant tür olan askorbik asit, okzalik asit, reaktif H₂O₂ (%35) Merck, PBS'de kullanılan KH₂PO₄ Carlo Erba ve reaktif glukoz ile biyoajan glukoz oksidaz Sigma kullanılmıştır.



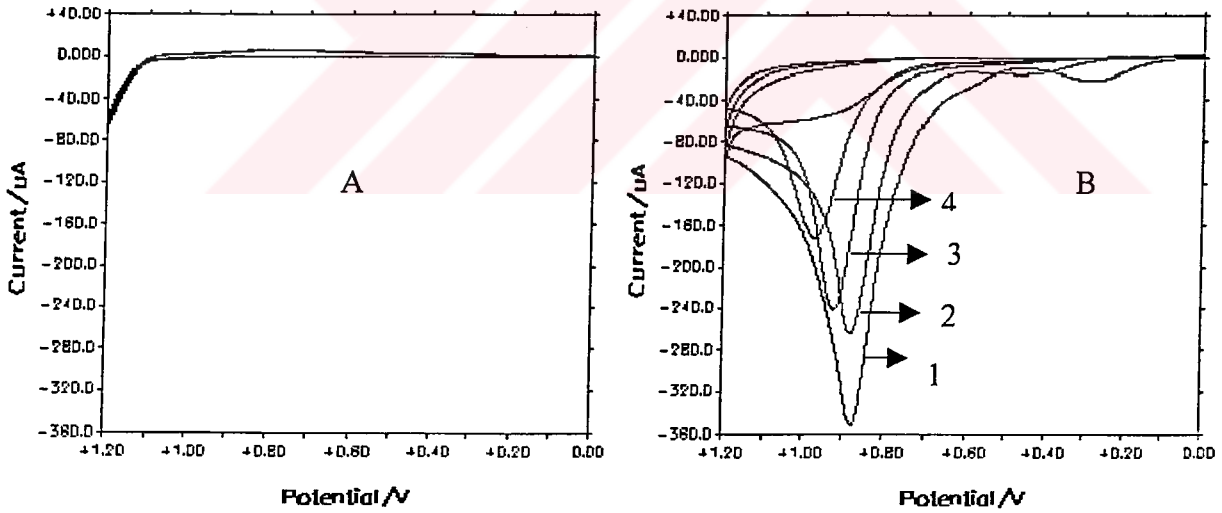
4. DENEYLER VE SONUÇLAR

4.1. Polimerleşme Potansiyelinin Bulunması

Çalışmada kullanılan monomerlerin (*o*-toludin, *o*-fenilendiamin) elektrokimyasal polimerleşme potansiyelini bulmak için çıplak platin elektrodun önce 0.1 M KCl çözeltisinde, daha sonra ise ilgili monomer derişimi (*o*-toludin, *o*-fenilendiamin) 0.1 M olacak şekilde aynı çözeltide (0.1 M KCl) 0-1200 mV arasında çevrimli voltamogramları alınmıştır.

4.1.1. *o*-toludin

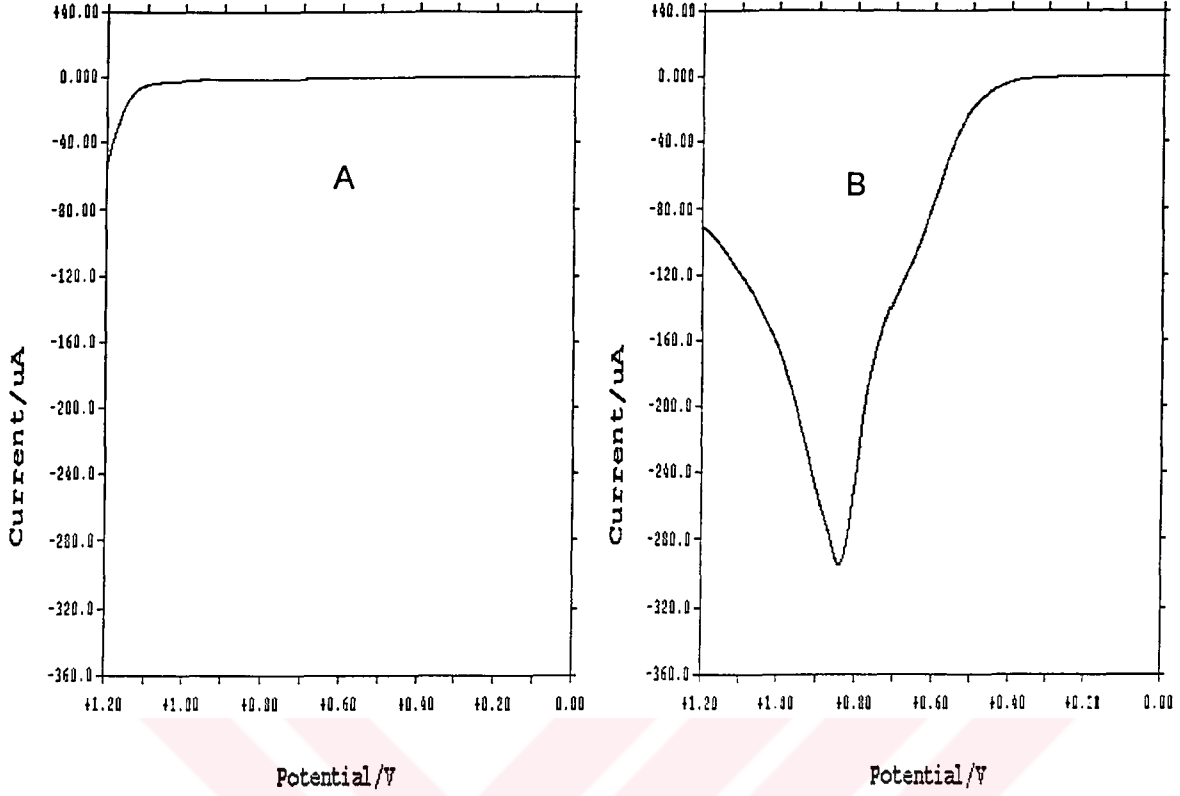
Elektropolimerizasyon potansiyelini belirlemek için KCl çözeltisinde, *o*-toludin yokluğunda (A) ve varlığında (B) çıplak platin elektrot kullanılarak çevrimli voltamogramlar alınmıştır. Şekil 4.1 B'den yükseltgenme piklerinin her çevrimde(1-4 sırasıyla) daha yüksek potansiyellere kaydığı görülmektedir.



Şekil 4.1 Çıplak Pt elektrodun (A) 0.1 M KCl ve (B) 0.1 M KCl + 0.1 M *o*-toludin içerisindeki CV'si, $v=50$ mV/s.

Ayrıca *o*-toludinun KCl ortamındaki LSV'si alınarak Şekil 4.1 B'deki bulgu teyid edilmiştir.



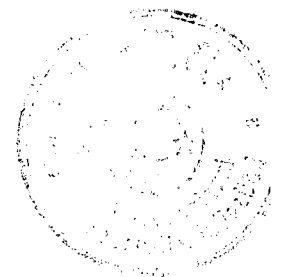


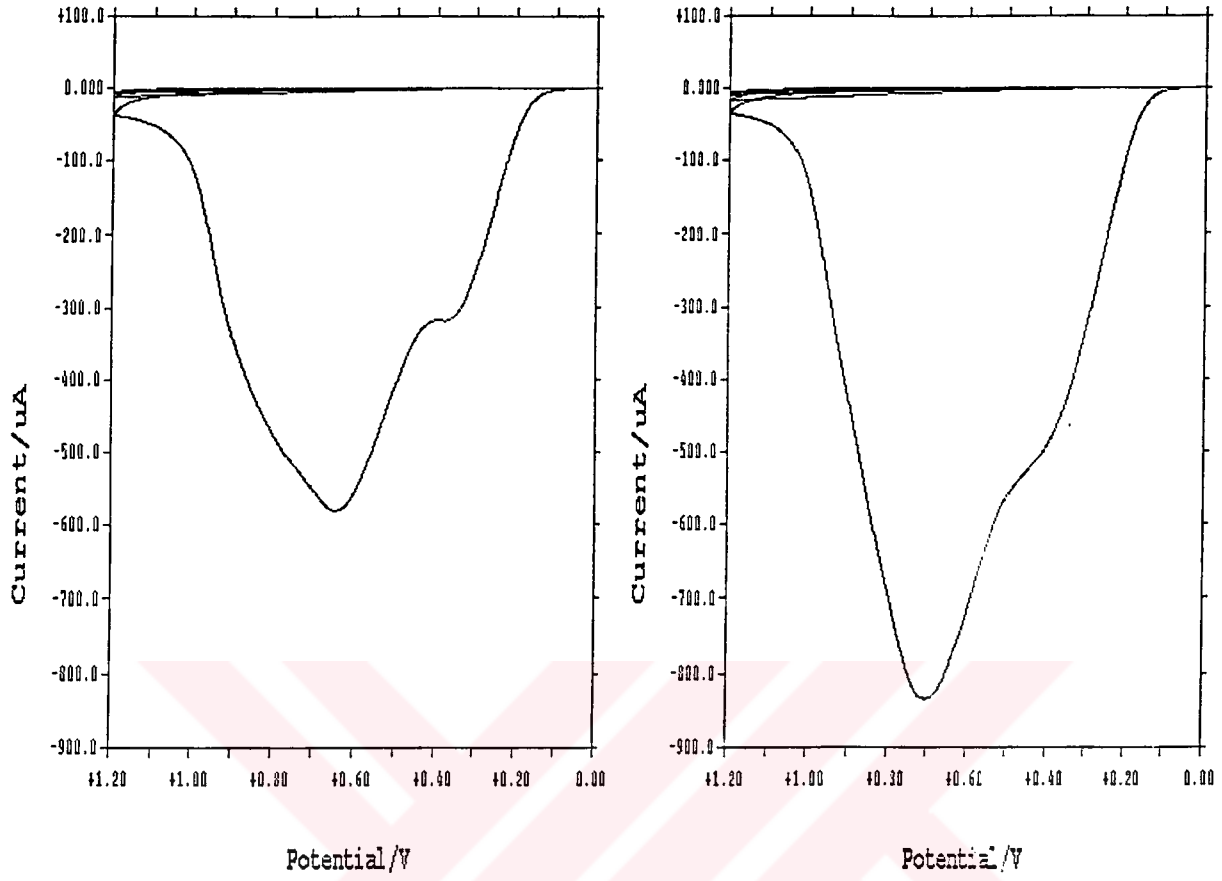
Şekil 4.2 Çıplak Pt elektrodun (A) 0.1 M KCl ve (B) 0.1 M KCl + 0.1 M *o*-toludin ortamındaki LSV'si, $v=50$ mV/s.

Hem CV hem de LSV sonuçlarından *o*-toludin'in yaklaşık 0.750 V'da polimerleşebileceği görülmektedir [46].

4.1.2. *o*-fenilendiamin

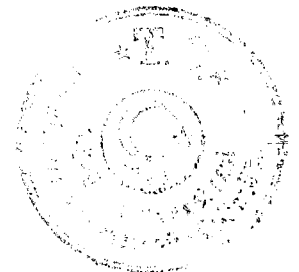
o-fenilendiamin monomerinin polimerizasyon potansiyelini belirlemek için KCl çözeltisi içindeki CV'leri aşağıda gösterilmektedir.

