



T.C.
NECMETTİN ERBAKAN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

4-(2-((6-NİTRO-1H-BENZO[D]OKSAZOL-2-İL)TIYO)ETİL)FENOL'ÜN SENTEZİ
VE ELEKTROKİMYASAL ÖZELLİKLERİNİN İNCELENMESİ

BEKİR ÇETİN

YÜKSEK LİSANS TEZİ
KİMYA ANABİLİM DALI

Haziran- 2018

KONYA

Her Hakkı Saklıdır

TEZ KABUL VE ONAYI

Bekir ÇETİN tarafından hazırlanan “4-(2-((6-nitro-1H-benzof[d]joksazol-2-il)tiyo)etil)fenol’ün Sentezi ve Elektrokimyasal Özelliklerinin İncelenmesi” adlı tez çalışması 06/08/2018 tarihinde aşağıdaki jüri üyeleri tarafından oy birliği /oy çokluğu ile Necmettin Erbakan Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı’nda YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Jüri Üyeleri

İmza

Başkan
Prof. Dr. İbrahim Ender MÜLAZIMOĞLU



Danışman
Prof. Dr. Bedrettin MERCİMEK



Üye
Dr. Öğr. Üyesi Fatih DURMAZ



Yukarıdaki sonucu onaylarım.

Enstitü Müdürü

TEZ BİLDİRİMİ

Bu tezdeki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edildiğini ve tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiksiz atıf yapıldığını bildiririm.

DECLARATION PAGE

I hereby declare that all information in this document has been obtained and presented in accordance with academic rules and ethical conduct. I also declare that, as required by these rules and conduct, I have fully cited and referenced all materials and results that are not original to this work.

Bekir ÇETİN

ÖZET
YÜKSEK LİSANS TEZİ
4-(2-((6-NİTRO-1H-BENZO[D]OKSAZOL-2-İL)TİYO)ETİL)FENOL'ÜN SENTEZİ
VE ELEKTROKİMYASAL ÖZELLİKLERİNİN İNCELENMESİ

Bekir ÇETİN

Necmettin Erbakan Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü
Kimya Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Bedrettin MERCİMEK

2018, 56 Sayfa

Jüri

Danışmanın Unvanı Adı SOYADI: Prof. Dr. Bedrettin MERCİMEK

Diğer Üyenin Unvanı Adı SOYADI: Prof. Dr. İbrahim Ender MÜLAZIMOĞLU

Diğer Üyenin Unvanı Adı SOYADI: Dr. Öğr. Üyesi Fatih DURMAZ

Yapmış olduğumuz bu çalışmada 4-(2-((6-nitro-1H-benzo[d]oxazol-2-yl)thio)ethyl)phenol (NOTEP) un fiziksel yapı, elektrokimyasal reaktivite ve kararlılığını rapor etmiş bulunmaktayız. Bizim önceki raporumuzla karşılaştırıldığında parlatılmış camısı karbon (GC) kullanarak yapmış olduğumuz deneylerde genişletilmiş redoks analit sayısı incelenmiştir. Redoks analitleri $Fe(CN)_6^{3-/4+}$, $Ru(NH_3)_6^{2+/3+}$, dopamin, askorbic asit (sulu ortamda) ve ferrosendir (susuz ortamda). Beş redoks analiti bir ay süresince laboratuvar hava ortamına maruz bırakılarak uzun dönemde tepki kararlılığı incelenmiştir. NOTE elektrokimyasının redoks reaksiyonu, difüzyon sınırlı bir reaksiyonla veya yüzeyde sınırlı bir halde, oksijen içeren modifiye elektrod yüzeylerinde olduğu gibi devam edip etmediğini öğrenmek için çalışılmıştır. Bu çalışmada karbon elektrotlarının (camısı karbon, grafen, karbon nanotüp, vb.) yüzeyini modifiye etmek için NOTEP molekül ve farklı ortamlardaki elektrokimyasal davranışlar, özellikler ve kararlılığı araştırılmıştır. Bu çalışmada dönüşümlü voltametri ve bazı elektrokimyasal teknikler yanında elektrokimyasal impedans (EIS) ve taramalı elektron mikroskobu (SEM) modifiye yüzeylerin karakterizasyonu için kullanılmıştır. NOTEP, karbon elektrot yüzeyleri elektrokimyasal oksidasyonu ile susuz ortamda modifiye edilmiştir. Modifikasyon için dönüşümlü voltametri kullanılmıştır. Karbonlu elektrotların yüzeylerinin NOTEP modifikasyonu 0.3 V ile +2,8 V aralığında ve 0.1 V s⁻¹ potansiyel aralığında 10 döngü hızında yapılmıştır. Modifikasyon ve karakterizasyondan sonra yüzeydeki nitro grubu 100 mM HCl ortamında amin grubuna indirgenmiştir. Bu işlem -0.2 V ile -1,1 V potansiyel aralığında 0.1 V s⁻¹ tarama hızında 10 döngüde elektroaktif yüzey elektroaktif yapılmıştır. Modifiye elektrot yüzeyinde bulunan NOTEP varlığı CV, EIS ve SEM teknikleri ile karakterize edilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Modifikasyon, Karakterizasyon, Sensör Elektrot, Elektrot Kararlılığı.

ABSTRACT
MS/Ph.D THESIS

SYNTHESIS OF 4-(2-((6-NITRO-1H-BENZO[D]OXAZOL-2-YL)THIO)ETHYL)PHENOL AND INVESTIGATION OF ELECTROCHEMICAL PROPERTIES

Bekir ÇETİN

**THE GRADUATE SCHOOL OF NATURAL AND APPLIED SCIENCE
OF NECMETTİN ERBAKAN UNIVERSITY
THE DEGREE OF MASTER OF SCIENCE
IN CHEMISTRY**

Advisor: Prof. Dr. Bedrettin MERCİMEK

2018, 56Pages

Jury

Advisor Unvanı Adı SOYADI : Prof. Dr. Bedrettin MERCİMEK
Diğer ÜyeninUnvanı Adı SOYADI: Prof. Dr. İbrahim Ender MÜLAZIMOĞLU
Diğer ÜyeninUnvanı Adı SOYADI: Assist. Prof. Dr. Fatih DURMAZ

This study, we report on the physical structure, electrochemical reactivity, and response stability of 4-(2-((6-nitro-1H-benzo[d]oxazol-2-yl)thio)ethyl)phenol (NOTEP). An expanded number of redox analytes was investigated, compared to that for our previous report, and in all cases, similar experiments were performed using polished GC for comparison. The redox analytes were $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-/4-}$, $\text{Ru}(\text{NH}_3)_6^{2+/3+}$, dopamine, and ascorbic acid (in aqueous media) and ferrocene (in non-aqueous media). The long-term response stability of the electrodes for all five redox analytes was examined after a monthly period of laboratory air exposure. The electrochemistry of NOTEP was studied to learn if the redox reaction proceeds by a diffusion-limited reaction or through a surface-confined state, as it does on oxygen containing modified electrode surfaces. In this study, NOTEP molecule was used to modify the surface of carbonaceous electrodes (glassy carbon, graphene, carbon nanotube, etc.) and electrochemical behaviors, properties and detection stability in different media were investigated in this study. In this study besides CV and some electroanalytical techniques, electrochemical impedance spectroscopy (EIS) and scanning electron microscopy (SEM) techniques were also used for the surface characterization of the modified surfaces. NOTEP was modified on the carbonaceous electrode surfaces by electrochemical oxidation in non-aqueous media. The cyclic voltammetry has been employed for the modification processes. The modification of NOTEP on the carbonaceous electrode surfaces were performed between 0.3 V and +2.8 V potential range at 0.1 V s^{-1} scan rate with 10 cycles. The nitro group on the surface after modification and characterization operations was reduced to amine group in the 100 mM HCl media. This process, which was made -0.2 V to -1.1 V potential range at 0.1 V s^{-1} scan rate and 10 cycles, the electro-inactive surface was made electro-active. The presence of NOTEP at the modified electrode surface was characterized by CV, EIS and SEM techniques.

Keywords: Modifcation, Characterization, Sensor Electrode, Electrode Stability

ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜRLER

Tez projemin planlanması ile başlayan ve çalışmalarım boyunca devam eden dönemde destek ve yardımlarını esirgemeyen danışmanım sayın Prof. Dr. Bedrettin Mercimek'e, tez projemin konusu hakkındaki tecrübesi ve sağladığı laboratuvarimkanı ile çalışmalarım boyunca yanımda olan ve bana bilgi ve tecrübesiyle destek veren sayın Prof. Dr. İbrahim Mülazımoğlu'na teşekkürlerimi sunarım.



İÇİNDEKİLER

ÖZET	iv
ABSTRACT	v
ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜRLER	vi
İÇİNDEKİLER	vii
SİMGELER DİZİNİ.....	viii
ŞEKİL ve ÇİZELGELER DİZİNİ	xi
1. GİRİŞ	1
2. ELEKTROKİMYA.....	1
2.1. Elektroanalitik Teknikler ve Sınıflandırılması.....	1
2.2. Voltametri.....	3
2.2.1. Voltametri Uyarma Sinyalleri	4
2.2.2. Voltametrik Hücre Sistemi.....	7
2.3. Elektrotların Yüzey Modifikasyonu.....	17
2.3.1. Modifikasyon Metotları.....	18
2.3.2. Modifiye Yüzeylerin Karakterizasyonu	20
2.4. Biyosensörler	25
2.4.1. İdeal Bir Biyosensörün Özellikleri	27
2.4.2. Biyosensör Çeşitleri	29
3. KAYNAK ARAŞTIRMASI	32
4. MATERYAL VE YÖNTEM.....	41
4.1. Çalışmada Kullanılan elektrotların Temizlenmesi.....	42
4.2. Çalışmalarda Kullanılan Elektrotların Kalibrasyonu.....	43
4.3. Britton-Robinson (BR) Tampon Çözeltisinin Hazırlanması	44
5. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA	45
6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER	53
KAYNAKLAR	54
ÖZGEÇMİŞ.....	56

SİMGELER DİZİNİ

AA	:Askorbik asit
ACDE	:Asılı Civa Damla Elektrot
AFM	:Atomik kuvvet mikroskopisi
BDD	:Bor ile kaplanmış elmas elektrot
CA	:Analit derişimi
CAT	:Kataliz
CGCE	:Selüloz-grafit kompozit elektrotun
ChO _x	:Kolestrol oksidaz
CİFE	:Civa ince film elektrot
CNT	:Karbon nano tüp
CNTs	:Kaplanmış karbon nanotüpleri
CO	:Kodein
CoPc	:Kobalt(II) ftalosiyenin
CPE	:Karbon pasta elektrot
CPs	:Klorofenoller
CV	:Dönüşümlü Voltametri
CZE	:Kapileri zon elektroforetik
DA	:Dopamin
DPAdSV	:Diferansiyel puls adsorptive stripping voltametri
DPV	:Diferansiyel Puls Voltametrisi
EIS	:Elektrokimyasal İmpedans Spektroskopisi
Ep _a	:Anodik pik
EPD	:Elektroforetik bozunma tekniği
Ep _k	:Katodik pik
ERGO	:Elektrokimyasal olarak indirgenmiş grafen oksid
FIA	:Akış enjeksiyonu tahlili
FSM 7,0	: 7 nm gözenek çapında mezopor silika tozu
FTIR	:Fourier transform infrared spektroskopisi
GCE	:Camsı karbon elektrot
GO	:Grafen oksit
GO _x	:Glikoz oksidazın
GR	:Grafen

HPLC	:Yüksek performanslı sıvı kromatografi
HRP	:Horsradish peroksidaz
IL	:İyonik sıvı
IR	:Infrared spektroskopisi
ITO	:İndium-tin oxide
LB	:Langmuir-Blodgett
LOQ	: Tayin sınırı
LSV	:Doğrusal Taramalı Voltametri
MNPs	:Magnetik nano parçacıklar
MO	:Morfin
MWNTs	:Çok duvarlı karbon nanotüp
NiHCF	:Nikel hekzasiyanoferrat
NOTEP	:4-(2-((6-nitro-1H-benzo[d]oxazol-2-yl)thio)ethyl)phenol
PAMAM	:Polyamidoamin
PANI	:Polianilin
PBS	:Fosfat tampon çözeltisi
PDA	:Fotodiod ary
PPO	:Polifenol oksidaz
RGO	:İndirgenmiş grafen oksit
SAM	:Kendiliğinden oluşan tek tabaka
\bar{S}_{bl}	: Ortalama tanık sinyali
SEM	:Taramalı elektron mikroskopisi
SECM	:Taramalı elektrokimyasal mikroskopi
SHE	:Standart hidrojen elektrot
S_{bl}	: Tanığın standart sapması
S_m	: Analitik sinyal
STE	:Taramalı geçirmeli elektron mikroskopisi
STM	:Taramalı tünelleme mikroskopisi
SWV	:Kare Dalga Voltametrisi
UA	:Ürik asit
TCM	:Yöresel bitkisel Çin ilaçlarında
TCNQ	: Tetraşyanokuinodimetan
TEM	:Geçirmeli elektron mikroskopisi

TH	:Tiyonin
TTF	:Tatratiyafulvalen
Tyr	:Tyrosinaz
YSI	:“Yellow Spirngs Instrument” olarak tanımlanan ilk biyosensör
XPS	:X-ışınları fotoelektron spektroskopisi
XRD	:X ışınları difraksiyonu



ŞEKİL ve ÇİZELGELER DİZİNİ

Şekil 2.1	Elektroanalitik yöntemlerin sınıflandırılması	2
Şekil 2.2	Voltametrde en çok kullanılan uyarma sinyalleri.	4
Şekil 2.3	Yavaş potansiyel değişiminde doğrusal taramalı voltamogram.	5
Şekil 2.4	Bir karedalga voltametresinde uyarma sinyalinin oluşumu	6
Şekil 2.5	Dönüşümlü voltametrde potansiyel-zaman ve potansiyel-akımeğrileri	7
Şekil 2.6	Genel elektrokimyasal hücre şeması.	8
Şekil 2.7	Voltametrde kullanılan çalışma elektrotlarının sınıflandırılması	9
Şekil 2.8	Çeşitli çalışma elektrotlarına ait çalışma potansiyeli aralıkları	10
Şekil 2.9	Camsı karbon elektrodun amorf yapısı	14
Şekil 2.10	Karbon pastası elektrotunun şematik olarak gösterimi	15
Şekil 2.11	Diazonyum tuzunun indirgenmesi ile elde edilen yüzey	19
Şekil 2.12	Alkol oksidasyonu yöntemi ile elde edilen yüzey	20
Şekil 2.13	Amin oksidasyonu yöntemi ile elde edilen yüzey	20
Şekil 2.14	Taramalı elektron mikroskopunun şematik görüntüsü.	22
Şekil 2.15	Randles devresinin şematik görünümü	23
Şekil 2.16	AFM'nin temel bileşenleri	24
Şekil 2.17	Elipsometreyi meydana getiren bileşenler	25
Şekil 2.18	Farklı nesillerdeki enzim elektrotların şematik gösterimi ($M_{(yük)}$ ve $M_{(ind)}$ yükseltgenmiş ve indirgenmiş medyatör, $GOx_{(yük)}$ ve $GOx_{(ind)}$ yükseltgenmiş ve indirgenmiş glukozoksidaz	26
Şekil 2.19	Glikoz tespiti için bir Clark enzim elektrotunun şematik diyagramı	28
Şekil 4.1	Üç elektrotlu hücre sistemi; Gamry Referans 600 ve 750 potantiyostat/galvanostat/ZRA	41
Şekil 4.2	Elektrokimyasal ve impedans deneyleri için üç elektrotlu hücre sistemi	42
Şekil 4.3	Çıplak GC yüzeyi için testler. a) ferrosen testi, -0,1/+0,4 V potansiyel aralığında ve 100 mV/s tarama hızında, b) HCF (III) testi, +0,6/0,0 V pot. arl. ve 100 mV/s tarama hızında	43
Şekil 5.1	NOTEP molekülüne ait sentez mekanizması	45
Şekil 5.2	CV tekniği kullanılarak NOTEP molekülünün GC elektrot yüzeyine	

	susuz ortamda modifikasyon voltamogramı. 0,3 V ile 2,8 V potansiyel aralığında, 100 mV s ⁻¹ tarama hızında ve 10 döngülü.	46
Şekil 5.3	NOTEP/GC elektrot yüzeyinde 100 mM HCl ortamında NO ₂ -NH ₂ indirgenmesine ait voltammogram. -0,2 V ile -1,1 V aralığında, 100 mV s ⁻¹ tarama hızında ve 10 döngülü.	47
Şekil 5.4	CV kullanılarak susuz ortamda ferrosen redoks prob ile ve sulu ortamda ferrisiyanür redoks prob ile alınan yüzey voltamogramları ve sulu ortamda ferri/ferro siyanür karışımı redoks prob kullanılarak alınan EIS görüntüleri.	48
Şekil 5.5	Çıplak GC ve NOTEP modifiye GC için alınmış olan SEM görüntüleri.	48
Şekil 5.6	NOTEP çözeltisi ortamında LSV tekniği kullanılarak 10, 25, 50, 100, 200, 300, 400 ve 500 mV s ⁻¹ tarama hızlarında alınan voltamogramların karşılaştırılmış görüntüleri. +0,3 V ile +2,8 V aralığında tek tarama.	49
Şekil 5.7	NOTEP/GC elektrot yüzeyinin indirgenme sonrasında 0, 15, 30, 45, 60, 75 ve 90 dakika hava ortamında bekletilmesi ile ferrosen redoks prob varlığında alınan voltamogramların karşılaştırılmış görüntüsü.	50
Şekil 5.8	NOTEP/GC elektrot yüzeyinin indirgenme sonrasında 0, 15, 30, 45, 60, 75 ve 90 dakika su ortamında bekletilmesi ile ferrosen redoks prob varlığında alınan voltamogramların karşılaştırılmış görüntüsü.	50
Şekil 5.9	NOTEP/GC elektrot yüzeyinin indirgenme sonrasında 0, 15, 30, 45, 60, 75 ve 90 dakika asetonitril ortamında bekletilmesi ile ferrosen redoks prob varlığında alınan voltamogramların karşılaştırılmış görüntüsü.	51
Şekil 5.10	NOTEP/GC elektrot yüzeyinin indirgenme sonrasında 0, 15, 30, 45, 60, 75 ve 90 dakika su sonikatör ortamında bekletilmesi ile ferrosen redoks prob varlığında alınan voltamogramların karşılaştırılmış görüntüsü.	51
Şekil 5.11	NOTEP/GC elektrot yüzeyinin indirgenme sonrasında 0, 15, 30, 45, 60, 75 ve 90 dakika asetonitril sonikatör ortamında bekletilmesi ile ferrosen redoks prob varlığında alınan voltamogramların karşılaştırılmış görüntüsü.	52

1. GİRİŞ

Kimya biliminin bir alt disiplini olan elektrokimya, elektronik bir iletken (metal veya grafit gibi) ya da yarı iletken elektrotlarla iyonik bir iletken çözeltilere yüzeyinde gerçekleşen kimyasal reaksiyonları ve fiziksel dönüşümleri inceleyen bir bilim dalıdır. Bu tekniklerde, elektrot-çözelti sistemine bir elektriksel alan uygulandığında sistemde meydana gelen indirgenme ve yükseltgenme reaksiyonları sonucunda sistemin gösterdiği cevap ölçülür. Akımdaki artış olarak ortaya çıkan bu sinyal, bizi sistemin özellikleri hakkında bilgi verir.

Elektro analitik kimya ise, bir kimyasal hücredeki analit çözeltisinin elektrokimyasal özelliklerine dayanan kalitatif ve kantitatif yöntemleri içine alan bir elektrokimyasal tekniktir. Bu elektrokimyasal teknik; kimyasal tepkimelerin hızı, kütle aktarım hızı, denge sabitleri, elektrot yüzeylerinde meydana gelen yük aktarım hızı, kütle aktarım hızı, stokiyometrisi ve adsorpsiyon derecesi, denge sabitleri gibi bir çok alanda kullanılmaktadır. Elektrot yüzeyine enzim, protein DNA gibi biyolojik reaktiflerin tutturulmasıyla elde edilen biyosensörler günümüzde canlıyı ilgilendiren bir çok farklı alanda kullanılmaktadır. Elektrokimyasal biyosensörlerde, genellikle amperometrik ve potansiyometrik yöntemler kullanılır. Biyokimyasal reaksiyonlarda oluşan ürünlerin reaksiyonu sonucunda çalışma elektrotunda meydana gelen akım değişikliğini ölçen sensörlere amperometrik biyosensörler denir. Potansiyometrik biyosensörler ise, çalışma ve referans elektrot arasındaki potansiyel farktan yararlanılarak analit derişiminin belirlenmesi yöntemidir.

Bu yüksek lisans tezi çalışmasının amacı; organik ve inorganik türlerde amperometrik yöntemle tayinin daha hassas, hızlı, ekonomik ve doğru bir şekilde yapılabilmesini kanıtlamaktır. Bundan dolayı bu tayin için amperometrik biyosensörler oluşturulmuştur.

2. ELEKTROKİMYA

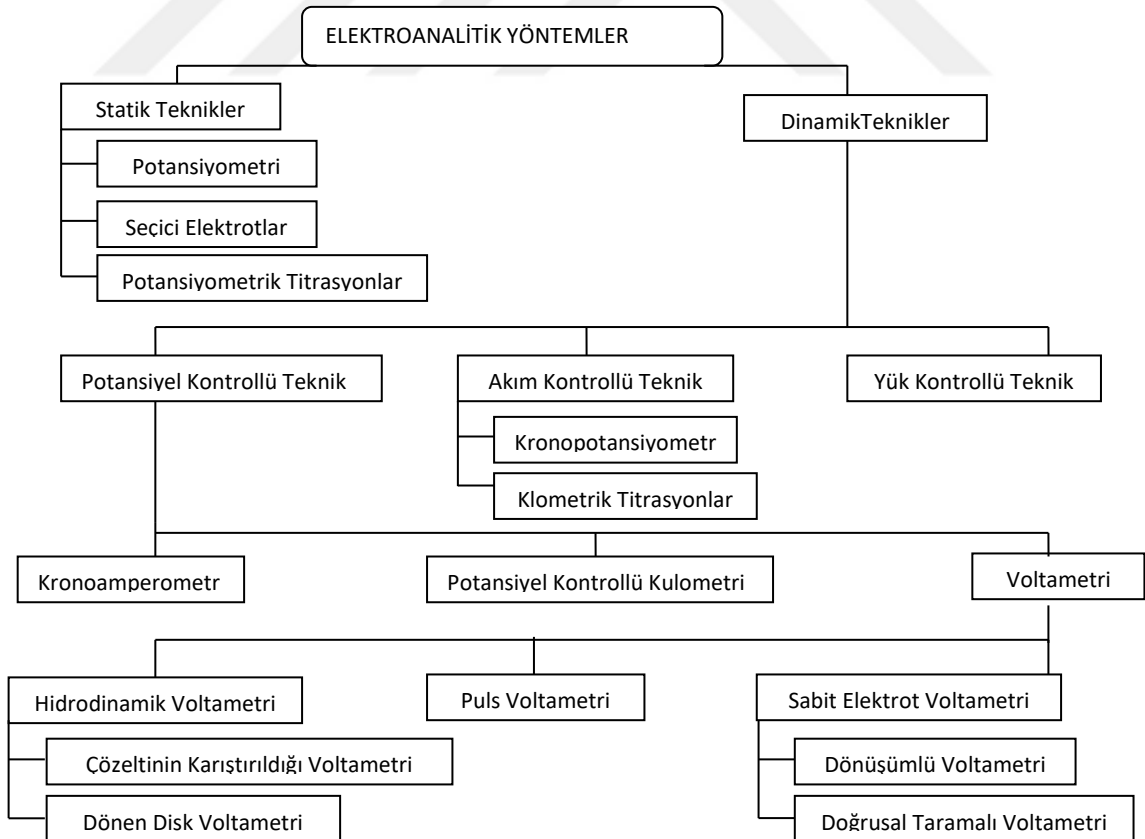
Elektrokimya, bir elektrolitin elektrik enerjisi ile etkileşmesi sonucunda oluşan kimyasal enerjinin elektrik enerjisine ve elektrik enerjisinin de kimyasal enerjiye dönüştürülmesini, redoks reaksiyonlarını inceleyen ve farklı teknikleri ile geniş bir kullanım alanına sahip olan bir alandır. Elektrokimyasal yöntemlerin kullanıldığı sistemler olarak; redoks titrasyonları, piller, eser miktarda madde analizleri, iletken polimerlerin sentezi gibi birçok alandan bahsedebiliriz.

