

**GRAFİT ELEKTROT ÜZERİNDE
ELEKTROPOLİMERİZASYON İLE POLİANİLİN
KOPOLİMERLERİNİN SENTEZİ, KARAKTERİZASYONU
VE AMPEROMETRİK BİYSENSÖR OLARAK
UYGULAMASI**

**SYNTHESIS, CHARACTERIZATION, AND APPLICATION
AS AN AMPEROMETRIC BIOSENSOR OF POLYANILINE
COPOLYMERS ELECTROPOLYMERIZED ON GRAPHITE
ELECTRODE**

HÜRKAN ÇATALKAYA

Hacettepe Üniversitesi

Lisansüstü Eğitim – Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin

KİMYA Mühendisliği Anabilim Dalı İçin Öngördüğü

YÜKSEK LİSANS TEZİ

olarak hazırlanmıştır.

KABUL VE ONAY

Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü'ne,

Bu çalışma jürimiz tarafından **KİMYA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI** 'nda **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Başkan :.....
Prof. Dr. Tülin Kutsal

Üye (Danışman) :.....
Prof. Dr. Selma Mutlu

Üye :.....
Prof. Dr. Kadir Pekmez

Üye :.....
Prof. Dr. Menemşe Gümüşderelioğlu

Üye :.....
Prof. Dr. İsmail Hakkı Boyacı

ONAY

Bu tez/02/2011 tarihinde Enstitü Yönetim Kurulunca kabul edilmiştir.

Prof.Dr. Adil Denizli
Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

GRAFİT ELEKTROT ÜZERİNDE ELEKTROPOLİMERİZASYON İLE POLİANİLİN KOPOLİMERLERİNİN SENTEZİ, KARAKTERİZASYONU VE AMPEROMETRİK BİYSENSÖR OLARAK UYGULAMASI

HürkanÇatalkaya

ÖZ

Sunulan çalışmada, medyatör türlerinden N,N-Dimetilaminometil ferrosenin (DMAMFc) katalitik olarak yükseltgenmesini nötral ortamda sağlayan ve enzimin kovalent immobilizasyonuna uygun primer amin fonksiyonel gruplu polianilin türevlerinin elektrokimyasal sentezi hedeflenmiştir. Tez kapsamında kopolimerlerin sentezi, karakterizasyonu ve biyosensör olarak uygulaması çalışmaları sunulmuştur.

Bu amaçla, farklı oranlarda ortanilik asit (*o*-ASA) ve 2-aminobenzilamin (2-ABA) içeren sulu çözeltilerin elektrolit olarak perklorik asit varlığında kopolimerizasyonu, döngülü potansiyel taraması (CV) ile grafit elektrot yüzeyinde gerçekleştirilmiştir. Kopolimerlerin elektrokimyasal karakterizasyonu, alınan CV grafikleri ile değerlendirilmiştir. Nötral ortamda DMAMFc'nin redoks reaksiyonlarını katalizleme etkinlikleri de elde edilen CV voltamogramları incelenerek değerlendirilmiştir.

Polianilin ile kopolimerlere ait CV voltamogramları karşılaştırıldığında, kopolimerler için birinci redoks prosesine ait pik potansiyelinde anodik, ikinci redoks prosesine ait pik potansiyelinde ise katodik kayma görülmüştür. Ayrıca, sentez ortamında kullanılan ortanilik asit miktarının artışıyla birlikte, hem kopolimerizasyon hızında hem de elde edilen kopolimer filmlerin katalitik DMAMFc oksidasyon etkinliğinde artış görülmüştür. Ag/AgCl referans elektroda göre, kopolimer film yüzeylerinde DMAMFc'nin yükseltgenme potansiyeli 0.42 V, indirgenme potansiyeli ise 0.30 V olarak belirlenmiştir. Ayrıca elektropolimerizasyon ortamında kullanılan monomer oranlarının bu değerlerde bir değişikliğe neden olmadığı gözlenmiştir.

Grafit elektrot yüzeyinde sentezlenen kopolimer filmlere, model enzim olarak glukoz oksidaz (GOx) immobilizasyonu gerçekleştirilerek, glukoz biyosensörü uygulaması yapılmıştır. Kopolimer filmlere adsorplanan DMAMFc miktarlarında, elektropolimerizasyonda kullanılan monomer oranlarının doğrudan etkili olduğu ve

glukoza karşı alınan biyosensör cevabını etkilediği gözlenmiştir. Filmlere adsorplanan DMAMFc'in medyatör olarak kullanıldığı biyosensörde glukoza karşı alınan cevaplar 0.40 V potansiyel altında ölçülmüştür. Yüksek oranda ortanilik asit kullanılarak sentezlenen kopolimer film (*o*-ASA/2-ABA-36:1) ile 10 mM glukoza kadar doğrusal ölçüm aralığı ve 32.8 nA/mM hassasiyet elde edilmiştir. Sistematik bir biçimde 2-aminobenzilamin miktarı arttırılıp ortanilik asit azaltıldığında, doğrusal ölçüm aralığı artarken hassasiyet azalmıştır. *o*-ASA/2-ABA oranı 3.1:1 iken doğrusal ölçüm aralığı 15 mM glukoz, hassasiyet 8.2 nA/mM ve *o*-ASA/2-ABA oranı 1.18:1 iken doğrusal ölçüm aralığı 20 mM, hassasiyet 3.5 nA/mM olarak belirlenmiştir.

Son olarak hazırlanan kopolimerlerin yüzeyleri AKM, SEM ve ATR/FT-IR teknikleri ile topografik ve kimyasal olarak karakterize edilmiştir.

Bu çalışmada, nötral ortamda iletkenlik özelliği göstermeyen polianilin, uygun anilin türevleri ile elde edilen kopolimerinde iletkenliğinin arttırılabileceği, ferrosen türevi medyatörlerin katalitik yükseltgeme özelliklerinin geliştirilebileceği ve biyosensörlerde kullanılabileceği gösterilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Polianilin, sülfone polianilin, ortanilik asit (*o*-aminobenzen sülfonik asit), 2-aminobenzilamin, kopolimer, N,N-Dimetilaminometil ferrosen, biyosensör, glukoz oksidaz

Danışman: Prof. Dr. Selma MUTLU, Hacettepe Üniversitesi, Kimya Mühendisliği Bölümü

SYNTHESIS, CHARACTERIZATION, AND APPLICATION AS AN AMPEROMETRIC BIOSENSOR OF POLYANILINE COPOLYMERS ELECTROPOLYMERIZED ON GRAPHITE ELECTRODE

Hürkan Çatalkaya

ABSTRACT

In this study, electrochemical synthesis of polyaniline derivatives providing catalytic oxidation of N,N-Dimethylaminomethyl ferrocene (DMAMFc) among mediator derivatives in neutral medium and bearing amine functionality for covalent immobilization of enzyme is aimed. The synthesis, characterization and application as a biosensor of copolymers are presented within the scope of this thesis.

For this purpose, copolymerization of aqueous solutions consisting of different proportions of orthonilic acid (*o*-ASA) and 2-aminobenzylamine (2-ABA) on graphite electrode has been carried out in the presence of perchloric acid electrolyte with cyclic voltammetry. Electrochemical characterization of copolymers are evaluated using obtained CV graphs. The efficiency of copolymers to catalyze redox reactions of DMAMFc in neutral media (pH7) is investigated by the obtained CV voltammograms.

Comparing CV voltammograms of polyaniline and copolymer, an anodic shift is observed for the peak potential of the first redox process and cathodic shift is observed for the peak potential of the second redox process with respect to polyaniline. Besides, along with the increase of orthonilic acid concentration in synthesis medium, there has been observed an increase both in copolymerization rate and catalytic DMAMFc oxidation efficiency of obtained copolymer films. Oxidation and reduction potentials of DMAMFc on copolymer film surfaces is determined as 0.42 V and 0.30 V versus Ag/AgCl reference electrode. It is also observed that the monomer ratios used in electropolymerization medium do not cause shift in those oxidation and reduction potentials.

After the immobilization of glucose oxidase (GOx) as a model enzyme, the performance of copolymer films synthesized on graphite electrode surface is examined as an anode in a glucose biosensor. It is observed that monomer ratios

used in electropolymerization is directly effective both in the amount of adsorbed DMAMFc on copolymer films and in biosensor response taken against glucose. The responses taken against glucose by biosensor utilizing adsorbed DMAMFc on films as mediator are measured under 0.40 V potential. Linear measurement range up to 10 mM glucose with 32.8 nA/mM sensitivity is obtained with copolymer film synthesized using high ratios of orthanilic acid. Systematically, when 2-aminobenzylamine ratio is increased and orthanilic acid is decreased, sensitivity is decreased while linear measure range is increased. It is defined as it follows: while *o*-ASA/2-ABA ratio is 3.1:1, linear range of measurement is 15 mM glucose with 8.2 nA/mM sensitivity and while *o*-ASA/2-ABA ratio is 1.18:1, linear range of measurement is 20 mM with 3.5 nA/mM sensitivity.

Ultimately, the surface of prepared copolymers are characterized topographically and chemically by AFM, SEM and ATR/FT-IR techniques.

In this study, it is concluded that polyaniline which is non-conductive in neutral medium can be used in biosensors via the improved conductivity in copolymers obtained from suitable aniline derivatives and the enhancement of catalytic oxidation properties of polyaniline on ferrocene derivative mediators.

Keywords: Polyaniline, sulfonated polyaniline, orthanilic acid (*o*-aminobenzen sulfonic acid), 2-aminobenzylamine, copolymer, N,N-Dimethylaminomethyl ferrocene, biosensor, glucose oxidase

Supervisor: Prof. Dr. Selma MUTLU, Hacettepe University, Chemical Engineering Department

TEŞEKKÜR

Akademik yolda ilerlemeye başladığım ilk günden bu yana ulaşmak istediğim hedefleri belirlemede ve bu hedefleri gerçekleştirme süreçlerinde bana yol gösterici olan, edindiğim saf bilgiyi gerçekte buluşturma yeteneğini bana kazandıran, bilgisini, tecrübesini ve desteğini esirgemeyen tez danışmanım Değerli Hocam Sayın Prof. Dr. Selma Mutlu' ya,

Engin bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım, gerektiğinde teknik destek ve yardımlarını esirgemeyen Prof. Dr. Kadir Pekmez ve Prof. Dr. Suna Timur'a,

Bu tezin başlangıcından tamamlandığı güne kadar varlığı her zaman moral ve güven veren dostum, ablam ve hocam Ceyda Pabucçu'ya,

Geriye dönüp baktığımda keyifle hatırlanacak bilimsel tartışmalara girdiğimiz dostum Yasin Şen'e,

Aynı laboratuvarı paylaştığım arkadaşım Oğulcan Evirgen'e; pek çok konuda fikirlerine ve deneyimlerine başvurduğum ve desteklerini hep yanımda hissettiğim Tolga Şirin, Ebru Akdoğan ve Soner Çakmak'a;

Hayal gücü, zekası ve çalışkanlığına duyduğum hayranlık yorulduğum anlarda bana ilham kaynağı olan, teknolojinin bu günlere gelmesini sağlayan, bilim adına yaptıkları hiçbir zaman yeterli takdiri alamamış Nikola Tesla'ya,

Tez çalışmam boyunca yardımlarını ve desteklerini esirgemeyen değerli dostlarıma ve en önemlisi attığım her adımda ilgi, sabır ve her türlü desteğiyle yanımda olan, en zor şartlarda bile varlıklarından aldığım güç ile dimdik ayakta durduğum ailem, annem, kardeşim ve artık aramızda olmayan babama teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER DİZİNİ

Sayfa

ÖZ	i
ABSTRACT	iii
TEŞEKKÜR.....	v
İÇİNDEKİLER DİZİNİ	vi
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ	x
ÇİZELGELER DİZİNİ	xiv
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	4
2.1. İletken Polimerler.....	4
2.1.1. Elektriksel İletkenlik.....	6
2.1.2. İletken Polimerlerde İletkenlik Mekanizması ve Katkılamanın Rolü ..	7
2.1.3. İletken Polimerlerin Katkılanması (Dopingi)	10
2.1.3.1. Kimyasal Katkılama.....	11
2.1.3.2. Elektrokimyasal Katkılama	12
2.1.3.3. Foto Katkılama	12
2.2. İletken Polimerlerin Sentezi	13
2.2.1. Kimyasal Polimerizasyon Mekanizması	14
2.2.2. Elektrokimyasal Polimerizasyon.....	15
2.3. İletken Polimerlerin Potansiyel Kullanım Alanları	16
2.3.1. Korozyon Koruma	16
2.3.2. Enerji Depolama ve Fotovoltaikler	17
2.3.3. Görüntü Teknolojileri ve Elektrokromik Aletler	18
2.3.4. Kontrollü Salınım Sistemleri	19
2.3.5. RADAR Uygulamaları	19
2.3.6. Biyosensör Uygulamaları	20
2.4. Polianilin	22
2.4.1. Anilin Elektropolimerizasyonu	25
2.4.2. Polianilin Türevleri.....	27
2.4.2.1. Sülfolanmış Polianilin	27
2.4.2.2. Karboksilik Asit Fonksiyonel Polianilin	29
2.4.2.3. Primer Amin Fonksiyonel Polianilin	30

2.5. Enzimler	31
2.5.1. Oksidaz Enzimleri	32
2.5.1.1. Glukoz Oksidaz	32
2.6. Biyosensörler.....	33
2.6.1. Biyosensör Türleri	35
2.6.1.1. Amperometrik Biyosensörler	36
2.6.1.2. Potansiyometrik Biyosensörler	36
2.6.1.3. Kondüktometrik Biyosensörler.....	37
2.6.1.4. Optoelektronik Biyosensörler	37
2.6.1.5. Kalorimetrik Biyosensörler.....	38
2.6.1.6. Piezoelektrik Biyosensörler	38
2.7. Amperometrik Biyosensörlerde Elektron Transfer Mekanizmaları	39
2.7.1. Direk Elektron Transferi (DET).....	39
2.7.2. Medyatörlü Elektron Transferi (MET).....	40
2.8. Enzim İmmobilizasyonu	42
2.8.1. Enzim İmmobilizasyonu Yöntemleri	44
2.8.1.1. HapsetmeYöntemi.....	44
2.8.1.2. Adsorpsiyon	45
2.8.1.3. Kovalent Bağlama	46
2.8.1.4. Çapraz Bağlama	49
2.9. Elektrokimyasal Ölçümler.....	51
2.9.1.1. Dönüşümlü Voltametri.....	51
2.9.1.2. Kronoamperometri	52
2.10. YüzeYKarakterizasyonu	53
2.10.1. Atomik Kuvvet Mikroskobu (AFM)	53
2.10.2. Fourier Transform Infared Spektroskopisi (FTIR)	54
2.10.3. Taramalı Elektron Mikroskopisi (SEM)	55
3. DENEYSEL ÇALIŞMALAR.....	56
3.1. Kullanılan Malzemeler	57
3.1.1. Kimyasal Maddeler	57
3.1.2. Deney Sistemleri.....	58
3.2. Elektrot YüzeY Modifikasyonu.....	58
3.3. Ortanilik Asit/2-Aminobenzilamin Kopolimerlerin Sentezi.....	59
3.3.1. N,N-Dimetilaminometil Ferrosen (DMAMFc) Adsorpsiyonu	61
3.3.2. Enzim İmmobilizasyonu	62
3.4. Elektrot Karakterizasyonu ve Performans Çalışmaları	63

3.4.1.	İletken Polimer Filmlerin Elektrokimyasal Karakterizasyonu	63
3.4.1.1.	Polimer Filmlerin Elektrokimyasal Davranışına pH Etkisinin İncelenmesi	64
3.4.1.2.	Modifiye Elektrot Yüzeylerinde Katalitik DMAMFc Oksidasyonu	65
3.5.	Enzim Elektrotların Performans Çalışmaları	66
3.6.	Elektrot Yüzeylerinin Fiziksel ve Kimyasal Karakterizasyonu	67
3.6.1.	Fourier Transform Kızılötesi Spektroskopisi (FTIR) Analizi	67
3.6.2.	Atomik Kuvvet Mikroskobu (AFM) Analizi	67
3.6.3.	Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) Analizi	67
4.	DENEYSEL SONUÇLAR VE TARTIŞILMASI	68
4.1.	Ortanilik Asit/2-Aminobenzilamin Kopolimerlerin Sentezi	70
4.1.1.	Plym-1'in Elektrokimyasal Sentezi	72
4.1.2.	Plym-2'nin Elektrokimyasal Sentezi	73
4.1.3.	Plym-3'ün Elektrokimyasal Sentezi	75
4.1.4.	Polianilin'in Elektrokimyasal Sentezi	77
4.2.	Farklı pH Ortamında Polimer Filmlerin Elektrokimyasal Davranışı	78
4.3.	Modifiye Elektrot Yüzeylerinde Katalitik DMAMFc Oksidasyonu	85
4.3.1.	Modifiye Yüzeyle Adsorplanmış DMAMFc Miktarının Tayini	88
4.4.	Kopolimerlerin Glukoz Oksidaz Tabanlı Biyosensör Uygulaması	92
4.4.1.	Plym-1 ile Hazırlanan Enzim Elektrodun Performansının İncelenmesi	93
4.4.2.	Plym-2 ile Hazırlanan Enzim Elektrodun Performansının İncelenmesi	96
4.4.3.	Plym-3 ile Hazırlanan Enzim Elektrodun Performansının İncelenmesi	98
4.4.4.	Kopolimerler ile Hazırlanan Glukoz Biyosensörlerinin Kalibrasyonu ...	99
4.5.	Elektrot Yüzeylerinin Karakterizasyonu	101
4.5.1.	Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) Analizleri	101
4.5.2.	Atomik Kuvvet Mikroskobu (AFM) Analizleri	104
4.5.3.	Fourier Transform Kızılötesi Spektroskopisi (FTIR) Analizleri	107
5.	GENEL SONUÇLAR	112
KAYNAKLAR DİZİNİ	115	
ÖZGEÇMİŞ	124	