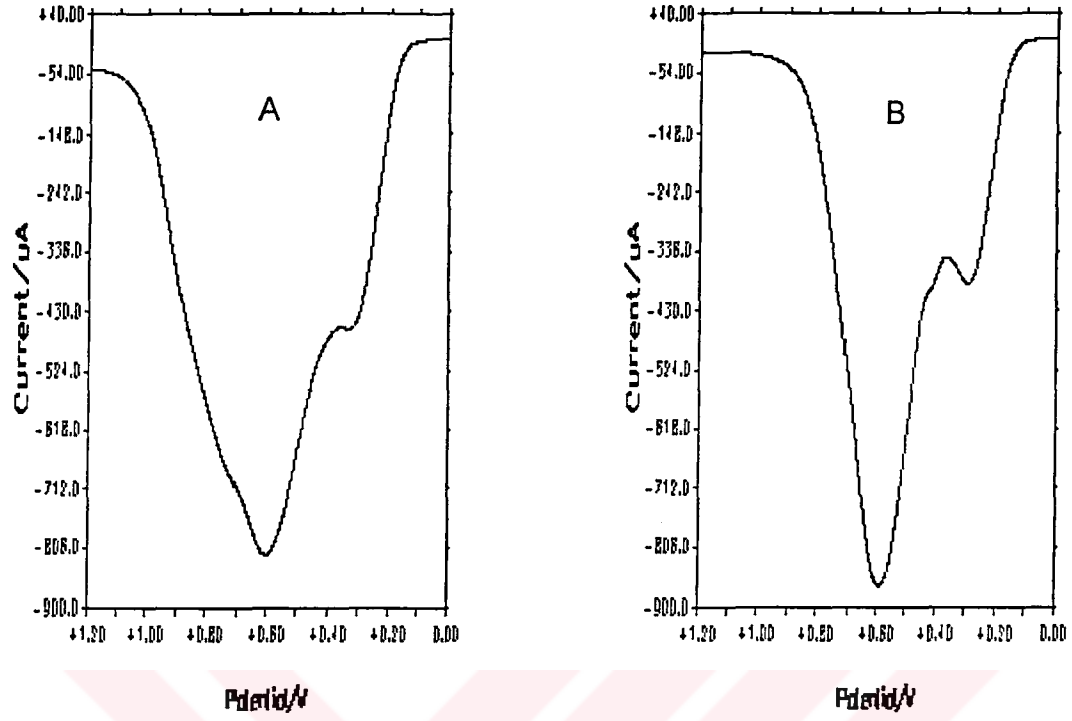




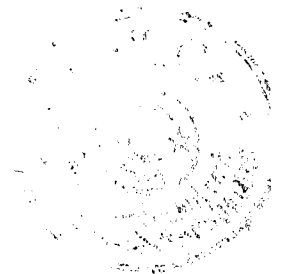
Şekil 4.3 Çıplak Pt elektrodun 0.1 M KCl içinde (A) 100 mM *o*-fenilendiamin ve (B) 200 mM *o*-fenilendiamin'in CV'si, $v = 50 \text{ mV/s}$.

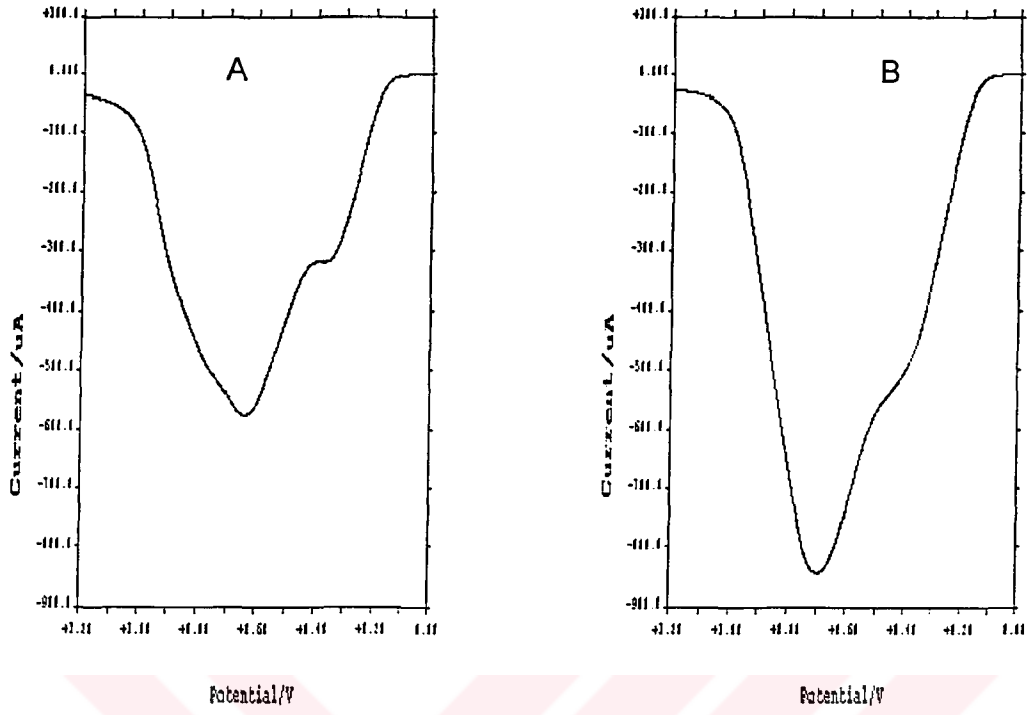
Ayrıca, *o*-fenilendiaminin farklı monomer ve elektrolit konsantrasyonlarındaki LSV'leri sırasıyla gösterilmektedir.





Şekil 4.4 Çıplak Pt elektrodun 0.25 M KCl içinde (A) 100 mM *o*-fenilendiamin ve (B) 200 mM *o*-fenilendiamin'in LSV'si, $v= 50$ mV/s.





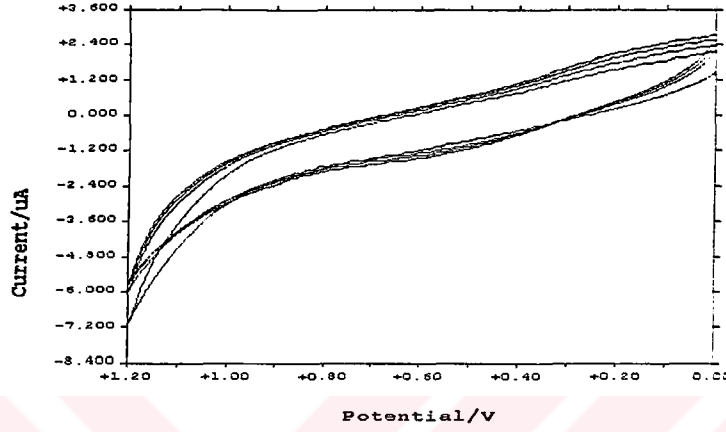
Şekil 4.5 Çıplak Pt elektrodun 0.1 M KCl içinde (A) 100 mM *o*-fenilendiamin ve (B) 200 mM *o*-fenilendiamin'in LSV'si, $v = 50$ mV/s.

o-fenilendiamin için polimerleşme potansiyeli olarak 750 mV'a karar verilmiştir. Daha yüksek çalışma potansiyeli seçilmesinin amacı ise, mevcut polimer üzerinde daha hızlı polimerleşme gerçekleştirebilmektir.

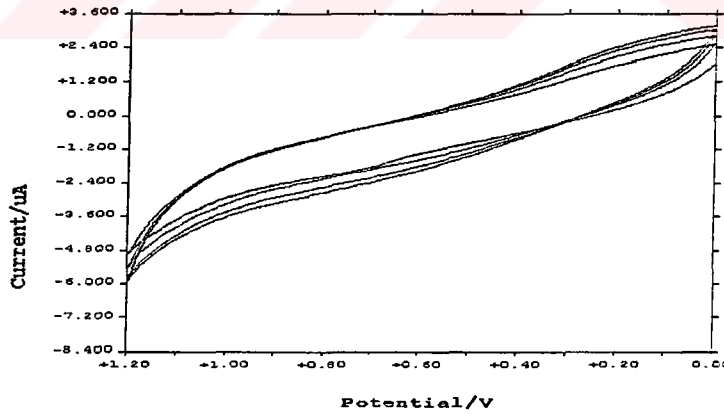


4.1.3. poli (*o*-toludin) elektrot üzerinde *o*-fenilendiamin

Çalışma elektrodu olarak (10 mC) poli (*o*-toludin) polimerik elektrodu kullanılarak, bu polimerik yüzeyde *o*-fenilendiamin monomerinin polimerizasyon potansiyelini belirlemek amacıyla hem KCl hem de PBS ortamında CV'leri ve LSV'leri alındı. Şekiller aşağıda sırasıyla gösterilmektedir.

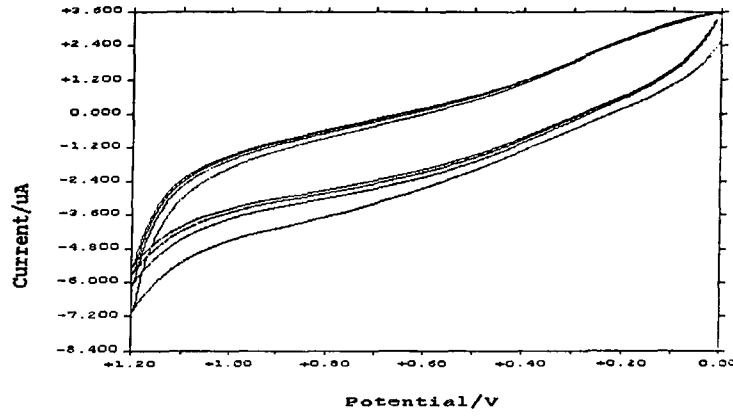


Şekil 4.6. poli (*o*-toludin) elektrot üzerinde 0.1 M KCl içinde 0.1 M *o*-fenilendiamin'in CV'si, $v=50$ mV/s.

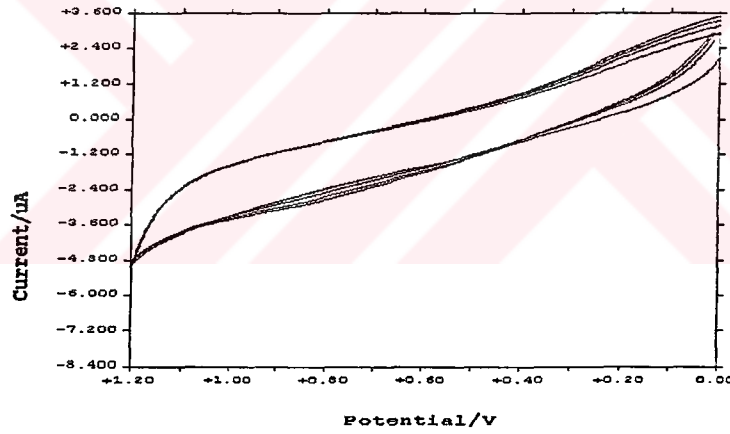


Şekil 4.7. poli (*o*-toludin) elektrot üzerinde 0.1 M KCl içinde 0.2 M *o*-fenilendiamin'in CV'si, $v=50$ mV/s.



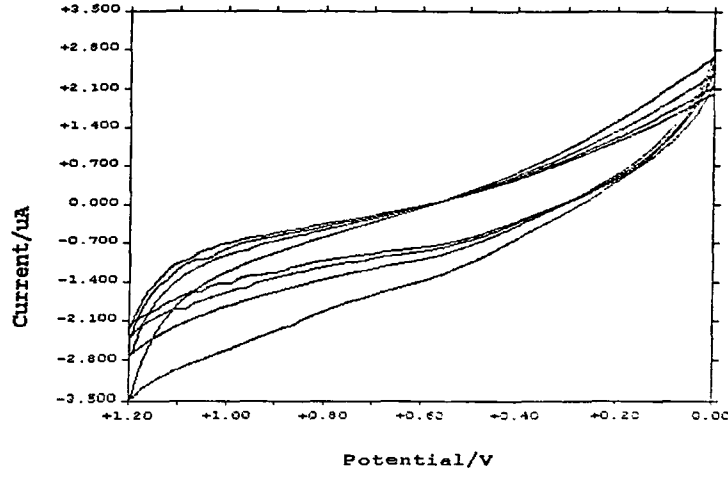


Şekil 4.8. poli (*o*-toludin) elektrot üzerinde 0.25 M KCl içinde 0.1 M *o*-fenilendiamin'in CV'si, $v = 50$ mV/s.

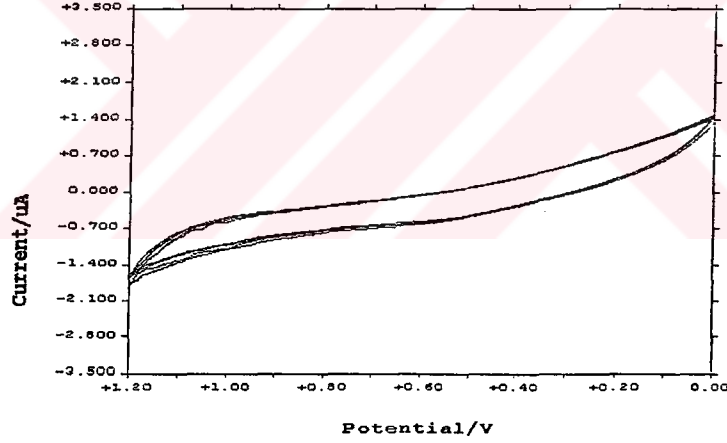


Şekil 4.9. poli (*o*-toludin) elektrot üzerinde 0.25 M KCl içinde 0.2 M *o*-fenilendiamin'in CV'si, $v = 50$ mV/s.