2.1. Elektroanalitik Teknikler ve Sınıflandırılması

Elektroanalitik kimya, elektrokimyasal bir hücredeki çözeltilerin elektrik enerjisi etkisi sonucu meydana gelen fiziksel ve kimyasal değişimler sonucunda maddelerin

kalitatifve kantitatif özelliklerini inceleyen analitik kimyanın bir dalıdır. Burada en yaygın kullanılan teknikler potansiyometri, voltametri, kondüktometri ve kulometridir. Günümüzde spektroskopik ve kromotografik teknikler; duyarlılık, hızlılık, numune hazırlamak, tayin sınırı ve ekonomik boyutu açısından oldukça önem kazanmaktadır.

Elektrokimyasal tekniklerde, elektrot ve elektrolitten oluşan bir sisteme bir elektriksel alan uygulandığında sistemin verdiği cevap ölçülür. Akımdaki artış olarak verilen bu cevap, sistemin özellikleri hakkında bilgi verir. Bütün elektrokimyasal tekniklerde potansiyel, akım ve zaman parametreleri bulunur. Örneğin, voltametri, kronoamperometri, kronokulometri gibi adlandırmalarda sırasıyla potansiyel-akım, zaman-akım ve zaman-yük parametrelerinden faydalanılarak hangi tekniğin kullanıldığı anlaşılır. Şekil 2.1’de elektroanalitik tekniklerin en yaygın sınıflandırma şeması görülmektedir. Şemadan da anlaşıldığı gibi, elektroanalitik yöntemler genelde net akımın sıfır olduğu statik teknik ve net akımın sıfır olmadığı dinamik teknik olmak üzere iki ayrı grupta toplanır. Tekniklerin çok büyük bir kısmında akım gözlenir ve bunlar çoğunlukla potansiyel veya akım kontrollüdür. Potansiyel ve akımın kontrol edildiği tekniklerde bu parametreler büyük veya küçük genlikli olarak uygulanır. Büyük genlikli teknikler diğerlerine göre daha yaygın kullanılır. Elektroanalitik yöntemler; kalitatif ve kantitatif analizlerde, standart indirgenme potansiyelinin, difüzyon katsayılarının, denge sabitlerinin, elektrot reaksiyonlarının belirlenmesinde ve daha birçok alanda kullanılmaktadır.



Şekil 2.1. Elektroanalitik yöntemlerin sınıflandırılması

2.2. Voltametri

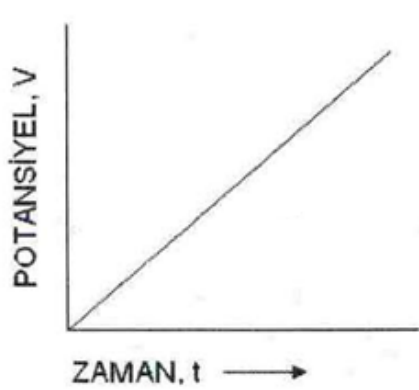
Voltametri; denge halindeki bir sisteme bir potansiyel uygulandığında, indirgenme ve yükseltgenme reaksiyonları sonucunda akımın ölçülmesi işlemine voltametri denir. Voltametri yöntemi döner elektrot sistemi kullanılarak yapılabildiği gibi, karıştırılmayan çözeltilerde de yapılabilir. Voltametrik çalışmaların pek çoğunda, polarizasyonu sağlamak için yüzey alanları çok küçük olan mikro elektrotlar kullanılmaktadır. Voltametri; inorganik, fiziko ve biyokimyada kullanılmaktadır.

Voltametri, 1922 yılında Çekoslovak Kimyacı Jaroslav Heyrovsky tarafından geliştirilmiştir. Heyrovsky'nin bu buluşu, 1959 yılında kendisine Nobel Kimya Ödülünü kazandırmıştır. Bu yöntemlerin bir kısmında, potansiyel ya sabit ya dadeğişken iken madde miktarına bağlı olarak akımda meydana gelen değişiklik ölçülür. Bu elektroanalitik tekniklerle; maddelerin kalitatif ve kantitatif analizleri, çeşitli çözeltilerdeki kararlılıkları ve elektrot reaksiyonlarının mekanizmaları incelenebilir.

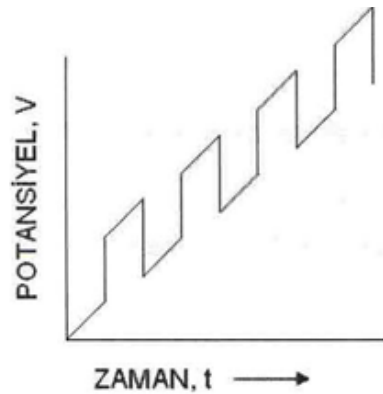
Voltametri, kronokulometri ve kronoamperometri gibi tekniklerde sırası ile potansiyel fark-akım, zaman-yük ve zaman-akım ilişkisi bulunmaktadır. Voltametri deneylerinde üç elektrotlu hücre sistemi kullanılır. Bu elektrotlardan birisi çalışma elektrodu diğeri referans elektrot üçüncüsü de karşıt elektrottur. Voltametri çalışmada çalışma elektrotu olarak da bilinen indikatör elektrot olarak, Hg, Pt, Pd, Au, C elektrot (karbon pasta elektrot, grafit, camı karbon elektrot) olarak kullanılmaktadır. Elektrot sistemindeki ikinci elektrot, potansiyeli deney süresince sabit kalan Ag/AgCl veya doymuş kalomel elektrot olarak bilinen referans elektrottur. Elektrot sistemindeki üçüncü elektrot ise Pt tel olarak kullanılan karşıt elektrottur. Voltametri çalışmada çalışma elektrodu üzerinde maddelerin indirgenmesi veya yükseltgenmesi ile akım oluşur. İndirgenmeden dolayı oluşan akıma katodik akım, yükseltgenmeden dolayı oluşan akıma ise anodik akım denir. Voltametri yönteminde; hücreye çok küçük alana sahip mikro çalışma elektrotu ile karşılaştırma elektrotu yerleştirilerek, elektrotlar arasında değeri zamanla değiştirilen bir gerilim uygulanır. Böylece, elektrotlar arasında değışen gerilime karşılık akım ölçülür. Sonuçların akım-potansiyel grafiğinde gösterilmesine voltamogram denir. Kullanılan elektrot civa elektrotu ise yöntemin adı polarografi, elde edilen akım-gerilim grafiğine ise polarogram denir. Polarografi, tüm voltametrik yöntemlerde kullanılan bir tekniktir. Burada civa damla mikro elektrot kullanılması bu elektrodun diğelerinden farkını gösterir.

2.2.1. Voltametrde Uyarma Sinyalleri

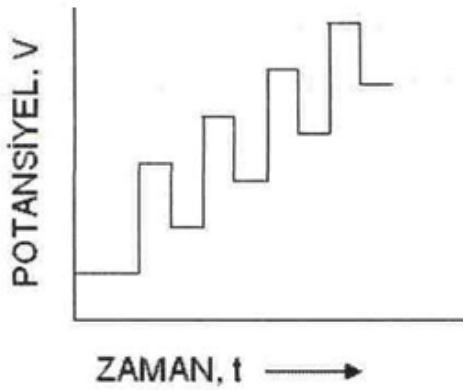
Voltametrde;mikro elektrotbulunduran elektrokimyasal bir hücreye, değişken birpotansiyel uygulandığında bu uyarma sinyalleri aşağıdaki şekillerde görüldüğü gibi karakteristik akımlar oluşturur. Bu yöntemde en çok kullanılan uyarma sinyallerişekil 2.2'de görüldüğü gibi sırasıyla; doğrusal taramalı voltametri, diferansiyel puls voltametri, kare dalga voltametrisi ve dönüşümlü voltametrdir(Bond,1980).



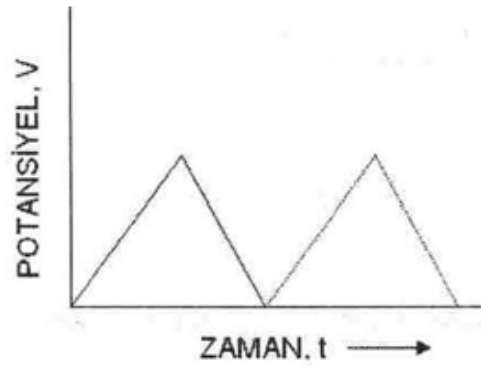
a. Doğrusal Taramalı Voltametri



b. Diferansiyel Puls Voltametri



c. Kare Dalga Voltametrisi



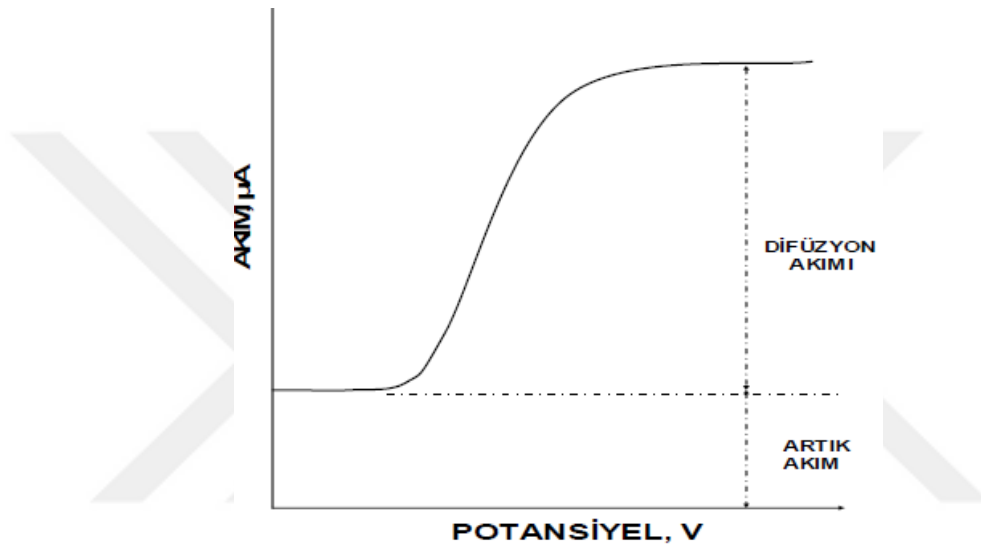
d. Dönüşümlü Voltametri

şekil 2.2. Voltametrde en çok kullanılan uyarma sinyalleri.

2.2.1.1. Doğrusal Taramalı Voltametri (LSV)

Doğrusal olarak artan bir potansiyel, mikro elektrotla referans elektrot arasında uygulandığında devreden geçen akımın ölçülmesine doğrusal taramalı voltametri denir. Bu voltametrde tarama hızı 0.01-1000 V/s arasındadır. Doğrusal taramalı voltamogramlar, genel olarak “voltametrik dalga” olarak da bilinen sigmoidal şekilli eğrilerdir.Voltamogramda dik

bir artıştan sonra sabit kalan akıma, sınır akımı denir. Çünkü bu akım, analizlenecek maddenin kütle aktarım işlemiyle elektrot yüzeyine taşınma hızıyla sınırlıdır. Sınır akım, $i_s = k CA$ eşitliğinde görüldüğü gibi analizlenecek maddenin derişimi ile doğrudan orantılıdır. Burada, “CA” analit derişimini, “ i_s ” sınır akımı gösterir, “k” ise bir sabit bir sayıdır. Kantitatif doğrusal taramalı voltametri bu eşitlikle ifade edilir. Bu eşitlik; hareketli ve durgun tabakalar arasındaki ara yüzeyin, konveksiyonla taşınmanın sona erdiği ve difüzyonla taşınmanın başladığı keskin bir kenar olduğu varsayımı temeline dayanmaktadır. Şekli 2.3’de, bu ifadeyi gösteren doğrusal taramalı voltametri görülmektedir (Yıldız ve Genç, 1993).



Şekil 2.3. Yavaş potansiyel değişiminde doğrusal taramalı voltamogram.

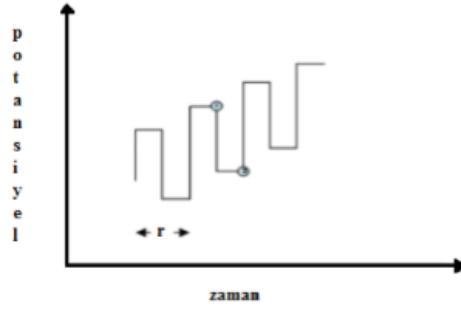
2.2.1.2. Diferansiyel Puls Voltametri (DPV)

Bu teknik; voltametrik çalışmalarda tayin sınırını düşürmek amacı ile Barker ve Jenkin tarafından 1952 yılında önerilmiştir. Bu yöntemde; faradayik akımla faradayik olmayan akım arasındaki oran artırılarak, tayin sınırları 10^{-8} M’a kadar düşürülmüştür. DPV, organik ve anorganik gibi elektroaktif türlerin çok küçük miktarlarını ölçmede kullanılan önemli bir tekniktir. DPV’de, doğrusal bir potansiyel artışa göre ayarlanmış sabit büyüklükte pulslar (dE/dt), belli bir süre çalışma elektroduna uygulanarak iki kez akım ölçüldüğünde Birincisi, potansiyelde artış olmadan pulsun başladığı anda ölçülür. İkincisi ise, pulsun bitmesine yakın bir anda ölçülür. Bu iki akım arasındaki farka puls adı verilir. Uygulanan potansiyele karşı bu akım farklarının grafiğe geçirilmesiyle diferansiyel puls voltamogram elde edilir. Voltamogramlardaki pik akımlarının yüksekliği, aşağıdaki eşitlikten de anlaşılacağı gibi ilgili

analitin derişimiyle doğru orantılıdır. $\sigma = \exp[(nF/RT)(\Delta E/2)]$ eşitliğinde;“ ΔE ”puls genişliğini gösterirken, DPV, en çok kullanılan elektroanalitik yöntemi gösterir.DPV’de; her bir analitin analitik pikleri birbirinden kolayca ayırtedilebildiği için tek bir voltamogramda pek çok analit belirlenebilir ve diferansiyel akımla çalışılıp voltametrik bir pikin elde edilmesiyle analitik duyarlılığın 5.10^{-8} M 'dan 1.10^{-8} M'a düşürülmesi DPV’nin puls voltametriden daha üstün yanı olduğunu göstermektedir.

2.2.1.3. Kare Dalga Voltametrisi (SWV)

SWV,Barker ve Jenkins tarafından ilk defa 1952 yılında geliştirilmişçok hızlı ve duyarlı bir tekniktir. Çünkü tayin sınırları 10^{-7} ile 10^{-8} M arasında olduğundan diğer yöntemlere göre madde analizlerinde daha çok kullanılır.Çalışma elektroduna zamanla uygulanan potansiyel, büyük genişlikte simetrik kare dalgaların oluşmasına neden olur.Burada oluşan akımları ve geri yönlü olmak üzere her bir kare dalga döngüsü boyunca, iki defa ölçülür. İlki, ileri yöndeki pulsun sonunda (t_1) ikincisi ise geri yöndeki pulsun sonundadır (t_2). Şekil 2.4’deSWV’de elde edilen basamaklı sinyal görülmektedir. Uyarma sinyali, darbenin basamak sinyali üzerine bindirilmesi ile elde edilir. Basamaklı sinyalde her basamağın boy ve puls periyodu eşit ve yaklaşık 5 ms civarındadır (Gover, 2011).



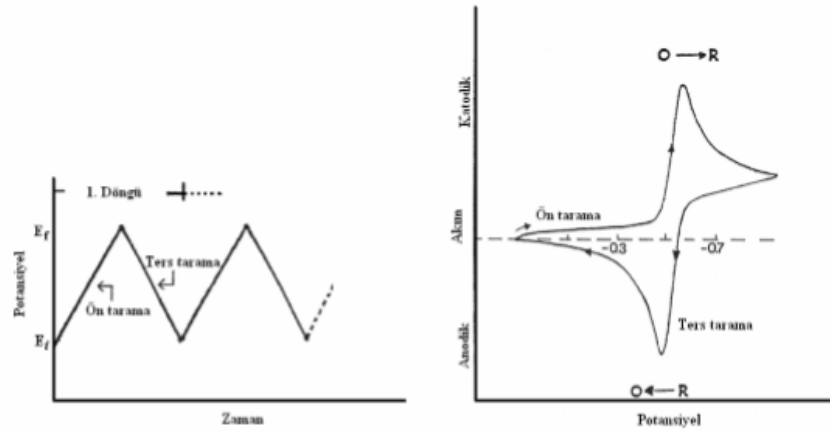
Şekil 2.4. Bir karedalga voltametesinde uyarma sinyalinin oluşumu

2.2.1.4. Dönüşümlü Voltametri (CV)

Nicholson ve Shain tarafından ilk defa 1964 yılında geliştirilen CV elektrokimyasal olayların incelenmesinde en çok kullanılan önemli bir tekniktir(Nicholson ve Shain, 1964). Bu teknikte, filmdeki elektrotların indirgenme ve yükseltgenme potansiyellerini belirlemek için voltamogramın potansiyel çalışma aralığı seçilir. Zamanla doğrusal olarak artan bir potansiyel ileten bir madde içeren bir çözeltideki çalışma elektroduna uygulandığında akım–

potansiyel eğrisinin bir pik şeklinde oluştuğu gözlenir. Bu uygulamada potansiyel taraması ileri yönde belli bir potansiyel değerine ulaştıktan sonra yine doğrusal olarak azalacak biçimde ters çevrilirse, bu tekniğin adı CV olur. CV’de; ileri ve geri yöndeki potansiyel tarama hızları aynı veya farklı yönlerde bir kez olabildiği gibi birden fazla da olabilir(Öztekın, 2008). CV, elektrot tepkimelerinin dönüşümlü olup olmadığını ve elektrot yüzeyinde oluşabilecek adsorpsiyon tepkimelerinin çeşidini açıklamada yaygın olarak kullanılan bir tekniktir.

Tarama hızı pratikte 100 mV/s’den birkaç yüz V/s’ye kadar değiştirilebilir. Bu şekilde pik yüksekliklerinin tarama hızı ile değişmesinden adsorpsiyon, difüzyon ve elektron aktarımı tepkimesine eşlik eden kimyasal tepkimelerin varlığı belirlenebilir. Ayrıca ileri ve geri tarama piklerinden tepkimenin mekanizması ve kinetik verileri hakkında fikir edinilebilir(Fundamentals of Analytical Chemisrty). CV’de ileri yöndeki taramada madde indirgendi ise bir katodik pik (E_{p_k}), geri yönde taramada yükseltgendi ise anodik pik (E_{p_a}) oluşur.Şekil 2.5’deki bir CV’deakım-potansiyel eğrisi bize çalışma elektrotuna ileri ve geri yönde potansiyel taraması uygulandığında elde edilen potansiyel-zaman ve voltamogramıgöstermektedir(Mülazımoğlu, 2008).



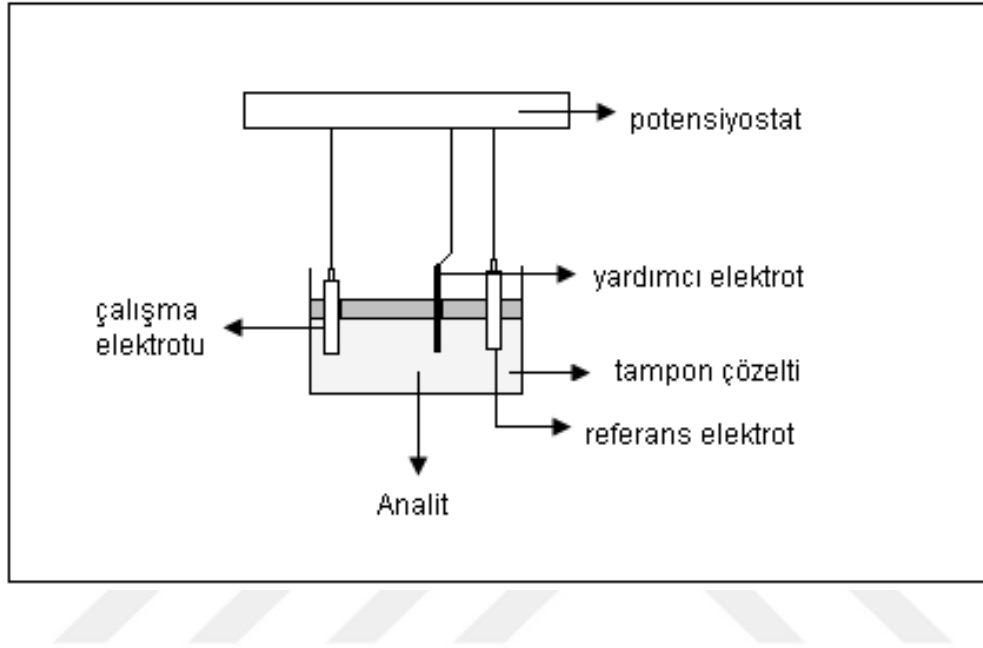
Şekil 2.5.Dönüşümlü voltametri de potansiyel-zaman ve potansiyel-akım eğrileri

2.2.2. Voltametrik Hücre Sistemi

Analit ve destek elektroliti içeren bir hücreyedaldırılmış, iki veya üç elektrodan oluşansisteme elektrokimyasal hücre sistemi denir.Hücre üç elektrotlu ise bunlardan birisi zamanla potansiyeli değişen mikro elektrod yani çalışma elektrodu, ikincisi deney süresince potansiyeli sabit kalan referans elektrot ve üçüncüsü ise karşıt elektrottur. Eğer hücre iki elektrottan oluşuyorsa bunlardan birisi çalışma elektrotu diğeri referans

elektrottur. Voltametrik ölçümlerde kullanılan elektrokimyasal bir hücrenin şekil 2.6'da gösterilmiştir.

Elektrokimyasal hücreler elektrik enerjisi üretiminde kullanılırsa galvanik hücre, bir dış kaynaktan elektrik enerjisi alınarak kullanılıyorsa elektrolitik hücre olarak adlandırılır.



Şekil 2.6. Genel elektrokimyasal hücre şeması. (Yalçın, 2007)

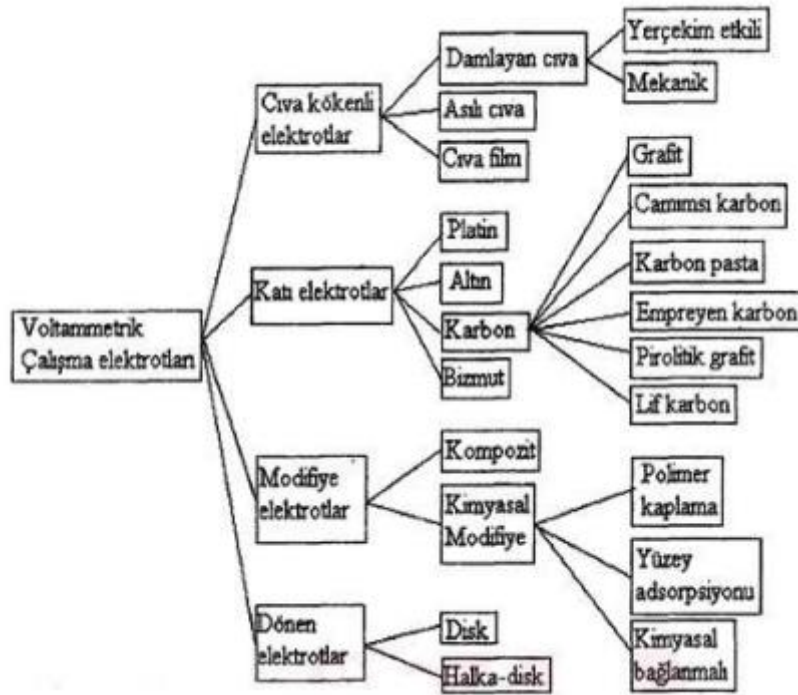
2.2.2.1. Çalışma (İndikatör) Elektrotu

Bir hücrede, potansiyeli zamanla değişen ve üzerinde analitin indirgendiği ya da yükseltgendiği mikro elektrota çalışma elektrotu veya indikatör elektrot denir. Elektrot yüzeyinin fiziksel ve kimyasal özellikleri performansını etkilemektedir. Bundan dolayı bilim insanları, elektroanalitik yöntemlerde verimi arttırabilmek için çalışma elektrotlarını şekil ve kimyasal yapılarını geliştirmeye yoluna gitmişlerdir. Yapımında Au veya Pt gibi iletken bir metal, pirolitik grafit ya da camsı karbon; kalay oksit ya da indiyum oksit gibi yarı iletken veya bir civa filmi ile kaplanmış bir metal kullanılarak çalışma elektrotları biyosensör tasarımına uygun hale getirilebilir. Bununla birlikte çalışma elektrotunda; potansiyel çalışma aralığı, elektriksel iletkenliği, maliyeti, elde edilebilme kolaylığı ve mekanik özellikleri oldukça önemlidir. Çalışma elektrotunda polarlanmanın maksimum olabilmesi için elektrot yüzey alanının mikro boyutta olması gerekmektedir. Hg, C ve Pt, Au gibi soy metaller en çok

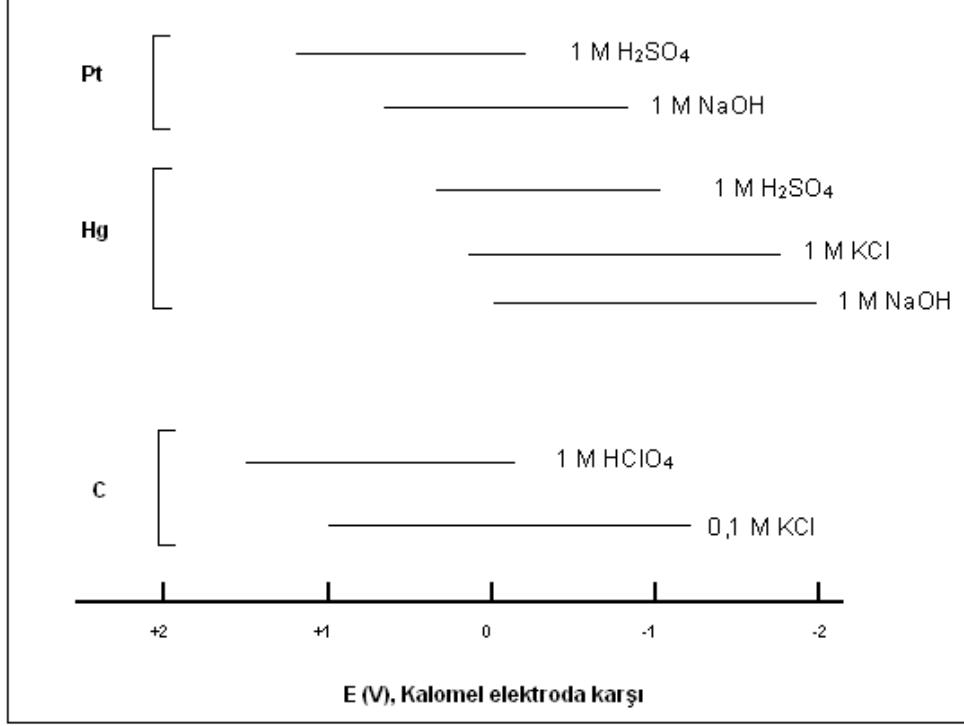
kullanılan çalışma elektrotlarından (Wang, 2000). Ayrıca kimyasal olarak modifiye edilmiş elektrotlar da voltametri de sıklıkla kullanılmaktadır. Şekil 2.7’de Voltametri de kullanılan çalışma elektrotlarının sınıflandırılması ve şekil 2.8’de çeşitli çalışma elektrotlarına ait çalışma potansiyeli aralıkları görülmektedir.