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

2-ABA	: 2-Aminobenzilamin
DET	: Direk Elektron Transferi
DMAMFc	: N,N-Dimetilaminometil Ferrosen
$E_{p, ind}$: İndirgenme Potansiyeli
$E_{p, yük}$: Yükseltgenme Potansiyeli
FTIR	: Fourier Transform Kızılötesi Spektroskopisi
GA	: Glutaraldehit
GOx	: Glukoz Oksidaz
I	: Akım (A)
MET	: Medyatorlü Elektron Elektron Transferi
o-ASA	: Ortanilik asit
PAn	: Polianilin
PBS	: Potasyum Fosfat Tamponu
PPy	: Polipirol
PTh	: Politiyofen
SEM	: Taramalı Elektron Mikroskopisi
SPAN	: Sülfolanmış Polianilin
V	: Potansiyel (Volt)
Γ_{DMAMFc}	: Yüzey N,N-Dimetilaminometil Ferrosen Konsantrasyonu (mol/cm^2)

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa

Şekil 2.1.	Bazı iletken polimer türleri ve iletkenlik değerleri.....	5
Şekil 2.2.	Metallere karşı yarı iletkenlerdeki şematik enerji spekturumu	7
Şekil 2.3.	Poliasetilen zincirden elektron uzaklaştırılması ile radikal katyon (polaron) oluşumu (a→b). Polaronun yer değiştirmesi (c→e).....	9
Şekil 2.4.	İzomerizasyon sonucu soliton oluşumu (a→b). Komşu elektronla eşleşen solitonun hareketi (b→e).....	9
Şekil 2.5.	İntersoliton sıçraması. Nötral solitonlar (üst) hareketli, yüklü solitonlar ise karşı iyonlar tarafından hapsedilmiştir (alt). Birbirine yakın iki soliton etkileşirse elektron transferi meydana gelmektedir.	10
Şekil 2.6.	Foto katkılama ile pozitif ve negatif solitonların oluşumu.....	13
Şekil 2.7.	Pirolün kimyasal polimerizasyonu	14
Şekil 2.8.	Pirol zincirlerinin olası kimyasal yapısı	15
Şekil 2.9.	Polimer fotovoltaj aygıtlar için cihaz tasarımı.....	17
Şekil 2.10.	İletken polimerlerin PLED ve akıllı cam uygulamaları.....	18
Şekil 2.11.	İletken polimer matrislerin biyosensörlerde çevirici olarak kullanımı	21
Şekil 2.12.	Polianilin Genel Polimer Yapısı ve Redoks Formları	22
Şekil 2.13.	Polianilin iletken emeraldin tuz formunu oluşturmak üzere emeraldin bazının protonlar ile katkılanması (polaron latis)	24
Şekil 2.14.	Polianilin Elektropolimerizasyonu	26
Şekil 2.15.	Sülfolanmış Polianilin (SPAN)	27
Şekil 2.16.	2-aminotereftalik asit, o-aminobenzoik asit ve anilin monomerleri.....	29
Şekil 2.17.	Enzim katalizörün reaksiyon serbest enerjisi üzerindeki etkisi	31
Şekil 2.18.	Flavin adenin dinükleotit üzerinden hidrojen transferi.....	33
Şekil 2.19.	Biyosensör elemanları.....	34
Şekil 2.20.	Elektrot yüzeyinde enzim yönelmesi	40
Şekil 2.21.	Enzim redoks merkezi ile sentetik yöntemlerle DET mekanizması....	40
Şekil 2.22.	Enzim ve elektrot arasında MET mekanizması	41

Şekil 2.23.	Medyatörler ile modifiye edilmiş redoks enzimleri	42
Şekil 2.24.	(a) mikrokapsül, (b) yarı-geçirgen membran ve (c) matriks içerisine enzim hapsedilmesi.....	44
Şekil 2.25.	Katı yüzeye enzim adsorpsiyonu.....	45
Şekil 2.26.	Katı desteğe kovalent bağlanmış enzimlerin şematik gösterimi	46
Şekil 2.27.	Enzimlerin (a) siyanojen bromür, (b) karbodiimid ve (c) 3-aminopropil alkoksilan ile kovalent bağlanması.....	48
Şekil 2.28.	Enzimlerin birbirine ve katı desteğe çapraz bağlanması	49
Şekil 2.29.	Glutaraldehit ile enzimlerin amino gruplarının çapraz bağlanması	50
Şekil 2.30.	Dönüşümlü voltametri prensibi	51
Şekil 2.31.	Potansiyel değişimine bağlı olarak akımın zamanla değişimi	52
Şekil 2.32.	AKM' de yüzey analizinin şematik gösterimi.....	53
Şekil 2.33.	AKM'nin parçaları (A) ve tipe etkiyen yatay-dikey kuvvetler (B)	54
Şekil 3.1.	Elektrokimyasal Potansiyostat-Galvanostat Cihazı ve C3 Hücre Standı	60
Şekil 3.2.	Elektrokimyasal çalışma istasyonuna bağlı üçlü elektrot sistemi.....	64
Şekil 4.1.	Grafit elektrodun 1.0 M H ₂ SO ₄ içerisindeki dönüşümlü voltamogramı	70
Şekil 4.2.	Plym-1'in elektropolimerizasyonuna ait dönüşümlü voltamogramlar .	72
Şekil 4.3.	Plym-2'nin elektropolimerizasyonuna ait dönüşümlü voltamogramlar	73
Şekil 4.4.	Plym-3'ün elektropolimerizasyonuna ait dönüşümlü voltamogramlar	75
Şekil 4.5.	PAn elektropolimerizasyonuna ait dönüşümlü voltamogramlar	77
Şekil 4.6.	Plym-1'in farklı pH'larda elde edilmiş dönüşümlü voltamogramlar (pH 1: 0.1 M HCl+0.1 M KCl, pH 4: 1.0 M PBS, pH 7: 0.1 M PBS) ...	79
Şekil 4.7.	Plym-2'nin farklı pH'larda elde edilmiş dönüşümlü voltamogramlar (pH 1: 0.1 M HCl+0.1 M KCl, pH 4: 1.0 M PBS, pH 7: 0.1 M PBS) ...	80
Şekil 4.8.	Plym-3'ün farklı pH'larda elde edilmiş dönüşümlü voltamogramlar (pH 1: 0.1 M HCl+0.1 M KCl, pH 4: 1.0 M PBS, pH 7: 0.1 M PBS) ...	81
Şekil 4.9.	PAn'ın farklı pH'larda elde edilmiş dönüşümlü voltamogramlar (pH 1: 0.1 M HCl+0.1 M KCl, pH 4: 1.0 M PBS, pH 7: 0.1 M PBS)	82
Şekil 4.10.	Sentezlenen filmlerin alınan döngülü voltamogramlarında tarama hızı ile pik akımının ilişkisi (a) Plym-1, (b) Plym-2, (c) Plym-3 ve (d) PAn	84

Şekil 4.11. Sentezlenen filmlerin 5 mM DMAMFc içerisinde alınmış dönüşümlü voltamogramları (pH 7 1.0 M PBS). Tarama Hızı: 20 mV.s ⁻¹	86
Şekil 4.12. SPAN'da sülfonik asit grubuna ferrosen adsorpsiyonu.....	88
Şekil 4.13. Adsorpsiyon çözeltisindeki DMAMFc konsantrasyonu vs. Plym-1 yüzey DMAMFc konsantrasyonu.....	89
Şekil 4.14. Adsorpsiyon çözeltisindeki DMAMFc konsantrasyonu vs. Plym-2 yüzey DMAMFc konsantrasyonu.....	90
Şekil 4.15. Adsorpsiyon çözeltisindeki DMAMFc konsantrasyonu vs. Plym-3 yüzey DMAMFc konsantrasyonu.....	91
Şekil 4.16. Kopolimerlere ait Γ_{DMAMFc} - çözelti DMAMFc konsantrasyonu grafiği	91
Şekil 4.17. GOx ve grafit elektrot arasındaki reaksiyonların şematik gösterimi ...	92
Şekil 4.18. Farklı DMAMFc miktarları için Plym-1 ile hazırlanan glukoz sensörünün glukoz karşı cevap grafiği	94
Şekil 4.19. Yüzey DMAMFc konsantrasyonunun Plym-1'in biyosensör cevabına etkisi	95
Şekil 4.20. Farklı DMAMFc miktarları için Plym-2 ile hazırlanan glukoz sensörünün glukoz karşı cevap grafiği	96
Şekil 4.21. Yüzey DMAMFc konsantrasyonunun Plym-2'nin biyosensör cevabına etkisi	97
Şekil 4.22. Farklı DMAMFc miktarları için Plym-3 ile hazırlanan glukoz sensörünün glukoz karşı cevap grafiği	98
Şekil 4.23. Yüzey DMAMFc konsantrasyonunun Plym-3'ün biyosensör cevabına etkisi	99
Şekil 4.24. Plym-1, Plym-2 ve Plym-3 ile hazırlanan sensörlerin kalibrasyon grafiği	100
Şekil 4.25. Plym-1'e ait taramalı elektron mikroskobu görüntüleri.....	101
Şekil 4.26. Plym-2'ye ait taramalı elektron mikroskobu görüntüleri	102
Şekil 4.27. Plym-3'e ait taramalı elektron mikroskobu görüntüleri.....	102
Şekil 4.28. PAn'a ait taramalı elektron mikroskobu görüntüleri	102
Şekil 4.29. Modifiye edilmemiş (a) ve Plym-1 modifiye (b) grafit yüzeye ait AKM görüntüleri	104
Şekil 4.30. Plym-2 (c), Plym-3 (d) ve PAn (e) modifiye grafit yüzeylere ait AKM görüntüleri	105

Şekil 4.31. Plym-1 (a), Plym-2 (b), Plym-3 (b) ve PAn(d) filmlere ait ATR/FT-IR spektrumları..... 109

ÇİZELGELER DİZİNİ

Sayfa

Çizelge 3.1. Elektropolimerizasyonda kullanılan monomer konsantrasyonları	60
Çizelge 4.1. DMAMFc'nin Sentezlenen Polimerlerde İndirgenme-Yükseltgenme Potansiyelleri	87

1. GİRİŞ

Polimerler birbirini tekrar eden genellikle kovalent kimyasal bağlarla birbirine bağlanmış yapısal birimlerden oluşan makro moleküllerdir. Popüler biçimde plastik olarak kullanım alanı bulmalarına karşın, polimer terimi aslında çok çeşitli özellikleri olan doğal ve sentetik malzemeleri tanımlamaktadır. Polimerlerin en belirgin özelliklerinden biri yalıtkan olmalarıdır. Sahip oldukları dielektrik özellikten dolayı elektriksel yalıtımın sağlanması için araştırılıp geliştirilen malzemeler arasında ilk sırayı almaktadırlar. Yalıtkan özellikleri nedeniyle genellikle insanların elektrikle doğrudan temasını önlemek amacıyla bakır kabloların kaplanması ve elektrikli aletlerin dış yapısında kullanılmaktadırlar.

Konvansiyonel polimerlerin bu yalıtkan özelliğine karşın 1977'de A. MacDiarmid, A. Heeger ve H. Shirakawa tarafından poliasetilenin keşfedilmesi polimerlerin de iletken olabileceğini göstermiştir. Bu keşif ile araştırmacılar iletken polimer çalışmalarına yoğun bir ilgi göstermiştir. Daha sonraki çalışmalarda polianilin, politiyofen, polipirol ve daha birçok iletken polimer hem kimyasal hem de elektrokimyasal yöntemlerle sentezlenmiş, iletkenlik mekanizmaları açıklanmıştır.

İletken polimerler elektriksel, elektronik, manyetik ve optik özellikleri açısından metallere benzeyen, aynı zamanda sahip oldukları mekanik özellikler (esneklik, dayanıklılık, elastikiyet, biçimlendirilebilirlik, işlenebilirlik) nedeniyle polimerik özellik gösteren sentetik metallerdir. Enerji depolama, polimer fotovoltailer, kontrollü salım sistemleri, elektrokromik aletler, görüntü teknolojileri (OLED), korozyon koruma, biyomedikal teknolojiler ve biyosensör uygulamaları gibi farklı birçok alanda kullanım potansiyeline sahip iletken polimerler akıllı malzemeler olarak isimlendirilmektedir.

Bu çalışmada, iletken polimerlerin biyosensör uygulaması için elektrot tasarımında kullanımı sunulmuştur. Biyosensörler, temel olarak iki kısımdan oluşan ölçüm aletleridir. Biyoreseptör ve fizikokimyasal çevirici (transducer) olarak tanımlanan bu kısımlardan biyoreseptör, analit ile spesifik biyokimyasal etkileşimlere dayanan tanıma mekanizması sunar. Çevirici ise biyokimyasal reaksiyon sonucu oluşan

hedef moleküller ile fizikokimyasal etkileşimlere girerek takip edilebilen, kaydedilebilen veya bilgi veren elektronik sinyaller oluşturur.

Elektrokimyasal dönüşüme dayalı bir biyosensörün fizikokimyasal reaksiyonların gerçekleştiği çevirici kısım, genellikle tanıyıcı biyomolekülün immobilize edildiği bir polimer ile hazırlanır. Bu polimer, elektrokimyasal yükseltgenme/indirgenme reaksiyonlarının olduğu ve elektron transfer mekanizmalarının yer aldığı iletken özellikte bir polimer olmalıdır.

İletken bir polimer olan polianilin, yapısındaki N heteroatomunun doğrudan polimerizasyonda ve konjugasyonda yer alması, katkılanmasında protonların önemli role sahip olması özellikleriyle diğer iletken polimerler ile karşılaştırıldığında onu özel kılmaktadır. Ayrıca, iyi stabilitesi, mükemmel redoks çevrimselliği, düşük maliyeti ve kolay sentezinin yanında, elektrokimyasal, optik ve elektrokromik özellikleri ile de ilgi çekmektedir. Ancak, polianilinin nötral ortamda iletkenliğini deprotonasyon yüzünden yitirmesi, çoğunlukla fizyolojik pH'larda çalışılan ve temeli redoks reaksiyonları sonucu oluşan akımı ölçmek olan amperometrik biyosensör uygulamalarında polianilin kullanımını kısıtlamaktadır.

Buna ek olarak, polianilin ile gerçekleştirilen biyosensör uygulamalarında karşılaşılan en büyük engellerden bir diğeri de anilin monomerinde bulunan primer amin grubunun polimerizasyonda doğrudan yer alarak sekonder amine dönüşmesi nedeniyle protein yapıdaki biyoreseptörün polimere kovalent immobilizasyonu için gerekli fonksiyonel grup (-NH₂) grup özelliğini yitirmesidir.

Ancak, ana polimer iskelet üzerinde polimerizasyon sonrası modifikasyonlarla veya istenilen fonksiyonel grupları içeren monomerlerin kopolimerizasyonu ile özellikleri geliştirilmiş polianilin türevleri sentezlenebilmektedir. Orto veya meta konumunda -SO₃H, -COOH ve -PO₃H₂ gibi nötral ortamda iyonlaşabilen gruplar bulunduran anilin türevlerinin elektropolimerizasyonu ile geniş bir aralıkta pH'dan bağımsız, kendiliğinden katkılanmış polimerler elde edilebilmektedir. Ayrıca, ikinci bir primer amin grubu içeren anilin türevlerinin elektropolimerizasyonu amin fonksiyonelliği olan iletken polimerlerin oluşmasına olanak vermektedir.

Bu çalışmada, doğal elektron alıcısı moleküler oksijen (O₂) olan oksidaz enzimlerinin biyoreseptör olarak kullanıldığı amperometrik biyosensörlerde çevirici

olarak kullanılmak üzere yeni bir anilin kopolimeri sentezlenmiştir. Biyoreseptör için, model enzim olarak seçilen glukoz oksidaz (GOx) biyosensör tasarımında kullanılmıştır.

Bu tez kapsamında, biyoreseptörün elektrot yüzeyine kovalent immobilizasyonu için primer amin (-CH₂NH₂) fonksiyonelliğine sahip, aynı zamanda nötral ortamda iletkenliğini koruyabilen sülfonik asit (-SO₃H) fonksiyonel grupta anilin kopolimerlerinin grafit elektrot yüzeylerinde sentezi ve glukoz sensöründe çevirici eleman olarak uygulanabilirliği sunulmuştur. Primer amin fonksiyonel ve nötral pH'da kendiliğinden katkılanmış iletken polimer elde etmek üzere farklı oranlarda ortanilik asit ve 2-aminobenzilamin monomerlerinin elektropolimerizasyonu asidik ortamda gerçekleştirilmiştir. Kopolimer filmlerin fiziksel ve kimyasal karakterizasyonu yapılmıştır.