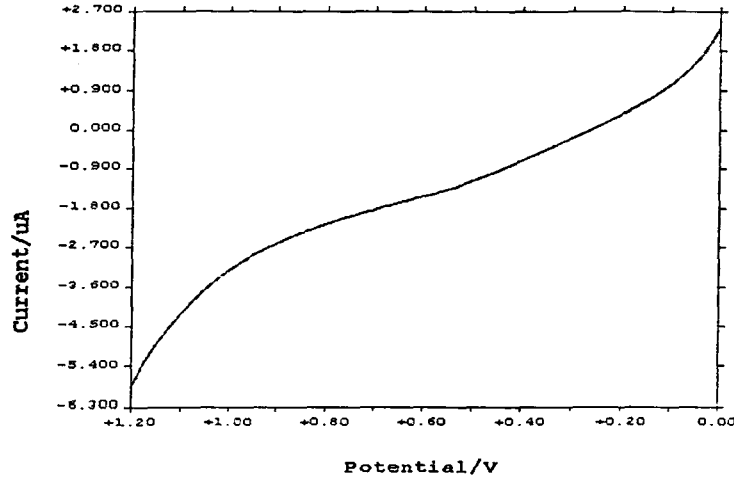


Şekil 4.10. poli (*o*-toludin) elektrot üzerinde PBS içinde 0.1 M *o*-fenilendiamin'in CV'si, $v=50$ mV/s.

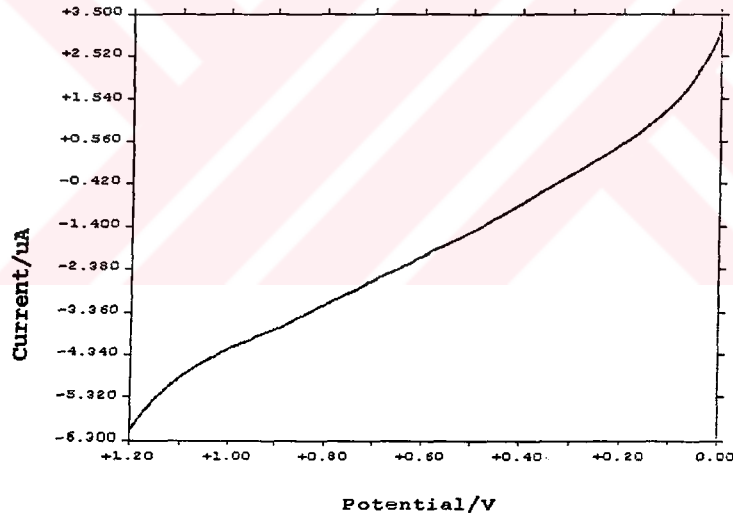


Şekil 4.11. poli (*o*-toludin) elektrot üzerinde PBS içinde 0.2 M *o*-fenilendiamin'in CV'si, $v=50$ mV/s

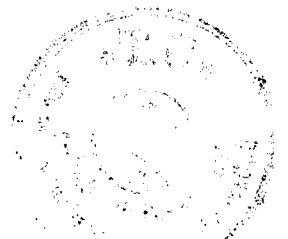


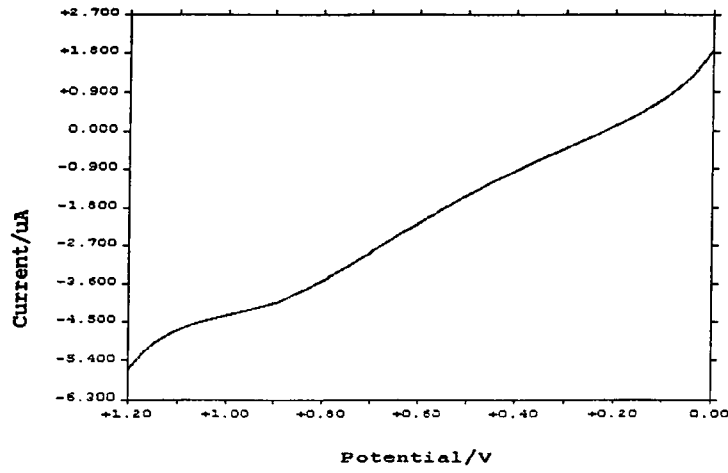


Şekil 4.12. poli (*o*-toludin) elektrot üzerinde 0.1 M KCl içinde 0.1 M *o*-fenilendiamin'in LSV'si, $v=50$ mV/s.

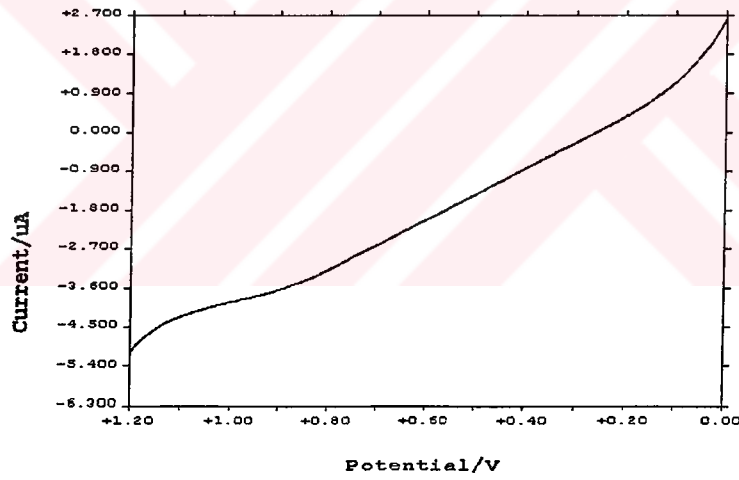


Şekil 4.13. poli (*o*-toludin) elektrot üzerinde 0.1 M KCl içinde 0.2 M *o*-fenilendiamin'in LSV'si, $v=50$ mV/s.



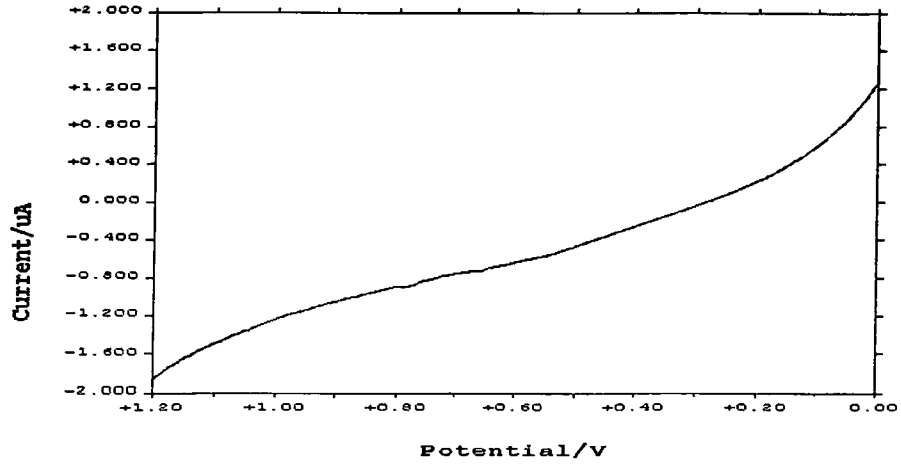


Şekil 4.14. poli (*o*-toludin) elektrot üzerinde 0.25 M KCl içinde 0.1 M *o*-fenilendiamin'in LSV'si, $v= 50$ mV/s

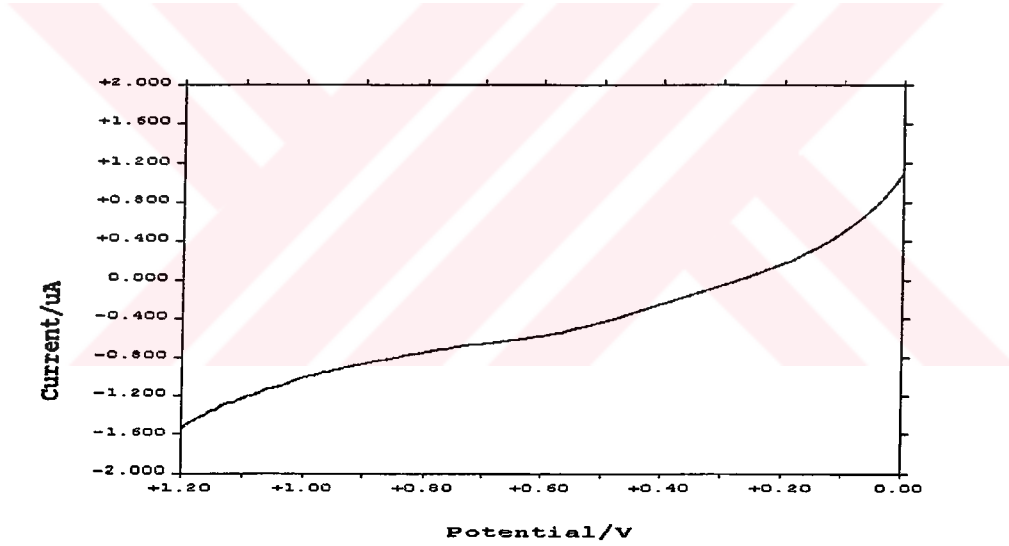


Şekil 4.15. poli (*o*-toludin) elektrot üzerinde 0.25 M KCl içinde 0.2 M *o*-fenilendiamin'in LSV'si, $v= 50$ mV/s.





Şekil 4.16. poli (*o*-toludin) elektrot üzerinde PBS içinde 0.1 M *o*-fenilendiamin'in LSV'si, $v=50$ mV/s.

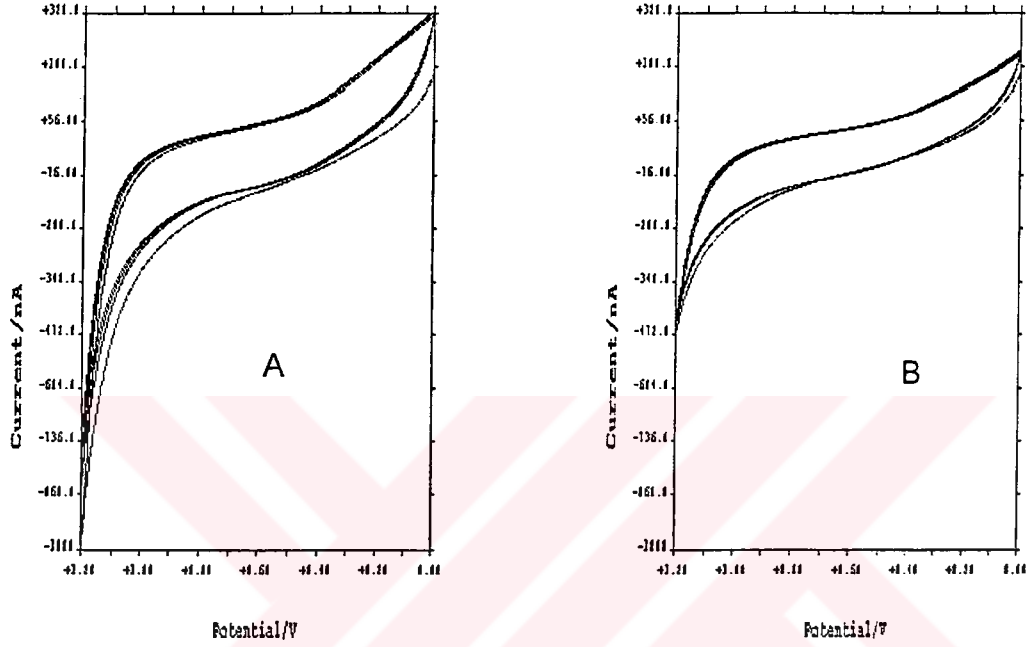


Şekil 4.17. poli (*o*-toludin) elektrot üzerinde PBS içinde 0.2 M *o*-fenilendiamin'in LSV'si, $v=50$ mV/s.



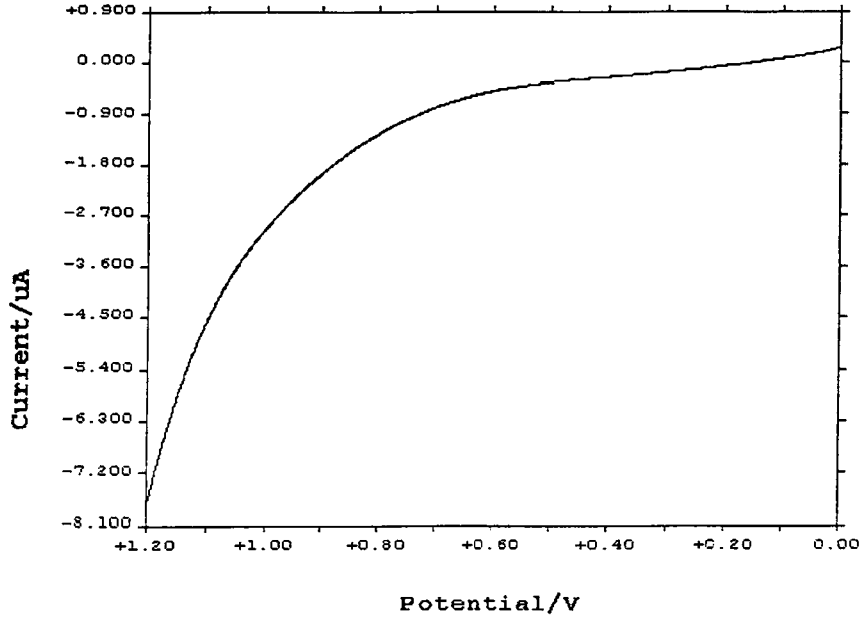
4.1.4. poli (*o*-toludin) elektrot üzerinde *m*-fenilendiamin

Çalışma elektrodu olarak (10 mC) poli (*o*-toludin) polimerik elektrot kullanılarak, bu polimerik yüzeyde *m*-fenilendiamin monomerinin polimerizasyon potansiyelini belirlemek için hem KCl ve hem de PBS ortamda CV'ler ve LSV alındı.