İdeal bir çalışma elektrodu;

- Çok yüksek saflıkta hazırlanabilmeli,
- Kolay işlenebilmeli,
- Negatif potansiyel sınırları yüksek olmalıdır,
- İstenilen geometrik şekilde imal edilebilmeli,
- Çalışılan potansiyel aralıkta inert özellikte olmalıdır.



Şekil 2.7. Voltametri de kullanılan çalışma elektrotlarının sınıflandırılması (Enstrümental Analiz 2003)



Şekil 2.8. Çeşitli çalışma elektrotlarına ait çalışma potansiyeli aralıkları (Yalçın,2007)

1. Civa Kökenli Elektrotlar

Civa elektrotların; geniş bir potansiyel aralıkta ve hatta negatif potansiyelerde bile kullanılabilmesi, her defasında yeni yüzeylerin oluşturulabilmesi, tekrarlanabilir civa damlalarının oluşmasıyla tekrarlanabilir akımın oluşması vb. gibi bazı sebeplerden dolayı voltametrede kullanımı çok yaygındır. Bu elektrotlarda oluşan her yeni bir damla ile yeni ve temiz bir metalik yüzey oluşturulur. Voltametrede çalışma elektrotunun temiz ve düzenli olması ölçülen akımı etkilemektedir. Civa elektrotlar; bu özellikleri nedeniyle, voltametrede çok geniş bir kullanım alanına sahiptirler (Skoog ve ark. 1998). Ancak civanın kolay yükseltgenebilmesi, temizlenmesi, damlama süresinin ayarlanmasındaki zorluk, civanın damlatılmasında kullanılan kapiler borunun tıkanması ve civa buharının toksik olması civa elektrotlarının dez avantajlarındandır.

a) Damlayan Civa Elektrot

Damlayan civa elektrot önemli üç özelliğinden dolayı tercih edilmektedir. Bunlardan birincisi civanın, hidrojen iyonunun indirgenmesine gösterdiği yüksek gerilimdir. İkincisi, her damla ile yeni bir metal yüzeyi oluşturulması ve sonuncusu; herhangi bir

potansiyeldeanında tekrarlanabilir ortalama akım oluşturabilmesidir. Damlayan civa elektrotunda; civa metalinin anot olarak kullanılması,civanın kolayyükseltgenmesinden dolayı sınırlıdır.Damlayan civa elektrotun bir başka önemli sorunu ise, klasik yöntemin duyarlılığını yaklaşık 10^{-5} M'a sınırlayan faradayik olmayan artık akım veya yükleme akımıdır.Damlayan civa elektrotunda belirtilen bu sorunları ortadan kaldırmak için 1940'lı yılların sonunda Skobets ve arkadaşları tarafından başlatılan ve günümüze kadar süren katı elektrot çalışmaları bu yöneme geniş bir uygulama alanı katmıştır(Adams ve ark. 1958; Skoog ve ark.1996). Bu elektrotla çok uzun bir damlama süresi elde etmenin zor olmasından dolayı damlama süresi 18 dakika olan elektrotlarıgeliştirmişlerdir(Bond,1980).

b) Asılı Civa Damla Elektrot (ACDE)

ACDE'nun yapısında mikro şırınga kullanıldığından damla büyüklüğü genelde bu şırınga yardımıyla kontrol edilebilmektedir. ACDE'ü; hem ekonomik, hembasit, hem de tekrar edilebilirlik özelliklerine sahiptirler. Bu elektrotla elde edilen eğriler katı ve duran elektrotlarla elde edilen eğrilere benzemektedir. Burada Hg damlaları, bir cam çubuğa kaynatılmış Pt telin ucuna asılabilir. Fakat Hg elektrotun rutin analizlerde kullanımı mikro şırıngalıya oranla daha zordur.Eser miktarda katyonları biriktirmek için bir katot gibi çalışan damla, anot yapılarak akımın hemen ölçülmesiyle analizin tamamlandığı bir elektrottur.

c) Civa İnce Film Elektrotları (CİFE)

Bu elektrotlarda, yüzey/hacim oranın büyük olması elektrotun duyarlılığını artırdığından dolayıavantaj sağlamaktadır. Eğer hacim büyük olursa, Hg yüzeyine difüzlenme zaman alır ve ayırma zorlaşır. Elektrotun geometrik yapısı da duyarlılığı etkileyen bir diğer önemli faktördür. Örneğin CİFE'un yüzey alanının hacmine oranının çok büyük olması ona üstünlük katmaktadır. Hg filminin, içinden dışarıya doğru difüzlenmesi son derece hızlıdır. Bu da civa film elektrotun asılı civa elektrota üstünlüğünü göstermektedir.

Film elektrotun bazı çeşitlerinde tekrar edilebilirliğin az olması bir dezavantajdır. İlk çalışmalarda Ag, Pt, Ni tel elektrotlar kullanılmıştır. Film elektrotlarının metaller arası bileşik oluşturma özellikleri de vardır.Bu elektrotlarda, yüzey oksit filmi oluştuğundan tekrar edilebilirlikleri azalmaktadır.

Hg filmlerinin hazırlanması iki aşamada gerçekleşmektedir(Christian, 1969). İlk olarak Hg -0,2V'da (kalomel elektrota karşı) elektrot materyali üzerine kaplanır. Daha sonra potansiyel daha negatif yapılarak tayin edilecek diğer metaller bu film üzerine modifiye

edilir(Matson ve ark.1965). Bazen de tayini yapılacak çözeltiye Hg katılır ve elektroliz sırasında hem Hg hem de maddenin elektrot yüzeyine kaplanması sağlanır.

2. Katı Elektrotlar

Katı elektrotlar;değişik voltametrik tekniklerde,yıllardır çalışma elektrotu olarak kullanılmaktadır. Elektroanalitik çalışmalarda bu katı elektrotlar genellikle cam elektrotlardan geliştirilmiştir. Bu çalışmalarda, yaklaşık 50 yıl önce kullanılmaya başlanmış birçok değişik katı elektrotlar bulunmaktadır. Bunlardan en sık kullanılanları: Pt, Au ve C yapılı olanlardır. Bazı özel çalışmalarda; Ag,Cu,Ni, Bi'da kullanılmaktadır. Bunlar değişik şekillerde hazırlanmış olabilir. Bunlar; tubular (boru biçiminde), ring (halka biçiminde), makro ya da mikro şekilde olabilirler.

Katı elektrotların kullanım avantajlarından bazıları şunlardır:

- Geliştirilebilir,
- Nispeten ucuz,
- Toksik etkisi az,
- Uygulaması kolay,
- Elektriksel iletkenlikleri iyi,
- Yüksek sıcaklık ve basınca dayanıklı,
- Elektrokimyasal yönden inert bir potansiyel aralığına sahip olmalı,
- Deneylede yüzeyinin temizlenerek tekrar tekrar kullanılabilirliği,

Katı elektrotlar, deney süresince elektrot yüzeyine tutunmuşsafsızlıklardan dolayı düzensiz davranış gösterirler. Katı elektrotlarda, civa elektrotta olduğu gibi elektrot yüzeyinin yenilenmesi söz konusu olmadığından ve tekrar tekrar kullanılabilmesi için bu elektrot yüzeylerinin her ölçümden önce temizlenmesi gerekmektedir.

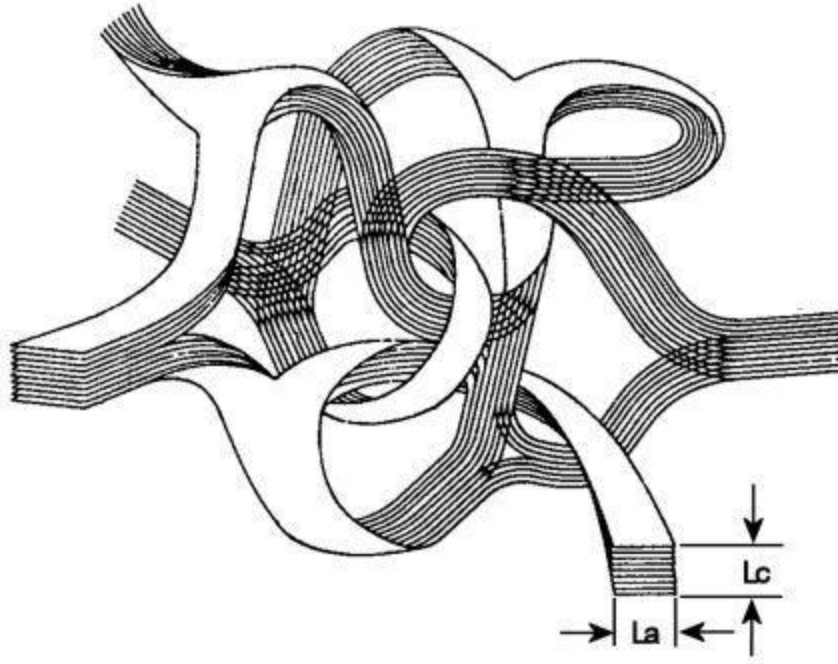
a) Metal Elektrotlar

Metal elektrot olarak Au ve Pt gibi soy metaller veya bazı özel uygulamalarda; Cu, Ag Ni gibi metaller de kullanılabilir. Ayrıca Zn, In, Ir, Ru oksit gibi metal oksitlerde kullanılmaktadır.Bu elektrotlar, tekrar tekrar temizlenerek modifiye edilip kullanılabilir. Bu elektrotlar bize, istenilen bir elektron aktarım kinetiği ve geniş bir anodik gerilim aralığında çalışma imkanı sağlarlar. Bu metal elektrotların yüzey tabaka sorunlarının küçük olması nedeniyle susuz ortamda çok yaygın kullanımları bulunmaktadır. Tiyol gruplarının, özellikle

Au ve Pt'e ilgisi ve yüksek akım cevabı nedeniyle son yıllarda biyosensör teknolojisinde kullanımı çok fazladır(Wang, 2000).

b) Camsı Karbon Elektrot (GCE)

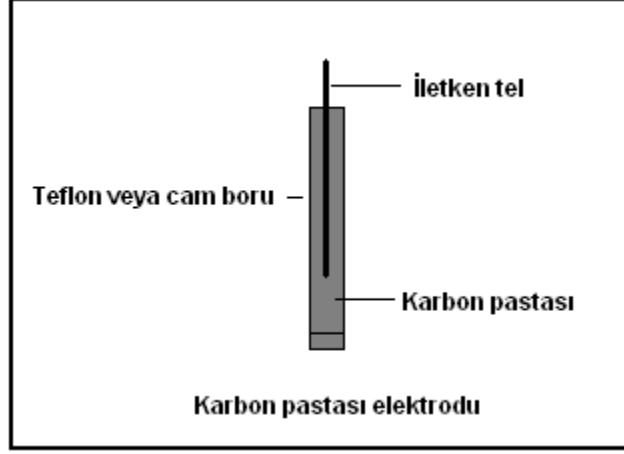
Camsı karbon elektrotunu ilk defa Sato ve Yamada 1962 yılında inert bir gaz içerisinde fenol formaldehit reçinesini 300-1200 °C arasında ısıtarak elde etmeyi başarmışlardır. Ayrıca poliakrilonitrilin de basınç altında 1000-3000 °C aralığında ısıtılarak elde edilebilmektedir. Bu elektrotlar, mikrometre boyutlu grafit tozu parçacıklarının, sert ve yapıştırıcı madde ile inert malzemeden yapılmış elektrot gövdesi içerisine sıkıştırılmasıyla elde edilir ve geniş bir potansiyel aralığında deneylerde çalışmamasına rağmen çalışmaktadır. Diğer katı elektrotlarda olduğu gibi GCE'da da tekrar edilebilir sonuçlar elde edebilmek için çeşitli ön işlemler geliştirilmiştir. Katı camsı karbon elektrotların kullanımı son yıllarda artmış bulunmaktadır. Katı elektrot yüzeyinde istenmeyen olaylar ve gerçekleşmesi muhtemel reaksiyonlar modifikasyon işlemi ile önlenir(Murray 1984). Çünkü modifiye olmuş elektrotların yüzeyleri kararsızdır ve zamanla bozunmaya uğrayabilir. Ancak kimyasal yapılarında herhangi bir değişiklik olmaz. Elektron transferi açısından aktivasyon işleminin amacı yüzey kirliliklerinin uzaklaştırılması, yüzeyde fonksiyonel grupların oluşturulması ve yüzey alanının büyütülmesi, serbest keskin uçlar oluşturulması ve mikro partikül oluşumunu sağlamaktır(Hu ve ark., 1985). Yüzeyde fonksiyonel grupların oluşması yükseltgenme derecesine göre değişir. Örneğin; az oksitlenirse hidroksil, kuvvetli oksitlenirse karboksil veya kinolik yapılar oluşabilir. Şekil 2.9'da camsı karbon elektrotun amorf yapısı görülmektedir (Pravda, 1998). Camsı karbon elektrot, karbon pasta elektrotlarına göre daha düzgün ve pürüzsüz yüzeylere sahiptirler ve kimyasal tepkimelere karşı isteksizdirler. Fiziksel dayanıklılığı oldukça fazladır. Yüzeyinde küçük gözenekler bulunmasından dolayı, diğer karbon türlerine göre daha çok kullanışlıdır. Yapılan pek çok çalışmada camsı karbon elektrottaki elektron transferinin metal elektrottakine göre daha yavaş olduğu tespit edilmiştir.



Şekil 2.9. Camsı karbon elektrodun amorf yapısı (Pravda, 1998)

c) Karbon Pasta Elektrodu

Bu çalışma elektrot, kısa zamanda kolayca hazırlanabilen, geniş potansiyel aralıklarında çalışma imkanı sağlayan, düşük maliyetli bir elektrotur (Adams 1958). Bu elektrod; yaklaşık olarak, %70 grafit ve % 30 bağlayıcı maddenin homojen olarak karıştırılması ve bu karışımın, 2–4 mm. çapında camdan ya da teflondan yapılmış borulara sıkıştırılmasıyla hazırlanır. Karbon pastasının hazırlanmasında bağlayıcı madde olarak parafin, silikon yağları, mineral ve bromonaftalin kullanılabilir. Elektriksel iletkenliği için platin veya bakır tel kullanılır. Karbon pasta elektrotun şematik hali Şekil 2.10'da gösterilmiştir. Bağlayıcı madde ve grafit karışımının elektron transferi üzerine etkisi bulunmaktadır. Örneğin; bağlayıcı olarak kullanılan maddenin karışımdaki oranı arttıkça, elektrodun elektron transfer hızı azalmaktadır. Bu elektrod; hazırlanan karışıma, çalışmaya uygun maddelerin eklenmesiyle modifiye edilebilir.



Şekil 2.10. Karbon pastası elektrotunun şematik olarak gösterimi (Yalçın, 2007).

2.2.2.2. Referans Elektrot

Analiz süresince potansiyeli sabit kalan ve elektrokimyasal analizler sırasında potansiyeli dış ortamdan etkilenmeyen ve karşılaştırma elektrotu olarak da bilinen elektrotlardır. Referans elektrotlar çalışılan maddelere karşı duyarsızdırlar. İdeal bir referans elektrotta aranan özellikler şunlardır: Nernst eşitliğine uymalı, tersinir olmalı, kolay hazırlanabilmeli, potansiyeli zamanla sabit kalmalı, çok küçük akımlara maruz bırakıldıklarında eski orijinal potansiyellerine geri dönmeli ve referans elektrotlar sıcaklık değişimlerine karşı hassas olmamalıdır (Evans A. 1991; Pietrzyk ve Frank, 1979; Skoog ve ark., 1996; Tomschik, M., ve ark., 1999; Yıldız ve Genç, 1993;)

Referans Elektrot Çeşitleri

Sulu Ortam Referans Elektrotlar

a) Standart hidrojen elektrot (SHE)

Bir Pt metal parçasının, standart şartlarda (25 °C'de ve 1 atm basınç altında) H₂ gazı ile doyurulmuş sulu çözelti içerisine batırılması ile oluşur. SHE, bağlı yarı-hücre potansiyelleri hakkında bilgi veren bir gaz elektrot olarak da bilinir. Elektrokimyada ilk olarak standart hidrojen elektrotları kullanılmıştır. Hazırlanması zahmetli olduğundan pratik çalışmalarda diğer referans elektrotlar öncelikli olarak tercih edilmektedir.

b) Civa - civa (I) sülfat referans elektrot

Doğun kalomel elektrota benzer bir yapıda olan ve elektrot potansiyeli sülfat iyonlarının aktifliğinden faydalanılarak belirlenen bir elektrot çeşididir. Bu elektrotun civa içermesi bir dezavantajdır. Çünkü civa sülfat tuzu, sulu çözeltilerdeki çözünürlüğünün yüksek olması nedeniyle hidroliz olabilir. Çözünürlüğün yüksek olması çözeltilerdeki potasyum sülfat tuzu çözeltilisinin doğun olmasına neden olur. Bundan dolayı ortamda zorunlu olarak bir miktar kristal halde tuz bulunur. Çözünürlüğün yüksekliği, polarizasyonun azalmasına yol açtığından dolayı bu durum deneylerin tekrarlanabilirliği yönünden olumludur.

c) Kalomel Referans Elektrot

Kalomel (Hg_2Cl_2) ve civadan oluşan bir karışımın metalik civa ve KCl çözeltilisine batırılmasıyla oluşan bir elektrottur. Doğun kalomel elektrotun hazırlanması çok kolay olduğundan analitik kimyacılar çalışmalarında çok yaygın olarak kullanırlar. Ancak tüm sistemler için kullanımı elverişli değildir. En büyük sakıncası sıcaklık katsayılarının büyük olmasıdır. Doğun kalomel elektrotun elektrot potansiyeli $25\text{ }^\circ\text{C}$ 'de standart hidrojen elektrotuna göre $+0,244\text{ V}$ 'dur ve oluşan elektrot tepkimesi aşağıdaki gibidir.



d) Gümüş – Gümüş Klorür Referans Elektrot (Ag/AgCl)

Ucu AgCl ile kaplanmış bir gümüş telin 1 M AgCl çözeltilisine batırılmasıyla elde edilen bir elektrot çeşididir. Ag/AgCl referans elektrotları da doğun kalomel elektrotlar gibi oldukça yaygın kullanılabilecek elektrotlardır. Ayrıca; gümüş iyonları, civa (I) iyonlarına göre daha az sayıda analitle reaksiyona girerler. Doğun KCl çözeltilisi kullanıldığı zaman $25\text{ }^\circ\text{C}$ 'de standart hidrojen elektrota göre potansiyeli $+0,222\text{ V}$ olur ve oluşan tepkime ise $\text{AgCl} + \text{e}^- \rightarrow \text{Ag} + \text{Cl}^-$ şeklindedir.

Susuz Ortam Referans Elektrot

Ag/Ag+ Referans Elektrot

Susuz ortam Ag/AgCl referans elektrodu içerisindeki iyon yerine AgNO_3 ilave edilerek susuz ortam referans elektrot elde edilir. Nerst eşitliğine uyması ve tersinir olması bu elektrodun iyi bir referans elektrot olduğunu gösterir.

2.2.2.3. Karşıt Elektrot

Referans elektrotla çalışma elektrotu arasına uygulanan ve büyüklüğü zamanla değişen potansiyele karşı, çalışma elektrotu ile karşıt elektrot arasındaki akımı ölçen bir elektrot türüdür. Karşıt elektrot olarak en çok Pt, grafit, tungsten ya da tantal kullanılmaktadır. Bu elektrotun alanı çalışma elektrotunun alanının en az 50 katı kadar büyük olmalıdır.

2.3. Elektrotların Yüzey Modifikasyonu

Elektrot yüzeylerinin, organik veya inorganik türlerle kaplanarak farklı özelliklere sahip dayanıklı yeni elektrotlar elde etme işlemine modifikasyon, bunun sonucunda elde edilen elektrotlara da modifiye elektrotlar adı verilir. Modifikasyonda genellikle kullanılan elektrotlar; GC, Pt, Au gibi iletken maddelerdir. Modifikasyon işleminden önce, metaller parlatılır sonra kullanılmak üzere modifiye edilir. Modifiye edilmiş elektrotların elektrokimyasal özellikleri değişse de bu elektrotların yüzeyleri uygun yöntemlerle temizlenerek tekrar tekrar kullanılabilir hale getirilir. Modifiye elektrotlarda deney sonrası parlatma işlemi uygulanırken elmas veya alümina tozu kullanılır. Parlatma işleminden sonra elektrot, nitrik asit ve su ile yıkanarak temizlenir. En sonunda, elektrotun etrafında bulunabilecek parçacıkları yok etmek için sonikasyon işlemine tabi tutulur. Modifiye edilmiş elektrotlar, elektroanaliz, elektrokataliz, foto-elektrokimya ve elektrokromik, elektrosentez ve enerji dönüşümü amacıyla pek çok alanda kullanılabilir.

Elektrotları Modifiye etmenin avantajlarından bazıları şunlardır:

- Kullanılabilecek elektrot çeşitliliğini artırma.
- Yüksek duyarlılığa sahip yüzeyler elde etme.
- Modifikasyonda kullanılabilecek kimyasal türlerin çeşitleri artırma.
- Elektron aktarım hızı amacına uygun olarak azaltılabilir veya artırılabilir.
- Korozyona gibi dış etkenlere karşı daha dirençli yüzeyler oluşturma.
- Enzimlerin modifiye elektrot yüzeyine tutturulması ile amperometrik biyosensörler oluşturma.

Analitik amaçlarla kullanılacak modifiye elektrotlarda; kimyasal kararlılık, mekanik dayanıklılık, modifiye edicinin aktivitesinin uzun süreli olması, elde edilen analit cevabının bir elektrottan diğerine farklılık göstermemesi, tekrarlanabilirlik, gerekli potansiyel aralığındaki zemin akımlarının düşük ve kararlı olması, elektrot yapımının basit ve güvenli

olması,hızlı cevap verme, yeniden kullanılabilir olma özelliğine sahip olması gerekmektedir.(Güney, 2010).

2.3.1. Modifikasyon Metotları

Çalışma amacına göre yüzeye bağlanacak türler için birçok yeni modifikasyon yöntemleri geliştirilmiştir. Seçici merkezler ile modifiye edilmiş elektrot yüzeyleri analitik veya sentetik uygulamalarda çokbüyük ilgi görmektedir. Bunlardan pek çoğu elektrot yüzeylerini modifiye etmede kullanılmaktadır. Örneğin, doğal bir polisakkarit olan siklodekstrinlerle yüzey modifikasyonu hakkında bir çok makale mevcuttur (Matsu 1979, 1986).