Sentezi gerçekleştirilen kopolimerlerin elektrot ve enzim arasında elektron taşıma ajanı olan N,N-dimetilaminometil ferrosenin (DMAMFc) oksidasyonu üzerindeki katalitik etkisi incelenmiştir. Kopolimer filmlere DMAMFc adsorpsiyonu ve enzim immobilizasyonu ile hazırlanan biyoreseptörlerin biyosensör olarak kullanımı glukozla karşı alınan elektrot cevapları ile değerlendirilmiş ve biyosensör özellikleri olarak alınan sonuçlar tartışılmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

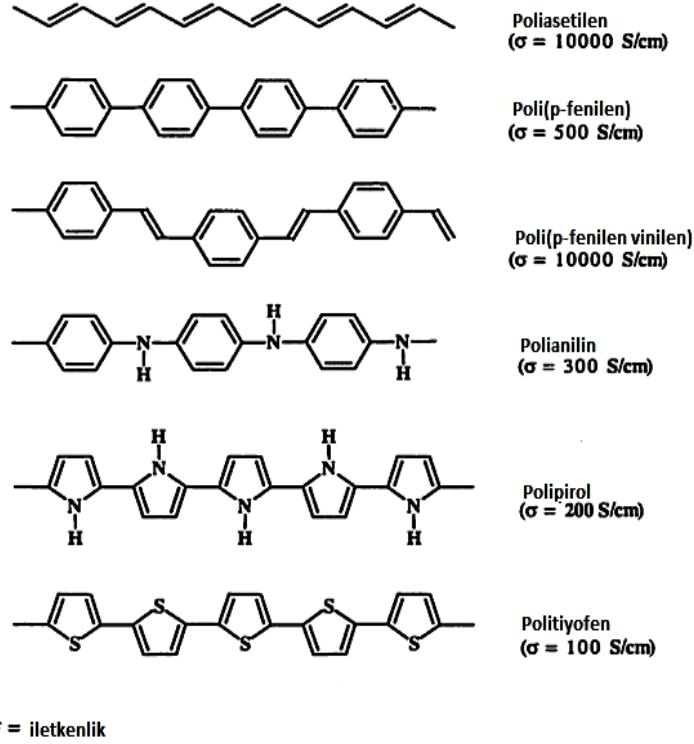
2.1. İletken Polimerler

İletken polimerler birbirini izleyen tek bağ-çift bağ nedeniyle aynı zamanda “konjuge polimer”ler olarakta adlandırılmaktadırlar. Polimer zincirindeki bu özel konjugasyon sayesinde bütün sistem boyunca elektronların delokalize olması ve birçok atomun bu elektronları paylaşabilmesi sağlanmaktadır. Delokalize elektronlar ise bütün sistem boyunca hareketli olacağından yük taşıyıcı görevi üstlenerek polimeri iletken duruma getirmektedir. Bu nedenle iletken polimerlerde iletkenlik, iletken olmayan polimer ile iletkenliği sağlayan metal ya da karbon tozunun polimer içinde fiziksel karıştırılmasıyla elde edilen formlardan çok farklıdır (Harun, 2007).

İletken polimerlerin tarihi incelenecek olursa bu alanda yapılan ilk araştırmalar, Pohl, Katon ve çalışma arkadaşlarının ilk olarak yarı iletken polimerlerin sentezini ve karakterizasyonunu gerçekleştirdiği 1960’lı yıllara dayanmaktadır. İlginç elektriksel özellikler gösteren polimerik malzeme polisülfünitritin, (SN)_x, yüksek iletkenliğinin keşfiiletken polimer araştırmalarına ilgiyi de beraberinde getirmiştir (Stenger-Smith, 1998).

İletken polimerlerin modern olarak geliştirilmesi 1977 yılında Amerikalı bilim adamları Heeger ve McDiarmid ile onların Japon meslektaşı Shirakawa’nın halojenler ile yapılan katkılamının zincir-benzeri poliasetilene (PA) metalik özellikler kazandırıp bunun yanında bakır rengi film oluşumuna neden olduğunu keşfetmesiyle başlamıştır (Heinze, 2010).Daha öncesine bakıldığında 1974 yılında Shirakawa ve arkadaşları tarafından *Ziegler-Natta* katalizörleri kullanılarak asetilenden poliasetilenin gümüş renkli filmler olarak hazırlandığı zaten bilinmektedir. Ancak sentezlenen polimer metalik görünümüne karşın iletken değildir. Shirakawa, MacDiarmid ve Heeger poliasetilen filmlerin klor, brom ve iyot buharı ile yükseltgenmesi sonucu orijinal yapılarından 10⁹ kat daha iletken olduğunu bulmuştur.Halojenlerle yapılan bu işlemyarıiletkenlenlerdeki katkılama ile benzerlik gösterdiğinden “doping” (katkılama) olarak adlandırılmıştır. Poliasetilenin katkılanmış formunun iletkenliği metre başına 10⁵ Siemenstir ve bu iletkenlik değeri daha önce bilinen tüm polimerlerinkinden daha yüksektir.

Bir karşılaştırma olarak teflonun iletkenliği 10⁻¹⁶ S.m⁻¹ gümüş ve bakırın ise 10⁸ S.m⁻¹ dir(Shirakawa, 1977).



Şekil 2.1. Bazı iletken polimer türleri ve iletkenlik değerleri

Organik bir materyalde gözlemlenen bu alışılmadık sonuçlar elektronik aletler ve elektriksel enerji depolama (pil, akü) gibi farklı alanlarda uygulamak üzere araştırmacıları dünya çapında bir çaba içerisinde sürüklemiştir. Yıllar içerisinde iletken özellik gösteren birçok organik polimer sentezlenmiştir. (Şekil 2.1) Bunların arasından en çok araştırma konusu olan organik polimerler polianilin (PAn), politiyofen (PTh), polipirol (PPy) ve türevleridir. Tüm bu polimerler tek bir karakteristik ortak özellik göstermektedir. Bu da tamamında yüksek derecede konjuge π -sistemlerinin olmasıdır (Stenger-Smith, 1998; Çakıroğlu, 2006).

İletken polimerlerin keşfini takip eden yıllarda yapılan çalışmalarda iletken polimer iskeleti oluşturan konjuge π -sistemlerinin iletkenlik üzerindeki etkileri incelenmiştir. Yalıtkan-metalik form dönüşümlerinde katkılamının rolü elektronik band teorisinden yararlanılarak polaron, bipolaron ve soliton gibi kavramların anlaşılması ile açıklığa kavuşturulmuştur (Brédas and Street, 1985).

2.1.1. Elektriksel İletkenlik

Elektriksel iletkenlik veya spesifik iletkenlik materyalin elektrik akımını iletebilme özelliğinin bir ölçüsüdür. İletkenlik *Ohm Yasasıyla* tanımlanmıştır. Buna göre:

$$U = R \cdot I \quad (2.1)$$

'I' direnç üzerinden geçen akım (amper) ve 'U' ise direnç üzerindeki potansiyel (volt) değerinde meydana gelen düşüştür. Orantı katsayısı 'R' ise *direnç (resistance)* olarak adlandırılır ve Ohm (Ω) olarak ölçülür. R, direncin üzerine bilinen bir potansiyel uygulanıp dirençten geçen akım değerinin ölçülmesiyle ölçülür. Direncin tersine (R^{-1}) iletkenlik adı verilir. Ohm yasası tersinmez termodinamiklerle (Ilya Prigogine, Nobel Kimya Ödülü 1977) ilgili empirik bir yasa olup, potansiyeldeki gradient nedeniyle oluşan akım (I) enerjinin harcanmasına sebep olur ($R \cdot I^2$ joule. s^{-1}).

Bütün malzemelerde Ohm yasasına uyum görülmez. Vakum tüpleri, yarı iletkenler, gaz boşalmaları (gas discharges) ve tek boyutlu iletkenler olarak isimlendirilen maddelerin (örn. lineer polien zincirleri) genellikle hepsi Ohm yasasından sapma gösterir. Ohm yasasına uyan (Ohmik) malzemelerde " ρ ", öz direnç (birimi $\Omega \cdot m$) olmak üzere direnç örneğinin uzunluğuyla doğru orantılı örneğinin kesit alanı (A) ile ters orantılıdır.

$$R = \frac{\rho \cdot L}{A} \quad (2.2)$$

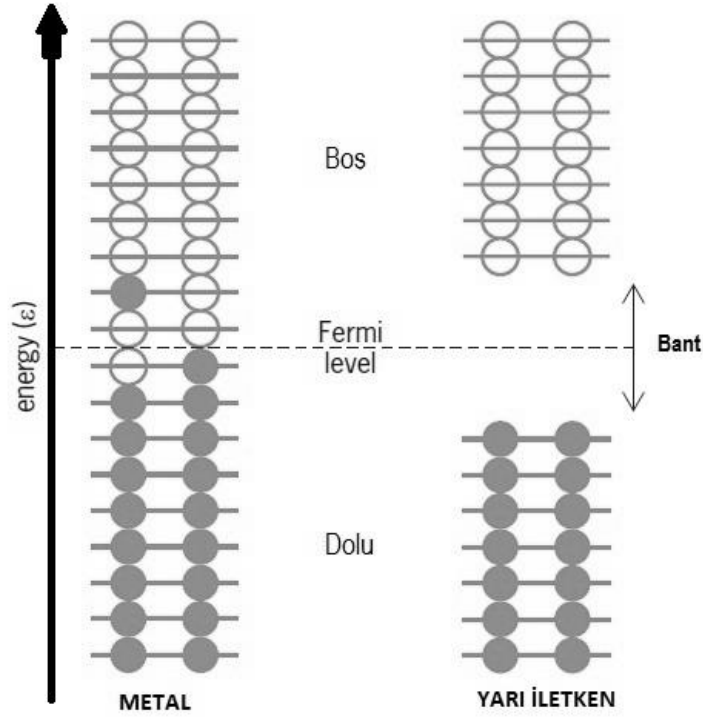
Öz direncin tersine ($\sigma = \rho^{-1}$) iletkenlik adı verilir ve iletkenliğin birimi Siemens'tir (S). Öz iletkenliğin birimi ise $S \cdot m^{-1}$ dir.

İletkenlik yük taşıyıcıların yoğunluğuna (elektrotn sayısı, n) ve bu yük taşıyıcıların materyal içerisinde ne kadar hızlı hareket ettiklerine (mobilité, μ) bağlıdır. Elektronun yükü, e, olmak üzere iletkenlik şu eşitlikle verilir:

$$\sigma = n \cdot e \cdot \mu \quad (2.3)$$

Yarıiletkenlerde ve elektrolit çözeltilerde pozitif yük taşıyıcılar (elektron boşlukları ve katyonlar) da bulunduğundan dördüncü bir terim eklenmelidir (Nordén and Krutmeijer, 2000).

2.1.2. İletken Polimerlerde İletkenlik Mekanizması ve Katkılamanın Rolü



Şekil 2.2. Metallerde karşı yarı iletkenlerdeki şematik enerji spektrumu

Şekil 2.2'de her seviye için iki çember gösterilmesi atomlarda olduğu gibi çift spin oryantasyonu ile ilgili olup, doldurulmuş ve boş çemberler dolu ve dolu olmayan kuantum durumlarını göstermektedir. Metallerde oda sıcaklığında meydana gelebilecek olağan elektron uyarılmalarında görülebileceği üzere Fermi seviyesinin üzeri doldurulmuş halde, Fermi seviyesinin altı ise boş halde gösterilmiştir. Bu kuantum durumları Fermi seviyesinde enerji band aralığı bulunan yarı iletkenler haricinde birbirine son derece yakındır. Bu nedenle yarı iletkenlerdeki bu enerji bandı aralığı nedeniyle elektronlar iletim bandına uyarılmadığından σ sıfıra yakındır (Allen, 2007).

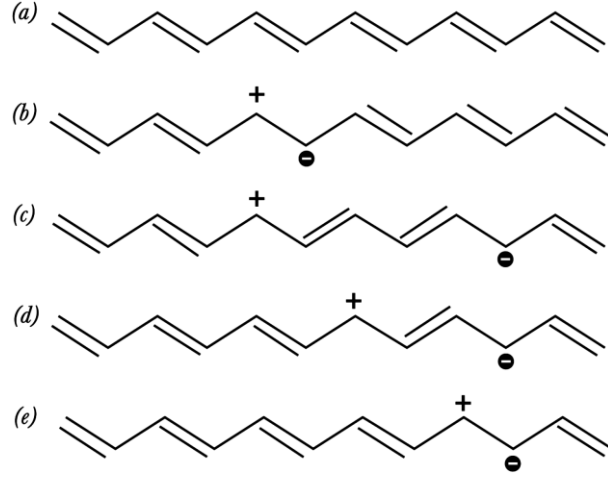
Malzemelerin elektriksel özellikleri elektronik yapıları tarafından belirlenmektedir. Metallerde, atomik orbitaller komşu atomların eşdeğer orbitalleri ile her bir yönde üst üste binerek izole moleküllerde olduğu gibi moleküler orbitalleri oluştururlar. Birbiri ile etkileşim içinde olan N atomik orbitalin N tane moleküler orbitali vardır. Bu nedenle metalde veya kesiksiz katı-hal yapıda, N çok büyük bir

sayıdır.(genellikle 1cm^3 metalde 10^{22}). Belirli enerji seviyesinde bu kadar çok moleküler orbitalin bir araya gelmesi kesintisiz bir enerji bandını oluşturmaktadır. Asal gaz atomlarının aksine bir metalde valans orbitalleri doldurulmamıştır. Bu nedenle N moleküler orbitalden oluşan bantta dolmaz ve bu seviyenin üzerindeki belirli enerji seviyesindeki tüm moleküler orbitaller boş olacaktır. En yüksek doldurulmuş moleküler orbital (HOMO) ile en düşük doldurulmamış moleküler orbital (LUMO) arasındaki enerji aralığına band aralığı adı verilmektedir. LUMO iletim bandı HOMO ise valans bandıdır. Metallerin iletkenliği kısmen doldurulmuş valans ya da iletim bandından veya bant aralığının sıfır olmasından kaynaklanmaktadır. Bu sayede elektronlar, çok zayıf bir elektrik alan altında bile kolayca yüksek enerji seviyesindeki elektronlar ve düşük enerji seviyesindeki elektron boşlukları (holes) olarak yeniden düzenlenirler.

Bu durum, yükün hızlı bir şekilde taşınımı için idealdir. Herhangi bir pozisyondan makroskopik boyutta delokalize olmuş iletim orbitaline enjekte edilen elektron aynı orbitali eşzamanlı olarak bu orbitalin başka bir bölgesinden terk edebilmektedir.

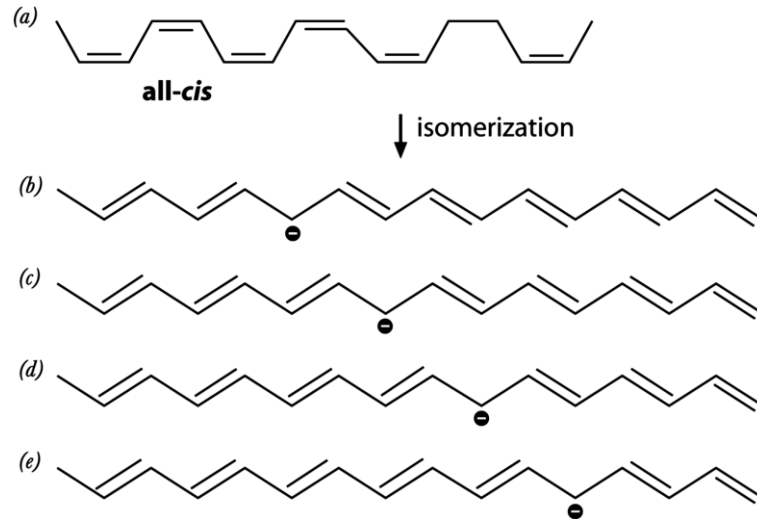
İletken polimerlerde ise, elektriksel iletkenlik kavramını açıklamak için polaron ve solitonlardan yararlanılmaktadır. Katkılama ajanının (dopant) rolü polimerden elektronların uzaklaştırılması veya ilave edilmesidir. Örneğin, iyot (I_2) elektron çıkararak I_3^- iyonunu oluşturacaktır. Poliasetilen ya da polipirol gibi yarı-iletken bir polimerin valans bandından bir elektron çıkarılırsa oluşan boşluk (hole) klasik bant teorisinden de beklenildiği üzere tamamıyla delokalize olmaz. Karbon atomundan lokal olarak bir elektronun çıkarıldığı hayal edilirse bir radikal katyon elde edilecektir. Radikal katyon (polaron) kısmen çok düşük hareketliliği (mobility) olan karşı iyonu (I_3^-) ile arasındaki Coulomb çekimi nedeniyle kısmen de nötral moleküle göre radikal katyonun denge geometrisinde meydana gelen lokal değişim nedeniyle lokalize olmuştur.

Polaronun hareketliliği poliasetilen zincir boyunca çok yüksek olabilir ve yük zincir boyunca taşınır. (Şekil 2.3) . Ancak pozitif yük için gereken karşı iyon çok hareketli olmadığından, birbirine yakın karşı iyonlar arasında polaronun hareket edebilmesi için karşı iyonların yüksek konsantrasyonda varlığı gerekmektedir. Bu yüksek oranda katkılamanın gerekliliğini açıklamaktadır.