Şekil 4.18. Çift katmanlı [poli (*o*-toludin)- poli (*m*-fenilendiamin)] polimer elektrodun (A) 0.1 M KCl ve (B) PBS içindeki CV'si, $v=50$ mV/s.



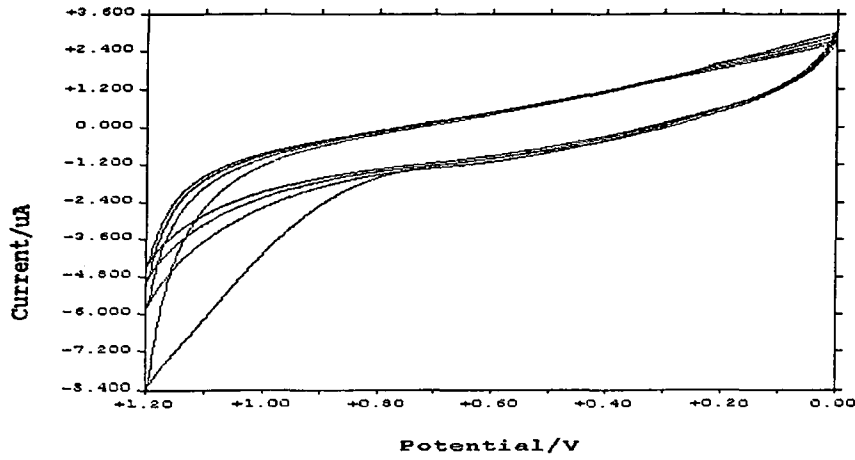


Şekil 4.19 Çift katmanlı [poli (*o*-toludin)-poli(*m*-fenilendiamin)] polimer elektrodun 0.1 M KCl içindeki LSV'si, $v = 50$ mV/s.

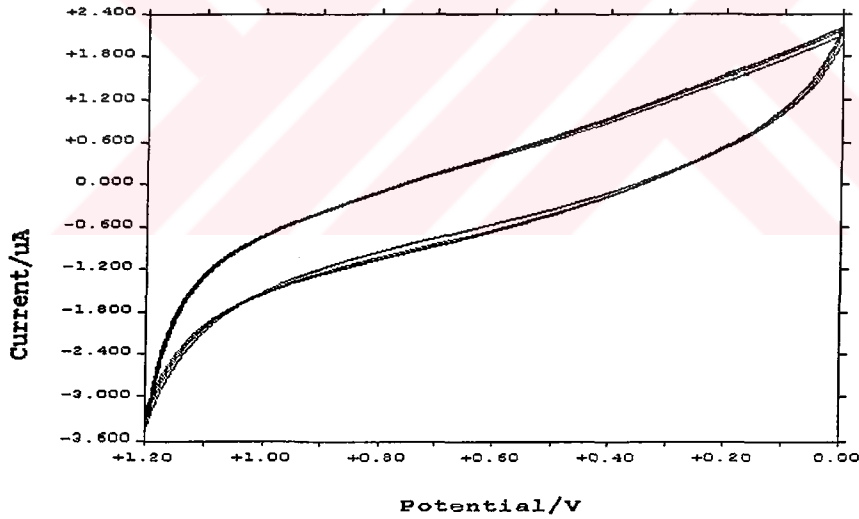
4.2. Çift Katmanlı Polimer Elektrodun Hazırlanması ve Karşılaştırılması

4.2.1 poli(*o*-toludin)-poli(*o*-fenilendiamin)

Çalışma elektrodu olarak poli (*o*-toludin) (10 mC) kaplı polimer elektrot kullanılmak suretiyle bu elektrot üzerinde olası en kalın (9.5×10^{-3} C) poli (*o*-fenilendiamin) filmi oluşturularak çift katmanlı polimerik film hazırlandı. Bu çift katmanlı polimer elektrodun 0.1 M KCl ve PBS'li ortamdaki, CV ve LSV'leri Şekil 4.20- 4.25'de görülmektedir.

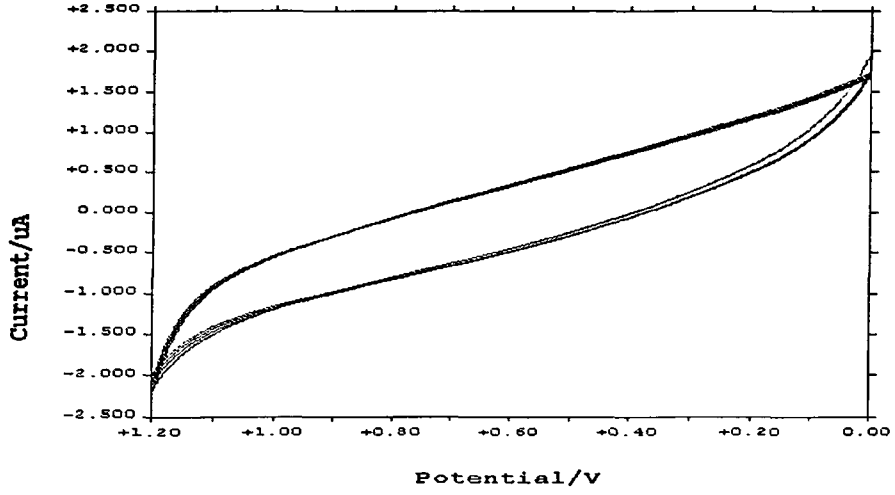


Şekil 4.20. Çift katmanlı [poli (*o*-toludin)-poli(*o*-fenilendiamin)] polimer elektrodun 0.1 M KCl içindeki CV'si, $v=50$ mV/s.

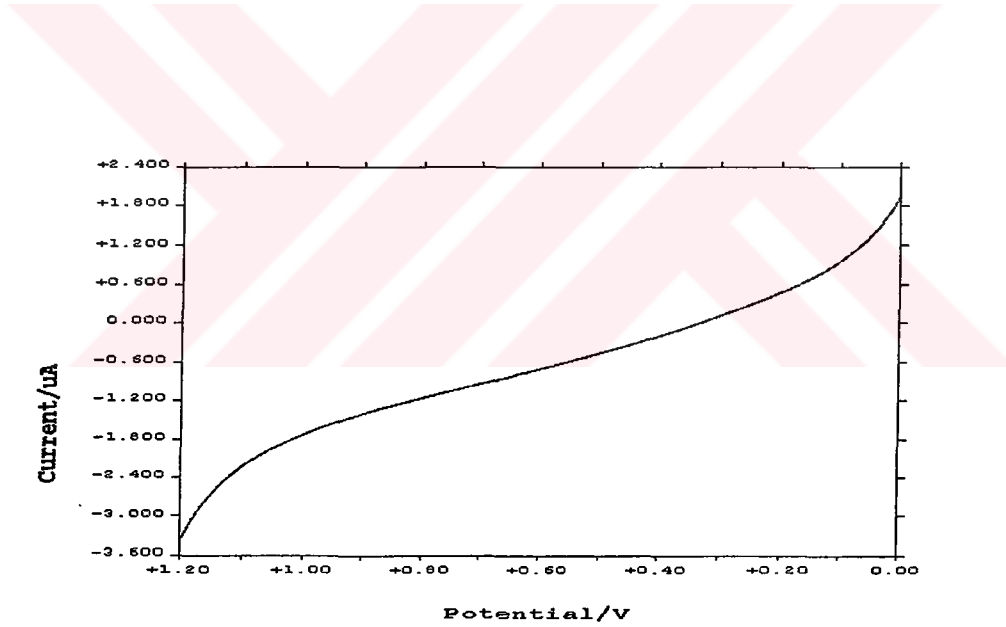


Şekil 4.21. Çift katmanlı [poli (*o*-toludin)-poli(*o*-fenilendiamin)] polimer elektrodun 0.25 M KCl içindeki CV'si, $v=50$ mV/s.

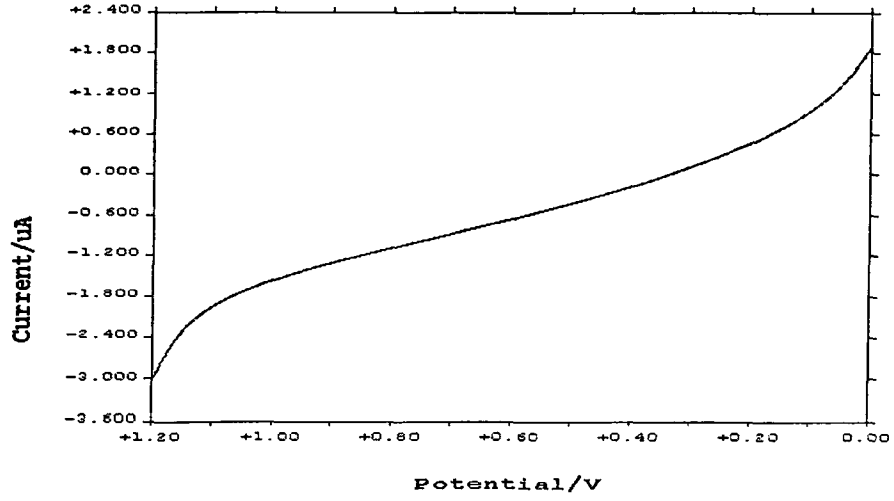




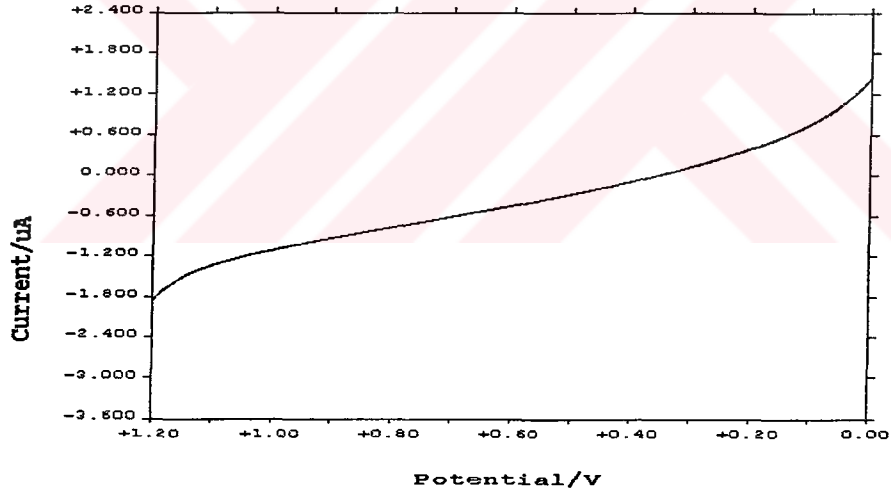
Şekil 4.22. Çift katmanlı [poli (*o*-toludin)-poli(*o*-fenilendiamin)] polimer elektrodun PBS içindeki CV'si, $v=50$ mV/s.



Şekil 4.23. Çift katmanlı [poli (*o*-toludin)-poli(*o*-fenilendiamin)] polimer elektrodun 0.1 M KCl içindeki LSV'si, $v=50$ mV/s.