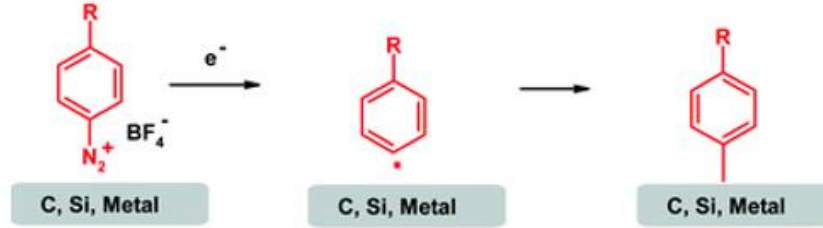
Örneğin elektrotlar özel şelatlama bileşenleri ile de modifiye edilirken; kuvaterner vinilpiridin ve vinilferrosinin kopolimer filmi, elektrooksidasyon ile biriktirilebilir (Guadalupe 1985). İmmobilize edilmiş şelat, daha sonra uygun Cu(I), Fe(II) gibi metal iyonları ile etkileştirilerek CV ile ppm seviyesindeki metal iyon konsantrasyonlarının tespiti yapılabilir. Böylece metal iyonları ve kompleksleri, nafion ve Poli (vinilpiridin) gibi polimer filmlerine kompleksleştirme veya iyon değiştirme etkisi ile bağlanır.

Kendiliğinden oluşan tek tabaka (SAM) ve Langmuir-Blodgett (LB) yöntemleri ile katı substrat yüzeylerine uygun moleküller, tekli veya çoklu tabakalar şeklinde kolayca bağlanabilmektedirler(Peterson 1990). SAM ve LB filmleri, organik bir maddenin çözeltisi içerisine katı bir substratın daldırılmasıyla basit bir şekilde elde edilebilir. LB yönteminde, molekül uygun çözücüde ve faz oluşturan başka çözücü arasında yüzeye belirli sürede bağlanarak modifiye yüzey elde edilebilir. Kendiliğinden oluşan tek tabaka (SAM) ve Langmuir-Blodgett (LB) yöntemlerinin yapımı ve karakterizasyonu kolaydır.Elektrotların modifikasyonunda; diazonyum tuzu indirgenmesi, alkol ve amin oksidasyonu modifikasyonları sıklıkla kullanılmaktadır.

2.3.1.1. Diazonyum Tuzu İndirgenmesi Modifikasyonu

Önce diazonyum tuzu, amin grubu içeren aromatik bir maddeden yola çıkarak sentezlenir. Sonra susuz ortamda sentezlenen diazonyum tuzunun çözeltisi hazırlanıp voltametrik hücreye yerleştirilir ve ardından CV tekniği kullanılarak çözeltiliye negatif potansiyel uygulanarak diazonyum tuzundan N_2 gazının ayrışması sağlanır. Böylece oluşan radikal elektrot yüzeyine voltametri tekniği ile kovalent olarak bağlanmış olur. Diazonyum

tuzu indirgenmesi metodu ile çok kararlı yüzeyler elde etmek mümkündür. Diazonyum tuzu sentezinde sıcaklık kesinlikle 0°C'yi geçmemelidir. Ekzotermik olan çıkış maddesi, tetrafloroborik asitte (HBF₄) çözünürse şekil 2.11'de görüldüğü gibi diazonyum tuzunun tetrafloroborat anyonlu tuzu meydana gelir. (Pinson ve Podvorica, 2005; Mülazımoğlu, 2008).

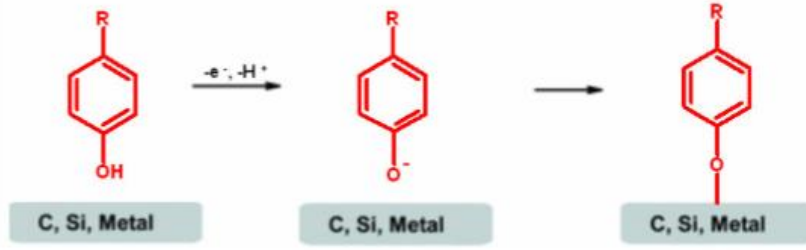


Şekil 2.11. Diazonyum tuzunun indirgenmesi ile elde edilen yüzey

Modifikasyonun, döngü sayısı genellikle çok fazla yapılır. Çünkü ilk döngüde elektrot yüzeyinde modifiye olmamış çok küçük gözenekler kalabileceğinden tam olarak kaplanamayabilir. İlk taramada tam olarak kaplanamayan elektrot yüzeyindeki boşluklar, ikinci ve daha sonraki döngülerde tam kaplanır ve modifiye elektrot adını alır ve deneylerde güvenli bir şekilde kullanılabilir. Diazonyum tuzu ile modifiye edilmiş elektrot yüzeyi, zımpara kâğıdı ve alümina tozu kullanılarak temizlendikten sonra su ve asetonitril ile sonikasyona tabi tutularak tekrar modifikasyona hazır hale getirilir.

2.3.1.2. Alkol Oksidasyonu Modifikasyonu

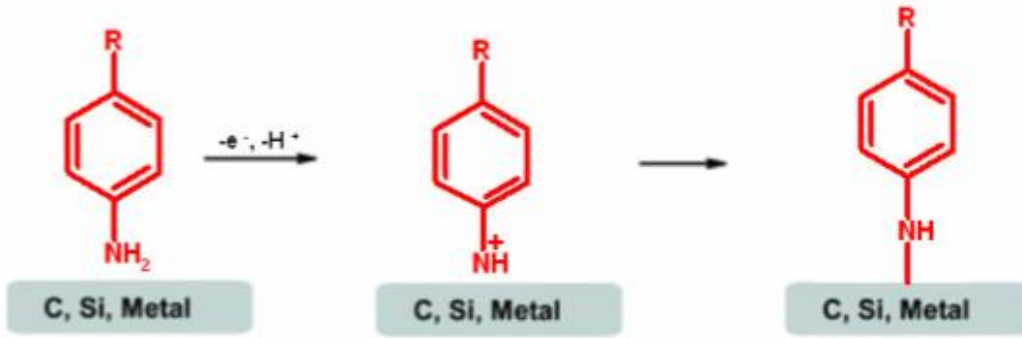
Hidroksil grubu içeren bileşikler; sulu ortamda GC veya Pt, Au gibi çalışma elektrotlarına elektrokimyasal yükseltgenme yöntemi ile voltametri tekniği kullanılarak şekil 2.12'de görüldüğü gibi modifiye edilir. Dönüşümlü voltametri voltamogramında, pozitif tarama yapılarak, amin veya alkol bileşiğinin oksidasyonu ile yüzeye tutunmaları sağlanır. Molekül genellikle ilk tarama sonucunda yüzeye bağlanır ve devamında pik gözlenmez (Mülazımoğlu, 2008).



Şekil 2.12. Alkol oksidasyonu yöntemi ile elde edilen yüzey

2.3.1.3. Amin Oksidasyonu Modifikasyonu

Amin grubuna bağlı bir molekülün; şekil 2.13’de görüldüğü gibisulu ortamda GC, Pt ve Au gibi metal bir çalışma elektroduna CV yöntemi ile tutturulması işlemi ve oluşan yüzey görülmektedir (Mülazımoğlu, 2008). CV voltamogramında, amin bileşiğinin bu yöntemle elektrot yüzeyine pozitif tarama yapılarak, genellikle ilk taramada tutunması sağlanır ve ondan sonraki döngülerde pik gözlenmez. Ancak pik gözlenmese bile, döngü sayısı arttıkça, elektrot yüzeyinde çoklu tabakaların oluşumu artacaktır. Bu yöntem ile modifiye edilen elektrodun modifiye işleminden hemen sonra kullanılması gerekmektedir. Çünkü bu yöntemle modifiye edilmiş yüzey, diazonyum tuzu ile modifiye edilen yüzey kadar kararlı olmayabilir. Temizliği ise diazonyum tuzundaki gibi yapılıdır.



Şekil 2.13. Amin oksidasyonu yöntemi ile elde edilen yüzey

2.3.2. Modifiye Yüzeylerin Karakterizasyonu

Karakterizasyon işlemi, modifiye edilmiş yüzey ile modifiye edilmemiş yüzey arasındaki farklılıkları ayırt etmeye yarayan bir tekniktir. Yüzey karakterizasyonu, elektrokimyasal impedans spektroskopisi, elektrokimyasal kuartz kristal mikrobalaans, elektrokimyasal dönüşümlü voltametri, temas açısı, kronokulometri ve kronoamperometri yöntemleri ile yapılmaktadır.

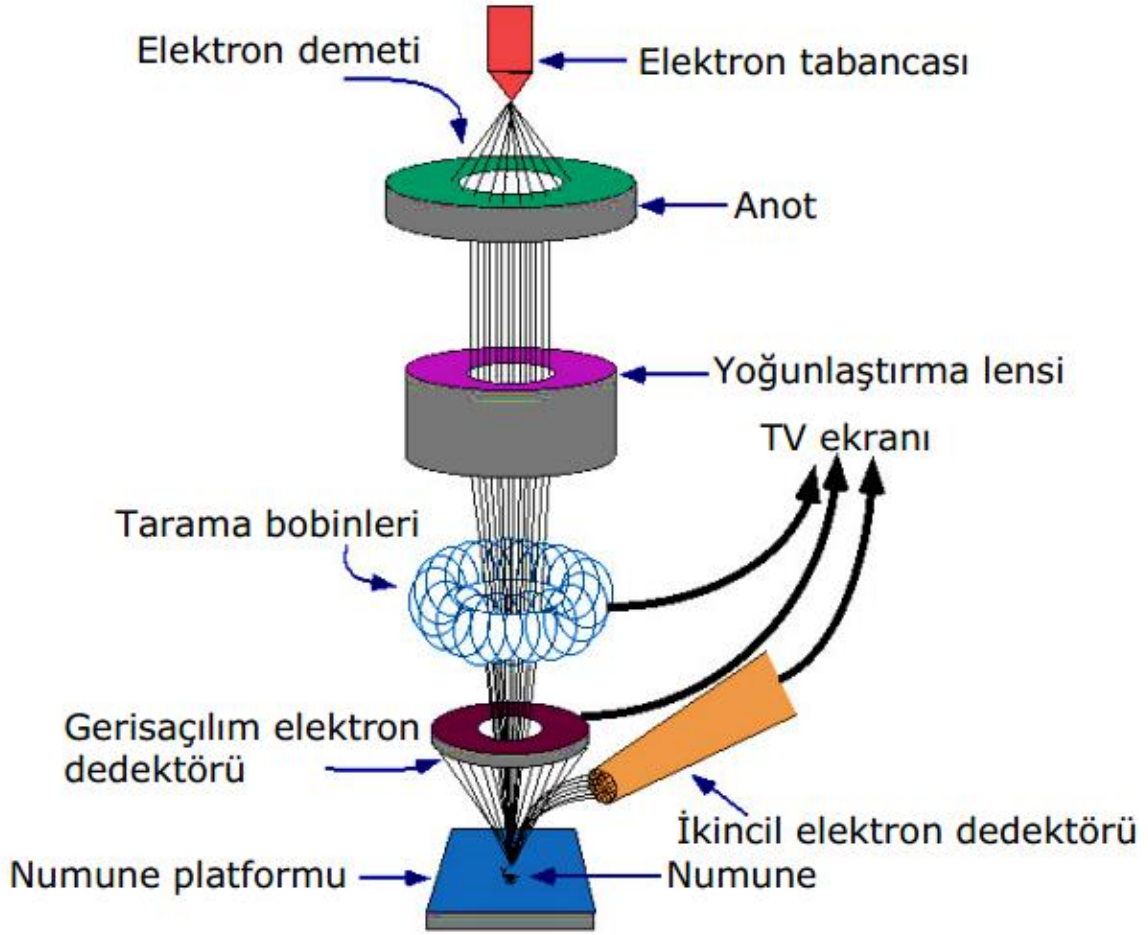
Modifiye yüzeylerde karakterizasyon işlemi, genel olarak spektroskopik ve elektrokimyasal olmak üzere iki farklı yöntemle yapılır: Modifiye yüzeylerin spektroskopik yöntemlerle karakterizasyonunda; Raman Spektroskopisi, X-ışınları fotoelektron spektroskopisi (XPS), Geçirmeli elektron mikroskopisi (TEM), Taramalı geçirmeli elektron mikroskopisi (STEM), Taramalı elektron mikroskopisi (SEM), Elipsometri, Atomik kuvvet mikroskopisi (AFM), Taramalı elektrokimyasal mikroskopi (SECM), Infrared spektroskopisi (IR) ve Taramalı tünelleme mikroskopisi (STM) kullanılmaktadır.

2.3.2.1. Taramalı Elektron Mikroskopi (SEM)

Elektron demetinin incelenen örneğin yüzeyi ile yaptığı fiziksel etkileşmelerin sonucunda ortaya çıkan sinyallerin toplanması ve incelenmesi ile SEM’de görüntü oluşumu sağlanır. İlk Taramalı Elektron Mikroskobunu, 1935 yılında Max Knoll tarafından Berlin’de imal edilerek 1965 yılında seri üretime başlanmıştır. SEM, Jeoloji ve Biyolojinin bir çok çalışma alanında katı numunelerin yüzeylerini tarayarakonların fiziksel özelliği hakkında ayrıntılı bilgi edinmemizi sağlarŞekil 2.14’de görüldüğü gibiSEM;numune hücresi,optik kolon, ve görüntüleme sistemi olmak üzere üç ana bölümden oluşmaktadır. SEM ile 1 nm den daha yüksek çözünürlüğe ulaşılabilir. Standart SEM cihazları yüksek vakumda, kuru ve iletken yüzeyleri incelemek için ideal bir cihazdır. Ancak günümüzde çok düşük sıcaklıklardan yüksek sıcaklıklara kadar değişen koşullarda nemli ve düşük vakumlu ortamlarda çalışabilen özelleşmiş cihazlar da mevcuttur.

Elektron kaynağı olarak SEM’de elektron tabancaları kullanılmaktadır. Tabancanın içerisinde volfram flamen tel bulunmaktadır. Flamen tele uygulanan voltaj neticesinde telin sıcaklığı yükselerek telden elektron salınımı gerçekleşir. Kaynaktan yüzeye gönderilen bu elektronlar, numunedeki atomlarla etkileşerek numune yüzeyi hakkında bilgiler içeren farklı sinyaller üretir. Elektron demeti, raster (hücrese) tarama sistemi ile yüzeyi tarar ve demetin konumu, algılanan sinyalle eşleştirilerek görüntü elde edilir.SEM’da görüntü oluşturmak amaçlı yüksek enerjili elektronlar yüzeyepüskürtüldüğünde, yüzeyden geri saçılan elektronların yanında enerjisi 50 keV’un altında olan elektronlar da saçılır. Bunlara ikincil veya sekonder elektronlar denir. Bu ikincil elektronlar yüzeyin 10 nm veya derinlerden geldiği için numune hakkında yüksek çözünürlüğe sahip topografik görüntü oluşumunu sağlar. Numunenin farklı bölgelerinden kopan bu elektronların sayısındaki değişim öncelikle

demetin yüzeye buluşma açısına bağlıdır. Bu teknikte; yüzeyden geri saçılmış elektronlar, Auger elektronları, sekonder (ikincil) elektronlar, X-ışını flüoresans fotonları ve değişik enerjili diğer fotonlar gibi farklı tür sinyaller oluşturulur. Auger elektronları numune yüzeyi ile ilgili bilgi taşımaktadır. Geri saçılmış elektronlar, elastik çarpışmalar sonucu oluşur. Bu elektronların geri saçılım sayıları atom numarası arttıkça artar. Açık renkte görünen elektronların atom numarası küçüldükçe renkleri koyulaşır. Bu renk farkından, büyük ve küçük atom numaralı bölgeler tespit edilebilir ancak elementlerin türü tek tek ayırt edilemez.



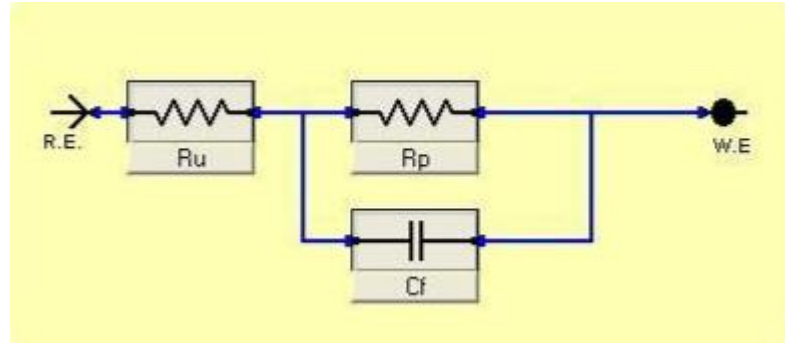
Şekil 2.14. Taramalı elektron mikroskopunun şematik görüntüsü. (Özkan, T.O. ve Yörücü, H., 1986)

2.3.2.2. Elektrokimyasal İmpedans Spektroskopisi (EIS) Tekniği

Elektrokimyasal sistemleri ve yöntemleri frekans değişimlerine veya bir devredeki toplam dirence bağlı olarak ölçen tekniğe EIS tekniği denir. Elektrokimyasal tekniklerden farklı olarak EIS, hem hacim araştırmalarında hem de mikro saniyelere varan zaman sabitleriyle bağlantılı ara yüzey işlemlerinde kullanılmaktadır. Perturbasyonlar

yeterince küçük olduğu sürece cevabın yaklaşık olarak doğrusal olması bu tekniğin temel avantajlarından biridir.(Bard and Faulkner 2001). İmpedans, temel olarak yüksek frekanslar uygulandığında indüktif ve kapasitans değişikliklerinden etkilenen direnç ölçümü olarak da ifade edilebilir. İmpedans da direnç gibi elektriksel akıma karşı bir devrenin direnç göstermesi ile ölçülen bir değerdir. Bir devre elemanının, elektriksel akıma karşı gösterdiği dirence elektriksel direnç denir.

EIS, katılarda ve çözeltilerdeki birçok fiziksel ve kimyasal işlemde kullanılan, elektrokimyasal ölçümlerde ve diğer birçok karmaşık işlem dizisinde bile olumlu sonuçlar veren bir tekniktir(Mülazımoğlu,2008). Bu teknikte ölçümler denge halinde yapılması gerektiğinden dolayı ölçümler sırasında sistemin dengesini bozabilecek durumlar ortaya çıktığında; sıcaklığın değişmesi, oksitlenmiş tabakanın oluşması, safsızlıkların adsorbe olması ve modifiye yüzeylerin bozulması gibi istenmeyen durumlar karşısında dikkatli olunmalıdır.EIS'in en basit devresi şekil 2.15'de görüldüğü gibi Randles devresidir. Bu teknik; korozyonda, metal kaplamada, modifiye yüzeylerin karakterizasyonunu incelemeye, iletken elektrotlarda, iletken ve yarı iletken polimerlerin özelliklerini incelemeye, biyosensörlerde, biyolojik sistemlerde, bataryalarda, ince organik film özelliklerini incelemeye ve daha birçok alanda kullanılmaktadır.



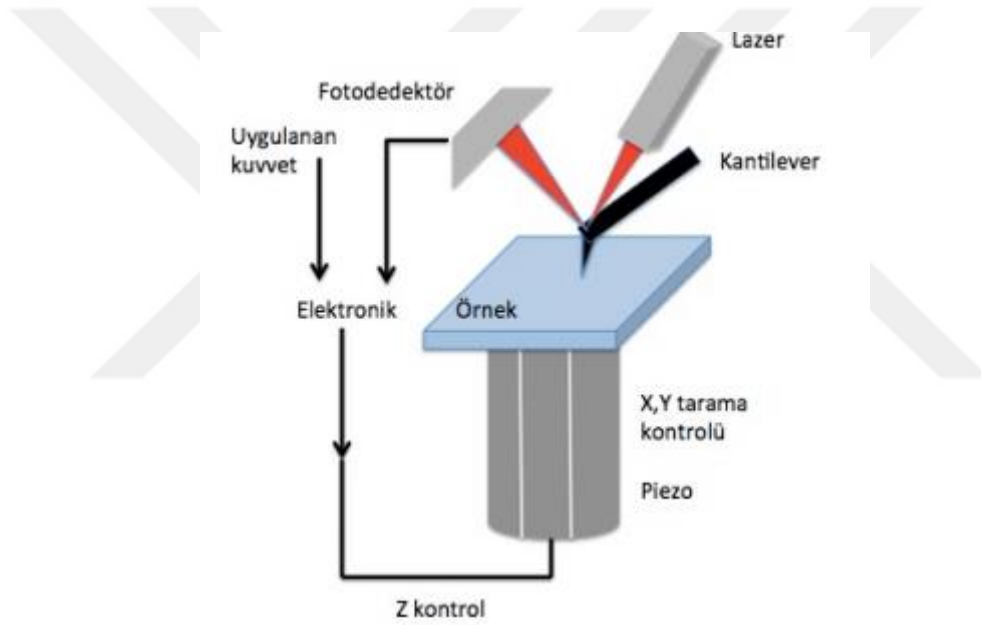
Şekil 2.15.Randles devresinin şematik görünümü

2.3.2.3. Atomik Kuvvet Mikroskopisi (AFM)

Mikroskop, Türk Dil Kurumun'da "Bir mercekle düzeneği yardımıyla küçük nesnelere büyütüp daha belirgin hale getirmeye yarayan alet," olarak tanımlanmıştır.Fakat, AFM bir cismin ya da yüzeyin resmi ve nasıl olduğunu yüksek çözünürlükte üç boyutlu görüntü oluşturmakla kalmaz aynı zamanda bilim insanları ve mühendislerin ihtiyaca göre çeşitli yüzey ölçümleri yapmalarını sağlar.İlk atomik kuvvet mikroskobu,1980 yılında Binnig ve Rohrer tarafından yapılan çalışmalarla geliştirilerek 1986 yılında kendilerine Nobel Ödülünü kazandırmıştır.

Şekil 2.16’da görülen ve AFM olarak bilinen çok yüksek çözünürlüğe sahip ilk ticari mikroskop, 1989’da piyasaya sürülmüştür.

AFM’u; nano boyuttaki cisimlerin görüntüleme, ölçme ve malzeme işleme konusunda şekil 2.16’da görüldüğü gibi en gelişmiş araçlardan birisidir. Ulaşılmış çözünürlük birkaç nanometre ölçeğinde olup optik tekniklerden en az 1000 kat fazladır. AFM ile hava ya da sıvı içerisinde görüntü alınabilir. Bu mikroskobun önemli bir avantajı 3 boyutlu sayısal görüntüler oluşturması ve birkaç mikrondan 10 angstroma ve daha düşük çözünürlüğe kadar kullanılabilir yüzey ölçümleri sağlamasıdır. Ayrıca bu mikroskopla küçük örnek boyutlarında çalışılabildiği için örnek hazırlama işlemi oldukça kolaydır.

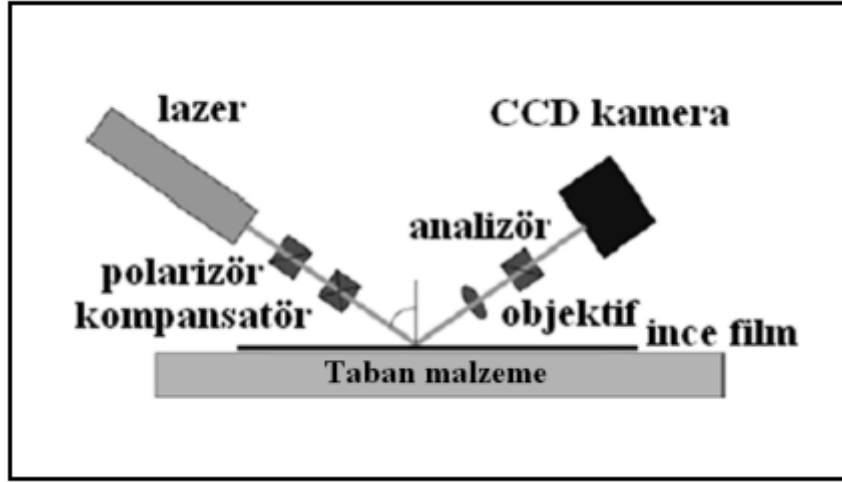


Şekil 2.16. AFM’nin temel bileşenleri.