Şekil 2.3. Poliasetilen zincirden elektron uzaklaştırılması ile radikal katyon (polaron) oluşumu (a→b). Polaronun yer değiştirmesi (c→e).

Eğer zaten oksitlenmiş olan polimer zincirinden ikinci bir elektron çıkarılırsa ya ikinci bir bağımsız polaron oluşur ya da çıkarılan elektron birinci polaronun eşlenmemiş elektronu ise bipolaron oluşur. Bipolaronun bu iki pozitif yükü bağımsız değildir ve süper iletkenlik teorisindeki Cooper eşi gibi hareket ederler. Polaron bir radikal katyon olup $\frac{1}{2}$ spin değerine sahipken bipolaronun spin toplamı $S=0$ 'dır.



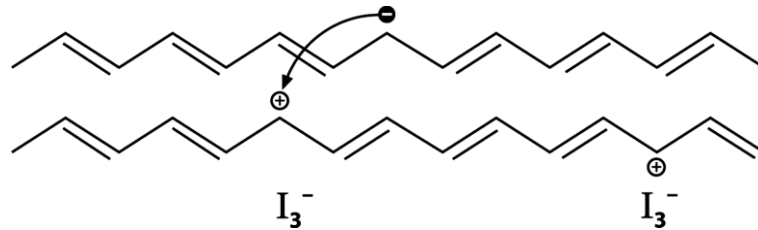
Şekil 2.4. İzomerizasyon sonucu soliton oluşumu (a→b). Komşu elektronla eşleşen solitonun hareketi (b→e).

Şekil 2.4'te *cis* poliasetilenin *trans* yapıya termal izomerizasyonunda meydana gelen aksaklığın nasıl kararlı bir serbest radikal oluşumuna yol açabileceği görülmektedir. Oluşan bu defekt bir nötral solitondur. Soliton zincir boyunca ilerleyebilmekte ancak kendi başına herhangi bir yük taşıyamamaktadır. Buna karşın farklı zincirler arasında yük transferine katkıda bulunabilmektedir (Nordén and Krutmeijer, 2000).

Polimer materyaldeki yığın (bulk) iletkenlik hem bir zincirden diğerine- moleküler anlamda moleküller arası yük transfer reaksiyonu- sıçrayacak elektronlara duyulan ihtiyaç hem de materyalin farklı kristal bölgeleri arasında oluşan kötü temas noktaları gibi makroskopik faktörler tarafından kısıtlanmaktadır.

Farklı polimer zincirler arasında yük sıçraması ile iletkenliğin sağlanmasında göz önünde bulundurulması önerilen bir diğer mekanizma ise "intersoliton" sıçramasıdır. Soliton bulunduğu zincir üzerinde hareket etmektedir. Hareket sınırlarında bulunan komşu zincirde yüklü bir soliton (yüklü solitonlar hareketsizdir) varsa elektronunu buraya aktarmaktadır (Şekil 2.5).

Polaronlar birçok konjuge polimerde bulunmasına rağmen bütün konjuge polimerler soliton bulundurmaz. Polaron-katkılı polimerlerde yük transferi zincire elektron enjeksiyonu ile oluşturulan lokalize durumlar arasında elektron transferi ile gerçekleşir (Winokur et al., 1987).



Şekil 2.5. Intersoliton sıçraması. Nötral solitonlar (üst) hareketli, yüklü solitonlar ise karşı iyonlar tarafından hapsedilmiştir (alt). Birbirine yakın iki soliton etkileşirse elektron transferi meydana gelmektedir.

2.1.3. İletken Polimerlerin Katkılanması (Dopingi)

İletken polimerlerin yarı iletken bant yapısı elektronik uyarılmaya veya elektronların valans bandından iletim bandına aktarımına izin vermektedir. Elektronik yapıda meydana gelebilen bu değişimler iletken polimerlere ilgi duyulmasına sebep olan

birçok özelliğin oluşmasına neden olmaktadır. Elektronların valans bandından iletim bandına uyarılması (örn. fotonlar yardımıyla) fotoluminesans ve lineer olmayan optik özellikler gibi uyarılmış hal özelliklerinin oluşmasını sağlamaktadır. Diğer bir yandan iletken polimerin kimyasal ya da başka yöntemlerle oksidasyonu ile valans bandından elektronun uzaklaştırılması iletken polimer üzerinde yüklerin oluşumuna yol açmaktadır. Bu yükler genellikle polimer içerisinde birkaç monomer ünitesi üzerinde kuvvetli olarak delokalize haldedir. Ayrıca bir yük iletken polimerin iletim bandına verilerek iletken polimerin indirgenmesine neden olabilmektedir (Udum, 2004).

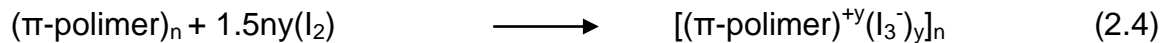
Çeşitli yöntemlerle iletken polimerin oksidasyonu veya indirgenmesiyle polimer zincir üzerinde delokalize yükler oluşturularak iletkenlik geliştirilebilmekte ve buna da katkılama (doping) adı verilmektedir. Aşağıda bazı katkılama yöntemleri verilmiştir.

2.1.3.1. Kimyasal Katkılama

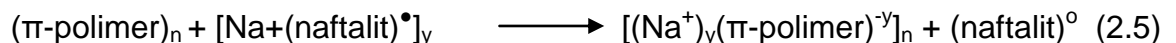
Organik polimerin π -omurgasının kısmi oksidasyonu ile gerçekleştirilen p-tipi katkılama ilk olarak trans-(CH)_x'in iyot gibi bir yükseltgeme ajanıyla oksitlenmesi sonucu keşfedilmiştir. Bu işlem ile beraber iletkenlik 10⁻⁵ S cm⁻¹'den 10³ S cm⁻¹'e yükselmiştir. Konjuge polimerlerin katkılanabilirliğinin keşfinden sonra kullanılan işlemlerde yük transferine dayalı redoks kimyası kullanılmıştır.

Yükseltgenme (p-tipi katkılama) ve indirgenme (n-tipi katkılama) reaksiyonları ile yürütülen katkılama aşağıda örneklendirilmiştir.

1. p-tipi katkılama:



2. n-tipi katkılama:

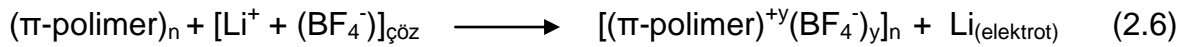


Eğer yapılan katkılamanın derecesi yeteri kadar yüksek olursa, polimerin elektronik yapısı metal özellikleri gösterebilmektedir.

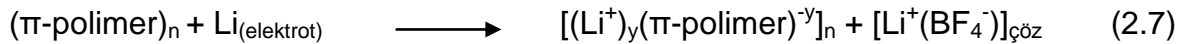
2.1.3.2. Elektrokimyasal Katkılama

Kimyasal katkılama etkili ve basit bir yöntem olmasına rağmen genellikle kontrol edilmesi zordur. Yüksek oranda tamamlanmış katkılama oldukça iyi kalitede malzeme elde edilmesini sağlamaktadır. Ancak orta dereceli katkılama girişimleri çoğu zaman homojen olmayan katkılamayla sonuçlanmıştır. Elektrokimyasal katkılama bu sorunu çözmek için bulunmuştur. Elektrokimyasal katkılamada iletken polimere redoks yükünü elektrot sağlamaktadır. Bu esnada iyonlar çevredeki elektrolitten polimer yapının içine veya dışına difüzlenererek elektronik yükün dengelenmesini sağlarlar. Katkılamanın derecesi elektroda uygulanan potansiyelle belirlenmektedir. Bu nedenle herhangi bir derecede katkılama elektrokimyasal hücrenin potansiyelinin sabit bir değere ayarlanması ve sistemin elektrokimyasal dengeye ulaşması yani hücre akımının sıfırlanması için yeterli süre beklenmesiyle sağlanabilmektedir (Heeger, 2002). Elektrokimyasal katkılama aşağıda birkaç örnekle gösterilmiştir:

1. p-tipi katkılama:



2. n-tipi katkılama:

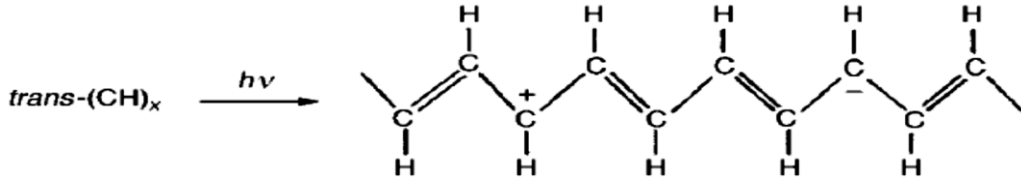


2.1.3.3. Foto Katkılama

Yarı iletken polimerler bant genişliklerinden daha yüksek enerjili ışımaya maruz kaldıklarında elektronlar band boyunca uyarılıp enerji seviyelerini değiştirdiklerinde polimerde foto katkılama meydana gelir. Uygun deneysel koşullar altında, örneğin, solitonlara özgü spektroskopik işaretler gözlemlenebilir.



Pozitif ve negatif solitonlar aşağıda şekilsel olarak örneklendirilmiştir. Eğer ışımaya sonlandırılırsa elektronlar ile boşlukların yeniden birleşmesiyle solitonlar hızlı bir biçimde yok olur. Işıma sırasında polimere potansiyel uygulanırsa elektronlar ve boşlukların ayrılması sonucu fotoiletkenlik gözlemlenir (MacDiarmid, 2001).



Şekil 2.6. Foto katkılama ile pozitif ve negatif solitonların oluşumu

2.2. İletken Polimerlerin Sentezi

İletken polimerlerin sentezi kimyasal ve elektrokimyasal polimerizasyon olmak üzere başlıca iki yöntem altında sınıflandırılabilir.

Kimyasal polimerizasyon hem klasik yöntemleri hem de Witting, Horner ve Grignard reaksiyonları, polikondenzasyon prosesleri ve metal katalizli polimerizasyon gibi spesifik yöntemleri içermektedir. Oksitleyici Lewis asidi katalizörleri genellikle aromatik ve heterosiklik yapıtaşları içeren polimerlerin oluşumuna neden olur. Kimyasal polimerizasyonda konjuge monomerler asit gibi uygun bir çözücü içerisinde yüksek miktarda oksitleyici ile reaksiyona sokulurlar. Reaksiyon kendiliğinden gerçekleşir ve sürekli karıştırma gerektirir (Kumar and Sharma, 1998).

Elektropolimerizasyon ise seyreltik monomer ve elektrolit (dopant) içeren çözelti içerisinde hem karşıt elektrot hem de referans elektrodu varlığında gerçekleştirilir. Uygun bir voltajın uygulanmasından hemen sonra polimer film çalışma elektrodu üzerinde oluşmaya başlar.

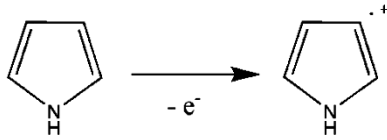
Kimyasal polimerizasyonun en önemli avantajı düşük maliyetle yüksek miktarda yığın şeklinde polimer elde edilebilmesidir. Çoğu zaman elektrokimyasal yöntemler kullanarak bunu gerçekleştirmek mümkün değildir (Chao and March, 1988). Buna karşılık elektropolimerizasyon yöntemlerinin en önemli özelliği yüksek iletkenliğe

sahip, basit ve özellikle elektronik cihazlarda kullanıma uygun iletken polimer filmlerin elde edilebilmesidir.

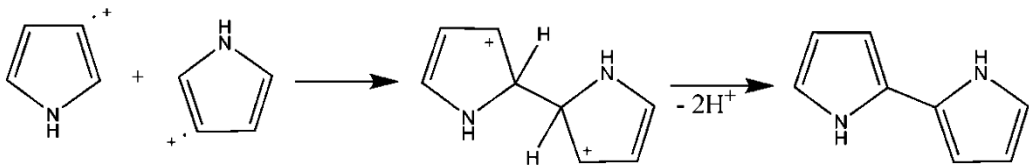
2.2.1. Kimyasal Polimerizasyon Mekanizması

PPy'e ait tipik bir kimyasal oksidasyon polimerizasyon mekanizması Şekil 2.7'de verilmiştir. İlk basamakta, pirol monomerlerinin oksidasyonu ile $(C_4NH_5)^+$ radikal kationları oluşmaktadır. İkinci basamakta komşu radikal kationlarının radikal-radikal eşleşmesi ve deprotonasyonu ile bipirol oluşumunu sağlayan dimerler oluşmaktadır. Monomerlerin yeniden oksidasyonu ve diğer radikal kationları ile eşleşmesi sonucu bipirol dimerler birbirileri ile bağlanarak polimer zincirinin uzaması basamağını oluşturur ve bu süreç ardı ardına devam eder. Su moleküllerinin veya diğer safsızlıkların polimer zincire nükleofilik saldırısı ile iletken polimerin kimyasal polimerizasyonu sona erer.

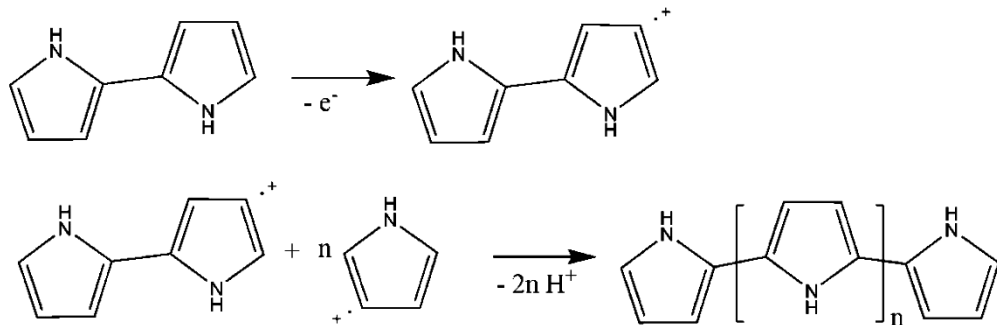
1. Monomer Oksidasyonu



2. Radikal Kationlarının Birleşmesi

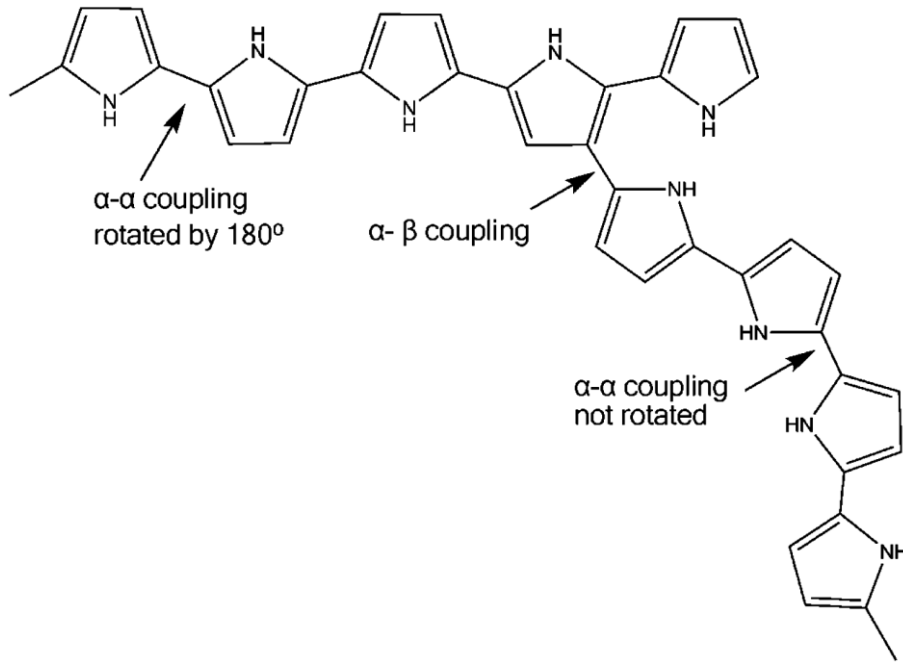


3. Zincir Büyümesi



Şekil 2.7. Pirolün kimyasal polimerizasyonu

Pirolün kimyasal oksidasyon polimerizasyonu sırasındaki olası kimyasal yapısı Şekil 2.8'de verilmiştir. α -pozisyonundaki protonlar β -pozisyonundaki protonlarla karşılaştırıldığında pirol monomerinden daha kolay ayrılmaktadır. Çoğunlukla, eşleşme reaksiyonu ve PPy'nin lineer moleküler yapısı, monomer-monomer eşleşme reaksiyonu sırasında pirol monomerin α -pozisyonundaki protonlarının ayrılmasına bağlanmaktadır. Her ne kadar komşu pirol üniteleri arasındaki α - α eşleşmesi PPy omurgada yüksek konjugasyon olmasını sağlasa da, bitişik pirol üniteleri arasında oluşabilen α - β eşleşmesi sonucu çapraz bağlanmış PPy zincirleri de oluşabilmektedir. Bu durum PPy zincirlerin lineerliğini ve düzlemselliğini azaltmaktadır. Bu da PPy'nin bilinen birçok çözücünde çözünür olmamasının nedenini de açıklamaktadır (Xiao, 2007).