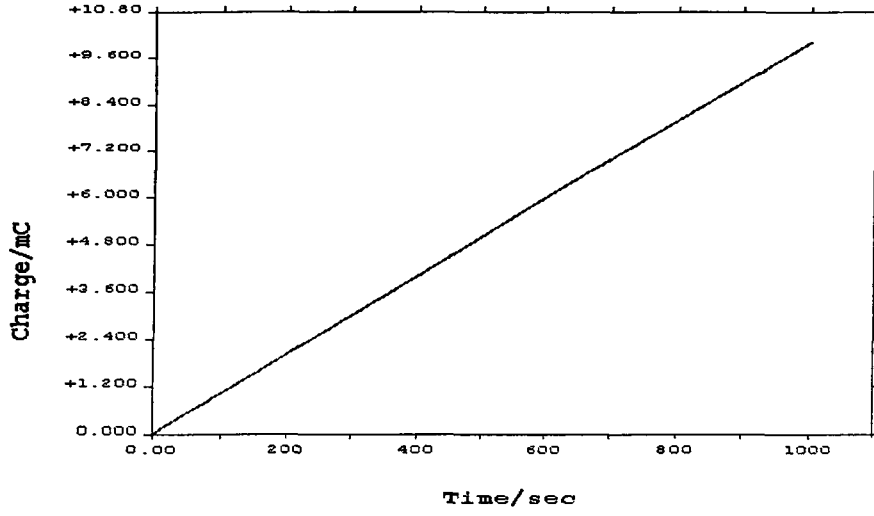
Şekil 4.24. Çift katmanlı [poli (*o*-toludin)-poli(*o*-fenilendiamin)] polimer elektrodun 0.25 M KCl içindeki LSV'si, $v= 50$ mV/s.



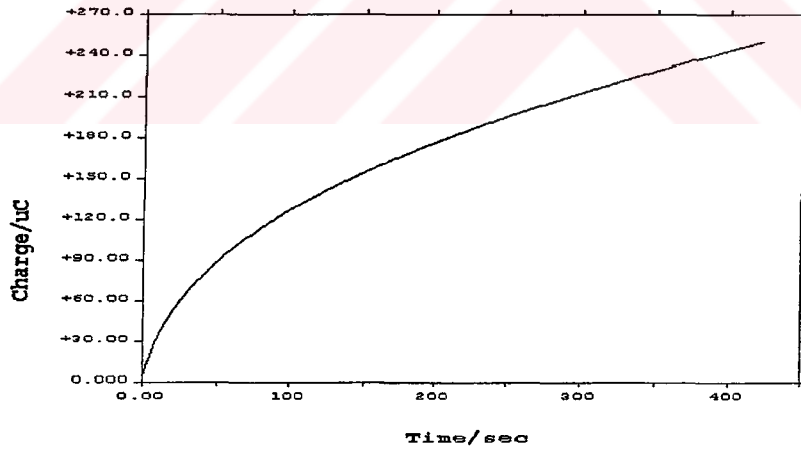
Şekil 4.25. Çift katmanlı [poli (*o*-toludin)-poli(*o*-fenilendiamin)] polimer elektrodun PBS içindeki LSV'si, $v= 50$ mV/s.



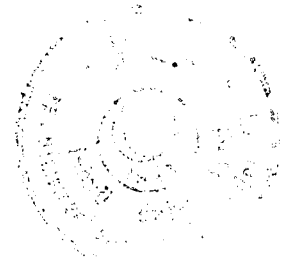
4.2.3. Çıplak ve Polimerik Yüzeylerdeki Monomerlerin Kitle Elektrolizi

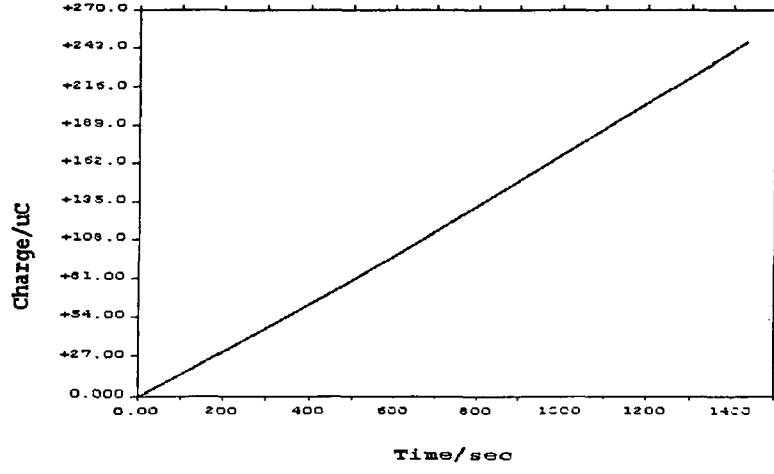


Şekil 4.26. Çıplak Pt elektrot yüzeyi üzerinde 0.1 M KCl iindeki 100 mM *o*-toludin'in 0.75 V'daki BE'si.

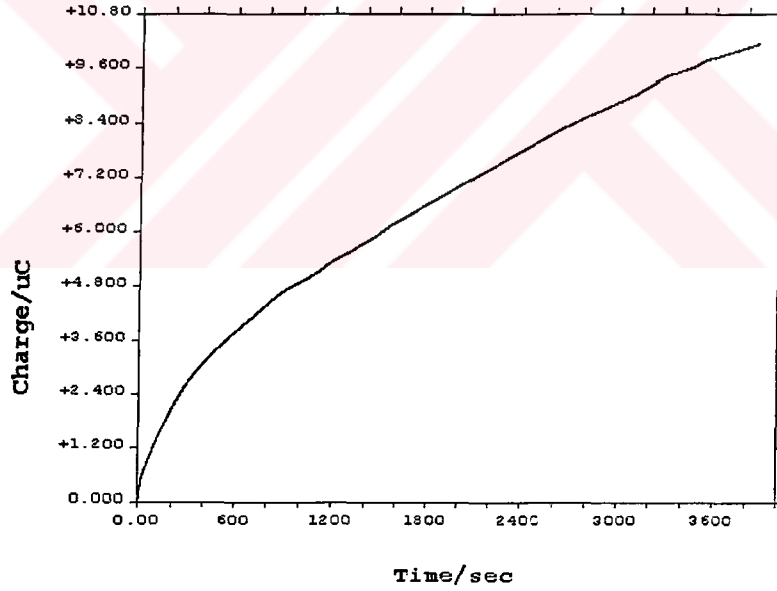


Şekil 4.27. ıplak Pt elektrot yüzeyi zerinde 0.1 M KCl iindeki 100 mM *m*-fenilendiamin'in 0.75 V'daki BE'si.



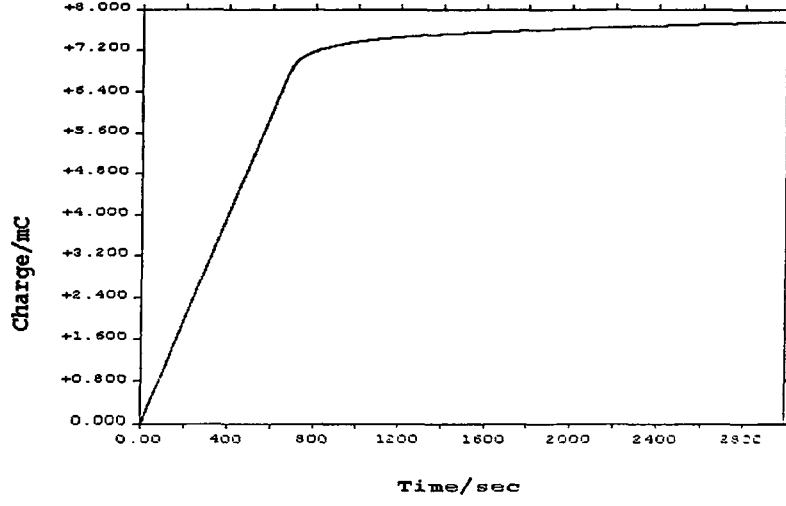


Şekil 4.28. (10 mC) poli (*o*-toludin) elektrot üzerinde 100 mM *m*-fenilendiamin'in 0.75 V'daki BE'si.

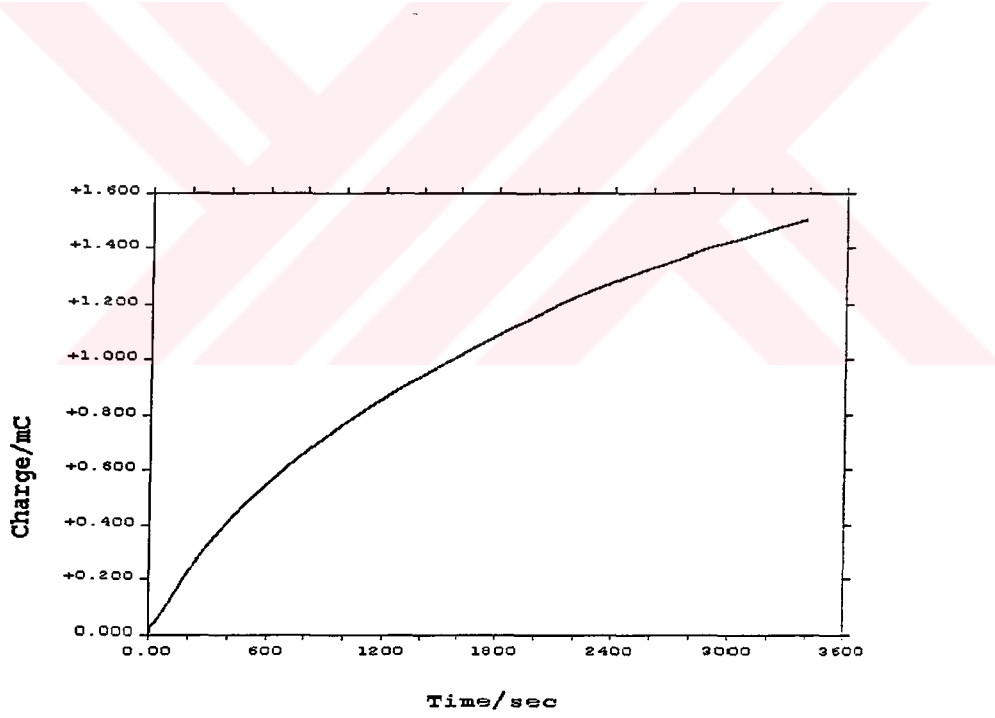


Şekil 4.29. (10 mC) poli (*o*-toludin) elektrot üzerinde *m*-fenilendiamin-GO_x'in 0.75 V'daki BE'si



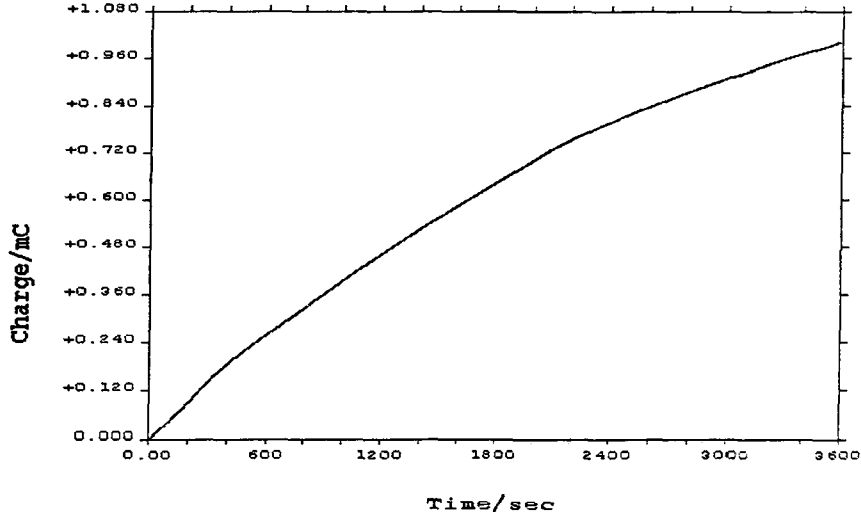


Şekil 4.30. Çıplak Pt elektrot üzerinde 0.1 M KCl içindeki 100 mM *o*-fenilendiamin'in 0.75 V'daki BE'si



Şekil 4.31. (10 mC) poli (*o*-toludin) elektrot üzerinde 100 mM *o*-fenilendiamin'in 0.75 V'daki BE'si





Şekil 4.32. (10 mC) poli (*o*-toludin) elektrot *o*-fenilendiamin-GO_x'in 0.75 V'daki BE'si

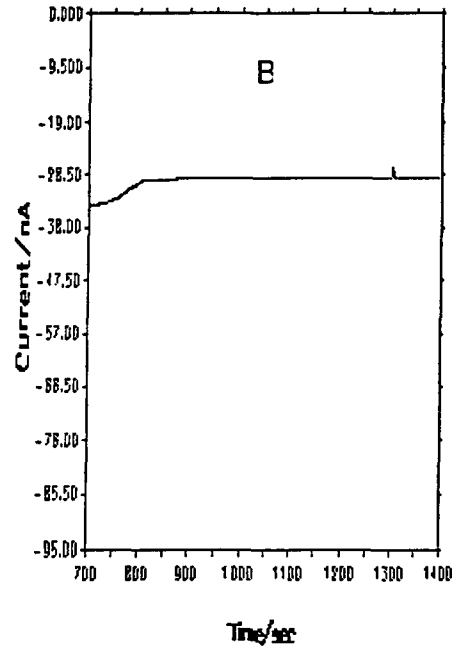
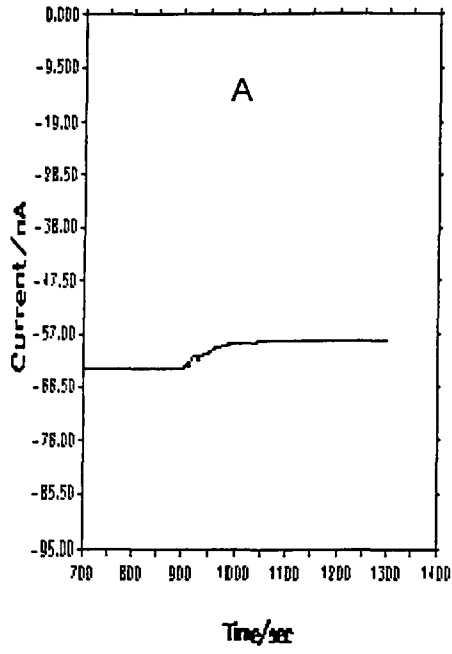
Kitle elektroliz sonuçlarından da görüldüğü gibi, özellikle enzimli ortamlarda, aynı polimerizasyon süresi için harcanan yük oldukça düşüktür. Bu da, enzim varlığında kaplanan ikinci katmanın [poli(*m*-fenilendiamin) veya poli(*o*-fenilendiamin)] oldukça ince bir film kaplandığını göstermektedir.