2.3.2.4. Elipsometri

Elipsometri, ışığın bir ortamdan geçerken kırılması ve yansımaları sırasında polarizasyonundaki değişimi yüzey tahribatı yapmadan çok hassas bir şekilde ölçmeye yarayan optik bir tekniktir. Yüzeyden yansıyan ışının polarizasyonundaki değişimi ölçülerek bu metot sayesinde yüzeyin topografisi hakkında bilgi edinilir (Çiftçi, 2009). Katı örneklerde elipsometri cihazı ile ölçüm yapılırken Brewster açısı $56^\circ - 90^\circ$ arası değişir ve dolayısı ile elipsometride gelen ışın bu açılar dikkate alınarak gönderilir (Irene ve Tompkins, 2005). Yapılan bu ölçüm materyalin kalınlığına ve optik özelliklerine bağlıdır. Bundan dolayı

elipsometri, filmin kalınlığını ve onun optik sabitini ölçmede öncelikle kullanılır. Aynı zamanda; materyalin bileşimini, kristalliğini, pürüzlülüğünü, doping konsantrasyonunu ve optik cevaptaki bir değişlikle ilişikli diğer materyal özelliklerini karakterize etmek için de kullanılır. Elipsometrenin temel bileşenleri, ışık kaynağı, polarizasyonu belirleyen bazı optik bileşenler ve dedektörlerdir. Şekil 2.17’de bir elipsometrede bulunan bileşenler görülmektedir. (Howland et al. 2007, <http://www.nanofilm.de> 2007).



Şekil 2.17. Elipsometreyi meydana getiren bileşenler

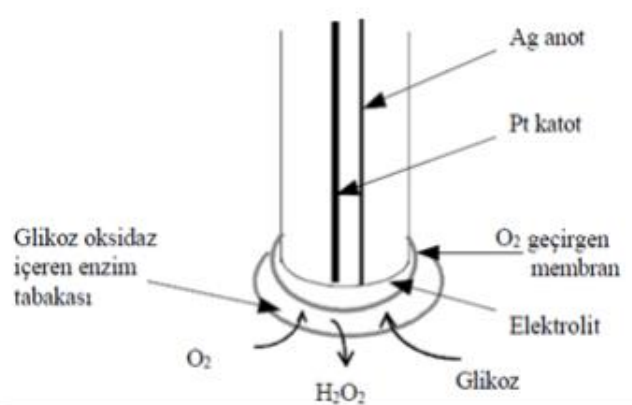
2.4. Biyosensörler

Biyolojik veya biyolojik olarak türetilmiş sensör elementinin, bir fizikokimyasal çevirici ile bütünleştirilmesi ve biyolojik olayların elektriksel sinyale dönüştürülmesi işlemine biyosensör denir(Turner, 1987, Turner, 2000).

Biyosensörler, tıp, eczacılık, ziraat, gıda sektörü ve çevresel kirlilik analizi gibi değişik alanlarda kullanım alanı bulan enzim, doku, mikroorganizma, antikor, hücre reseptörleri gibi biyolojik materyallerin, optik, elektrokimyasal, termometrik, piezoelektrik ya da manyetik temelli fizikokimyasal bir transduser ya da iletici bir mikrosistem ile birleştirilmesiyle oluşturulan analitik cihazlardır (Sharma vd. 2003, Castillo vd. 2004).Bugüne kadar üretilen 180’den fazla farklı madde için biyosensörden ancak 25 kadarı ticari olarak üretilmektedir. Biyosensörler, ortamda bulunan biyolojik numunelere karşı çok duyarlıdırlar. Bugün doktorların kullandığı stetoskop, tansiyon ölçen cihazlar, kandaki şeker miktarını ölçen glikoz metreler bilinen biyosensörlerden bazılarıdır.Biyosensörler analitlerin tayini için kullanılan

transduserlere göre de genel olarak elektrokimyasal (potansiyometrik amperometrik, ve kondüktometrik), kolorimetrik ve optikpiezoelektrik esaslı transduserler olarak farklı sınıflarda incelenebilirler(Sharma vd. 2003).

Lyons ve Clark (1962) ikilisi, enzim-elektrot kompleksini oluşturarak ilk defa glikoz biyosensörü olarak kullanmışlardır. Bu sensör, oksido-reduktaz enzim olan glikoz oksidazın platenyum elektroduna immobilize edilmesiyle oluşturulmuştur. Platenyum elektrot, enzim tarafından üretilen H_2O_2 ile +0.6V'da polarize olur. İşte basitçe bu prensibe göre çalışan ilk biyosensörü 1974 yılında piyasada Yellow Springs Instrument (YSI) olarak tanımlamışlardır. Şekil 2.18 Glikoz tespiti için bir Clark enzim elektrotunun şematik diyagramı görülmektedir. Bu sensör, temel olarak reseptör ve dönüştürücü olarak iki kısımdan oluşmuştur. Biyoreseptör, analiti farkedebilen biyomoleküllerdir. Dönüştürücü ise, biyoreseptörün analiti farketmediği esnada ürettiği fiziksel ve kimyasal sinyali elektrik sinyaline dönüştüren yapılardır. Bir biyolojik sıvıda, glukoz çözülmüş oksijen ile birleşerek elektrot etrafındaki membranı geçerek elektrot yüzeyine ulaşır. Burada glukoz oksitlenerek glukonik aside dönüşür. Ortamdaki glukoz bittiğinde, başlangıçtaki ve reaksiyon sonundaki çözülmüş oksijen miktarı belirlenir. Aradaki fark glukoz oksidaz için harcanan O_2 gazı olduğundan dolayı böylece biyolojik sıvıdaki O_2 miktarı hesaplanır.



Şekil 2.18. Glikoz tespiti için bir Clark enzim elektrotunun şematik diyagramı.

2.4.1. İdeal Bir Biyosensörün Özellikleri

Seçicilik, duyarlılık, cevap süresi, kararlılık, doğrusallık, gözlenebilirlik, kesinlik ve kullanım ömrü bir biyosensörde olması gereken özelliklerden bazılarıdır.

a) Seçicilik

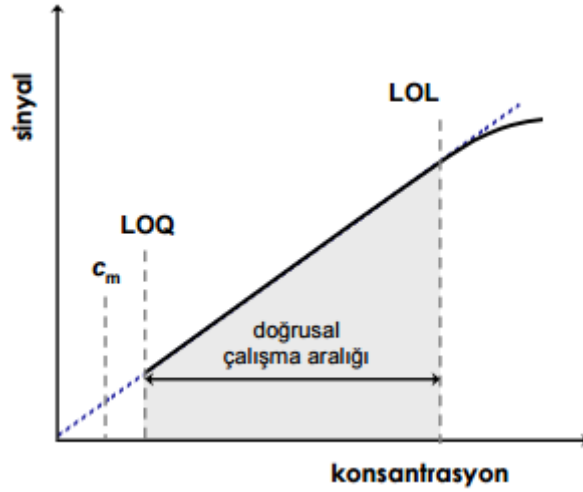
İdeal bir biyosensör; biyosensörü oluşturan biyomolekülün hedef analite karşı çokduyarlı olması ve ölçüm ortamında oluşabilecek diğer maddelerden etkilenmemesi istenir. Güvenilir bir biyosensörün cevabı analit derişimi ile doğrudan ilişkili olmalı ve örnek matrisi içinde bulunan girişim yapan türlerin derişimlerinden etkilenmemelidir. Bu sebepten, biyosensörler için muhtemel girişim yapabilen türler belirlenmeli ve etkilerinin nasıl olduğu tespit edilmelidir (Coulet 2000, Thevenot vd. 2001).

b) Duyarlılık

Biyosensörlerin yüzeyine tutturulmuş olan biyolojik maddelerin, yalnız belirli maddelere ve konsantrasyon değişimlerine karşı duyarlı olması gerekmektedir. Ölçüm yapılan ortama eklenen analit konsantrasyonu ile elde edilen sinyal değerleri arasındaki kalibrasyon eğrisinin eğimi duyarlılığı ifade eder. Konsantrasyondaki küçük bir artışla eğrinin eğiminin artması, biyosensörün oldukça duyarlı olduğunu gösterir.

c) Doğrusallık

Biyosensör çalışmalarındaki doğru ölçüm için; ölçüm ortamına eklenen analit ilavesi sonucunda meydana gelen konsantrasyon artışının, sinyal değişimlerini doğrusal olarak değiştirdiği lineer bölgenin tanımlanması gerekmektedir. Çünkü, biyosensörler doğrusal olduğu konsantrasyon aralığında kalibre edilebildiklerinden dolayı sadece bu bölgede doğrusal sonuç verirler. Fakat daha sonradaki radikallere bağlı olarak elektrot yüzeyinin değişim göstermesi, ortam kararlılığının bozulması, biyomolekülün aktivitesinin azalması gibi nedenlerden dolayı doğrusallıktan sapma görülebilir. Şekil 2.19'da doğrusal çalışma aralığı gösterilen bir analitik yöntemin, tayin edilebilen en düşük konsantrasyondan (kantitatif ölçüm sınırı, LOQ), kalibrasyon eğrisinin doğrusallıktan sapma gösterdiği (doğrusallık sınırı, LOL) konsantrasyonuna kadar olan aralığı göstermektedir (Skoog, 1998).



Şekil 2.19 Bir analitik yöntemin çalışma aralığı

d) Cevap Süresi

Ölçüm ortamına analit eklenmesiyle meydana gelen sinyal değişiminin, tekrar kararlı hal değerine ulaşma aralığını ifade edilir. Başka bir deyişle; cevap süresi, kararlı hal cevabının % 90'a veya % 95'e ulaşılması için geçen süre olarak tanımlanabilir. (Thevenot vd. 2001). Bu cevap süresi; biyomolekülün yapısına, analitin biyomoleküle olan ilgisine, analitin elektrot yüzeyindeki potansiyeline, elektrot ve destek meteryalinin cinsine bağlıdır.

e) Tayin Sınırı (LOQ)

Bir biyosensörün, cevap verebildiği en küçük analit konsantrasyonu sınırı olarak ifade edilen bir terimdir. Bu tayin sınırı analitik sinyal büyüklüğünün tanık sinyalindeki istatistiksel sapma oranına bağlıdır. Herhangi bir sinyalingözlenebilmesi için; analitik sinyal, gürültü sinyalindeki sapmanın en az "k" katı kadar büyük olmalıdır.

$$S_m = \bar{S}_{bl} + k S_{bl}$$

Eşitliğinde; S_m , belirlenen en küçük analitik sinyali, \bar{S}_{bl} , ortalama tanık sinyali S_{bl} ortalamanın standart sapmasını göstermektedir. Yapılan çalışma sonucunda belirlenen ortalama tanık sinyali ile tanığın standart sapması sonucunun toplanması ile analit sinyali hesaplanır. Konsantrasyon ile değişen sinyal verileri dikkate alınarak çizilen kalibrasyon grafiğinde eğim, m , kullanılarak gözlenebilme sınırı, C_m , aşağıda şekilde gösterilir (Skoog, 1998).

$$c_m = \frac{S_m - S_{bl}}{m}$$

f) Kararlılık

Biyosensörün yapabileceği ölçüm sayısına bağlı olarak kullanım ömrü hakkında bilgi veren bir faktördür. Biyosensörün kararlılığının büyük olması; iş, güç, zaman ve ekonomi açısından önemlidir. Bundan dolayı biyosensör, çalışma periyodu boyunca kararlılığını kaybetmemelidir.

g) Kesinlik

Aynı şartlarda ve aynı teknikle elde edilen deney verilerinin arasındaki uyum derecesini gösteren bir ifadedir. Ölçümün kesinliğinin bulunmasında standart sapma, varyans ve varyans katsayısı olarak verilen üç sayısal ölçüt bulunmaktadır. (Skoog, 1998).

h) Kullanım Ömrü

Biyosensörle yapılan ölçümler sonucunda, biyomolekülün aktivitesindeki değişimi ifade eden bir faktördür. Biyosensörün kullanım ömrünü kısıtlayan faktörlerden bazıları; stabilite, tekrarlanabilirlik ve kalibrasyon sıklığıdır. Biyosensör uzun ömürlü olması için gerekli saklama koşullarına uyulmalıdır. Biyosensörün buzdolabında saklanması, biyolojik elementin özelliklerini korunmasını sağlayabilir (Buerk 1993).

2.4.2. Biyosensör Çeşitleri

2.4.2.1. Elektrokimyasal Esaslı Biyosensörler

a) Potansiyometrik sensörler

Referans elektrotla çalışma elektrotu arasında oluşturulan elektrokimyasal hücrede ölçülen gerilim değeri ile çözelti içindeki türlerin nicel analizine potansiyometri denir. Analizi yapılacak bir çözeltiye batırılan bir çalışma elektrodu ile aynı çözeltiye temas etmiş karşılaştırma elektrodu arasında oluşan gerilim değeri ile analizi yapılacak türün derişimi arasında logaritmik bir ilişki vardır. İçte ve dışta bulunan çözeltilerde analizi yapılacak türün derişimi açısından herhangi bir farklılık varsa membranın iç ve dış yüzeyi arasında bir gerilim farkı ortaya çıkar. Bu potansiyel farkının değeri; analizi yapılan türe ve derişimine bağlı olduğu gibi, membranın çözeltide bulunan öteki bileşenlerin cins ve miktarlarına da bağlıdır.

İyon aktivitesindeki değişikliğe cevap veren iyon seçimli elektrotlar olarak tanımlanan potansiyometrik sensörler ile Na^+ , K^+ , Ca^{2+} , H^+ veya NH_4^+ gibi iyonların bulunduğu

kompleks biyolojik matrikste, uygun iyon değiştirici membrana iyonların bağlanmasıyla elektrot potansiyelinde oluşan hassas değişiklikten yola çıkararak bu iyonların taylorleri gerçekleştirilmektedir.

b) Yarı iletken sensörler

Elektriksel alanın bulunduğu bir iyonik özeltide İki elektrot arasına bir alternatif akım uygulandığında düşük frekanslarda; yük taşınımı iyonların elektriksel alandaki göçü ile sağlanırken, yüksek frekanslarda; çözücüdeki polarlanmanın nedeni ile yük taşınımına çözücünün de katkısı olur. İki elektrot arasına alternatif sinyalin uygulanmasının sebebi, elektrotlarda elektrolizle olabilecek madde kaybını en aza indirmektir. Oksijen sensörü buna örnek olarak verilebilir. Bu sensörde; suda özünmüş O₂ miktarı, molekülün Tl metali ile oluşturduğu iyonlar nedeni ile artan iletkenliğin ölçülmesinden faydalanarak bulunur.

2.4.2.2. Optik esaslı sensörler

İletici bir sistemle optik lifler üzerine uygun bir yöntemle, enzimin immobilize edilmesi ile hazırlanır. Bu sensörde, enzimatik reaksiyon sonucu meydana gelen kimyasal yada fizikokimyasal bir değişimden faydalanılarak ölçüm yapılır. Sinyal, ışık saçılması yada yansıması sonucunda meydana gelir. Bu sensörler; absorpsiyon, flouresans, bioluminesans gibi temel ilkeler çerçevesinde işlev yaparlar.

a) Absorpsiyon esaslı optik enzim sensörleri

Bu sensörler, enzimatik reaksiyonlar uyarınca pH farkından kaynaklanan renkli madde konsantrasyonundaki değişimler sonucu meydana gelen absorpsiyon farklarının belirlenmesi ilkesine dayanır.

b) Flouresans esaslı optik enzim sensörleri

Bu sensörlerde; absorpsiyon esaslı optik enzim sensörlerinden farklı olarak, flouresans özellik gösteren indikatör maddeler kullanılır.

c) Bioluminesans esaslı optik enzim sensörleri

Bu sensör; yıldız kurdu, ateş böceği ve diğer bazı değişik su canlıları gibi yaşayan organizmalardaki ışık yayılımını temeline dayanan enzimatik bir sensördür. Lüsiferas tarafından

eksite durumu getirilmiş bir bileşimin tekrar zemin durumuna geri dönmesiyle ilişkili enzimatik reaksiyon bu sensöre örnek olarak verilebilir.

2.4.2.3. Kalorimetrik esaslı sensörler

Bu sensörler; termal enzim sensörleri, enzim termistörleri yada entalpimetric enzim sensörleri olarak da bilinir. Temel amacı, bir enzimatik reaksiyondaki entalpi değişiminden yararlanarak substrat konsantrasyonunu belirlemektir. Enzimatik reaksiyonlar genelde ekzotermiktir. Enzimatik reaksiyon sonucu meydana gelen sıcaklık değişimi ile substrat konsantrasyonu arasındaki doğrusal ilişkiden yola çıkarak sonuca ulaşılır. Yalıtılmış ortamlardaki küçük sıcaklık değişimleri termofiller veya termistör yardımıyla izlenir.

2.4.2.4. Piezoelektrik esaslı sensörler

Bu sensörler; bir piezoelektrik kristal yüzeyinde toplanan örnek kütlelerinin ölçülmesi esasına göre çalışan gravimetrik aygıtlardır. Sensörün seçiciliği, kristal yüzeyindeki madde ile spesifik bir etkileşime sahip analitin birikimiyle bağlantılıdır. Enzim immobilizasyonu ile gerçekleştirilen piezoelektrik enzim sensörlerinde; enzim moleküllerine substratların bağlanmasıyla meydana gelen kütle değişimlerinin, piezoelektrik kuartz diskin vibrasyonunda sebep oldukları farklılıktan yararlanılarak madde miktarı tespiti yapılabilir. Pestisid ve formaldehit tayini uygulama alanlarındadır.

3. KAYNAK ARAŞTIRMASI

Arvand ve ark. (2015),magnetik Fe_3O_4 ve ZnO nano parçacıkları ile modifiye edilmiş camı karbon ve karbon pasta elektrot ile amperometrik yöntemle besin maddelerinde quersetin tayini yapmışlardır. Bunun için sentezlenmiş magnetik nano parçacıkları (MNPs); X ışınları difraksiyonu (XRD), geçirgen elektron mikroskopi (TEM) ve taramalı elektron mikroskopi (SEM) kullanarak karakterize etmişlerdir. TEM ve SEM sonuçları, hazırlanmış Fe_3O_4 ve ZnO magnetik nano parçacıklarının yaklaşık 15 nm büyüklüğünde kürelerden oluştuğunu göstermiştir. Optimum şartlar altında modifiye elektrot üzerinde kuersetin tayin aralığını, 7.9×10^{-7} – 6.1×10^{-5} mol/L ve tayin sınırını 0.24-18.44 mg/L (S/N=3) şeklinde belirlemişlerdir.

Attar ve ark. (2015), horseradish peroksidaz ve altın sononanoparçacıkları ile immobilize edilmiş; sonogel-karbon, camı karbon ve altın elektrot olmak üzere üç farklı elektrot kullanarak, siyanid tayininin yavaşlamasına ve dokuz enzim biyosensörünün analitik performansının karşılaştırılmasına bağlı olarak yeni biyosensörler dizayn etmişlerdir. Burada altın sononanoparçacıkların varlığında ve yokluğund üç farklı horseradish peroksidaz (HRP) immobilizasyonu çalışmışlardır. Amperometrik ölçümleri -0.15 V'a karşılık Ag/AgCl, pH=5.0 olan 50mM sodyum asetat tampon çözeltisinde yapılmışlardır. İmmobilize edilmiş HRP'in kinetik parametresini (K_{mapp} , V_{maxapp}) yavaşlatıcı (siyanid) yokken substrat olarak kaffeik asit, hidrokinon ve katekol kullanılarak hesaplamışlardır. Altın sononanoparçacıklarının varlığı elektron transfer reaksiyonunu artırmış ve biyosensörün analitik performansını geliştirmiştir. Siyanidin dinamik tayin aralığı 0.1-58.6 μ M olarak tespit etmişlerdir. Bu metotla siyanid tayini, 0.03 μ M tayin sınırı ile daha önceki çalışmalardan daha düşük olması nedeni ile tercih edilen bir yöntem olmuştur.

Cheng ve ark. (2009), Fe_3O_4 magnetik nano parçacıklarına (MNPs) bağlı olarak, kaplanmış karbon nanotüpleri (CNTs) nanokompoziti ile hızlı koliform tayini için amperometrik tyrosinaz (Tyr) biyosensörü yapmışlardır. Daha ileri giderek biyosensörü akış enjeksiyonu tahlili (FIA) sistemi ile koliform konsantrasyonunu belirlemede kullanmışlardır. Kaplanmış CNTs nanokompozitlerin, Fe_3O_4 MNPs, GCE yüzeyini modifiye ederek glutraldehit yardımı ile Tyr'nin yüzeye tutunmasını sağlamışlardır. Tyr biyosensörü fenol tayininde 516 mA/M hassasiyetle $1.0 \cdot 10^{-8}$ – $3.9 \cdot 10^{-5}$ M lineer aralıkta, $5.0 \cdot 10^{-8}$ M tayin sınırında iyi bir performans gösterdiğini tespit etmişlerdir. Biyosensörü, akış enjeksiyonu tahlili (FIA) sistemi ile daha da geliştirilerek koli bakterisi tayininde kullanılmışlardır.Fenol,

E. coli çözeltisinin enzimatik reaksiyonu sonucunda üretilmiştir. Optimal şartlar altında FIA sisteminde elde edilen akımın, bakteri konsantrasyonu ile doğru orantılı olduğunu tespit etmişlerdir. Yaklaşık 4 saat gibi bir sürede konsantrasyon aralığını $20 - 1.10^5$ cfu/mL ve tayin sınırını 10 cfu/mL olarak belirlemişlerdir.

Gholivand ve ark.(2014), amperometrik kolesterol biyosensörle insan kan serumunda kolesterol ölçümü yapmışlardır. Bunun için, grafen/iyonik sıvı ile modifiye edilmiş camı karbon elektrotla (GR-IL/GCE) kolesteroloksidaz (ChO_x) ve katalizi (CAT) birlikte tutturularak, hassas bir amperometrik kolesterol biyosensörü oluşturmuşlardır. Enzimlerin ikisi de en iyi hassasiyetle $4.163 \text{ mA mM}^{-1} \text{ cm}^{-2}$ değerinde 6 saniyeden daha kısa sürede -0,5V sabit potansiyelde $0.25-215 \text{ } \mu\text{M}$ ($R^2 > 0.99$) doğrusal çalışma aralığında iyi redoks pikleri oluşturmuşlardır. Biyosensör sisteminde hassas bir kolesterol tayini için; ChO_x 'in, kolesterol enzimatik reaksiyonu sırasında oluşan H_2O_2 'in elektrokatalitik olarak CAT ile azaltıldığı enzim ve elektrot yüzeyindeki elektron transferi ile tayin edilmiştir. Uygun potansiyelde elde edilen akım değerinin, kolesterol derişimi ile orantılı olduğunu tespit etmişlerdir.

Jacob ve ark. (2010) karbon nanotüplerini, fazla potansiyeli azaltmak ve hassasiyeti artırmak için elektrokimyasal sensör içine almışlardır. Burada amaç, CNT lerine bağlı elektrokimyasal sensörleri, nöron taşıyıcıları, proteinleri, glikoz, DNA gibi küçük molekülleri daha hassas bir şekilde tayin edebilmektir. Askorbik asit, ürik asit veya metabolitlerin varlığında nöron taşıyıcılarını belirlemişlerdir. Dopamin, katekolamin ailesine ait bir nöron taşıyıcısıdır. Çoğunlukla klinik araştırmalarda çalışılır. Merkezi sinir sisteminde beyin orta kısmında bulunur. Buradaki dopamin eksikliği Parkinson hastalığına neden olur. Burada normal dopamin seviyesi 10 nM iken hızlı bir artış olduğunda $0,1 \text{ } \mu\text{M} - 1 \text{ } \mu\text{M}$ arasında olur. Dopaminin vücut sıvısı içinde konsantrasyonunun hızlı tayin edilmesi sinir sistemi hastalıklarının teşhisi açısından önemlidir. Serotonin; Bir nöron taşıyıcısıdır. Beyinde serotonin seviyesindeki bozulma zihinsel hastalıklara yol açar. Örneğin antidepresanların ana kaynağı serotonindir. Bu antidepresanlar serotonin konsantrasyonunu ayarlar. Serotonin tayini dopaminden daha zordur. Çünkü serotonin reaksiyona girebilen bir oksidasyon ürünüdür. Bundan dolayı elektrot yüzeyini izole eder. Nafyon, serotonin, dopamin tayinini, karbon-fiber mikro elektrotların tek duvarlı karbon nanotüpleri ile modifiye ederek hızlı taramalı dönüşümlü voltametri ile yapmışlardır.

Macikova,2012 ve ark. İyonik sıvı [1-hekzil-3-metilimidazolium-bis(triflorometil sulfony) imid] ve demir fitalosiyanın modifiye karbon pasta elektrotla rutin tayinini, modifiye

edilmemiş karbon pasta elektrot kullanılarak dönüşümlü voltametri, diferansiyel puls voltametri (DPV), diferansiyel puls adsorptive stripping voltametri (DPAdSV) ve amperometri yöntemi ile tayin yaparak performanslarını karşılaştırmışlardır. pH=4 de bütün tekniklerde en iyi akım sonucu alınmıştır. IL/CPE elektrotunda DPAdSV tekniği ile 5 nmol/L'den az tayin sınırında elde etmişlerdir. Deney için metanolde 1,0 mM rutin çözeltisi hazırlanmıştır. Britton-Robinson tamponu, trihidrojen fosforik asit, asetik asit ve trihidrojen borik asit'in her birinden 0,04 M alınarak hazırlanmıştır. İstenilen pH değeri 0,2M NaOH ile hazırlanmıştır. B-R tamponu I=0,15'de sodyum perkloratla ayarlanmıştır. Asetat tamponu, 0,1 M asetik asitin 0,2 M NaOH ile titrasyonundan hazırlanmıştır. Bütün deneyde çift distile edilmiş su kullanılmıştır.