Şekil 2.8. Pirol zincirlerinin olası kimyasal yapısı

2.2.2. Elektrokimyasal Polimerizasyon

Heterosiklik tiyofen ve pirol gibi monomerlerin elektrokimyasal polimerizasyonunda elektroda pozitif bir potansiyel uygulanarak monomerin oksitlenmesi sağlanır. Oksitlenen monomer kararlı delokalize radikal katyonuna dönüşür. Radikal katyonları, monomer radikallerinin radikal-radikal eşleşmesi sonucu α -

pozisyonundan deprotonasyona uğrayarak dimerleşmesini indüklemektedir. Nötral dimer iki H^+ iyonunun ayrılmasıyla oluşur. Takip eden basamak nötral dimerlerin oksidasyona uğraması sonucu dimer radikallerinin oluşmasıyla zincir büyümesidir. Bu dimer radikallerin monomer veya dimerlerle reaksiyona girmesi polimer omurgasının uzamasıyla sonuçlanır. Bu elektrokimyasal oksidasyon ve radikal eşleşmesi prosesi aralıksız devam ederek sonuçta anodik elektrot üzerinde polimer film oluşumuyla sonuçlanır (Sadki et al., 2000).

Elektrokimyasal polimerizasyonun üstünlüklerinden bir diğeri de film oluşumuyla katkılama prosesinin eşzamanlı gerçekleşmesidir. Bu nedenle polimerizasyon sonrasında herhangi bir katkılama işlemine gerek duyulmaz (Zoski, 2007).

2.3. İletken Polimerlerin Potansiyel Kullanım Alanları

Metallerin pahalı olması, çevreye zarar verebilecek toksik özellikler göstermesi gibi nedenler ötürü iletken polimerlerin metallerin yerini alabilecek pek çok potansiyel kullanım alanı ortaya çıkmaktadır. Bunun yanında film oluşturulabilen polimerler düşük maliyetli çözültü-işleme yoluyla elde edilebilmektedir. Bu da dikkatlerin bu malzemelerin üzerine çekilmesine neden olmaktadır. Aşağıda iletken polimerlerin bazı potansiyel uygulamalarına değinilmiştir.

2.3.1. Korozyon Koruma

Son dönemde kullanılan korozyon koruma amaçlı yöntemler yüzeylerin korunmasında uzun süreli işlevsellik gösterememektedir. Ayrıca Çevre Koruma Örgütü (EPA) tarafından bu yöntemler için sıkı denetlemeler getirilmektedir. Örnek olarak, anti-korozif krom ve kadmiyum kaplamasının yakın zamanda yasaklanması düşünülmektedir (Harun et al., 2007).

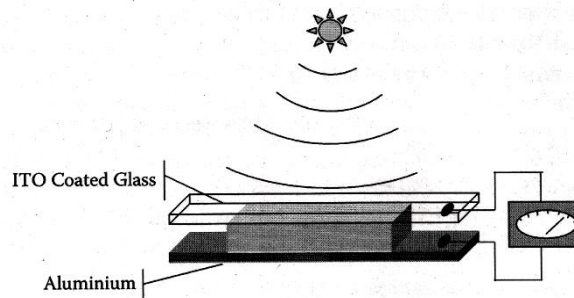
Korozyon koruma, çinko gibi daha aktif bir kaplamanın kurban elektrot olarak kullanılarak substrattan önce korozyona uğraması ve malzemeyi koruması mekanizmasına dayanmaktadır. Ne yazık ki kaplamalar uzun süre dayanamamakta ve oksitlenen çinko metali nem veya su ile çözünmektedir. Bu nedenle bu yöntem hakkında toksik metallerin ekosisteme serbest bırakılmasından

dolayı ciddi endişeler vardır. Epoksi gibi bariyer kaplamalar yoğun olarak kullanılan yöntemlerden bir diğeridir. Ancak bu da kaplamada aşınma veya oyuk oluşuncaya kadar etkili olmaktadır (Sitaram et al., 1997). Yüzeyde korozif türlerin metal ile etkileşimine yol açacak bir deformasyon meydana geldiğinde korozif türler alt tabakadaki metale saldırarak korumasız kalan yüzey alanını arttırmak suretiyle korozyonu hızlandırmaktadırlar.

İletken polimerlerin korozyon önlemede kullanılma fikri ilk olarak MacDiarmid tarafından 1985'te ortaya atılmıştır. İletken polimerlerin metal yüzeylere kuvvetli adsorpsiyonu bilinmektedir. Metal yüzeyde oluşturulan PAn kaplamaların, metal ile kaplama arasında yük transferi açısından ideal olmayan yarı iletken davranışı göstererek yüzeyi pasivize etmesi sonucu korozyon direnci oluşturdukları DeBerry ve Viehback tarafından rapor edilmiştir (DeBerry, 1997).

2.3.2. Enerji Depolama ve Fotovoltaikler

İletken polimerlerin şarj-deşarj olma özellikleri yeni pil ve enerji depolama teknolojilerinin geliştirilmesi ile ilgilenen araştırmacıların ilgisini çekmiştir. Bir hücre içerisinde iletken polimer katot ve lityum anot kullanılarak hazırlanan pil tasarımları yaklaşık olarak 3 V kullanılabilir potansiyel yaratmıştır. Nikel-kadmiyum ve kurşun-asit pillere oranla elde edilen enerji yoğunlukları birkaç kat artış göstermiştir. Son dönemde yapılan araştırmalar iletken polimerlerin bir başka enerji depolama formu olarak süper kapasitörlerde de kullanılabilirliğini ortaya koymuştur. İnce film halinde iletken polimer kaplanmış substratlar kullanılarak dizayn edilen hızlı şarj-deşarj özelliklerine sahip kapasitörler ile 250 F/g spesifik kapasitans değerleri elde edilmiştir.



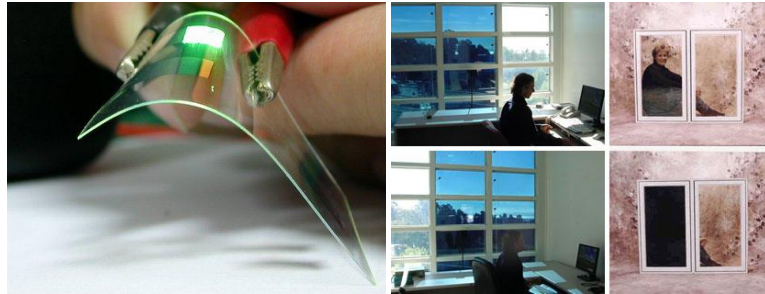
Şekil 2.9. Polimer fotovoltaik aygıtlar için cihaz tasarımı

Silikon yarı-iletken tabanlı fotovoltaik pillere alternatif olarak iletken polimerler kullanılarak polimer fotovoltaik cihazlar da geliştirilmiştir. Işığa duyarlı bir polimerin (PPV ve türevleri) biri indiyum-kalay oksit (ITO) gibi şeffaf materyal diğeri düşük iş-fonksiyonlu metal (alüminyum, kalsiyum) elektrot arasına sandviç edilmesi ile elde edilen tipik düzenleme Şekil 2.9'da gösterilmiştir. Işık tarafından uyarılan polimerde uygun yüzeylerde ayrışan eksitonlar (elektron-boşluk çiftleri) oluşmaktadır. Bu durum yüklerin ayrılmasına ve bunun sonucunda akım oluşumuna neden olmaktadır.

2.3.3. Görüntü Teknolojileri ve Elektrokromik Aletler

Fotovoltaik cihazlarda kullanılan mekanizma tersine çevrilerek ışık yayan diyotlar (LED) elde edilebilmektedir. İki elektrot arasına elektrik alan uygulandığında elektronlar yüksek iş-fonksiyonlu katottan polimerin iletim bandına aktarılırlar.

İTO-cam anotta ise elektron boşlukları oluşturmak üzere polimerin valans (değerlik) bandındaki elektronlar çıkarılırlar. Serbest elektronlar ve elektron boşluklarının elektrik alan altında ters yönde hareketi esnasında karşılaşmaları sonucu oluşan fotonlar nedeniyle ışık ortama yayılır. Ortama yayılan ışığın rengi polimerin iletim ve valans band aralığına bağlıdır. PLED'ler plastik ekran teknolojilerinin geliştirilmesi için büyük potansiyel oluşturmaktadırlar.



Şekil 2.10. İletken polimerlerin PLED ve akıllı cam uygulamaları

İletken polimerlerin dinamik özelliklerinin kullanıldığı bir diğer ilgi çekici kullanım alanı ise elektrokromik aletlerdir. Elektrokromik aletlerde iletken polimerin elektromanyetik spektrumun seçilen bölgelerinde redoks reaksiyonları sonucu opak-saydam/saydam-opak geçiş özelliklerinden yararlanılmaktadır. Bunun için elektrotlardan en az birinin saydam olması gerekmektedir. Gün içerisinde değişen ışık şiddetine göre geçirgenliğini değiştiren akıllı camlarda bu mekanizma kullanılmaktadır (Wallace et al., 2008).

2.3.4. Kontrollü Salınım Sistemleri

Heparin ve adenozin 5'-trifosfat (ATP) gibi biyolojik olarak aktif iyonlar, ilaçlar, pestisitler ile fungusitlerin seçici olarak salınmaları gerçekleştirilebilmektedir. Kontrollü salımdaki en ilginç yöntemlerden birisi de iletken polimerlerin rol aldığı elektrokimyasal salınım sistemleridir. Hedef türler oksitlenmiş iletken polimer içerisine dopant (katkılama ajanı) olarak dahil edildiklerinde, polimerin redoks kimyası kullanılarak istenilen zamanda bu karşı-iyonların salımları polimerin indirgenmesi ile gerçekleştirilebilmektedir. Polimer yapı içerisine hem anyonlar hem de katyonlar seçici olarak dahil edilebilmektedir. Anyonik türler oksitlenmiş PPy, PAn ve PTh gibi polimerlerdeki yük dengesini sağlamak üzere bağlanmaktadır. Eğer polimer sentezi sırasında ortamda polivinil sülfonat gibi büyük molekülü, hareketsiz polianyonlar dopant olarak kullanılırsa polimer indirgenmiş forma geçtiğinde dahi anyonlar polimerden dışarı difüzlenebileceğinden, yük dengesini sağlamak üzere polianyona elektrolitteki katyonlar bağlanmaktadır. Polimerin takip eden oksidasyonunda katyonlar tekrar elektrolit ortama bırakılabilmektedir. Bu mekanizma iletken polimerler kullanılarak kontrollü salınım sistemlerinin temelini oluşturmaktadır (Ravichandra et al., 2010; Stenger-Smith, 1998; Luo and Cui, 2009).

2.3.5. RADAR Uygulamaları

Radio Direction and Ranging (RADAR) belirli bir hedeften seken elektromanyetik dalgaların alıcı tarafından sinyal analizi yapılarak söz konusu hedefin uzaklığı, yönü ve hızının tespit edilmesi prensibiyle çalışır. Yüzeylerde elektromanyetik

dalgaların yansması obje ile ortam (genellikle hava) arasında keskin empedans farkları olması durumunda gerçekleşir. En dikkate değer empedans farklılıkları metaller ve hava arasında görülmektedir. Metaller gelen sinyali geri saçmak (re-radiate) eğilimindedirler. İletken polimer kamufraj ise yansıma özellikleri bakımından devamlı olarak değişken empedans gösterdiğinden daha farklı bir şekilde çalışmaktadır. Kamufraj malzemesi olarak iletken polimer dokuma, kanatları yada herhangi bir keskin kenarı olmadığından çevre birimlerinden (ağaç, tepe vb.) ayırt edilememektedir ve gelen mikrodalga ışımının %50'sinden fazlasını absorblamaktadır.

PPy kaplanmış fiberlerin mikrodalga (100 Mhz-12 Ghz) özellikleri hakkında araştırmalar yapılmış olup absorplayıcı antenler, Salisbury ekranları, kamufraj ve diğer kalkan özellikleri gibi askeri uygulamalar için geliştirme faaliyetleri ilgi çekmektedir(Stenger-Smith, 1998).

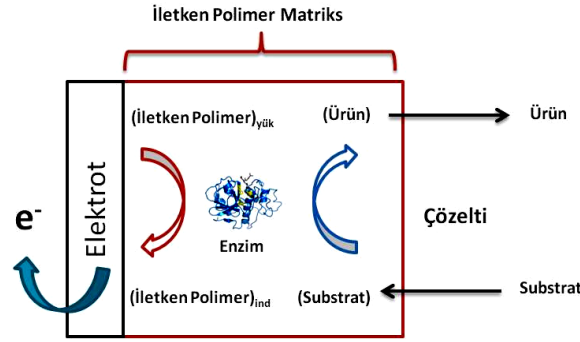
2.3.6. Biyosensör Uygulamaları

Spesifik kimyasalların tespiti, miktar belirlemesi ve izlenmesi için analitik cihazların geliştirilmesi ve faydalanılmasına yönelik ilgi biyosensörlerin ortaya çıkmasına sebep olmuştur. Glukoz, üre, kolesterol ve laktat gibi kandaki metabolitlerin tayini klinik tanı için önemli rol oynamaktadır. Bu nedenle biyosensörler tanı teknolojilerinde yepyeni bir akımın ortaya çıkışını temsil etmektedirler. Analitik kimyada düşük analit konsantrasyonlarında yaşanan seçicilik problemleri ve girişim yapan maddelerin varlığı başlıca sorunları oluşturmaktadır. Ancak kullanımı kolay ve oldukça seçici sensörlerin geliştirilmesi analizlerdeki problemlerin aşılmasına kapı açmakta ve iletken polimerler de bu tip sensörlerin geliştirilmesi için yeterli olanakları sunmaktadır. İletken polimer tabanlı kimyasal sensörler ve biyosensörler bu materyallerin optik ve elektrik özelliklerinde meydana gelen hassas değişimleri de kullanmaktadır (Gerard et al., 2001).

İletken polimerler biyosensörlerin geliştirilmesinde asıl ilgiyi enzim immobilizasyonu için uygun matriksler oluşturmaları nedeniyle çekmişlerdir. Tanı amaçlı hayati analitlerin tayininde cevap süresi, hassasiyet, çokyönlülük gibi biyosensör özelliklerinin geliştirilmesinde rol oynamışlardır (Heller,

1990).Elektrokimyasal tekniklerle sentezlenen polimerik filmlere enzim immobilize edilmesi biyolojik olarak aktif moleküllerin farklı büyüklükte ve geometrideki elektrot yüzeylerine lokalizasyonunu olanaklı hale getirmektedir. Böylece çoklu-analit tayinleri başta olmak üzere mikro-amperometrik sensörlerin fabrikasyonu gerçekleştirilebilmektedir(Unwin and Bard,1992).

İletken polimerlerin önemli bir diğer avantajı da elektrokimyasal sentez ile polimerin elektrot yüzeyine direk olarak biriktirilmesi esnasında eşzamanlı olarak enzim immobilizasyonunun da mümkün hale gelmesidir. Böylece immobilize enzimin boyutsal dağılımı, film kalınlığı ve enzim aktivitesinin ayarlanması polimerin durumu değiştirilerek kontrol edilebilmektedir (Bartlett and Whitaker, 1988).



Şekil 2.11. İletken polimer matrikslerin biyosensörlerde çevirici olarak kullanımı

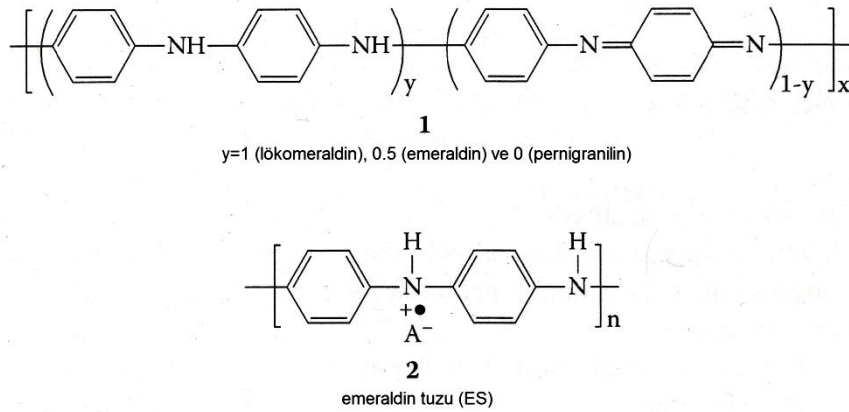
Enzim, polimer sentezi sonrasında polimerin modifiye edilerek protein bağlanmasına uygun hale getirilmesiyle de immobilize edilebilmektedir. Polimerin mekanik ve elektronik özellikleri kimyasal modelleme ve sentezle istenilen düzeye getirilebilmektedir (Gerard et al., 2001).

Biyokimyasal reaksiyon sonucu oluşan elektrik yükün elektronik devreye iletiminde iletken polimerler etkili rol oynayabilmekte ve hızlı bir cevap ile iyi bir algılama alt limiti sağlayabilmektedirler (De Taxis du Poet et al., 1990). Amperometrik bir sensörde substratın, uygun bir enzim varlığında yığın polimer içerisinde gerçekleşen redoks reaksiyonu sonucu elektroda doğru elektron taşınımı Şekil 2.11'de gösterilmiştir.