4.3 Çift Katmanlı Polimerik Membranların Elektroaktif Türlerle Karşı Voltametrik Davranışlarının İncelenmesi

4.3.1 poli (*o*-toludin)-poli (*o*-fenilendiamin)

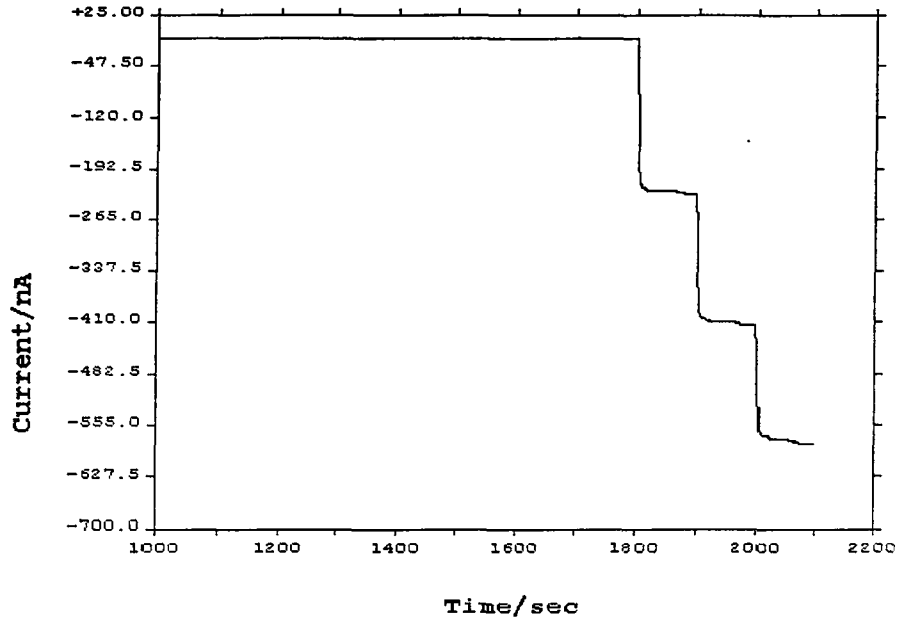
Çalışma elektrodu olarak poli (*o*-toludin) (10 mC) kaplı polimerik elektrot kullanılmak suretiyle bu elektrot üzerinde olası en kalın (9.5×10^{-3}) poli (*o*-fenilendiamin) filmi oluşturularak çift katmanlı polimerik film hazırlandı. Bu elektrodun ayrı ayrı askorbik asit ve okzalik asite karşı davranışı incelendi (Şekil 4.33). Aynı elektrodun her üç türe; askorbik asit, okzalik asit ve H₂O₂'e karşı davranışı Şekil 4.34'de görülmektedir.





Şekil 4.33. poli(*o*-toludin) üzerinde poli(*o*-fenilendiamin) polimer elektrodunun (A) okzalik aside (900, 1000, 1100, 1200.s) yanıtı (B) askorbik aside (1100, 1200, 1300.s) yanıtı.





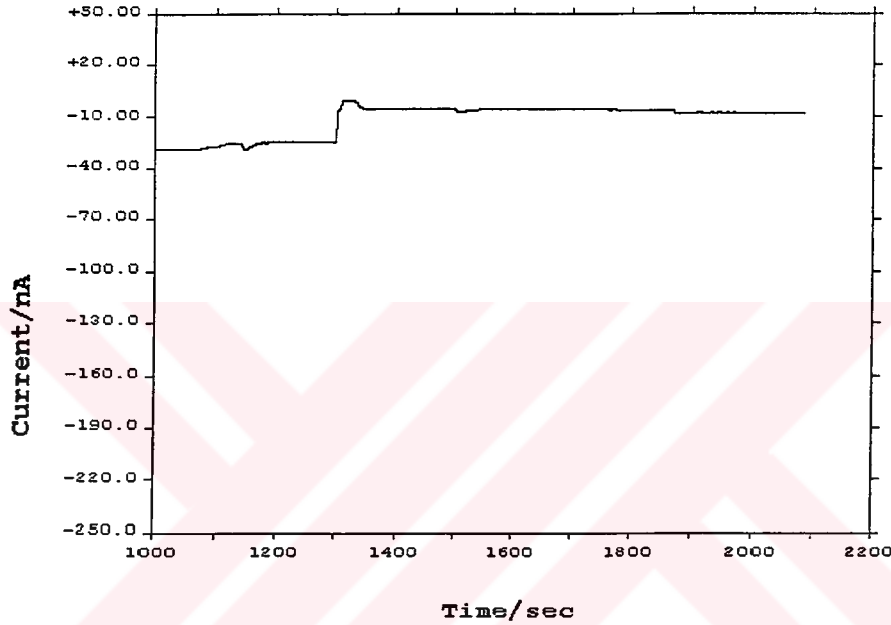
Şekil 4.34. poli (*o*-toludin) üzerinde poli (*o*-fenilendiamin) polimer elektrodun 1400 ve 1600.s'de askorbik asit, 1500 ve 1700.s'de okzalik asit ve 1800, 1900, 2000.s'de H₂O₂'e yanıtları.

Şekil 4.33 ve Şekil 4.34'den çift katmanlı polimer elektrodun, elektroaktif interferantlar olan askorbik ve okzalik asite karşı anodik bir yanıt vermediği görülmektedir. Şekil 4.34'de ise yine anılan interferantlar için yanıt gözlenmezken ardıl H₂O₂ enjeksiyonlarına karşı düzenli yanıtlar alındığı görülmektedir.

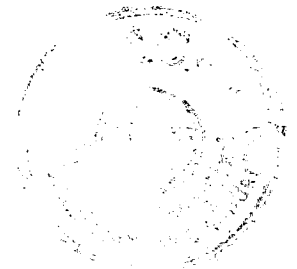


4.3.2. poli(*o*-toludin)-poli(*m*-fenilendiamin)

Çalışma elektrodu olarak poli(*o*-toludin) (10 mC) kaplı polimerik elektrot kullanılmak suretiyle bu elektrot üzerinde olası en kalın (6.1467×10^{-5}) poli (*m*-fenilendiamin) filmi oluşturularak çift katmanlı polimerik film hazırlandı. *m*-fenilendiamin'in polimerleşme potansiyeli 750 mV olarak bulunmuştur [47,48]. Bu elektrodun askorbik asit, okzalik asit ve glukozu karşı davranışı incelendi (Şekil 4.35).



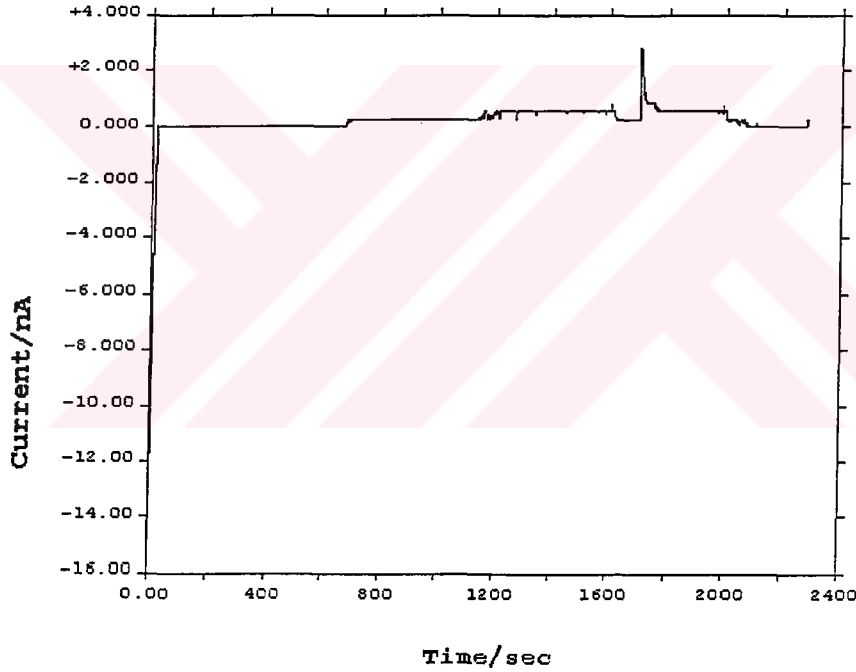
Şekil 4.35. poli(*o*-toludin) üzerinde poli(*m*-fenilendiamin) polimerik film elektrodun 1300.s'de askorbik asit, 1500.s'de okzalik asit ve 1700.s'de glukoz enjeksiyonuna karşı amperometrik davranışı.



4.4 Çift Katmanlı Polimerik Enzim Elektrotların Hazırlanması ve Özellikleri

4.4.1 poli (*o*-toludin)-poli (*m*-fenilendiamin)-GO_x

Çalışma elektrodu olarak poli (*o*-toludin) kaplı elektrot kullanılmak suretiyle 100 mM *m*-fenilendiamin ve 40 U/ μ l glukoz oksidaz içeren 0.1 M KCl çözeltisi içerisinde 750 mV'da 2.555×10^{-5} C yüke sahip polimerik enzim elektrot hazırlandı. Mikroskopik gözlemlerden; poli (*o*-toludin) elektrodun, sarı / kahverengi ve gözenekli bir morfolojiye sahip olduğunu enzimatik filmin ise daha koyu sarı renkli ve sık istiflenmiş olduğunu görülmüştür



Şekil 4.36. poli (*o*-toludin) üzerinde 2.555×10^{-5} C'luk poli (*m*-fenilendiamin)-GO_x elektrodunun 1600. s'de askorbik asit, 1700.s'de okzalik asit ve 2000.s'de glukoz enjeksiyonuna karşı amperometrik yanıtı.



Şekil 4.36'dan da görüldüğü gibi askorbik asit ve okzalik asite karşı herhangi bir anodil yanıt alınmazken, glukoz enjeksiyonuna karşı çok az da olsa bir yanıt alındı.

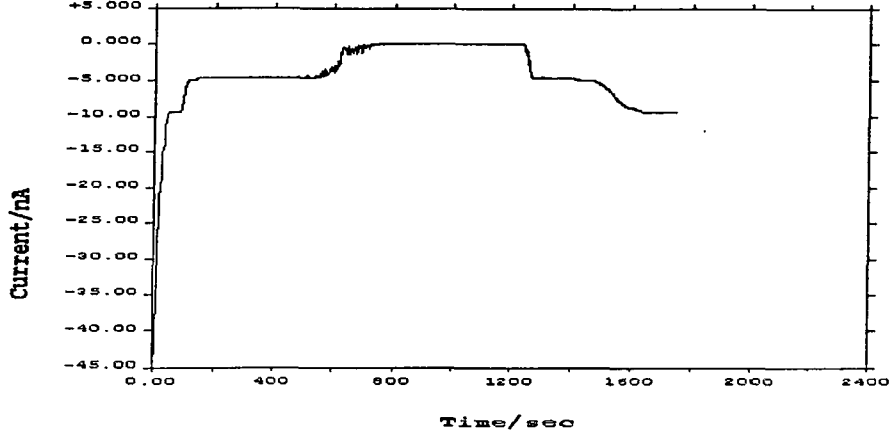
4.4.2. poli (*o*-toludin)-poli (*o*-fenilendiamin)-GO_x

Çalışma elektrodu olarak poli (*o*-toludin) kaplı elektrot kullanılmak suretiyle, 100 mM *o*-fenilendiamin ve 40 U/µl glukoz oksidaz içeren 0.1 M KCl çözeltisi içerisinde 750 mV'de değişik kalınlıklarda polimerik enzim elektrotlar hazırlandı. Poli (*o*-toludin) film sarı kahverengi ve gözenekli bir morfolojiye sahipken, çift katmanlı enzim içeren film daha koyu kahverengi/ siyah ve daha sık istiflenmiş görünümdeydi.