Macikova ve ark. (2010), modifiye edilmemiş karbon pasta , modifiye edilmiş demir ftalosiyenin ve iyonik sıvı modifiye elektrot olmak üzere üç farklı çeşit çalışma elektrotu referans elektrot olarak doymuş Ag/AgCl, yardımcı elektrot olarak da platin tel kullanarak amperometrik rutin tayini yapmışlardır. Modifiye edilmemiş karbon elektrotla en geniş konsantrasyon aralığında ve en düşük tayin sınırında tayin yapılmıştır. Runinin elektrokimyasal davranışı ve karakterizasyonu iki oksidative sinyal ile yapılmıştır. İlk tersinir olan sinyal -OH grubunun 3 ve 4'de o- quinondan iki elektron oksidasyonu, ikinci tersinir olmayan anodik sinyal A'da yükseltgenmenin olmasıdır.

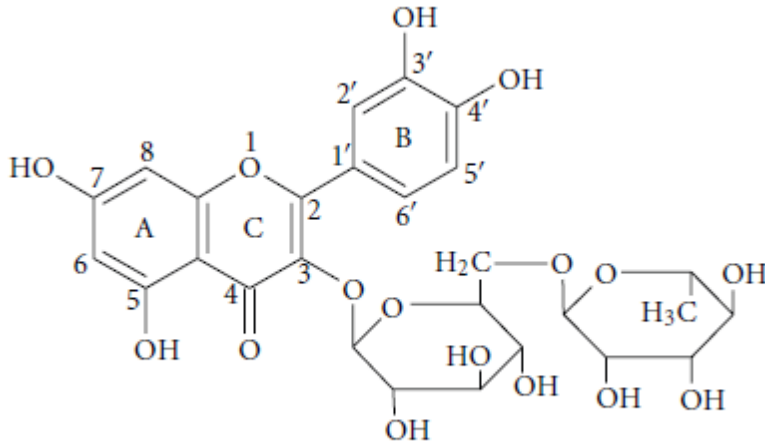


FIGURE 1: Chemical structure of rutin.

Ölçümler 0.1 M asetik asit ve 0.2 M NaOH çözeltilerinden hazırlanan pH=4 olan asetat tamponunda yapılmıştır. Puls teknik kullanılarak çıplak CPE için tayin sınırı 0.32 μ M, IP/CPE için 0.50 μ M ve IL/CPE için ise 3.07 μ M olarak belirlenmiştir. En geniş lineer

konsantrasyon aralığı BCPE'da 0.25-33.8 μM ve en dar linear konsantrasyon aralığını IL/CPE'da 2.3-12.4 μM olarak belirtmişlerdir. Memon ve ark. (2017), kapileri zon elektroforetik (CZE) metot ile fotodiod ary (PDA) detektör kullanarak quersetin, rutin, naringin ve naringenin meyve flavonidlerinin farklı meyve sularında tayinini yapmışlardır. pH tamponu konsantrasyonu, voltaj ve enjeksiyon zamanı gibi CE parametreleri en iyi hale getirildikten sonra bütün flavonidleri, 10 mM borat tamponunda pH=8.5 ve 25 kV voltajda 10 dakika içinde tayin edilebildiğini belirtmişlerdir. Naringin, naringenin ve quersetin 3.12-200 $\mu\text{g/mL}$ aralığında linear değer gösterirken rutin 6.25-200 $\mu\text{g/mL}$ aralığında linear olduğunu tespit etmişlerdir. LOD; 0.406, 0.314, 0.582 ve 0.333 $\mu\text{g/mL}$ ve LOQ; 1.355, 1.046, 1.941 ve 1.11 olarak sırasıyla tespit etmişlerdir.

Pournaghi-Azar ve ark. (2008), modifiye polarize alüminyum elektrot (PB/Pd-Al) kullanarak amperometrik yöntemle morfin (MO) ve kodein (CO) tayini yapmışlardır. İlk çalışmada CO ve MO'nin modifiye elektrotta yükseltgenmesini CV ile gözlemişlerdir. İki bileşiğin elektro-oksidasyon yolu için de doğal ortamı (pH=6) önermişlerdir. Optimum şartlarda μM konsantrasyon seviyesinde CO ve MO tayininde hidrodinamik amperometri yöntemi kullanılmıştır. CO ve MO, sırasıyla 2-30 ve 2-50 μM konsantrasyon aralığında kalibrasyon grafiğinin linear olduğunu tespit etmişlerdir. Metodun tayin sınırını yaklaşık olarak 0.8 μM olarak belirlemişlerdir.

Rajesh ve ark. (2005) Sulu çözeltide ürenin nicel analizi için, üre elektrokimyasal olarak hazırlanmış kopolimer (N-3-aminopropil-kopropil) film üzerine kovalent immobilizasyon tekniği ile modifiye ederek bir biyosensör elde etmişlerdir. Biyosensördeki polimer film, yüksek üre enzimi yüklemesine neden olduğundan bu durumun biyosensörün ömrünü uzattığını fark etmişlerdir. Sabit potansiyelde (0.0 V - Ag/AgCl), fosfat tamponda (pH=7.0) sulu ortamda linear üre konsantrasyon aralığında (0.16-5.02 mM), 40 s'de , %95 sabit değer akım ile enzimin %80'nini 2 ay süreyle tuttuğunu belirtmişlerdir.

Sangeetha ve ark. (2014), grafit elektrotunun, tiyonin (TH) ve nikel hekzasiyanoferrat (NiHCF) ile modifikasyonundan ilk defa bimediyator sensör elektrot elde etmişlerdir. TH/NiHCF modifiye elektrot; dönüşümlü voltametri, diferansiyel puls voltametri ve kronoamperometri ile karakterize etmişlerdir. TH/NiHCF bimediyator modifiye elektrot, NiHCF ve TH için sırasıyla 0.33V ve -0.27V'da 50 mV/s tarama hızında 0.1M NaNO₃ ve 0.1M NH₄NO₃ çözeltilerinde bir çift, farklı redoks pikleri verdiklerini gözlemlemişler. Bimediyator modifiye elektrotun; gallik asidin 4.99. 0⁻⁶- 1.2.10⁻³ M konsantrasyon aralığında,

$1.66 \cdot 10^{-6}$ M (S/N=3) tayin sınırında NiHCF ile yükseltgendiğini ve H_2O_2 'in $1.67 \cdot 10^{-6}$ - $1.11 \cdot 10^{-3}$ M konsantrasyon aralığında $5.57 \cdot 10^{-7}$ M (S/N=3) tayin sınırında TH ile indirgendiğini gözlemleyerek modifiye edilmiş bimediyator elektrotun iyi bir kararlılık sergilediği kararına varmışlardır.

Shimomura ve ark. (2011),fenolik bileşiklerin (Lakkaz), mezopor silika içine emdirilmiş enzimler yardımı ile amperometrik katekol tayini yapmışlardır. Bunun için GCE'du; mezopor silika tozu içerisine 7nm gözenek çapında (FSM 7,0) lakkaz emdirerek, elektroforetik bozunma tekniği (EPD) ile modifiye etmişlerdir. Elektrota tutturulan biyosensörün, pH =5 ve -50 mV potansiyelde 2.0-100 μ M tayin aralığında yaklaşık 2 dakika süre içerisinde katekol tayininde en iyi sonucu verdiğini gözlemlemişlerdir.

Sun C. ve ark. (2011), grafen/Pt-modifiye camısı karbon elektrot kullanılarak askorbik asit (AA), dopamin (DA) ve ürik asit (UA) tayinini dönüşümlü voltametri (CV), diferansiyel puls voltametri (DPV) ve amperometrik yöntemle yapmışlardır. 1.7 nm çapında Pt nanoparçacıklarını grafen yüzeyine tutturarak belirtilen üç analitin CV ile üç pik arasındaki potansiyel farkını; 185 mV (AA'dan DA'ya), 144 mV (DA'dan UA'ya) ve 329 mV (AA ve UA) olarak ölçmüşlerdir. Çıplak camısı karbon elektrot ve grafen-modifiye camısı karbon elektrot karşılaştırıldığında, grafen/Pt nanokompozitte üç analiz sırasında büyük elektrokimyasal potansiyel fark elde edilmiştir. Grafen yüzeyindeki Pt koloidal nanoparçacıkları rutin AA, DA ve UA analizlerinde iyi sonuç vermiştir. Belirtilen analitlerin amperometrik tayininde, analit farklı konsantrasyonlarda (15 mL 0.10 M) 0.1 M KCl içeren PBS çözeltisine eklenerek sabit potansiyelde (0.2 V) Pik akımla AA, 0.15-34.4 μ M konsantrasyon aralığında lineer geri çekilme eşitliği ($I_{pa} = 0.3457C_{AA} - 0.4694$) ve değişken sabiti (R = 0.9940) ile en düşük tayin sınırını 0.15 μ M (S/N = 3) olarak ölçmüşlerdir. Grafen/Pt-modifiye GC elektrotla DA için 0.03-8.13 μ M konsantrasyon aralığında lineer geri çekilme eşitliği ($I_{pa} = 0.9695 C_{DA} + 0.0366$) ve değişken sabiti (R = 0.9976) ile DA için en düşük tayin sınırını 0.03 μ M (S/N = 3) olarak ölçmüşlerdir. UA, için 0.05 -11.85 μ M konsantrasyon aralığından lineer geri çekilme eşitliği ($I_{pa} = 0.4119 C_{UA} + 0.0482$) ile ölçmüşlerdir. Sonuç olarak grafen- Pt nanokompozit elektrotla; AA, DA ve UA için sırasıyla tayin sınırını 0.15 μ M, 0.03 μ M ve 0.05 μ M olarak belirlemişlerdir.

Tanimoto de Albuquerque ve ark. (2007),tarımda, tohumların kimyasal pestisitlerle kontrolünün, halk sağlığı ve çevre açısından büyük problem yarattığından dolayı buradaamperometrik tyrosinaz biyosensörle karbamate ve organofosfat pestisit tayini

yapmışlardır. Screen-printed tyrosinaz (Tyr) biyosensörü, karbamate ve organofosfor pestisitlerin tayini için elektrokimyasal olarak karakterize ve optimize edilmiştir. Selüloz-grafit kompozit elektrotun (CGCE), kobalt(II) ftalosiyanın (CoPc) ile modifiye edilmesiyle elektro kimyasal transdüser olarak bilinen bir kompozit elektrot (CoPc-CGCE) elde etmişlerdir. Tyr biyosensörünü, kompozit elektrotun yüzeyine glutaraldehit ve sığır serum albuminini çapraz bağlayarak elde etmişlerdir. Biyosensörü etkileyen parametreleri (tayin süresi, enzim yükleme, derişim, tampon çözeltisinin pH'ı) katekol'ün substrat olarak kullanılması ile optimize etmişlerdir. Enzimatiksel olarak üretilen o-quinonun tayini 2 dakika sürmüştür. Tyr biyosensörü (60 units) için iyi tekrarlanabilirlik ve yüksek operasyon kararlılığına 50 mM fosfat tamponu, pH=6.50'de ulaşmışlardır. Bu şartlar altında biyosensörün verimli kullanım süresi 10 gündür. 15 gün sonra biyosensörün kullarımdaki verimin %80 azalacağını belirtmişlerdir. Mantar Tyr'sindeki pestisit enzimatik aktivitesini araştırmak için O-quinon'u yavaşlatan çalışmayı (-0.20V'a karşılık Ag/AgCl) uygulamışlardır. Diazon ve karbaril karışık inhibitör olarak davranırken, metil paration ve karbofuran enzimin yavaşlamasına neden olmuştur. Metil paration için (6-100ppb), diazon için (19-50ppb), karbofuran için (5-90ppb) ve karbary için (10-50ppb) lineer ilişki bulmuşlardır. Doğal nehir suyundan alınan örnekte her pestisitten 30 ppb gözlemlemişlerdir.

Terashima ve ark. (2002), boron kaplı elmas elektrotlarla çevre su örneklerinde yüksek performanslı sıvı kromatografi (HPLC) ayırma yönteminden sonra geniş konsantrasyon aralığında klorofenollerin (CPs)'in tayinini amperometrik yöntemle yapmışlardır. Anodik elmas elektrotlarda yüksek CP konsantrasyonunda (5 mM) bile iyi CV elde edilmişlerdir. Buna ek olarak uzun süreli kullarımdan sonra kısmen deaktive olmuş elmas elektrota, yüksek derecede 4 dakika süreyle anodik potansiyel (2.64 V – SCE'ye karşılık) uygulandıığında, tekrar aktif hale getirilebileceğini belirtmişlerdir. Yüksek potansiyelde oluşan hidroksil radikallerinin yüzeydeki pasifleştirici tabakanın yükseltgenmesinden sorumlu olduğunu söylemişlerdir. Akışkan enjeksiyon analizi (FIA) ile anodik elmas elektrot, klorofenolün yüksek konsantrasyonda (5 mM) oksidasyonu için 2.3% (n=100) tayin verisinde iyi bir kararlılık sergilediğini belirtmişlerdir. Fakat buna zıt olarak GC ise %39.1 tayin verisi elde etmişlerdir. 100 enjeksiyondan sonra elmas için relatif pik %10'a düşerken GC'da %70'e düştüğünü gözlemlemişlerdir. 2,4-diklorofenol için FIA modunda 100 µM'a kadar lineer dinamik tayin sınırını 20 nM (S/N=3) bulmuşlardır. Kolon switch tekniği ile tayin sınırı 0.4 nM (S/N=3)'e düşürülmüştür. Bu teknikle anodik elmas elektrotların atık sularda CPs analizinde kullanıldığı ispatlamışlardır.

Tsai ve ark. (2007), amperometrik biyosensörle fenolik bileşiklerin (fenol, o-kresol, m-kresol, katekol, dopamin, ephineprin) tayinini yapmışlardır. Biyosensör, çok duvarlı karbon nanotüp (MWNTs) uçlarından, bir Nafion omurgadan ve tyrosinazdan oluşmuştur. Camı karbon elektrotunun modifikasyonunu basit çözelti-buharlaştırma metodu ile yapmışlardır. Modifiye nanobikompozit film elektrot (MWNT-Nafion-Tyr) ucuz, güvenilir ve kullanımının kolay olduğunu belirtmişlerdir. Nanocomposit filmin homojenliğini atomik kuvvet mikroskopi (AFM) ile yapmışlardır. Fenolik bileşiklerin ölçümü, enzim reaksiyonunda üretilen o-guininonun elektrokimyasal indirgenmesine bağlıdır. Karıştırılan çözelti ve akımın büyüklüğü, uygulanan potansiyel ve yüklenen enzime bağlılığı olarak istenen hedefe ulaşıldığını belirtmişlerdir. Fenol tayini için optimize edilmiş biyosensörün, 8 saniyeden daha kısa sürede 303 $\mu\text{A m}^{-2}$ 'da hassasiyet gösterdiğini gözlemlemişlerdir.

Unnikrishnan ve ark. (2013), indirgenmiş grafen okside (RGO), glikoz oksidazın (GOx) tutturulması ile glikoz biyosensörü elde etmişlerdir. (GOx)'in tutturulması her hangi bir çapraz bağlayıcı olmadan tek hamlede gerçekleştirmişlerdir. Daha sonra basit bir elektrokimyasal yöntemle camı karbon elektrot, RGO-GOx çifti ile modifiye edilerek GCE/GO-GOx elektrotu oluşturulmuştur. Modifiye edilmiş camı karbon elektrotla; GOx, direkt olarak dönüşümlü voltametri ve amperometri yöntemi ile tayin edilmiştir. Glikoz tayinini gelişmiş amperometrik sensörle doğrusal çalışma aralığını, 0.1-27 mM ve 1.85 $\mu\text{A mM cm}^{-2}$ duyarlılıkta tespit etmişlerdir.

Xie ve ark. (2017), Ta₂O₅-chitosan kompozit modifiye karbon pasta elektrotla krisin ve baicalein tayini yapmışlardır. Krisin ve baicalein, oroxyllum indicum yöresel bitkisel Çin ilaçlarında (TCM) bulunan başlıca flavonidlerdendir. Ta₂O₅ ve chitosan ile modifiye edilmiş karbon pasta elektrot hazırlanarak karakterizasyonu; tarama elektron mikroskobu (SEM), X-ray difraksiyon spektroskopisi (XRD), fourier transform infrared spektroskopisi (FTIR), dönüşümlü voltametri (CV) ve elektrokimyasal impedans spektrum (EIS) ile yapılmışlar. Optimum şartlar altında hazırlanmış Ta₂O₅-CTS-CPE elektrotun, krisin ve baicalein oksidasyonunda çok iyi bir elektrokatalitik aktivite gösterdiğini belirtmişler. Her ikisi için de lineer aralık 0.08-4.0 μM ve tayin limiti sırasıyla 0.03 ve 0.05 μM (S/N=3) olarak belirlenmiştir. Ayrıca amaçlanan elektrokimyasal sensörün oroxyllum indicum örneklerinin analizinde yüksek hassasiyet, iyi bir kararlılık ve başarılı sonuçlar verdiğini belirtmişlerdir.

Wang ve ark. (2009), polifenol oksidaz (PPO) ve polianilin (PANI) arasında çapraz bağlantı aracı olarak glutaraldehit kullanılarak PANI'e bağlı olarak fenol tayini için katekol

biyosensörünü oluşturmuşlardır. 1-etil-3-metilimidazolium etil sülfat iyonik sıvı çözeltisinde elektrokimyasal olarak sentezlenen PANI, pH=6'nın üzerinde iyi elektroaktivite ve yüksek iletkenliğe sahiptir. Biyosensör substrat olarak katekol varlığında, 0.2-80 $\mu\text{mol}/\text{dm}^3$ aralığında lineer değer göstermiş. Maksimum akım (I_{max}) ve Michelis-Menten sabiti (k'_m), sırasıyla 9.44 μA ve 117 $\mu\text{mol}/\text{dm}^3$ olarak belirlenmiştir. Ölçüm şartlarını dahaiyi hale getirmek için pH'ın ve uygulanan potansiyelin etkisini artırmışlardır. B-R tamponunda, PPO katalitik reaksiyonunun aktivasyon enerjisi (E_a) 30.23 kJ/mol'dür. PANI-PPO biyosensörlerini karakterize etmek için elektrokimyasal impedans spektroskopisi (EIS), UV-vis ve SEM kullanmışlardır.

Y. Zhang ve ark. (2013), günlük yaşamda gıda katkı maddelerinde ve gübrelerde kullanılan nitrit; çevre kirliliğine ve insan sağlığına zararlar verdiğinden ve insan vücudunda geri dönüşümsüz olarak hemoglobinin methemoglobine yükseltgenmesine ve nitritinamin ile birleşerek kanser ve hipertansiyona neden olan nitrosamin oluşturduğunu belirterek nitritin analizi ve elektrokatalizini yapmışlardır. Dünya sağlık örgütüne göre, nitrit insan vücudunda öldürücü dozunun 8.7 μM - 28.3 μM arasında olduğunu belirtmişlerdir. Nitrit tayininde; kromatografi, spektrofotometri vb. birçok metot uygulanmış fakat bunların arasında elektrokimyasal tekniğin, çevreci olmasının yanında seçici ve hassas sonuçlar verdiğini belirtmişlerdir. Elektrokimyasal olarak indirgenmiş grafen oksid/Pd (ERGO-Pd) nanoparçacıkları, grafen oksit (GO)'in elektrokimyasal indirgenmesi ve Pd nanoparçacıklarının elektrokimyasal bozunma tekniği ile sırasıyla GC elektrota modifiye etmişlerdir. Raman spektra, GO'in başarılı bir şekilde ERGO'e indirgenmiş olduğunu göstermiş. SEM görüntüleri Pd nanoparçacıklarının 50-100 nm çapında ERGO yüzeyine yüksek yoğunlukta tutunduğunu göstermiştir. Optimal şartlar altında ERGO-Pd modifiye GC elektrotun, amperometrik yöntemle pH=4.1 PBS'de nitrit oksidasyonunu güçlü bir şekilde kataliz ettiğini belirtmişlerdir. Burada çözelti pH'ı ve Pd miktarının nitrit tayinini açıkça etkilediğini söylemişlerdir. Modifiye GC elektrotunun akımının, nitrit konsantrasyonu 0.04-0.536 μM ($R^2 = 0.995$) ve 0.536-108 μM ($R^2=0.993$) aralığında ve 15.64 nM tayin sınırında doğru orantılı olduğunu gözlemlemişler ve elektrot hassasiyeti, 7.672 $\mu\text{A} \mu\text{M}^{-1}\text{cm}^2$ olarak belirlemişlerdir.

Y Zhou ve ark. (2006), fenolik bileşiklerin tayini için bor ile kaplanmış elmas elektrot (BDD) yüzeye tyrosinaz enziminin kovalent bağlarla bağlanması ile amperometrik enzim biyosensörü elde etmişlerdir. BDD film elektrot, kimyasal ve elektrokimyasal olarak 4-nitrobenzendiazonyum tetrafloroborat, aminofenil ile modifiye edilmiş BDD (Ap-BDD)

yüzeyi oluşturulmuş ve tyrosinaz, BDD yüzeyine karbodiimid çifti aracılığı ile kovalent olarak immobilize edilerek enzim elektrotu (Tyr-Ap-BDD) oluşturulmuşlardır. Tyr-Ap-BDD elektrotun fenol, p-kresol ve 4-klorofenol için sırasıyla lineer tayin aralığını; 1-200, 1-200 ve 1-250 μM , hassasiyetini ; 232.5, 636.7 ve 385.8 mA/Mcm^2 olarak belirlenmişlerdir. Tyr-Ap-BDD elektrot enzim aktivitesinin %90'ı 0.1M PBS (pH =6,5) 4°C'de 5 hafta saklanabileceğini belirtmişlerdir.

Yin ve ark. (2011), polyamidoamin (PAMAM) ve Fe_3O_4 manyetik nanoparçacıklarla modifiye edilmiş camı karbon elektrot kullanılarak sütte, bisfenol A'nın amperometrik tayinini yapmışlardır. Optimum şartlar altında BPA'nın konsantrasyonu 1.10^{-8} – $3.07.10^{-6}$ M aralığında artırıldığında akımın da doğrusal olarak arttığını ve tayin sınırının 5.10^{-9} M olduğunu belirlemişlerdir.

Zhang ve ark. (2013), anilinin, elektrokatalitik oksidasyonunu artırıp amperometrik yöntemle hassas bir askorbik asit (AA) tayin yapmak için silikotungstik asit ve karbon nanotüplerinden oluşan anilini, camı karbon elektrot üzerine tek hamlede elektropolimerize etmişlerdir. Ölçülen akım ve AA konsantrasyonunun doğrusal çalışma aralığını 1,0 – 10 μM ve 0.01 – 9.0 mM ve en az 0.51 μM (S/N=3) tayin sınırı ile tespit etmişlerdir.

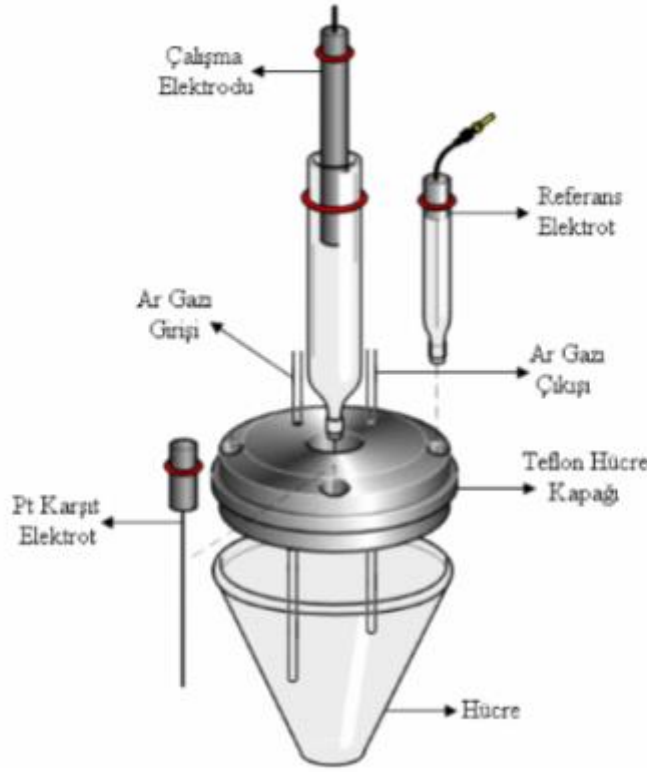
Zhong ve ark (2012) Hidrojen pekoksit amperotemtrik biyoyesnsörünü; camı karbon elektrotunun yüzeyini, çok duvarlı karbon nanotüpleri /polianilin kompozit filmi ve platin nanoparçacıklarını elektrobozunma tekniği ile modifiye ederek oluşturmuşlardır. Modifikasyonu, tarama elektron mikroskobu ve dönüşümlü voltametri ile incelemişlerdir. Sensörün, 748,4 $\mu\text{A m}/\text{Mcm}^2$ yüksek hassasiyet, 7.0 μM -2.5 mM lineer aralıkta 2.0 μM düşük tayin sınırı (SN=3) ile 5 saniyeden daha kısa sürede yüksek hassasiyet gösterdiğini gözlemleyerek bu sensörün, H_2O_2 tayininde başarılı olduğunu belirtmişlerdir.