2.4. Polianilin

PAn bilinen en eski iletken polimerlerden biridir. İlk olarak Letheby tarafından 1862'de anilinin sülfürik asit içerisinde anodik polimerizasyonu ile hazırlanmıştır. Green ve Woodhead tarafından özellikleri ile ilgili 1. Dünya Savaşı öncesinde yapılan sistematik çalışmalar sonucunda bazı oksidasyon formlarının varlığı ve anilin oktamer yapısı ile ilgili öneriler yapılmıştır. Ancak 1980'lerin ortasında elektriksel olarak iletken form olan emeraldin tuzunun (ES) MacDiarmid ve arkadaşları tarafından keşfedilmesine kadar geçen sürede PAn ile ilgili olarak ciddi bir çalışmaya rastlanılmamıştır (Wallace et al., 2008).

Kinoid imin ve benzenoid amin arasındaki benzenoid halka yapısı nedeniyle PAn konjuge bir çift bağ yapısına sahiptir. Bu da PAn'ı iletken bir polimere dönüştürmektedir (Udum, 2004).



Şekil 2.12. Polianilinin Genel Polimer Yapısı ve Redoks Formları

N heteroatomunun doğrudan polimerizasyonda yer alması ve PAn'ın iletken formda konjugasyonunda PPy ve PTh'deki N ve S atomlarından daha çok rol üstlenmesi diğer iletken polimerlerden farklı olmasına sebep olmaktadır. Buna ek olarak iletken elektroaktif polimerler arasında asit ve baz ile muamele edilmesi sonucu hızlı bir biçimde baz ve tuz formlarına geçiş yapabilmesiyle de eşsizdir.

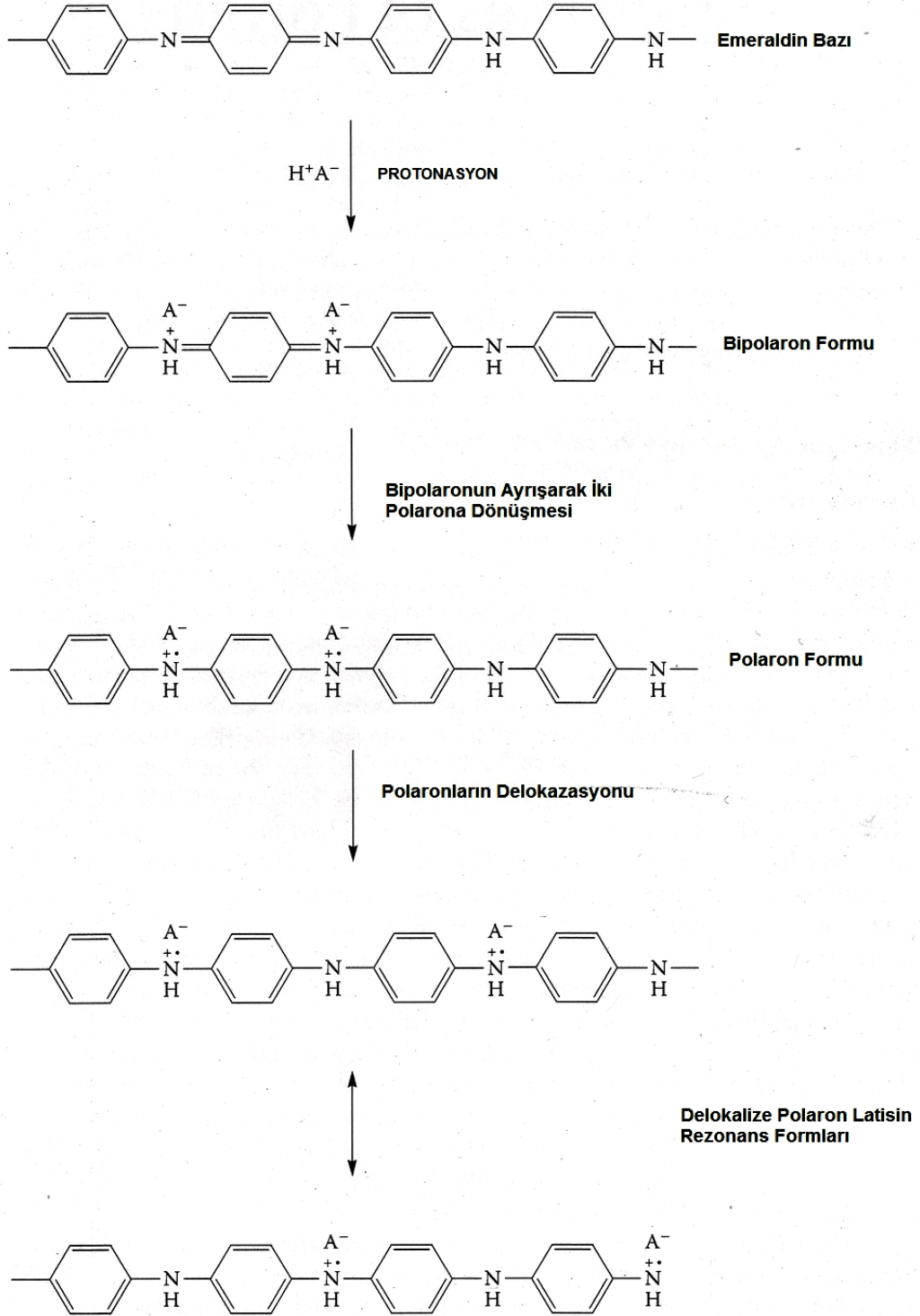
Diğer iletken polimerler ile karşılaştırıldığında PAn'ın iletkenlik mekanizması katkılamının protonasyonun yanı sıra p-tipi katkılama ile de yapılabilmesi nedeniyle oldukça ilgi çekicidir. P-tipi katkılama yapılan polimerlerde karbonyum iyonu oluşurken PAn'da nitrojen radikal katyonu meydana gelir. Polimerin birçok

sıra dışı özelliğinin olması polimer konfigürasyonu A-A olan diğer polimerler ile karşılaştırıldığında A-B konfigürasyonuna sahip yapısından kaynaklanmaktadır. Bu nedenle PAn'ın iletkenliği hem oksidasyon formuna hem de protonasyon derecesine bağlıdır.

PAn üç farklı oksidasyon formunda bulunabilmektedir: lökomeraldin (tamamen indirgenmiş ya da sadece benzenoid amin yapıda), emeraldin (nötral veya kısmen indirgenmiş, kısmen yükseltgenmiş), pernigranilin (tamamen oksitlenmiş ya da sadece kinoid imin yapıda). Lökomeraldin havaya maruz kalması nedeniyle kolayca oksitlenmesi ve pernigranilin'in çabuk degrade olması göz önünde bulundurulduğunda bu üç form içerisinde en kararlı olan yapı emeraldin bazıdır ve yüksek iletkenlik seviyesine katkılanabilmektedir.

Emeraldinin baz formu eşit oranda amin (-NH-) ve imin (=N-) merkezlerden oluşmaktadır. İmin merkezler protonlanarak bipolaron (dikasyon) emeraldin tuzu formuna dönüştürülebilmektedir. Ancak bu proses daha sonra tekrar düzenlemeye uğrayarak polisemikinon radikal katyonlar olan delokalize polaron latisleri (lattice) oluşturmaktadır(Şekil 2.13).

Emeraldin tuzunun iletkenliği sıcaklığa ve nem oranına dolayısıyla polimerdeki su içeriğine de bağlıdır. Genel olarak polimere fonksiyonel grupların bağlanması iletkenliği azaltırken, anilin ve fonksiyonize anilinler ile elde edilen kopolimerlerde orta düzeyde iletkenlik görülmektedir. Buna ek olarak iletkenlik üzerinde, hazırlama koşullarının-özellikle polimer oluşumunda- yapısal kusurlara ve morfoloji farklılıklarına neden olması etkili olmaktadır. PAn'ın iletkenliğinin, hazırlanmasında kullanılan veya maruz kaldığı solventlere de bağlı olduğu rapor edilmiştir. Bu fenomenden *ikincil katkılama* olarak söz edilmektedir. Çözücü polimer konformasyonunda değişiklikler yaratarak bunun sonucunda iletkenlikte farklılıklar meydana gelmesine neden olmaktadır.



Şekil 2.13.Polianilinin iletken emeraldin tuz formunu oluşturmak üzere emeraldin bazının protonlar ile katkılanması (polaron latis)

Ancak PAn'ın iletkenliğindeki en belirgin bağımlılık proton-katkılama seviyesi ile ilgilidir. Maksimum iletkenlik PAn'ın Şekil 2.13'te görülen polaron latis yapısına ulaşması için gereken %50 proton katkılanmasında meydana gelmektedir. Bu

koşullarda iletkenlik mekanizması, yarı-aralık (midgap) oluşturmak üzere polaron konumlarının üst üste binmesi sonucu diğer iletken polimerler ile benzer özellikler göstermektedir.

PAn en yaygın biçimde anilin monomerinin asidik çözeltilerde kimyasal veya elektrokimyasal oksidatif polimerizasyonu yöntemiyle elde edilmektedir. Ancak zamanla birçok farklı polimerizasyon tekniği geliştirilmiştir. Bunlar;

- i. Elektrokimyasal polimerizasyon
- ii. Kimyasal polimerizasyon
- iii. Fotokimyasal olarak başlatılmış
- iv. Enzimatik olarak katalizlenmiş polimerizasyon
- v. Elektron alıcılar ile polimerizasyon

2.4.1. Anilin Elektropolimerizasyonu

Elektrokimyasal polimerizasyon çoğunlukla sulu, asidik anilin çözeltilerinde gerçekleştirilmektedir. Bu nedenle monomeri çözmek ve PAn'ın tek iletken formu olan PAn/HA emeraldin tuzunu elde etmek için düşük pH (≤ 2) değerleri kullanılmaktadır.

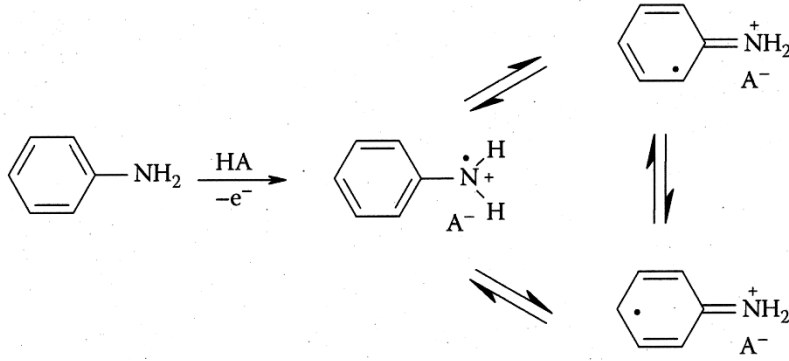
Genel olarak kabul edilen anilin elektropolimerizasyonu mekanizması, elektrokimyasal-kimyasal-elektrokimyasal, $E(CE)_n$ prosesidir. Anilin polimerizasyon mekanizmasının ilk basamağını anilin monomerinin oksidasyonu ile oluşan anilin katyon radikali oluşmaktadır ve hız belirleyici basamaktır (Wallace et al., 2008). Bu radikalin üç rezonans formu Şekil 2.14'te verilmiştir.

Bu basamağı başlıca N- ve para formundaki radikal bağlanması ve iki protonun ayrılması takip etmektedir. Oluşan dimer (oligomer) elektrot yüzeyinde anilinle birlikte oksidasyona uğramaktadır. Oligomerdeki radikal katyon ünitesi anilin radikal katyonuyla bağlanması sonucunda ise zincir uzamaktadır. Polimerizasyon çözeltilisinde HA olarak gösterilen asit, oluşan PAn'ı PAn/HA oluşturmak üzere katkılamaktadır (4. Basamak) (Syed and Dinesan, 1991).

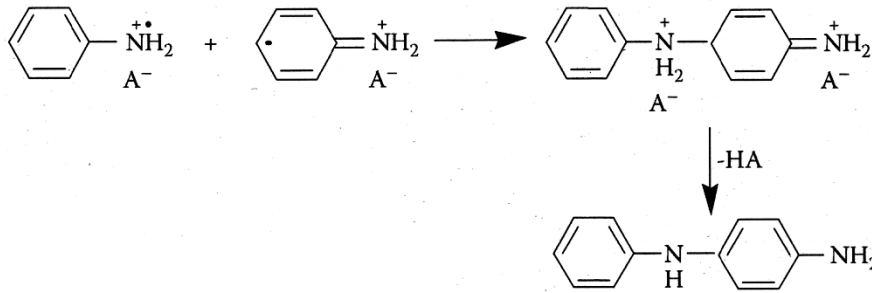
PAn oluşumunun oluşan polimer arttıkça artan, kendi kendini katalizleyen (self-catalyzing) bir süreç olduğu bulunmuştur. PAn'ın en oksidize formuna anilinyum iyonlarının adsorplandığı, bunu takip eden radikal katyon oluşumu için elektron

transferinin ardından tekrar en oksidize forma yükseltgenmenin meydana geldiği önerilmiştir (Wei et al., 1989; Trivedi, 1999).

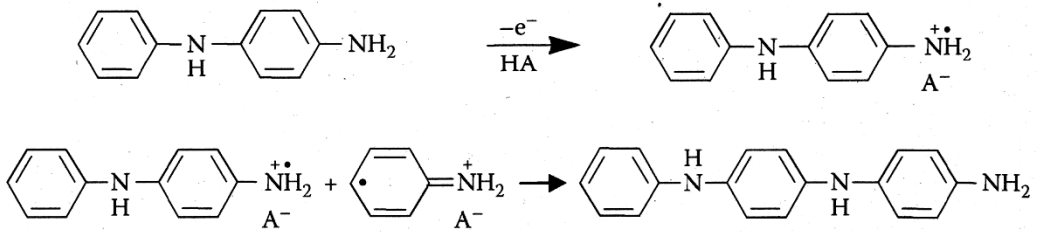
1.BASAMAK : Monomer Oksidasyonu



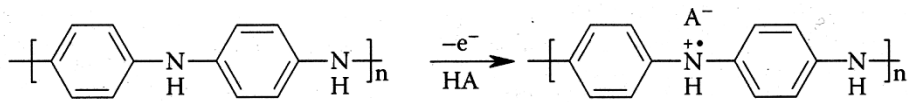
2.BASAMAK : Radikal Eşleşmesi ve Re-Aromatizasyon



3. BASAMAK : Zincir Uzaması



4.BASAMAK : Polimerin Oksidasyonu ve Katılanması



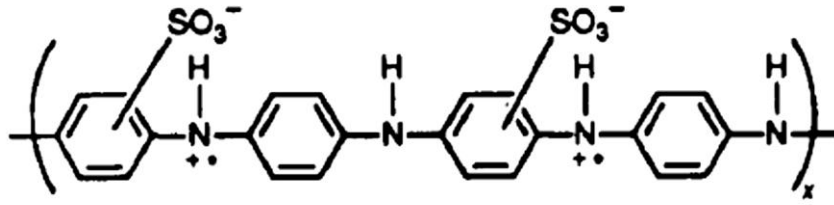
Şekil 2.14. Polianilin Elektropolimerizasyonu

2.4.2. Polianilin Türevleri

Polimerin çözünürlük ve fonksiyonel grup özelliklerini geliştirmek amacıyla kimyasal ve elektrokimyasal yöntemlerle substitue PAn türevinin sentezi uygun substituentlere sahip anilin türevi monomerlerle gerçekleştirilmiştir.

2.4.2.1. Sülfolanmış Polianilin

Sülfolanmış polianilin (SPAN) ilk rapor edilen kendiliğinden katkılanmış suda çözünebilen iletken PAn türevidir. Sulu ortamda ve birçok organik solventte çözünürlüğü $-SO_3^-$ grubunun varlığı nedeniyle gelişmiştir (Wei et al., 1996). SPAN'ın iletkenliği geniş bir pH aralığında ortam protonasyonundan bağımsızdır ve ana PAn yapıya oranla termal kararlılığı daha iyidir (Şahin et al., 2002; Şahin et al., 2003).



Şekil 2.15. Sülfolanmış Polianilin (SPAN)

PAn zincire SO_3^- grubunun dahil olması iletkenlikten fazla ödün verilmeden ana PAn yapının özelliklerini değiştirir ve çeşitli nedenlerden ötürü özel ilgi uyandırır:

- Polimer sistem içerisinde yeni asit-baz kimyası meydana getirir; böyle bir asit-baz dengesi haricen kimyasal veya elektrokimyasal olarak değiştirilebilir. Ana emeraldin bazının protonlanması emeraldin tuzu oluşumuna ve polaronik metal oluşturmak üzere elektronik yapının yeniden düzenlenmesine neden olur. Halkaya sülfonik asit substitue polianilin (SPAN) kendiliğinden katkılama (doping) özelliğine sahiptir. Bu yüzden SPAN'ın iletkenliği geniş bir pH aralığında dışsal protonasyondan bağımsızdır.
- Genellikle PAn'ın suda ve yaygın olarak kullanılan birçok organik çözücüde çözünmediği kabul edilmektedir. Polimerlerde çoğu zaman sentez sonrası

işlemeyi kolaylaştırmak için çözünürlüğün iyi olması aranılan en önemli özelliklerdendir. SPAN'ın çözünürlüğü SO_3^- grubunun varlığı nedeniyle PAn'a oranla büyük ölçüde arttırılmaktadır. Spesifik olarak, SPANPAn'ın aksine sulu bazik çözeltilerde çözünmektedir.