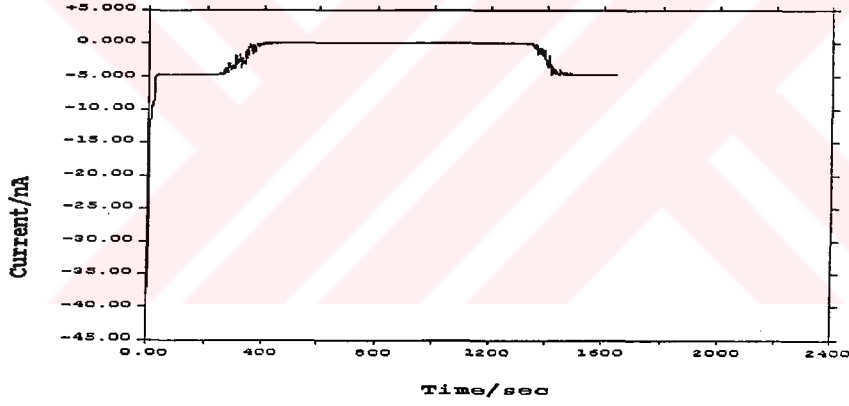
Glukoz enjeksiyonlarına yanıtlar alabilmek amacıyla, iç katmandaki polimerik film kalınlığı sabit tutularak, enzim içeren filmin kalınlığı polimerizasyon süresini değiştirmek suretiyle değiştirilerek farklı kalınlıklarda enzim elektrotlar hazırlanmış ve amperometrik özellikleri incelenmiştir.

10 mC poli (*o*-toludin) çalışma elektrodu üzerinde farklı film kalınlıklarında [poli (*o*-fenilendiamin)-GO_x kalınlığı] (2.8×10^{-4} – 2.0×10^{-3}) hazırlanan enzim elektrotların elektroaktif interferantlar olan askorbik asit, okzalik asit ve ardıl glukoz (substrat) enjeksiyonlarına karşı elde edilen yanıtları aşağıdaki şekillerde gösterilmektedir.



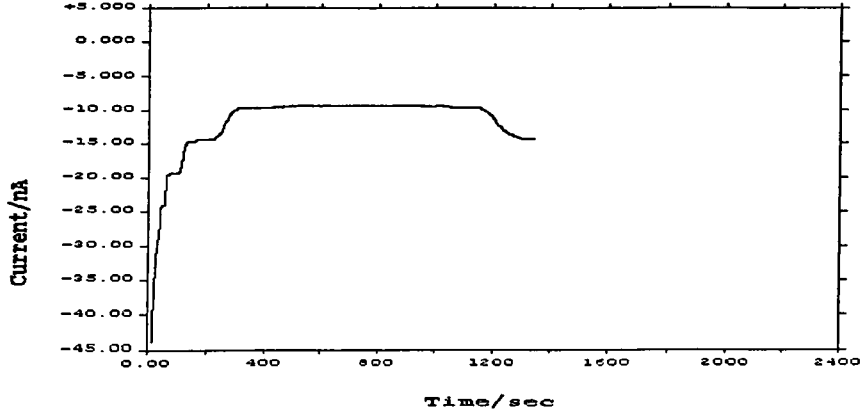


Şekil 4.37. poli(*o*-toludin) üzerinde $2.8 \times 10^{-4} \text{C}$ 'luk poli (*o*-fenilendiamin)- GO_x elektrodunun 1200.s askorbik asit, 1300.s okzalik asit, 1400, 1500, 1600. ve 1700.s glukoz enjeksiyonlarına yanıtı.

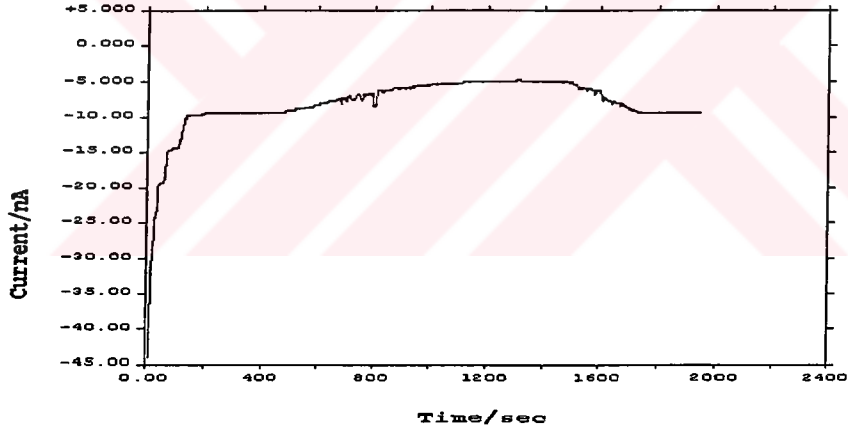


Şekil 4.38. poli(*o*-toludin) üzerinde $5.50 \times 10^{-4} \text{C}$ 'luk poli (*o*-fenilendiamin)- GO_x elektrodunun 1200.s askorbik asit, 1300.s okzalik asit, 1400, 1500 ve 1600.s glukoz enjeksiyonlarına yanıtı.



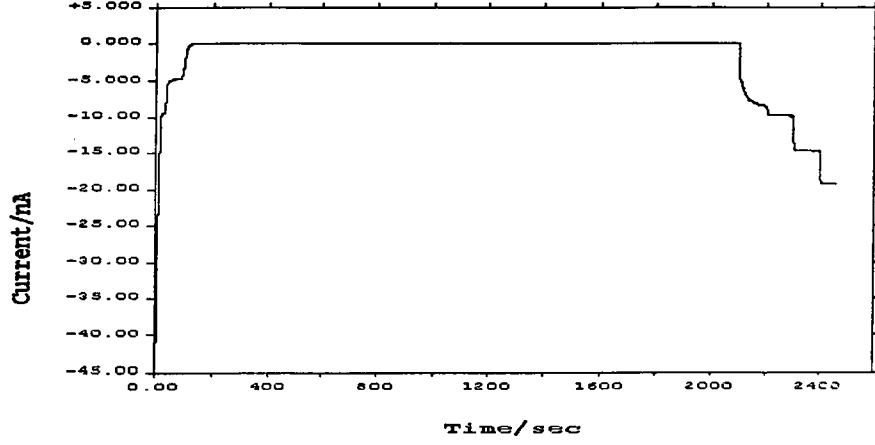


Şekil 4.39. poli (*o*-toludin) üzerinde 5.5195×10^{-4} C'luk poli(o-fenilendiamin)-GO_x 900.s askorbik asit, 1000.s okzalik asit, 1100,1200, ve 1300. s glukoz enjeksiyonlarına yanıtı.

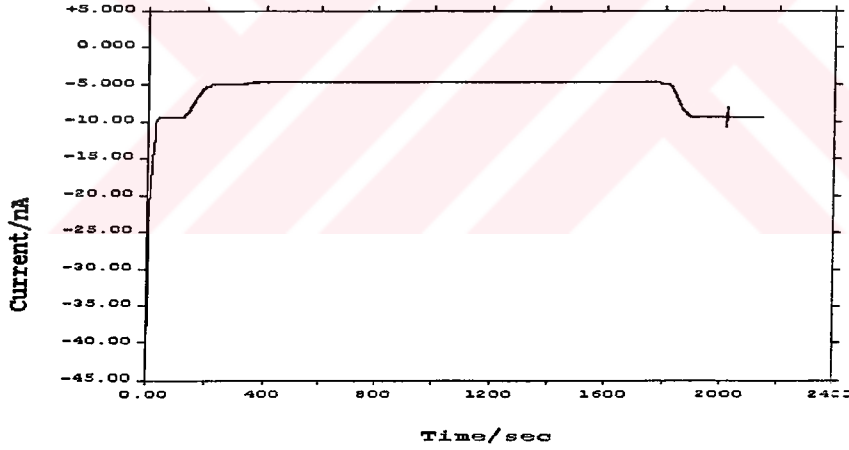


Şekil 4.40. poli (*o*-toludin) üzerinde 1.000×10^{-3} C'luk poli(o-fenilendiamin)-GO_x elektrodunun 900.s askorbik asit, 1000.s okzalik asit, 1100, 1200 ve 1300.s glukoz enjeksiyonlarına yanıtı.



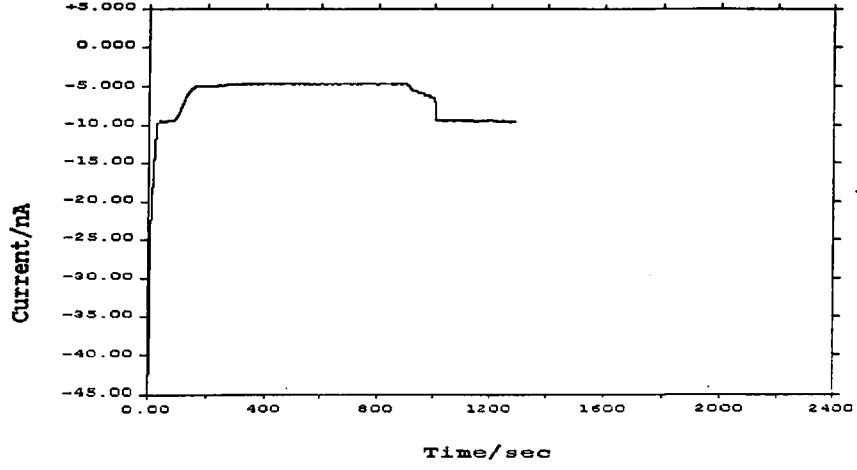


Şekil 4.41. poli (*o*-tolidin) üzerinde 1.045×10^{-3} C'luk poli(*o*-fenilendiamin)-GO_x elektrodunun 1900.s askorbik asit, 2000.s okzalik asit, 2100, 2200, 2300 ve 2400.s glukoz enjeksiyonlarına yanıtı.

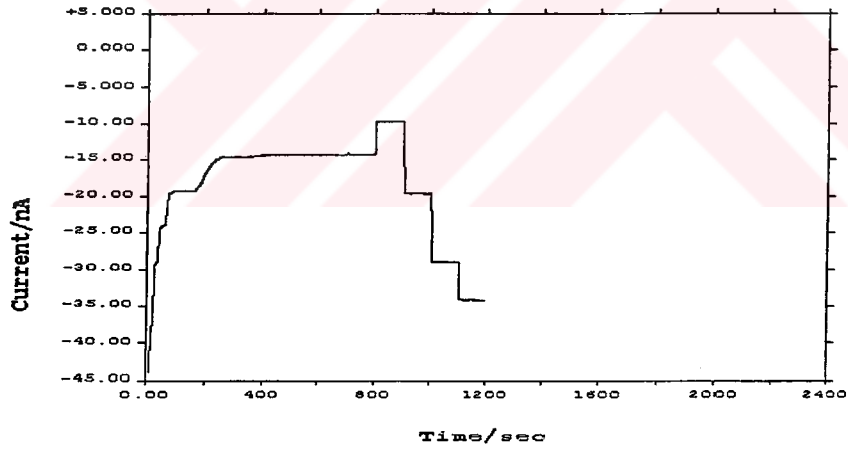


Şekil 4.42. poli (*o*-tolidin) üzerinde 1.7000×10^{-3} C'luk poli(*o*-fenilendiamin)-GO_x elektrodunun 700.s askorbik asit, 800.s okzalik asit, 900, 1000, 1100, 1200 ve 1300.s glukoz enjeksiyonlarına yanıtı.





Şekil 4.43. poli (*o*-toludin) üzerinde 1.8630×10^{-3} C'luk poli(*o*-fenilendiamin)-GO_x elektrodunun 700.s askorbik asit, 800.s okzalik asit, 900, 1000, 1100 ve 1200.s glukoz enjeksiyonlarına yanıtı.



Şekil 4.44. poli(*o*-toludin) üzerinde 2.000×10^{-3} C'luk poli(*o*-fenilendiamin)-GO_x elektrodu üzerinde 700.s askorbik asit, 800. s okzalik asit, 900., 1000. ve 1100.s glukoz enjeksiyonlarına yanıtı.