4. MATERYAL VE YÖNTEM

Deneilerde kullanılan dönüşümlü voltmetri, elektrokimyasal impedans spektroskopisi vb. için Gamry Referans 750 potantiyostat/galvanostat/ZRA cihazları aşağıdaki şekil 3.1 de görülmektedir. Gamry cihazında 750 mA'lık akım okunabilmekte impedans ölçümlerinde ise uygulanan frekans 1 MHz'e kadar çıkabilmektedir. Çalışmalarda kullanılan hücre sistemi çalışma, referans ve karşıt elektrot olmak üzere üç elektrotlu sistemdir.



Şekil:4.1 Üç elektrotlu hücre sistemi ;Gamry Referans 600 ve 750 potantiyostat/galvanostat/ZRA



Şekil: 4.2 Elektrokimyasal ve impedans deneyleri için üç elektrotlu hücre sistemi

Deneylerde kullanılan çalışma elektrodu, 0.71cm^2 yüzey alanına sahip BAS marka MF-2012 GC elektrottur. Elektrot yüzeyini temizlemek için Buehler marka P2400 ve P4000 zımpara kağıdı kullanılmıştır. Temizlemede kullanılan alümina tozu olarak sırasıyla $1.0\ \mu\text{m}$, $0.3\ \mu\text{m}$ ve $0.5\ \mu\text{m}$ tanecik boyutuna sahip Alfa Aesar süspansiyon kullanılmıştır. Üçlü hücre sisteminde referans elektrot olarak susuz ortam çalışmalarında $0.01\ \text{M}\ \text{Ag}/\text{Ag}^+$ ve sulu ortam çalışmalarında Ag/AgCl referans elektrot kullanılmıştır. Karşıt elektrot olarak Pt tel kullanılmıştır. Çalışmadan önce yaklaşık 10 dakikalık süreyle çözelti içerisindeki oksijeni yok etmek için sisteme kapiler bir hortum daldırılarak Ar gazı gönderilir. Ölçüm sırasında adsorpsiyonu engellemek ve inert bir ortamda çalışmak için çözelti üzerinden Ar gazı gönderilir.

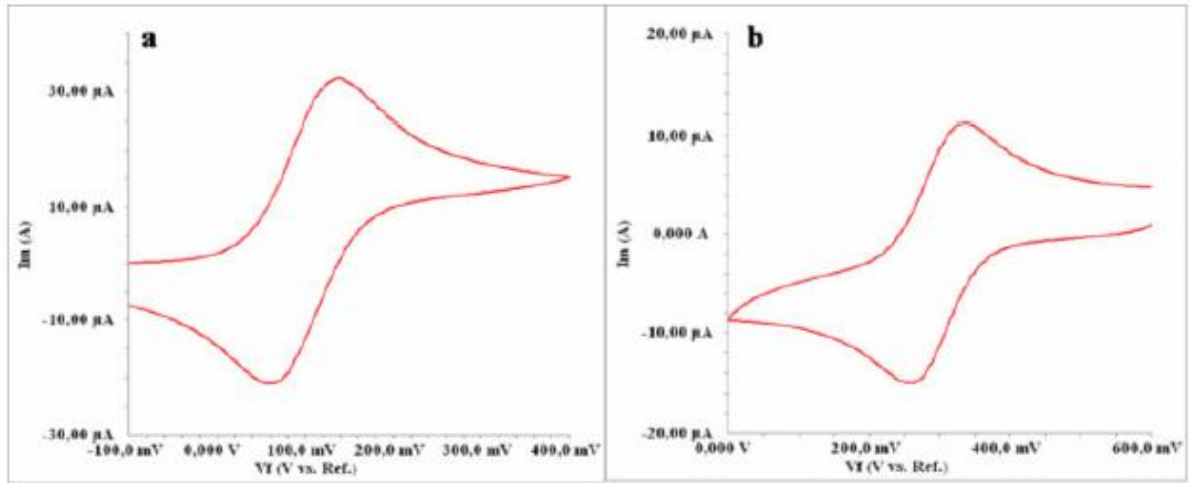
4.1. Çalışmada Kullanılan elektrotların Temizlenmesi

Çalışmalarda modifikasyon işleminden önce GCE elektrotun yüzeyini parlatmak ve düzeltmek için önce 2400 sonra 4000'lik Buehler zımpara kağıdı kullanılır. Sonra elektrot saf

su ile yıkanır ve ardından sırasıyla 1.0 μm , 0.3 μm ve 0.05 μm tanecik boyutlarına sahip alümina tozu kullanılır. Her temizleme işleminden sonra farklı boyutlardaki alümina tozlarının birbirine karışmaması için saf su ile yıkanır. En son 0.05 μm tanecik boyutuna sahip alümina süspansiyonu kullanıldıktan sonra elektrot önce saf suda yıkandıktan sonra yaklaşık 10 dakika süreyle sonikatörde bekletilir. Daha sonrada 1:1 oranında asetonitril ve izopropil alkolün oluşturduğu karışımda tekrar sonikasyona tabi tutulur. Böylece önceden modifiye edilmiş elektrot yüzeyindeki moleküller yüzeyden uzaklaştırılmış ve diğer bir modifikasyon işlemi için tekrar temiz ve parlak yüzeyler elde edilir.

4.2. Çalışmalarda Kullanılan Elektrotların Kalibrasyonu

Çalışmalara başlamadan önce çalışma elektrotlarının temizliğinden emin olmamız gerekmektedir. Sulu ve susuz ortam referans elektrotların ölçümlerinin güvenilir olup olmadığını belirlemek için sulu ortamda 0.1 M H_2SO_4 'de hazırlanmış 1.0 mM ferrosen $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$ çözeltisi ile negatif tarama yapılmıştır. Susuz ortamda CH_3CN 'de çözünmüş 0.1 M TBATFB destek elektroliti içerisinde hazırlanan 1,0 mM ferrosen çözeltisi ile de pozitif tarama sonucunda elektrotların yüzey testleri yapılmıştır. Bu işlemlere elektrotların kalibrasyonu denir. Kalibrasyon işlemi çalışmalarda belirli aralıklarda kontrol amaçlı tekrarlanmıştır. Bu çalışma ile ilgili veriler şekil4.3'de görülmektedir.



Şekil 4.3 Çıplak GC yüzeyi için testler. a) ferrosen testi, -0,1/+0,4 V pot. arl. ve 100 mV/s taramahızında, b) HCF (III) testi, +0,6/0,0 V pot. arl. ve 100 mV/s tarama hızında

4.3. Britton-Robinson (BR) Tampon Çözeltisinin Hazırlanması

Britton- Robinson (BR) tampon çözeltisi,pH 1,81-11,98 aralığında çalışma imkanı sağladığından dolayı tercih edilmiştir. Bu tampon çözeltisi için 2,69 mL fosforik asit (H_3PO_4), 2.29 mL asetik asit (CH_3COOH) ve 2.472 gram borik asit (H_3BO_3) 1 litrelik balon joje içerisine konularak saf su ile 1 litreye tamamlanır. Hazırlanan bu çözeltiliye 0.02 M, 0.1 M veya 1.0 M'lık NaOH ilave edilerek, istenilen pH değerinde ayarlama yapılır(Perrin ve Dempsey, 1974). Çalışmalar sırasında hazırlanan bu BR tamponunun içerisine iyonik şiddetin sabit tutulması amacıyla 0,1 M KCl çözeltisi eklenmiştir.

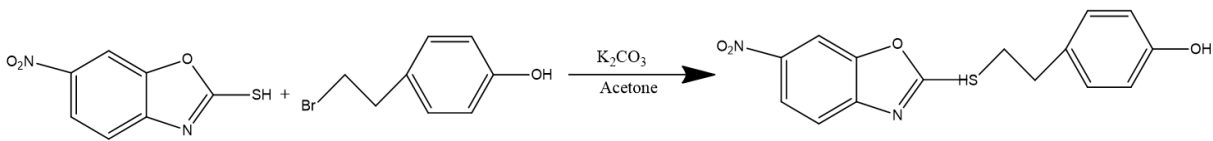


5. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA

Bu çalışmada, orjinal ismi 4-(2-((6-nitro-1H-benzo[d]oxazol-2-yl)thio)ethyl)phenol olan ve NOTEP olarak kısaltılan molekülün elektrokimyasal davranışları ve özellikleri farklı elektrokimyasal ve mikroskopik teknikler kullanılarak ortaya konulmuş, elektrot yüzeyindeki molekül için farklı ortamlarda ve farklı sürelerde kararlılık testleri yapılmıştır.

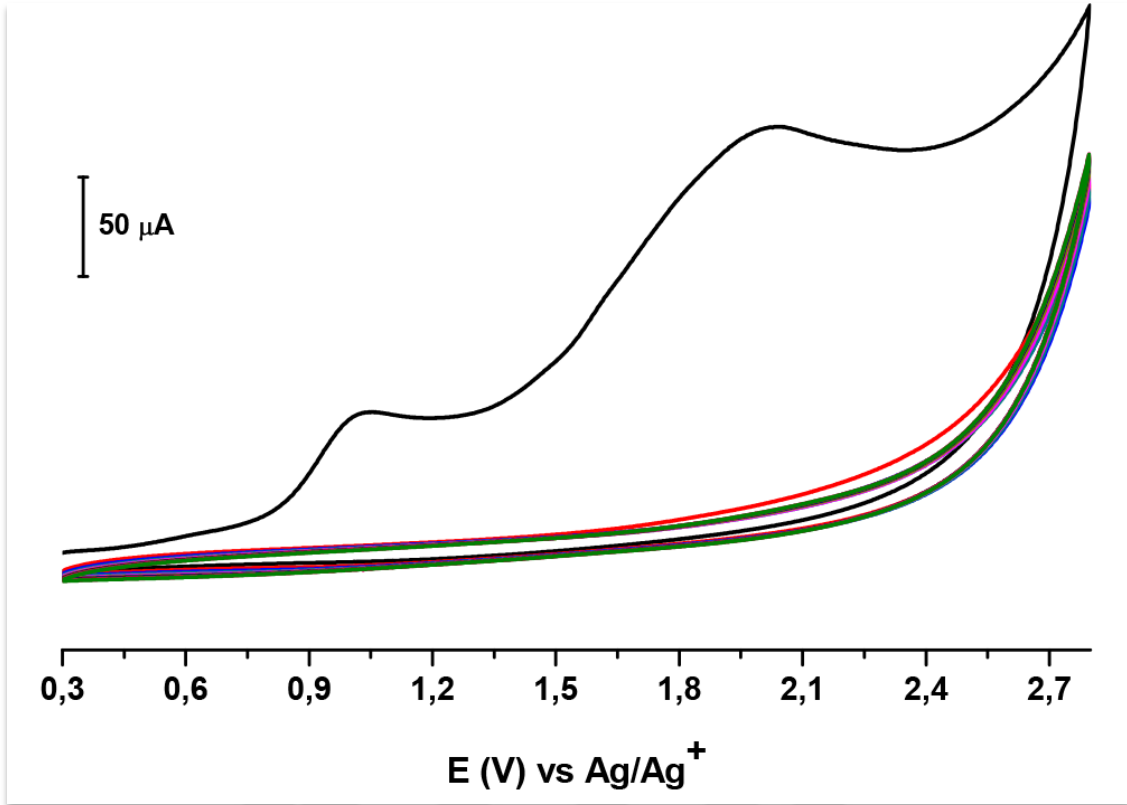
Çalışma için kullanılan NOTEP molekülünün sentezi ve yapı aydınlatması şu şekilde yapılmıştır: Aseton içinde 2-merkpto-5-nitro benzoksazol (1.0 mmol), 4-hidroksi fenetil bromür (1.0 mmol) ve K₂CO₃ (1.2 mmol) ihtiva eden bir karışım, 2 saat boyunca 40 ° C'de geri soğutucudan geçirildi. Soğutulduktan sonra, çözücü kuruyana kadar buharlaştırıldı. Kalıntı 25 mL su ile muamele edildi. Katılaşmış ürün süzüldü, suyla yıkandı ve etanolde yeniden kristallendirildi. FTIR ve NMR (¹H and ¹³C) analiz sonuçları: Verim: 82%. m.p. 96.6 °C. FTIR (ATR) cm⁻¹: 3107 (O–H), 1612–1435 (C=C, C=N), 1527-1340 (NO₂), 819 (1,4-disubstüitü benzen). ¹H-NMR (500 MHz, DMSO-d₆): δ = 3.01 (2H, t, J=7.50 Hz, -CH₂-), 3.58 (2H, t, J=7.00, CH₂), 6.71 (2H, d, J=8.50 1,4-fenil), 7.11 (2H, d, J=8.00 1,4-fenil), 7.56 (1H, d, J=9.00 Hz, Benzoksazol-H₄), 8.26 (1H, dd, J=2.50, J=9.00, Hz, Benzoksazol-H₅), 8.52 (1H, d, J=2.00 Hz, Benzoksazol-H₇), 9.26 (1H, s, OH). ¹³C-NMR (125 MHz, DMSO-d₆): δ =34.14, 34.35, 111.31, 114.34, 115.68, 120.79, 129.77, 130.09, 142.33, 145.37, 155.41, 156.53, 168.98. HRMS (m/z): [M+H]⁺ C₁₅H₁₂N₂O₄S için hesaplanmış ve sırasıyla 317.0591 ve 317.0597 bulunmuştur.

NOTEP molekülüne ait sentez mekanizması Şekil 5.1'de verilmiştir.



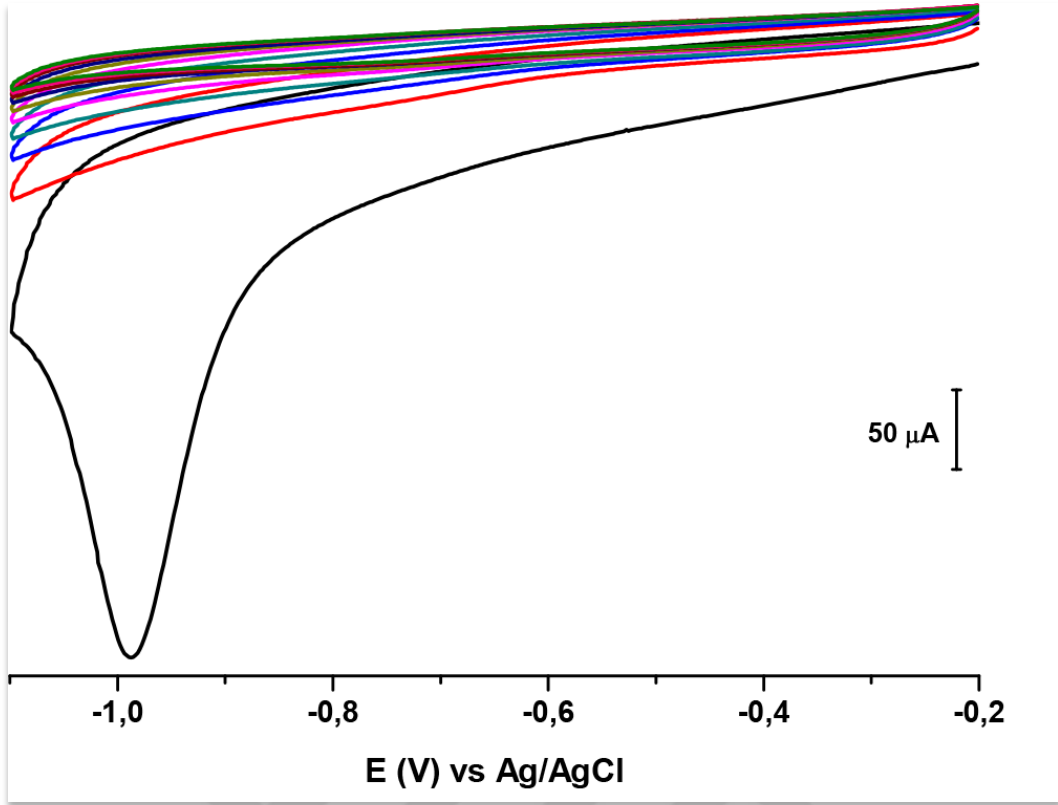
Şekil 5.1 NOTEP molekülüne ait sentez mekanizması

Molekülün sentezi ve yapı aydınlatması yapıldıktan sonra asetonitril içerisinde hazırlanmış olan 100 mM NBU₄BF₄ çözeltisi kullanılarak hazırlanan NOTEP çözeltisi CV tekniği yardımıyla GC elektrot yüzeyine 10 döngülü olarak modifiye edilmiştir. Modifikasyona ait voltammogram Şekil 5.2'de verilmiştir.



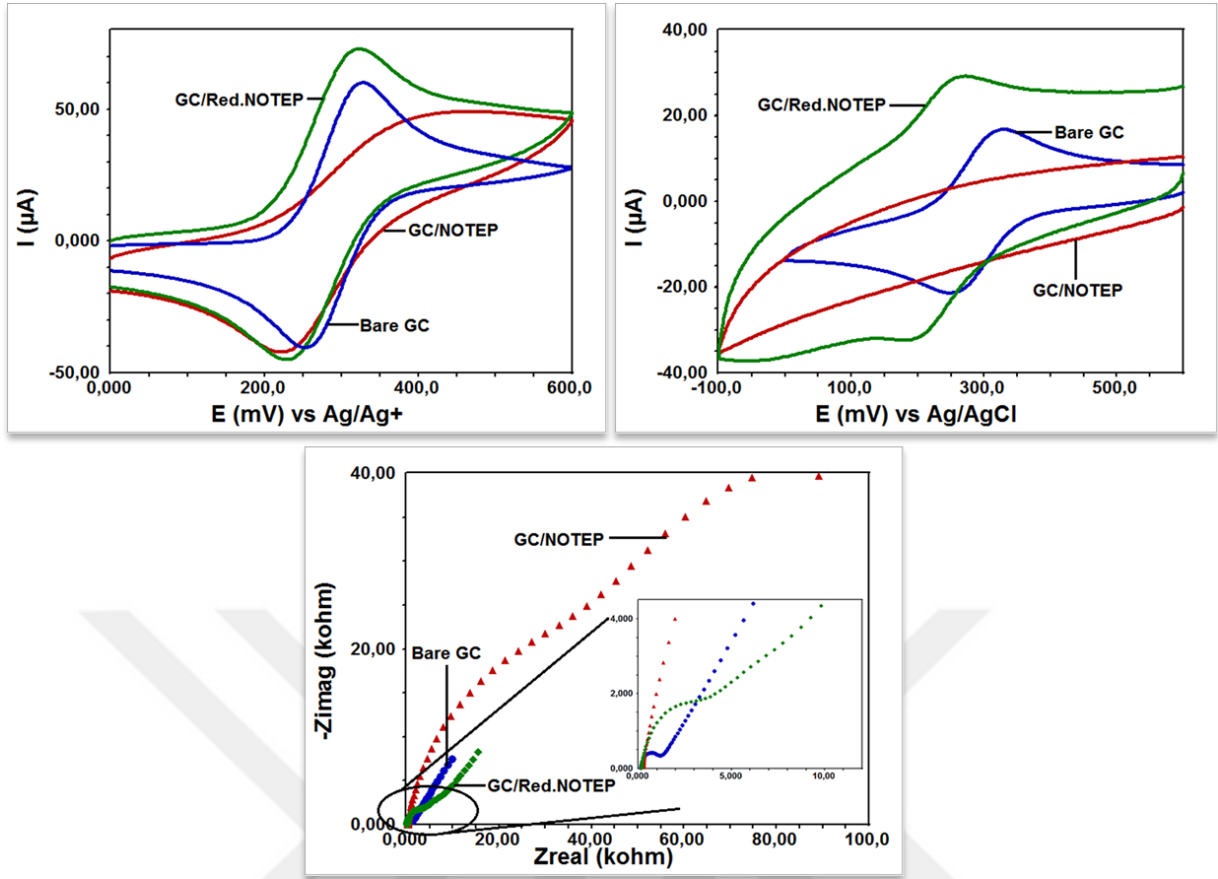
Şekil 5.2 CV tekniği kullanılarak NOTEP molekülünün GC elektrot yüzeyine susuz ortamda modifikasyon voltamogramı. 0,3 V ile 2,8 V potansiyel aralığında, 100 mV s^{-1} tarama hızında ve 10 döngülü.

Modifikasyon işlemi gerçekleştirildikten sonra molekülde bulunan NO_2 fonksiyonel grubun elektroaktif bir grup olmasından dolayı 100 mM HCl çözeltisi ortamında yine CV tekniği kullanılarak elektrot yüzeyinde bir sentez çalışması yapılmıştır. Bu çalışma ile yüzeyde bulunan ve elektroaktif olan NO_2 grupları elektroaktif olan NH_2 gruplarına indirgenmiştir. İndirgenmeye ait voltammogram Şekil 5.3’de verilmiştir.

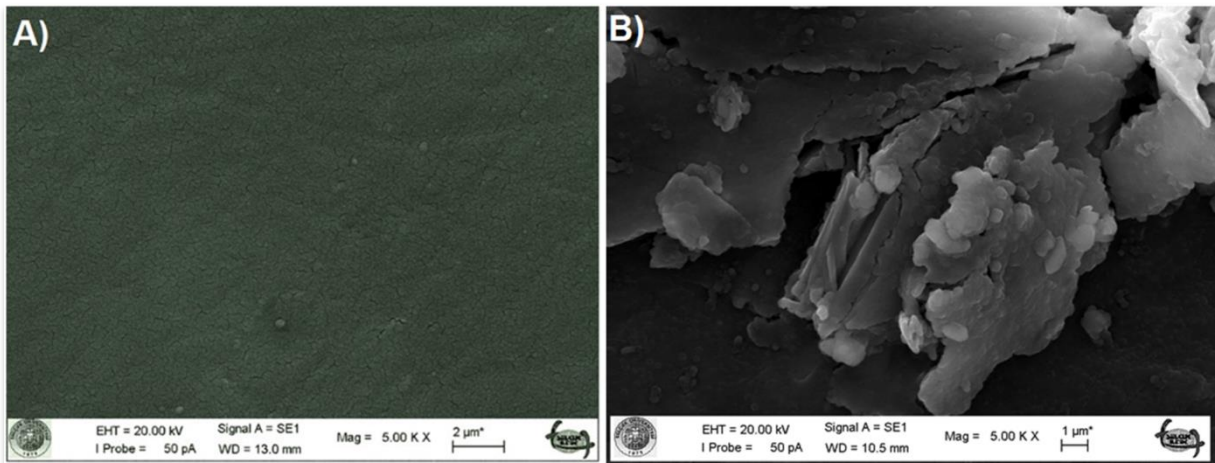


Şekil 5.3 NOTEP/GC elektrot yüzeyinde 100 mM HCl ortamında $\text{NO}_2\text{-NH}_2$ indirgenmesine ait voltammogram. - 0,2 V ile -1,1 V aralığında, 100 mV s^{-1} tarama hızında ve 10 döngülü.

Modifikasyon işlemi gerçekleştirilip yüzeyde indirgenme yoluyla elektroaktif bir yüzey elde edildikten sonra yapılan modifikasyon ve indirgenme işlemlerinin test edilmesi için yüzey karakterizasyon işlemlerine geçilmiştir. Yüzey karakterizasyon işlemlerinde CV, EIS ve SEM teknikleri kullanılmıştır. Susuz ve sulu ortamlarda yapılan CV ve EIS tekniklerine ait voltammogram ve grafikler Şekil 5.4'te karşılaştırmalı olarak verilmiştir. Şekil 5.5 ise $1 \mu\text{m}^2$ 'lik bir alanın taranması sonucu 5000 kez büyütülerek elde edilen SEM görüntüsüne aittir. Gerek voltammogramlar ve EIS görüntüleri ve gerekse SEM görüntüleri dikkatle incelendiğinde NOTEP molekülünün elektrot yüzeyine tam olarak modifiye olduğu ve daha sonrasında indirgenmenin yüzeyde başarılı bir biçimde gerçekleştirildiği anlaşılmıştır.