- iii. Ana PAn yapının çevresel stabilitesi fenil halkarındaki SO_3^- grubunun kuvvetli elektron çekme özelliği nedeniyle daha da artmaktadır.
- iv. SPAN'ın kimyasal, elektrokimyasal, elektriksel ve optik özellikleri SO_3^- grubunun kristalografik, sterik ve elektronik etkilerini yansıttığından PAn'dan farklılık gösterir.
- v. Kendi kendini katkılama (self doping) özellikleri nedeniyle ana PAn ile karşılaştırıldığında belki SPAN'ın elektrokimyasal potansiyel değişimlerine verdiği optik ve elektriksel tepkiler daha gelişmiştir.

SPAN kimyasal veya elektrokimyasal yöntemlerle hazırlanabilmektedir. Ancak monomer üzerinde bulunan elektron çekici özelliğe sahip $-\text{SO}_3\text{H}$ grubu nedeniyle polimerizasyonda karşılaşılan zorluklar vardır. Buna sebep olan iki faktör vardır;

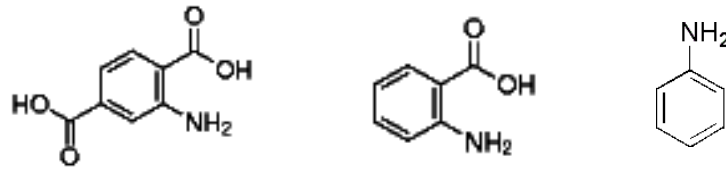
- a) Fenil halkalarında bulunan $-\text{SO}_3\text{H}$ grubu elektron çekici özelliğinden dolayı katyonik radikal monomerlerinin reaktivitesini etkilemektedir.
- b) Hidrojen atomlarıyla yer değiştirmiş $-\text{SO}_3\text{H}$ grubu sterik etki nedeniyle polimerizasyon sürecini kısıtlamakta ve düşük molekül ağırlıklı çözünebilir oligomerlerin oluşumuna neden olmaktadır.

Ana PAn ile karşılaştırıldığında SPAN'ın iletkenliği daha azdır. Bunda elektron çekici özelliği bulunan $-\text{SO}_3^-$ grubunun büyük rolü vardır. Bu grubun varlığı elektron çekici özelliği nedeniyle konjugasyon uzunluğunu kısaltmakta ve zincir üzerindeki pozitif yükü nitrojen atomları üzerinde sabitleyerek yük taşıyıcıların hareketini kısıtlamaktadır. Buna ek olarak $-\text{SO}_3^-$ grubu fenil halkalarını döndürerek zincirin düzlemsellikten sapmasına ve konjuge sistem boyunca orbitallerin üst üste binmesine engel olmaktadır (Yue et al., 1991).

2.4.2.2. Karboksilik Asit Fonksiyonel Polianilin

Anilin monomerlerinin farklı türler ile kopolimerizasyonu PAn'ın iletkenliğinin pH'dan bağımsız hale getirilmesi için üzerinde çalışılan yöntemlerden bir tanesidir. İyonize olabilen anyonik grupların (-SO₃H, -COOH veya PO₃H₂) polimer yapıya sokulması pH bağımlılığı ortadan kalkmış kendiliğinden katkılama özelliği olan polimerlerin eldesi için önerilen ilgi çekici yöntemlerdendir. Fenil halka yapıya bağlanmış anyonik grupların amin grubun asitlik sabitine etki ederek PAn yapının dışsal protonasyondan bağımsız olmasına neden olduğuna inanılmaktadır (Benyoucef et al., 2008).

Literatürde karboksilik asit fonksiyonelliğine sahip monomerler ile yapılmış çeşitli çalışmalara rastlanılmıştır. Bunlar arasında o-aminobenzoik asidin elektrokimyasal yöntemlerle homopolimerizasyonu ve 2-amino tereftalik asit ile anilin kimyasal kopolimerizasyon çalışmalarında elde edilen polimerlerin elektroaktivitesinin PAn'ın aktif olmadığı pH değerlerinde (>4) aktif olduğu gözlemlenmiştir.



Şekil 2.16. 2-aminotereftalik asit, o-aminobenzoik asit ve anilin monomerleri

Ancak elde edilen polimerlerin iletkenliğinin PAn'dan daha düşük olduğu belirtilmiştir. Buna suda çözünürlüğü arttıran karboksilik/karboksilat gruplarının sterik etki sonucu eşdüzlemselliği (coplanarity) bozmasının ve bu grupların elektron çekici özelliği nedeniyle oluşan induktif etki nedeniyle uzamış konjugasyonda azalma meydana gelmesinin sebep olduğu düşünülmektedir. Ayrıca karboksilat gruplarının anyonik karakteri nedeniyle pozitif yükleri sabitleyerek yük taşıyıcıların mobilitelerini sınırlandırması iletkenlikte meydana gelen düşüşün bir diğer açıklaması olarak kabul edilmektedir (Arias-Pardilla et al., 2006).

2.4.2.3. Primer Amin Fonksiyonel Polianilin

PAn iyi kimyasal ve elektrokimyasal özellikleri olmasına rağmen diğer moleküller ile kombine edilerek sensör amaçlı kullanımında çeşitli kısıtlamalar vardır. Mevcut durumda polimerin diğer moleküller ile etkileşimi fiziksel adsorpsiyon kullanılarak sağlanmaktadır. Bu nedenle redoks medyatörleri, veya enzimlerin ılımlı yöntemler kullanılarak kovalent bağlanması için uygun fonksiyonel gruplara sahip polimerlerin sentezinin gerekli olduğu bir gerçektir (Raffa et al. 2006). Birçok araştırmacı PAn'ı fonksiyonelleştirmek amacıyla kapsamlı çalışmalar yapmış ve farklı iletkenlik özellikleri olan polimerler elde etmişlerdir. Barbero ve arkadaşları substitue anilinlerin kopolimerizasyonu, nükleofilik yer değiştirme, elektrofilik yer değiştirme gibi farklı stratejiler izlemiştir (Barbero et al., 2004). Mikhael ve arkadaşları PAn'ın N-alkilasyon ve N-alkilasyonun çalışmalarını yürütmüştür (Mikhael et al., 1996). Ancak yürütülen tüm çalışmalarda elde edilen polimerler daha sonra yapılacak modifikasyonlar için uygun olmayıp asıl amaçlanan pH'dan bağımsız elektroaktivite veya çözünürlükte artma olmuştur.

PAn ile benzer karakteristikler gösteren türevlendirilebilir, yararlı polimerlerin sentezi için sağlanması gereken kriterler vardır:

- a. Yapıya sokulan fonksiyonel grup ılımlı koşullarda reaksiyon verme özelliğinde olmalıdır.
- b. Sonuçta oluşan polimerPAn'a benzer iletkenliğe ve redoks potansiyeline sahip olmalıdır.
- c. Yapıya sokulan fonksiyonel grup türevlendirildikten sonra polimer özelliklerini kaybetmemelidir.

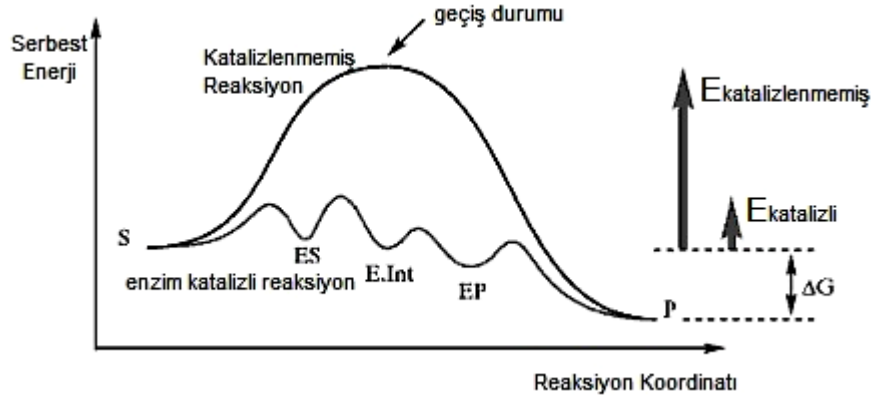
Primer amin fonksiyonelliğine sahip PAn türevlerinin sentezi konusunda Raffa ve arkadaşlarının çalışmaları dikkat çekmektedir. Elektropolimerizasyon yöntemi ile elde edilen anilin/2-aminobenzil amin kopolimerlerinin PAn benzeri redoks özellikleri gösterdiği ayrıca kondenzasyon reaksiyonu ile uygun ferrosen türevlerinin polimere kovalent olarak bağlanabileceği gösterilmiştir (Raffa and Battaglini, 2001).

Losito ve arkadaşları orto-fenilendiaminin elektropolimerizasyonu ile primer amin fonksiyonalize iletken polimerler elde edilebileceğini göstermişlerdir. Bunun

yanında elektropolimerizasyon mekanistiği üzerine elektrosprey-iyon kapanı kütle spektroskopisi (ESI-ITMS) ile çalışmalar yapıp sentez sırasında yan reaksiyonlarla fenazin ve 1,4-benzokinondiimin ünitelerinin oluştuğunu tespit etmişlerdir. Çalışmada ayrıca polimerizasyon pH'sının ve potansiyodinamik elektropolimerizasyon sırasında uygulanan potansiyel aralığının elde edilen polimerlerin yapısal farklılıkları üzerindeki etkisi incelenmiştir (Losito et al., 2003a; Losito et al., 2003b).

2.5. Enzimler

Katalizörler kimyasal reaksiyonların hızını arttıran ve katalitik reaksiyon sonucunda kendisi herhangi bir değişikliğe uğramayan türler olarak tanımlanabilirler. Termodinamik açıdan kimyasal bir reaksiyonun katalizi, söz konusu reaksiyonun *aktivasyon enerjisi* azaltılarak gerçekleştirilmektedir. Reaktantlar ve reaksiyondaki geçiş durumu arasındaki serbest enerji farkı aktivasyon enerjisidir. Aktivasyon enerjisindeki bu düşüş ya geçiş durumunun katalizör tarafından stabilize edilmesi ya da katalizörün reaksiyon için daha düşük enerjili yollar bulmasıyla gerçekleşir (Bugg, 2004).



Şekil 2.17. Enzim katalizörün reaksiyon serbest enerjisi üzerindeki etkisi

Katalizörlerin yukarıda bahsedilen özellikleri göz önünde bulundurulduğunda enzimler protein yapıdaki biyolojik katalizörler olarak sınıflandırılabilirler. Canlı organizmada gerçekleşen biyokimyasal reaksiyon bu biyokatalizörler tarafından sağlanır. Kimyasal katalizörlerle karşılaştırıldıklarında belirli substratlara karşı

spesiflik ve katalitik güç bakımından üstün moleküllerdir. Saflaştırılarak izole edilebildikleri için sadece in vivo değil aynı zamanda gerekli koşullar sağlandığında in vitro olarak da birçok alanda kullanılabilirler.

Enzimler endüstride ve bilimsel araştırmalarda son derece spesifik katalizörlere ihtiyaç duyulan birçok alanda uygulamaya sahiptir. Gıda prosesleri, ilaç , tekstil, kağıt, biyoyakıt, biyolojik deterjan endüstrisi ve moleküler biyoloji gibi alanlar enzim uygulamaları açısından ön sırada yer alırlar (Uhlig, 1998).

2.5.1. Oksidaz Enzimleri

Biyokimyada oksidaz enzimleri elektronların bir molekülden diğer moleküle aktarımında görev alan oksidoredüktazların alt sınıfını oluştururlar. Bu biyolojik katalizörler moleküler oksijenin (O_2) elektron alıcı olarak yer aldığı indirgenme-yükseltgenme reaksiyonlarını katalizleyen enzimlerdir. Oksidazların yer aldığı enzimatik reaksiyonlar sonucunda genellikle substrattan çıkarılan hidrojen ve elektronlar koenzim üzerinden doğal kosubstrat alan oksijene aktarılırlar. Bu reaksiyon sonucunda oksijen, su veya hidrojen peroksit (H_2O_2) indirgenir (Bright and Porter, 1975).

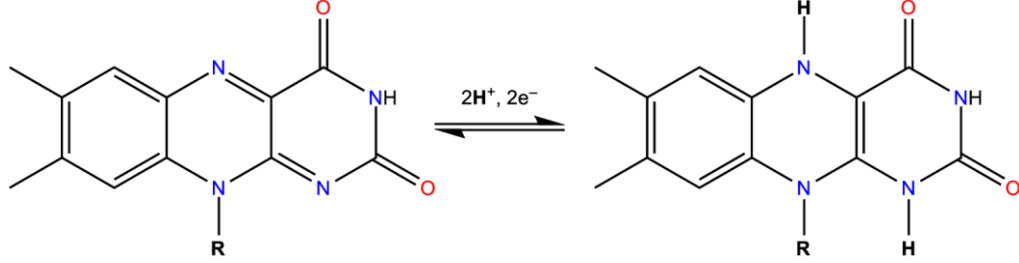
2.5.1.1. Glukoz Oksidaz

Glukoz oksidaz (GOx), β -D-glukozun β -D-glukonik asit ve hidrojen peroksit (H_2O_2) oksidasyonunu katalizleyen enzimdir. İlk olarak Maximov (1904) *A. Niger*'den elde edilmiş kuru toz halindeki miselyumlarda GOx aktivitesini keşfetmiştir. Müller (1928) oksidatif bir reaksiyonu enzimle ilişkilendiren ilk kişi olmuştur. Saflaştırılmış enzimde görülen sarı rengin enzime bağlı bulunan prostetik gruptan kaynaklandığı düşünülmüştür. Keilin ve Hartree (1948) oksidasyonun bu prostetik grup olan flavin adenin dinükleotit (FAD) üzerinde gerçekleştiği teorisini doğrulamışlardır (Uhlig, 1998).

GOx enzimlerinin elde edildiği kaynaklar farklı olsa bile benzerlik gösterirler. Molekül ağırlıkları yaklaşık olarak 160-180 kDa aralığındadır. Bir mol enzim 2 mol FAD/FADH₂ içerir ve enzimin izoelektrik noktası yaklaşık olarak pH 4.2'dir (Bilge, 2010).

GOx'ın çalışmalarda en yaygın olarak kullanılan formu *A.Niger*'den elde edilen molekül ağırlığı yaklaşık olarak 186 kDa olan dimerdir. *A.Niger*'den elde edilen

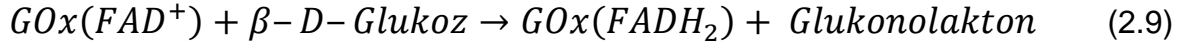
GOx'ın her alt birimi bir tane protein yapı içerisine gömülmüş FAD⁺redoks merkezi içerir. FAD⁺ ile protein kılıf yüzey arasında 15Å uzaklık bulunduğundan redoks merkezi ile doğrudan bir elektriksel iletişim kurmak zordur.Enzimin başlıca inhibitörleri Ag⁺, Hg⁺ ve Cu⁺² metal iyonlarıdır (Courjean, 2009).



Şekil 2.18. Flavin adenin dinükleotit üzerinden hidrojen transferi

GOx, β-D-glukozundoğal elektron alıcısı olan moleküler oksijen varlığında β-D-glukonik aside ve H₂O₂'ye oksidasyonunu katalizleyen flavoproteindir. Bu reaksiyon iki basamaklı olup, indirgeyici ve yükseltgeyici basamaklardan oluşur.

İndirgeyici yarı reaksiyon;



Yükseltgeyici yarı reaksiyon;



Gox,enzimolojik özelliklerinin iyi anlaşılması ve diğer oksidazlara göre ucuz olması nedeniyle temel ve uygulamalı biyosensör araştırmalarındaki en önemli model enzimdir (Adányi et al., 2007). Kanda, ürede, gıdalarda ve diğer biyolojik sistemlerde glukozun analitik olarak ölçülmesinde yaygın olarak kullanılmaktadır.

2.6. Biyosensörler

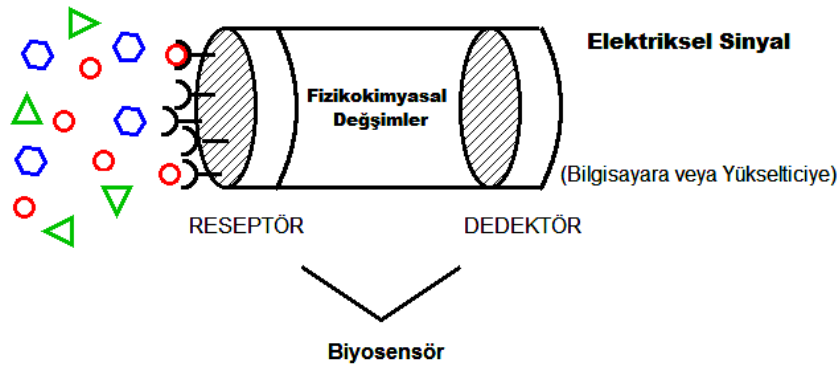
Enstrümantasyon açısından sensör terimi elektriksel olmayan bir olguya maruz bırakıldığında elektriksel (yük, voltaj veya akım) karakterde davranış gösteren ölçüm cihazlarıdır.

Biyosensörler ise yapısında tanıyıcı ajan olarak biyoreseptör bulunduran ve fizikokimyasal bir çevirici (transducer) ile bütünleşmiş analitik ölçüm cihazlarıdır.