Şekil 4.41'den (1.045×10^{-3} C) enzim elektrodun, askorbik asit ve okzalik asite karşı beklendiği gibi herhangi bir yanıt vermediği, glukoz enjeksiyonlarına karşı ise belirgin yanıtlar verdiği açıkça görülmektedir. Bu deney, 1.045×10^{-3} C'luk yüke sahip poli(o-fenilendiamin)-GO_x kaplaması ile elde edilen enzim elektrodun elektroaktif interferantların geçişini bloke ettiğini ve glukozu karşı elde edilen yanıtlardan ise bu matris içerisindeki enzimin sorumlu olduğunu göstermektedir.

Bununla birlikte bu elektrodun 3'er günlük aralıklarla 7 kez (20 gün) yapılan kararlılık testlerinden elde edilen yanıtların tutminkar olmadığı bulunmuştur.



SONUÇ VE ÖNERİLER

Hipo veya hiper glisemik hastalığın teşhisi için, kan glukoz düzeylerinin test edilmesi amacıyla enzimatik esaslı elektrotlar tasarlanmaktadır. Amperometrik esaslı glukoz ölçümündeki temel prensip; O_2 varlığında sulu ortamdaki glukoz ile GOx arasındaki enzimatik reaksiyon sonucu oluşan elektroaktif H_2O_2 'nin belirli bir potansiyelde yükseltgenmesi sonucu elde edilen anodik sinyal (akım) ile mevcut glukoz konsantrasyonu arasındaki doğrusal ilişkiden yararlanılmasıdır.

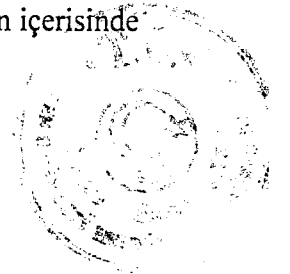
Enzimler oldukça pahalı maddeler olduklarından, rutin glukoz analizlerinde her defasında enzimin kullanılıp tüketilmesi ekonomik açıdan oldukça pahalı bir metodolojidir. Bu ise belli bir miktar enzimin belirli matrislerde immobilize edilerek rutin analizlerde defalarca kullanımını zorunlu kılmaktadır.

Tek basamaklı bir prosesle hazırlanabilir olması (pratikliği), elde edilen polimerik film kalınlığının ve ilgili polimerik matriste immobilize olmuş enzim miktarının ayarlanabilmesi gibi avantajları sebebiyle elektrokimyasal olarak hazırlanan polimerik materyaller enzim immobilizasyon ortamı olarak kullanılabilir potansiyel ortamlardır.

Bu polimerik materyallerin amperometrik biyosensör karakteristiklerini etkileyen en önemli parametrelerinden bazıları, bu materyallerin sulu ortamdaki kararlılığı, film kalınlığı ve özellikle de substrat ve interferant difüzyonunun gerçekleşebilmesinden sorumlu olan morfolojisidir.

Polimerik materyalin morfolojisi; ölçüm ve elektrodun saklanması esnasında enzimin dışarıya difüzyonunu engellemeli, substratın (glukoz) difüzyonunu önlememeli ve elektroaktif interferantların geçişini ise bloke etmelidir. Ayrıca, tüm bu permselektivite (seçici geçirgenlik) özeliğini de uzun süre koruyabilmeli yani kararlı olmalıdır. E. İkinci tarafından poli (*o*-toludin) ile yapılan çalışmada hazırlanan poli (*o*-toludin) – GOx biyosensörünün en önemli dezavantajının düşük kararlılık olduğu görülmektedir [49]. Bu polimerik membranın kararlılığının artırılabilmesi ve *o*-toludin'in permselektivite karakterinden faydalanılmak suretiyle hem kararlı hem de seçici geçirgen çift katmanlı polimerik membranların hazırlanması hedeflenmiş ve hazırlanan çift katmanlı polimerik materyalin özellikleri incelenmiştir.

Hazırlanan çift katmanlı polimerik materyalin elektroaktif askorbik asitin ve okzalik asidin geçişini bloke ettiği halde, H_2O_2 'yi geçirdiği ve bu sonuçtan da böyle bir membranın enzimatik elektrot tasarımında kullanılabilirliği düşünülmüş ve polimerik membran içerisinde



ki ilk katmanın film kalınlığı sabit tutularak ikinci katmanın film kalınlığı değiştirilmek suretiyle farklı kalınlıklarda polimerik enzim elektrotları hazırlanmıştır.

Hazırlanan belli kalınlıktaki poli(*o*-toludin)-poli(*o*-fenilendiamin)-GOx biyosensörünün glukoz için elde edilecek olan akıma katkıda bulunmak suretiyle girişim yapabilen elektroaktif askorbik ve okzalik asite karşı herhangi bir amperometrik yanıt vermediği halde glukoz enjeksiyonlarına karşı yanıt verdiği ve sonuçta GOx'ın ikinci membran olan poli(*o*-fenilendiamin) içerisinde immobilize olduğu ve glukozdan elde edilen yanıtta immobilize enzimin sorumlu olduğu anlaşılmaktadır.

Sonuç olarak poli(*o*-toludin)-poli(*o*-fenilendiamin)-GOx biyosensörü için elde edilen bulguların özellikle de interferansların önlendiği çift katmanlı polimerik biyosensör tasarımı için umut verici olduğu düşünülmektedir.



KAYNAKLAR

- [1] E. Şener, "İki Kutuplu Dolgulu Kolon Reaktöründe Kobalt(III) asetat Elektrosentezinin Optimizasyonu", PhD. Thesis, İnönü Üniversitesi Türkiye, 1988.
- [2] E. Gileadi, E. Kirowa-Eisner, J. Penciner, *Interfacial Electrochemistry An Experimental Approach*, Tel-Aviv University, 1975, 370-371.
- [3] A. Zeren, *Elektrokimya*, Konya, 1991, 234-242
- [4] Douglas A. Skoog, F. James Holler, Timothy A. Nieman. *Principles of Instrumental Analysis*, U.S., 1997, 656-657.
- [5] Douglas A. Skoog, Donald M. West, F. James Holler *Fundamentals of Analytical Chemistry*, U.S., 1996, 432-437.
- [6] Allen J. Bard, Larry R. Faulkner, *Electrochemical Methods*, U.S., 1980, 370.
- [7] Pickup, P. G. and Murrey, R. W., *J. Am. Chem. Soc.*, 105 (1983) 4510.
- [8] Nagy, G.; Gerhardt, G. A. F.; Rice, M. E.; Adams, R. N.; Moore, R. B.; Szentirmay, M. N. and Martin, C. R., *J. Electroanal. Chem.*, 188 (1985) 85.
- [9] Tse, D. C. S. and Kuwana, T., *Anal. Chem.*, 50 (1978) 1315.
- [10] Murrey, R. W., *Ann. Rev. Mater. Sci.*, 14 (1984) 145.
- [11] Merz, A. and Bard, A. J., *J. Am. Chem. Soc.*, 100 (1978) 3222.
- [12] Bettelheim, A.; White, B. A.; Raybuck, S. A. and Murrey, R. W., *Inorg. Chem.*, (1978).
- [13] Bull, R. A.; Fan, F. R. and Bard, A. J., *J. Am. Chem. Soc.*, 131 (1984) 687.
- [14] Chao, S.; Robbins, J. L. and Wrighton, M. S., *J. Am. Chem. Soc.*, 105 (1983) 181.
- [15] Umana, M. and Waller, J., *Anal. Chem.*, 58 (1986) 2979.
- [16] Oyama, M. and Anson, F. C. *J. Electrochem. Soc.*, 127 (1980) 247.
- [17] Telefoncu A., *Biyokimya Lisans Üstü Yaz Okulu*, (1999) 42.
- [18] Romette, J. L.; Yang, J. S.; Kusakabe, H. and Thomas, D., *Biotechnol. Bioengng XXV*, (1983) 2557.
- [19] Dinçkaya E., *Biyokimya Lisans Üstü Yaz Okulu*, (1999) 81.
- [20] Diaz, A. F., Bargon, J., *Handbook of Conducting Polymers*, (T. A. Skotheim, Ed.), Marcel Dekker Inc., New York, 1986, 81.



- [21] Emre F.B. and Asiltürk M., “*Sulu Ortamda 4-metoksifenol’ün Elektrokimyasal Polimerizasyonu*”, Bitirme Tezi, İnönü Üniversitesi, Türkiye, 1997.
- [22] Gardies. F., *et al*, **Anal. Chim. Acta.**, 231 (1990) 305.
- [23] Kaufmann, J. M., Guilbault, G. G. **Bioanal. Appl. Enzymes**, 36 (1992) 63.
- [24] Pişkin, E., **Tübitak Bilim ve Tekn.**, 1 (1994) 17.
- [25] Palleschi, C.; Rahni, M. A. N.; Lubrano, G. J.; Ngwainbi, J. N. and Guilbault, G. G., **Anal. Biochem.**, 159 (1986) 114.
- [26] Nagy, G.; Von Storp, L. H. and Guilbault, G. G., **Anal. Chim. Acta**, 66 (1973) 443.
- [27] Siddiqi, I. W., **Clin. Chem.**, 28 (1982) 1962.
- [28] Iwakura, C.; Kajiya, Y. and Yoneyama, H.. **J. Chem. Soc. Chem. Commun.**, (1988) 1019.
- [29] Yabuki, S-I.; Shinohara, H. and Aizawa, M., **J. Chem. Soc. Chem. Commun.**, (1989) 945.
- [30] Janda, P. And Weber, J., **Electroanal. Chem.**. 300 (1991)119.
- [31] Yabuki, S-I.; Shinohara, H.; Ikariyama, Y. and Aizawa, M.J. **Electroanal. Chem.**, 277 (1990) 179.
- [32] Belanger, D.; Nadreau, J. and Fortier, G., **J. Electroanal. Chem. Interfacial Electrochem.**, 274 (1989) 143.
- [33] Fortier, G.; Brassard, E. and Belanger, D., **Biosens. Bioelectron.**, 5 (1990) 473.
- [34] Matsue, T.; Kasai, N.; Narumi, M.; Nishizawa, M.; Yamada, H. and Uchida, I., **J. Electroanal. Chem.**, 300 (1991) 111.
- [35] Kajiya, Y.; Tsuda, R. and Yoneyama, H., **J. Electroanal. Chem.**, 301 (1991) 155.
- [36] Kajiya, Y.; Matsumoto, H. and Yoneyama, H., **J. Electroanal. Chem.**, 319 (1991) 185.
- [37] Yamatoto, T.; Sanechica, K. and Yamatato, A., **J. Polym. Sci., Polym. Lett. Ed.**, (1980) 189.
- [38] Bartlett, P. N. and Whitaker, R. G., **J. Electroanal. Chem.**, 37 (1987) 224.
- [39] Pandey, P. C., **J. Chem. Soc.**, 84 (1988) 2259.
- [40] Hintsche, R.; Neumann, G.; Dransfeld, I.; Kampfrath, G.; Hoffmann, B. and Scheller, F., **Anal. Lett.**, 22 (1989) 2175.



- [41] Sasso, S. V.; Pierce, R. J.; Walla, R. and Yacynych, A. M., **Anal. Chem.**, 62 (1990) 111.
- [42] Centonze, D.; Guerrieri, A.; Malitesta, C.; Palmisano, F. and Zambonin, P. G., **Ann. Chim.**, 82 (1992) 219.
- [43] Kunimura, S.; Ohsaka, T. and Oyama, N., **Macromolecules**, 21 (1988) 864.
- [44] Gülce, H.; Özyörük, H.; Çelebi, S. S. and Yıldız, A., **J. Electroanal. Chem.**, 397 (1995).
- [45] Fortier, G.; Brassard, E. and Belanger, D., **Biotechnol. Tech.**, 2 (1988) 177.
- [46] Özden, M.; Ekinci, E.; Türkdemir, H. Karagözler, A. E., **J. Appl. Polym. Sci.**, 71/13 (1999) 2141.
- [47] Ekinci, E.; Karagözler, A. A.; Karagözler, A. E., **Synthetic Metals**, 79 (1996) 57.
- [48] Ekinci, E., Ögünç, S. T., Karagözler, A. E., **J. Appl. Polym. Sci.**, 68 (1998) 145.
- [49] Ekinci, E., **Polym. Bull.**, 42, (1999) 693-699



ÖZGEÇMİŞ

24.05.1975 tarihinde Erzurum'da doğdum. İlk ve Orta öğrenimimi Erzurum'da tamamladıktan sonra 1992 yılında Malatya Lisesinden, 1997 yılında da İnönü Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümünden mezun oldum. 1998 yılında İnönü Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalında yüksek lisansa başladım. 1999 yılından beri İnönü Üniversitesi Eğitim Fakültesi Fen Bilgisi Öğretmenliği Programında Araştırma Görevlisi olarak görev yapmaktayım.



T.C. YÜKSEKÖĞRETİM KURULU
DOKÜMANLARI GENEL MÜDÜRLÜĞÜ