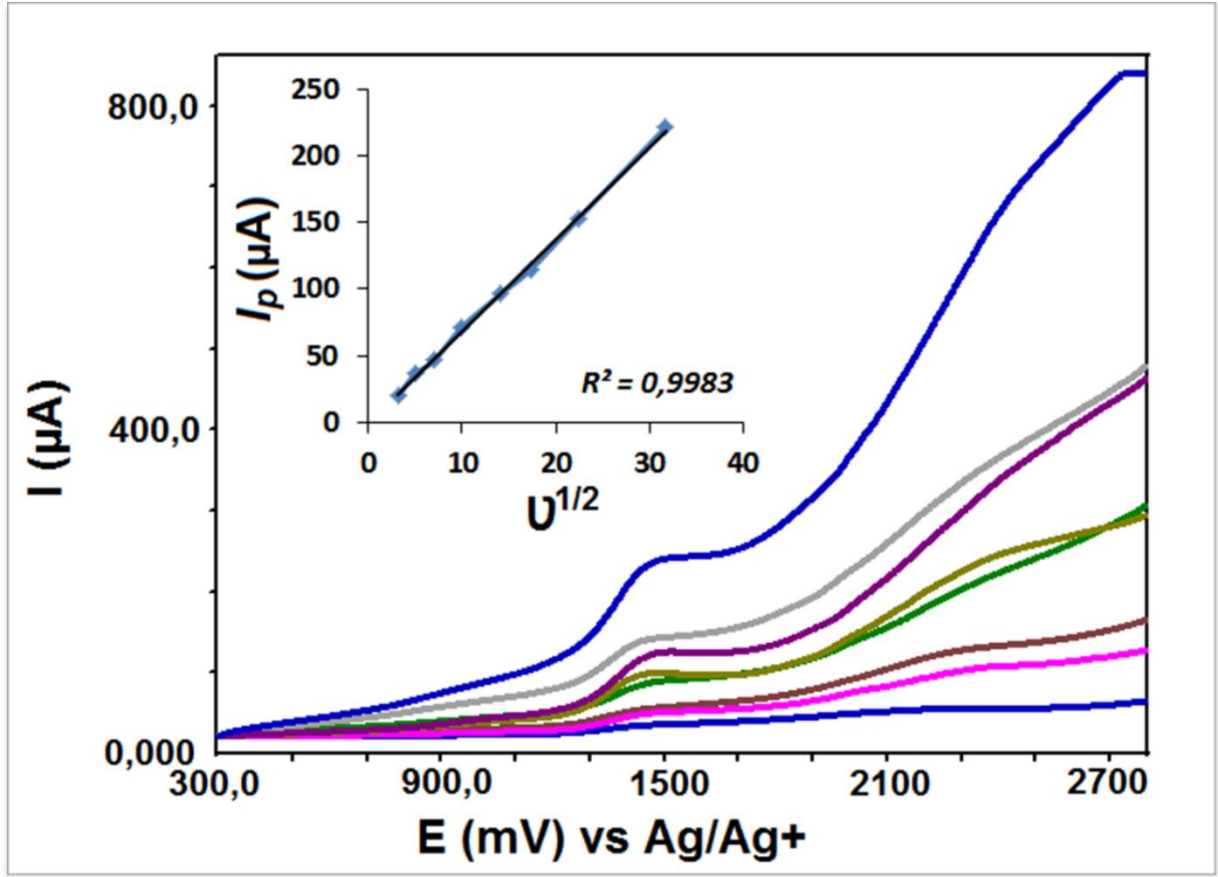
Şekil 5.4 CV kullanılarak susuz ortamda ferrosen redoks prob ile ve sulu ortamda ferrisiyanür redoks prob ile alınan yüzey voltamogramları ve sulu ortamda ferri/ferro siyanür karışımı redoks prob kullanılarak alınan EIS görüntüleri.



Şekil 5.5 Çıplak GC ve NOTEP modifiye GC için alınmış olan SEM görüntüleri.

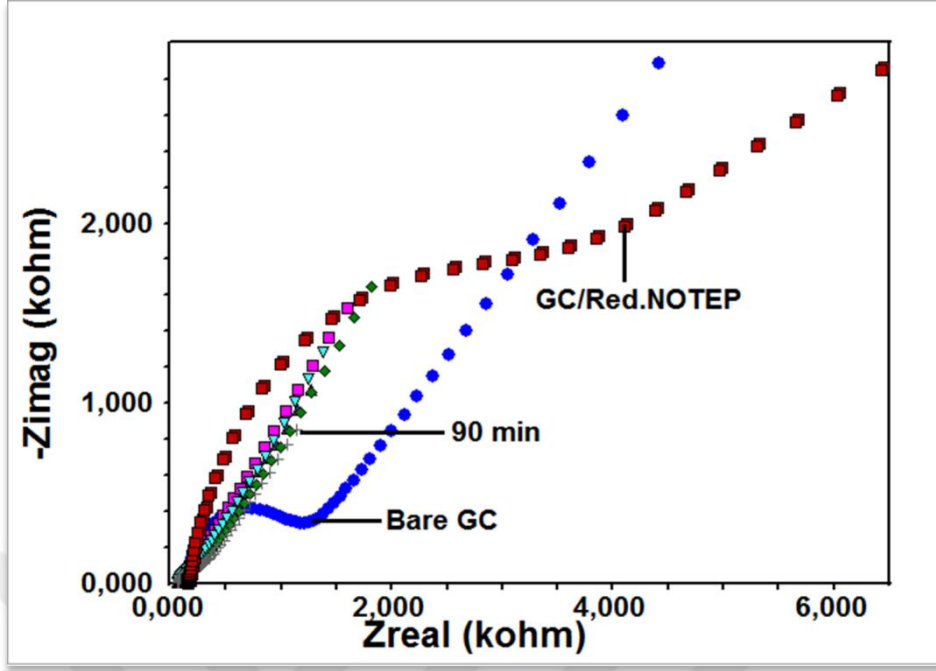
Modifikasyon ve karakterizasyon işlemlerinin tamamlanmasının ardından elektroanalitik kimyasal çalışmalarda önemli bir parametre olan tarama hızı çalışması yapılmıştır. Bu çalışmanın amacı, GC elektrot yüzeyine modifiye edilen NOTEP

molekülünün elektrot yüzeyine difüzyon kontrollü olarak bağlanıp bağlanmadığının test edilmesidir. Bu amaçla yapılan tarama hızı testlerinden elde edilen bulguların Randless eşitliğine uygun olması ve pik akımı ile tarama hızı karekökü arasında doğrusal bir grafik elde edilmesi gerekir. Şekil 5.6'da yapılan tarama hızı çalışmasına ait voltammogram ve grafik bulunmaktadır.

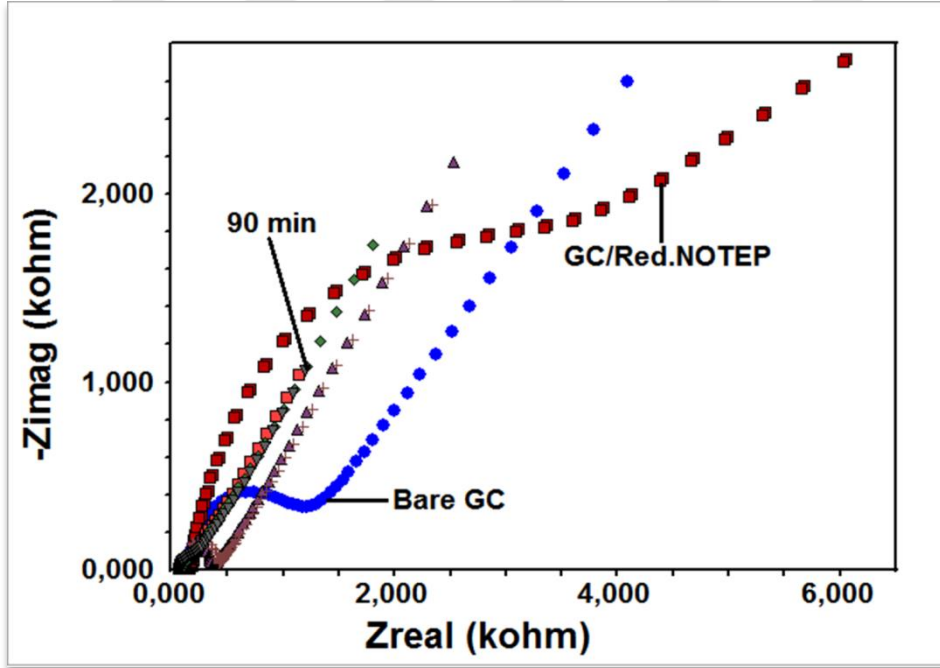


Şekil 5.6 NOTEP çözeltisi ortamında LSV tekniği kullanılarak 10, 25, 50, 100, 200, 300, 400 ve 500 mV s^{-1} tarama hızlarında alınan voltammogramların çakıştırılmış görüntüleri. +0,3 V ile +2,8 V aralığında tek tarama.

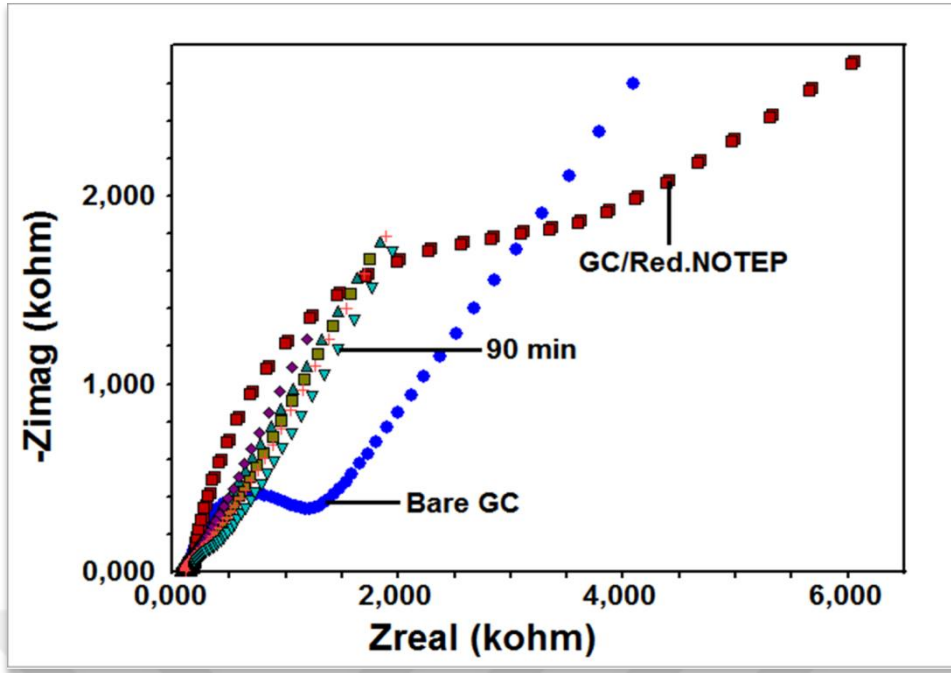
Elektroanalitik kimya da en az modifikasyon ve karakterizasyon işlemleri kadar önemli olan bir kısım da kararlılık çalışmalarıdır. Bu sayede modifiye yüzeylerin hangi ortamlarda ne kadar kararlı oldukları ve ne kadar süre içerisinde analizlerde kullanılabilecekleri belirlenebilir. Kararlılık çalışmaları hem CV ile hem de EIS ile yapılabilir, bu çalışmada EIS tekniği kullanılarak yapılan kararlılık çalışmaları hava, su, asetonitril ortamlarında, suda sonikatörde ve asetonitrilde sonikatörde olarak 5 farklı şekilde yapılmıştır. 0 ile 90 dakika arasında farklı ortamlarda modifiye elektrotun bekletilmesi ve sonrasında HCF II/III redoks prob varlığında alınan veriler sırasıyla hava, su, asetonitril, suda sonikatörde ve asetonitrilde sonikatörde olarak Şekil 5.7, 5.8, 5.9, 5.10 ve 5.11'de verilmiştir.



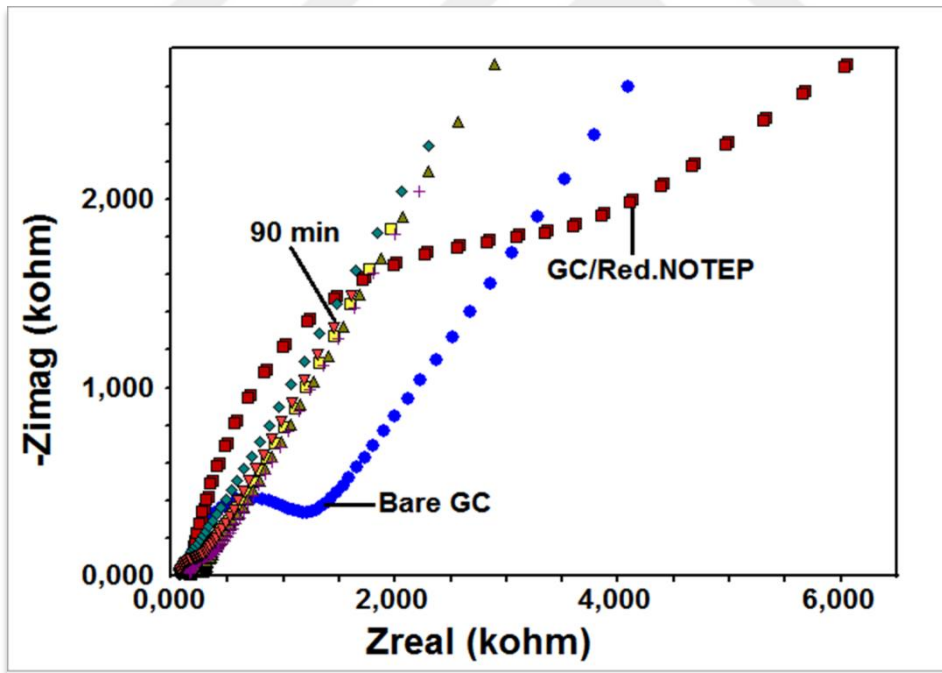
Şekil 5.7 NOTEPE/GC elektrot yüzeyinin indirgenme sonrasında 0, 15, 30, 45, 60, 75 ve 90 dakika hava ortamında bekletilmesi ile HCF II/III redoks prob varlığında alınan ve çakıştırılan görüntüler.



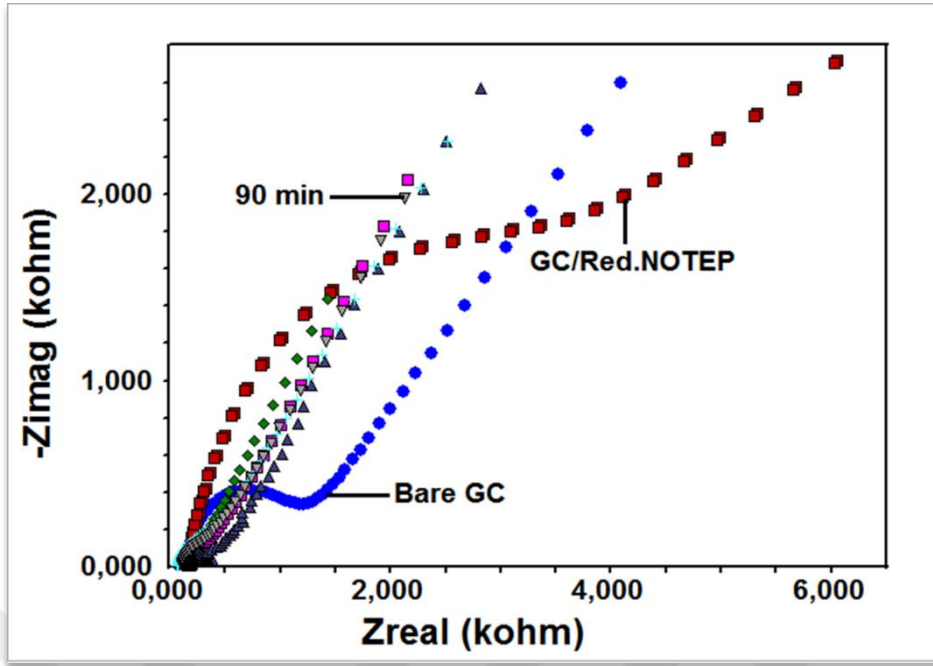
Şekil 5.8 NOTEPE/GC elektrot yüzeyinin indirgenme sonrasında 0, 15, 30, 45, 60, 75 ve 90 dakika su ortamında bekletilmesi ile HCF II/III redoks prob varlığında alınan voltamogramların çakıştırılmış görüntüsü.



Şekil 5.9 NOTEPE/GC elektrot yüzeyinin indirgenme sonrasında 0, 15, 30, 45, 60, 75 ve 90 dakika asetonitril ortamında bekletilmesi ile HCF II/III redoks prob varlığında alınan voltamogramların çakıştırılmış görüntüsü.



Şekil 5.10 NOTEPE/GC elektrot yüzeyinin indirgenme sonrasında 0, 15, 30, 45, 60, 75 ve 90 dakika su sonikatör ortamında bekletilmesi ile HCF II/III redoks prob varlığında alınan voltamogramların çakıştırılmış görüntüsü.



Şekil 5.11 NOTEPE/GC elektrot yüzeyinin indirgenme sonrasında 0, 15, 30, 45, 60, 75 ve 90 dakika asetonitril sonikatör ortamında bekletilmesi ile HCF II/III redoks prob varlığında alınan voltamogramların çakıştırılmış görüntüsü.

6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Yüksek lisans tez çalışması olarak planlanan bu çalışma ile organik ve inorganik moleküllerin analizleri için hedeflenen amperometrik tayinler BAP desteğinin yeterli miktarda alınamaması nedeniyle gerçekleştirilememiştir. Ancak, Anadolu Üniversitesi, Eczacılık fakültesi öğretim üyesi Doç. Dr. Yusuf Özkay tarafından yeni sentezlenmiş olan ve NOTEP olarak kısaltılan molekülün elektrokimyasal davranışlarının ve özelliklerinin farklı bir takım elektrokimyasal ve mikroskobik tekniklerle aydınlatılmış olması, kararlılık testlerinin farklı ortamlarda başarılı bir biçimde ortaya konulması yüksek lisans çalışması olarak bu çalışmayı yeterli kılmıştır. Maddi yeterlilikler sağlandığında çalışmanın başlangıcında hedeflenen amperometrik tayinler başarılı bir biçimde elde edilen ve kararlılık testleri olumlu olan NOTEP/GC sensör elektrot kullanılarak yapılmaya çalışılacaktır.



KAYNAKLAR

- Akçay B. K., 2015, “Yüksek Lisans Tezi”, Atatürk Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü ivabradin etkin maddesinin elektrokimyasal davranışlarının incelenmesi ve voltametrik yöntemler ile Tayini, Erzurum (Sayfa: 15-16)
- Almas F. Memon, Amber R. Solangi, Saima Q. Memon, Arfana Mallah, Najma Memon, Ayaz A. Memon, 2017, Food Anal. Methods, 10, 83-91
- Attar A., Cubillana-Aguilera L., Naranjo-Rodriguez I., Hidalgo-Hidalgo de Cisneros J.L., Palacios-Santander J.M., Amine A., 2015, Bioelectrochemistry, 101, 84-91
- Baş S. Z., 2011 “Doktora Tezi”, Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Ksantin Tayini İçin Amperometrik Enzim Elektrotlarının Geliştirilmesi, Konya (Sayfa 2-16)
- C. Terashima, Tata N. Rao, B. V. Sarada, D. A. Tryk, and A. Fujishima, 2002, Anal. Chem. 74, 895-902
- Cheng Y., Liu Y., Huang J., Li K., Xian Y., Zhang W., Jin L., 2009, Electrochimica Acta, 54, 2588–2594
- Çil B., 2014, “Yüksek Lisans Tezi”, Giresun Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü fenollere duyarlı potansiyometrik mikro biyosensörler ve uygulamalar, Giresun (Sayfa 47)
- Erdem C., 2012, “Yüksek Lisans Tezi”, Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Glukoz Tayini İçin Nikel Oksit Modifiye Karbon Pasta Elektrotların Hazırlanması, Ankara (Sayfa: 20-23)
- Gholivand M.B., Khodadadian M., 2014, Biosensors and Bioelectronics, 53, 472–478
- Christopher B. Jacobs¹, M. Jennifer Peairs¹, B. Jill Venton, 2010, Analytica Chimica Acta 662, 105–127
- Gökdoğan Ö., 2011, “Doktora Tezi” Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Lisin Tayini İçin Yeni Amperometrik Biyosensörlerin Hazırlanması, Konya (Sayfa 1-5)
- Karabudak F., 2013, “Yüksek Lisans Tezi”, Erciyes Üniversitesi Eczacılık Fakültesi, Voltametrik Yöntemler Ve Uygulamaları, Kayseri (Sayfa:10)
- Liang Sun C., Hsien Lee H., Ming Yang J., Chou Wu C., 2011, Biosensors and Bioelectronics., 26, 3450-3455
- Mülazımoğlu, İ. E., 2008, “Doktora Tezi”, Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Camsı karbon elektrot yüzeyine çeşitli flavonoid türevlerinin modifikasyonu, yüzey karakterizasyonun, elektrokimyasal ve spektroskopik özelliklerinin incelenmesi, Konya (Sayfa 39-45, 91-95)

- PavlaMacikova,¹ Vladimir Halouzka,² Jan Hrbac,² Petr Bartak,¹ and Jana Skopalova, 2012, The ScientificWorld Journal, 394756, 9 sayfa
- Pavla Macikova, Jan Hrbac, Vladimir Halouzka, Jana Skopalova, 2010, J Biochem Tech., 2(5), S20-S21
- Pournaghi-Azar M.H., Saadatirad A., 2008, Journal of Electroanalytical Chemistry 624, 293-298
- Rajech, Bisht V., Takashima W., Kaneto K., 2005, Biomaterials, 26, 3683-3690
- Shimomura T., Itoh. T., Sumiya T., Hanaokab T., Mizukamia F., Onoa M., 2011, Sensors and Actuators B, 153, 361–368
- Sangeetha N.S., Sriman Narayanan S., 2014, Analytica Chimica Acta, 828, 34–45
- Tanimoto de Albuquerque Y.D., Ferreira L.F., 2007, Analytica Chimica Acta, 596 , 210–221
- Tekin S., 2008, “Yüksek Lisans Tezi”, Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü platin elektrot yüzeylerine tutturulmuş organik moleküllerin elektrokimyasal tekniklerle pKa değerlerinin tayini , Ankara (Sayfa: 2-22)
- Tsai Y.C., Chiu C. C., 2007, Sensors and Actuators B, 125 , 10–16
- Unnikrishnan B., Palanisamy S., Chen S.M., 2013 , Biosensörs and Bioelectronics, 39, 70-75
- Wang P., Liu M., Kan J., 2009, Sensors and Actuators B, 140, 577–584
- Yin H., Cui L., Chen Q., Shi W., Ai S., Zhu L., Lu L., 2011, Food Chemistry., 125, 1097-103. Arvand M., Chaibakhsh N., Daneshvar S., 2015, Food Anal. Methods, 8, 1911–192
- Zhang X., Lai G., Yu A., Zhang H., 2013, Microchim Acta , 180, 437–443
- Zhong H., Yuan R., Chai Y., Zhang Y., Wang C., Jia F., 2012, Microchim Acta, 176, 389-395
- Zhang Y., Zhao Y., Yuan S., Wang H., He C., 2013, Sensors and Actuators B: Chemical, 185, 602-607
- Zhou Y., Zhi Fang J., 2006, Science Direct 8, 1811-1816
- Zhengkun Xie, Gaiping Li., Yamin Fu, Mengjiao Sun, Baoxian Ye, 2017, Talanta, 165, 553-562
- Zeybek D. K., 2010, “Doktora Tezi”, Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kolesterolün ve Fenolik Bileşiklerin Tayini İçin Amperometrik Enzim Elektrotların Hazırlanması, Ankara (Sayfa:1, 44-46)

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı : Bekir ÇETİN
Uyruğu : T.C
Doğum Yeri ve Tarihi : Hoyran, 1964
Telefon : 05362899453
Faks :
e-mail : kimya_bekir@hotmail.com

EĞİTİM

Derece	Adı, İlçe, İl	Bitirme Yılı
Lise	: Beyşehir Lisesi, Beyşehir, Konya	1981
Üniversite	: Orta Doğu Teknik Üniversitesi, Ankara	1991
Yüksek Lisans	: Necmettin Erbakan Üniversitesi, Meram, Konya	2018

İŞ DENEYİMLERİ

Yıl	Kurum	Görevi
1991-1992	Özel Gündoğdu Lisesi	Kimya öğretmeni
1992-1995	Bingöl Anadolu Lisesi	Kimya öğretmeni
1995-2000	Kulu Anadolu Lisesi	Kimya öğretmeni
2000-2007	Karatay Toki Anadolu Lisesi	Kimya öğretmeni
2007-	Konya Lisesi	Kimya öğretmeni

UZMANLIK ALANI

Analitik Kimya

YABANCI DİLLER

İngilizce