Belirlenecek kimyasal bileşikler spesifik biyokimyasal reaksiyonların biyoreseptör olan enzimler, dokular veya hücreler tarafından gerçekleştirilmesi ile tanınırlar. Bu nedenle biyoreseptör örnek ile doğrudan temas halinde olduğundan biyosensörün en hassas bileşenidir.

Çevirici, biyokimyasal reaksiyon sonucu oluşan hedef moleküller ile fizikokimyasal etkileşimlere girerek elektriksel, termal veya optik sinyallerin oluşmasını sağlar.

Bir biyosensörün amacı, bir veya bir grup analitin miktarı ile orantılı olarak sürekli sayısal elektrik sinyali üretmektir (Şekil 2.19). Tayin edilmek istenen analite karşı spesifik, hızlı bilgi veren, kullanımı basit olduğu için kalifiye operatör gerektirmeyen, taşınabilir, kolayca üretilen ve numunenin minimum düzeyde önişlemini gerektiren cihazlar oldukları için tanı teknolojilerinde yeni bir akımın öncüleridirler.



Şekil 2.19. Biyosensör elemanları

Biyosensör kavramı ilk olarak 1962 yılında Clark ve Lyons'un enzim içeren membranlar ile üre ve glukozun pH veya oksijen elektrotları ile algılanabilecek ürünlere dönüştürülebileceği fikrinden ortaya çıkmıştır (Cahn, 1993).

İlaç ve gıda üretimi, atık su arıtımı ve enerji üretimi gibi biyokimyasal ve morfolojik proseslerin endüstriyel uygulamalarının artması biyosensörlere olan gereksinimi arttırmış bu da araştırmacıların bu alana yönelmesine neden olmuştur. Günümüze kadar biyoteknoloji, gıda ve tarımsal üretim prosesleri, sağlık hizmetleri, tıp ve

çevre kirliliği denetlemede uygulama alanı bulan birçok sensör geliştirilmiştir (Shanmugam and Sathishkumar, 2009).

Geliştirilen biyosensörler arasında vücut sıvılarında bulunan sağlık açısından takibi önemli kreatinin, glukoz, kolesterol, bilirubin, galaktoz, laktat gibi kimyasalları izlemeye yönelik olanlar olduğu gibi asetaminofen, teofilin, klorpromazin ve salisilat gibi ilaçları tespit edebilenler de vardır (Wang, 1999).

İdeal bir biyosensör aşağıdaki özelliklere sahip olmalıdır:

1. Biyokatalizör analizinin amacına yönelik olarak çok hassas ve spesifik olmalı, normal saklama koşullarında kararlı olmalı ve belirli analiz sayısı boyunca kararlılığını korumalıdır.
2. Reaksiyon karıştırma, pH ve sıcaklık gibi bazı parametrelerden bağımsız olmalıdır. Numunelerin ön işlem gereksimi en az seviyede olmalıdır.
3. Biyosensör cevabı tekrarlanabilir, hatasız ve hassas olmalıdır.
4. Klinik analizlerde kullanım olasılığına karşı biyosensörün probu küçük ve biyouyumlu olmalıdır. Ayrıca toksik ya da antijenik etki göstermemelidir. Eğer fermentörlerde kullanılacaksa steril edilebilir olmalıdır.
5. Tamamlanmış biyosensör ucuz, küçük, portatif ve yarı-nitelikli operatörler tarafından kullanılabilir olmalıdır.

2.6.1. Biyosensör Türleri

Biyolojik olarak aktif ajanda analit ile reaksiyon sonucu meydana gelen fizikokimyasal değişimlerin uygun bir çevirici (transducer) yardımıyla elektriksel sinyale çevrilmesi gereklidir. Bunun için reaksiyon entalpisi (kalorimetri), kütle değişimi (piezoelektrik kristal) veya katman kalınlığı (reflektometri) gibi spesifik olmayan genel parametreleri belirleyen çeviriciler kullanılabilir. Diğer bir yandan H^+ , OH^- , CO_2 , NH_3 ya da H_2O_2 gibi türlerin tespiti için potansiyometrik ve amperometrik elektrotlar, fotometrik ya da flüorimetrik çeviriciler ile spesifik tayin gerçekleştirilebilmektedir. Aşağıda farklı fiziksel özelliklerin tayini için geliştirilmiş çeviriciler kullanılarak tasarlanan biyosensörlerden bahsedilmiştir (Scheller and Shubert, 1992).

2.6.1.1. Amperometrik Biyosensörler

Amperometrik biyosensörler, analit veya reaktantın, genellikle sabit potansiyel altında yükseltgenmesi ya da indirgenmesi sonucu oluşan akımı ölçerler. Amperometrik sensörlerin fonksiyonel bir biçimde çalışmasında en önemli faktör çoğunlukla oksidaz ya da dehidrojenaz tabanlı katalitik biyomolekül ile elektrot yüzeyi arasındaki elektron transferidir. Elektron transferinde en çok kullanılan mekanizmalar arasında medyatörlü elektron transferi vardır ve elektrot yüzey modifikasyonlarında iletken polimerler önemli rol oynamaktadır. Elektrokimyasal yöntemlerle yüzeyde oluşturulan iletken polimer filmlerin elektron transfer mekanizması üzerindeki etkisi henüz tam olarak anlaşılammış ve açıklanamamış olmasına rağmen enzim immobilizasyonu için kullanılan bazı iletken polimer filmler sensör cevabındaki duyarlılığı belirli türler için önemli ölçüde arttırmaktadır (Gerard et al., 2002)

2.6.1.2. Potansiyometrik Biyosensörler

Potansiyometri, çözelti içerisindeki iki elektrot arasındaki potansiyel farkını ölçmektedir. Bu elektrotlardan biri çözelti içerisindeki potansiyeli ölçmede prob görevi görürken diğer elektrot referans görevi görür. Referans elektrot ortamdaki bağımsız sabit ve tekrarlanabilir bir potansiyel değerine sahiptir. Prob elektrodun potansiyeli indirgenme yükseltgenme reaksiyonlarının meydana geldiği katı- sıvı arayüzey potansiyelidir. Denge halinde potansiyel değeri sistemin yükseltgenmiş ve indirgenmiş durumdaki konsantrasyonları [Yük] ve [İnd], standart elektrot potansiyeli, E_0 , Faraday sabiti, F , gaz sabiti, R , mutlak sıcaklık, T ve transfer edilen elektronların sayısı n olmak üzere Nernst eşitliği ile verilmektedir (Canh, 1993).

$$E = E_0 + \frac{RT}{nF} \ln \frac{[Yük]}{[İnd]} \quad (2.11)$$

Potansiyometrik biyosensörler iyon seçici elektrot (ISE) ve iyonlara duyarlı alan etkili transistör (ISFET) temellidirler. Başlıca çıkış sinyali iyon seçici membran arayüzeyde biriken iyonlar nedeniyle oluşmaktadır. Elektrot üzerinden geçen akım sıfır veya neredeyse sıfıra yakındır.

Elektrot enzimatik reaksiyon nedeniyle oluşan iyonların varlığını izleyebilmektedir. Örneğin, glukoz oksidaz pH elektrodu üzerine immobilize edilebilmektedir ve

glukozun çalışma ortamı pH'sı üzerinde minimal bir etkisi söz konusudur. Ancak enzimatik olarak oluşan glukonat asitlenmeye neden olmaktadır. Biyolojik tanımlama elementi membranın dış yüzeyine immobilize edilmekte ya da iç yüzeyde hapsedilmektedir (Pohanka and Sklådál, 2008).

2.6.1.3. Kondüktometrik Biyosensörler

Kondüktometrik biyosensörler alümina ya da silikon dioksit gibi yalıtkan bir yonga üzerinde altın ile birleştirilmiş ve aralarında boşluk olan düzlemsel mikro elektrotlardan oluşmuş kapasitörlerdir. Kondüktometrik biyosensörlerde algılama birbirine çok yakın iki mikro elektrot arasındaki boşluğun kimyasal seçicilik sağlayan biyolojik bir molekül ile modifikasyonu ile sağlanmaktadır. Biyoseçicilik sağlayan molekül bazı durumlarda elektrot arayüzeyinde oluşturulan yarı-geçirgen bir membran üzerine immobilize edilmektedir.

Analit, seçici ajana bağlandığında immobilize filmin iletkenliği değişmektedir. Elektrotlar arasına düşük genlikli sinüs dalgasının uygulanması büyüklüğü filmin iletkenliği ve dolayısıyla analit konsantrasyonu ile orantılı ölçülebilir akım oluşmasına neden olmaktadır.

Bu tip sensörlerin en büyük eksileri düşük cevap süresi, sinyal oluşumu ve değerlendirilmesi için karmaşık donanım gereksimi ve ölçümün tamponlama kapasitesine bağımlı olmasıdır (Martin-Goldberg et al., 1991).

2.6.1.4. Optoelektronik Biyosensörler

Optoelektronik biyosensörler iletici sistem olarak optik lifler üzerine uygun bir yöntemle uygun bir biyomolekülün immobilize edilerek hazırlandığı ölçüm aygıtlarıdır. Optoelektronik sensörlerin en basit türünde optik fiberlerin spektrofotometri, flüorimetri ya da reflektometri ile kombinasyonundan yararlanılır. Bu tip sensörler fiberi çevreleyen ölçüm ortamı nedeniyle ışık absorpsiyonu, dalga boyu veya kırılma indeksi gibi optik parametrelerde meydana gelen değişimleri belirleyebilmektedirler.

Işık, örnek ile kaynak veya dedektör arasında fiberlerin iç yüzeyinde tam kırılma prensibi vasıtasıyla taşınmaktadır. Fiber içerisindeki tam kırılma hiçbir zaman mükemmel değildir ve bir miktar elektromanyetik ışımaya fiberi çevreleyen

kaplamanın içine nüfuz eder. Buna genliği azalan dalga denir ve yoğunluğu arayüzey içerisindeki girinim uzaklığı ile üstel olarak azalma göstermektedir.

Analit ile optik fiberler üzerine immobilize edilen biyolojik molekülün etkileşmesi ile yüzeyde madde birikimi, ışık absorpsiyonu veya lüminesansa bağlı olarak fiber içerisindeki ışığın optik özelliklerindeki değişim incelenerek analiz yapılmaktadır (Canh, 1993).

2.6.1.5. Kalorimetrik Biyosensörler

Hemen hemen tüm biyokimyasal reaksiyonlar ekzotermik karakterdedir. Enzimatik reaksiyon sonucu substratın ürüne dönüşümü ısı üretimini de beraberinde getirir. Termodinamiğin birinci yasası üretilen ısı ile molar entalpi arasında oransal bir ilişkinin varlığını tanımlamaktadır.

$$Q = -n_p \sum \Delta H \quad (2.12)$$

Isı üretimi nedeniyle çevreleyen sistemin ısı kapasitesi olan C_s 'ye bağlı olarak yerel bir sıcaklık değişimi, ΔT , gözlenmektedir.

$$\Delta T = \frac{Q}{C_s} = -\frac{n_p \sum \Delta H}{C_s} \quad (2.13)$$

Enzimatik reaksiyon entalpileri -10 ile -100 kJ/mol aralığındadır ve birkaç mK civarında yerel sıcaklık değişimlerine denenebilirler. Kalorimetrik biyosensörler bu sıcaklık değişimlerinin çok hassas polikristalin yarı iletken ve metal oksit karışımı termistörler tarafından algılanarak elektriksel sinyale dönüştürülmesi prensibinden yararlanır (Lammers and Scheper, 1999).

2.6.1.6. Piezoelektrik Biyosensörler

Piezoelektrik ölçümler, kuartz gibi bazı anizotropik dielektrik materyallerde oluşan elektriksel polarizasyon veya var olan polarizasyonda meydana gelen değişimleri kullanır. Polarizasyon uygun doğrultuda bir kuvvet uygulandığı zaman oluşur. Uygun doğrultuda bir elektrik alan uygulandığında materyal titreşir veya form değiştirir bu nedenle piezoelektrik etki tersinirdir. Piezoelektrik cihazlar kütledeki küçük değişimleri algılamak üzere rezonans frekanslarında çalıştırılırlar. Bu küçük değişimler enzim-inhibitor birleşmesi ya da antijen-antibadi bağlanmaları gibi prosesleri içeren biyolojik reaksiyonlar nedeniyle oluşabilmektedir. Bu sensör tipinin

çalışma prensibi salınım yapan bir kristal üzerine madde birikimi sonucu titreşim frekansındaki azalmanın ölçülmesidir. Piezoelektrik kristal analite bağlanabilecek ya da reaksiyon verecek bir materyal ile kaplanarak aktif hale getirilir. Bu yöntemden yararlanılarak piezoelektrik immünosensörler geliştirilmiştir (Canh, 1993).

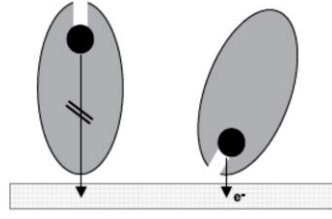
2.7. Amperometrik Biyosensörlerde Elektron Transfer Mekanizmaları

Belirli bir elektriksel potansiyel altında çalışması planlanan amperometrik bir sensörün tasarımında immobilize enzimin aktif merkezi ile elektrot arasında gerçekleşen elektron-transfer prosesinin tanımlanması ve bu prosesi kolaylaştıracak uygun stratejilerin geliştirilmesi çok önemlidir. Amperometrik biyosensör yapılarında başvurulan direk (DET) ve medyatörlü elektron transfer (MET) mekanizmalarının spesifik özellikleri ve karşılaşılan güçlükler aşağıda kısaca değinilmiştir.

2.7.1. Direk Elektron Transferi (DET)

Direk elektron transferi (DET) enzim ve çevirici yüzey arasında elektronik açıdan doğrudan bir iletişimin olduğu elektron transfer mekanizmasıdır ve elektron transferi substratın ürüne dönüşmesiyle neredeyse eşzamanlı olarak gerçekleşir. Redoks enzimi bir elektrokatalizör gibi davranarak substrattan elektroda elektron transferini hızlandırmaktadır. Bu nedenle MET’de yer alan kendiliğinden değiş-tokuş (self-exchange) ara basamakları ortadan kalmaktadır. Bu elektron transfer mekanizmasıyla çalışan biyosensörlerin enzimin redoks potansiyeline yakın potansiyelde çalışması ile girişim yapan reaksiyonlardan daha az etkilenmesi daha seçici olmalarını sağlamaktadır. Ayrıca elektrot yüzeyi ile biyomolekül arasındaki yüksek bütünlük duyarlılığın artmasına da neden olmaktadır.

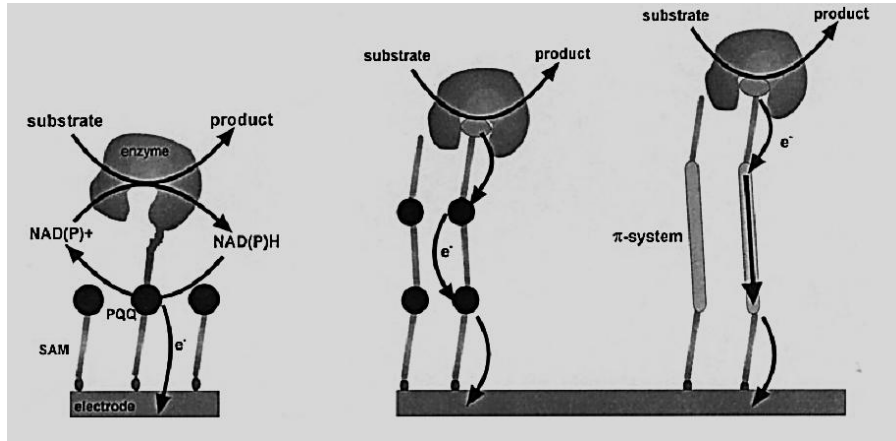
Enzim ve elektrot arasında gerçekleşebilecek böyle bir elektron transferinin varsayımı daha önce açıklaması yapılan Marcus Teorisi’nden türetilmiştir. Bu nedenle ideal olarak tasarlanmış bir elektrotta immobilize redoks proteini ve uygun elektrot yüzeyi arasındaki uzaklığın olabildiğince kısa olması sağlanmalıdır. Dahası elektrot ile enzimin aktif merkezi arasındaki iletişimi kolaylaştıracağından immobilize biyomolekül ayrıca uygun yönelimde olmalıdır (Şekil 2.20). DET’nin optimizasyonu için yaklaşımlardan bir tanesi enzimlerin anizotropik ve yönelimli immobilizasyonuna uygun yüzeylerin dizaynıdır.



Şekil 2.20. Elektrot yüzeyinde enzim yönelmesi

DET özellikleri gösteren enzimlerden elektron transfer merkezinin protein kılıf içerisinde elektroda yakınlığı göz önünde bulundurulduğunda sitokrom-c peroksidaz, mikropereksohidaz, kloropereksohidaz, laktopereksohidaz, karaturp peroksidaz gibi peroksidaz grubu enzimler elektron transferi için yapısal kolaylık sağlamaktadır.

İletken polimerler ile hazırlanan yüzeylerdeki konjuge π -sistemleri sayesinde prostetik grup ve elektrot arasında molekülerin kablolanması, enzimin prostetik grubunun çıkarılıp PQQ gibi iletken bir uzatma koluyla modifikasyonundan sonra elektroda bağlanıp apoenzimin aktive edilmesi DET sağlamak üzere üzerinde yoğun çalışılan yöntemlerdendir.

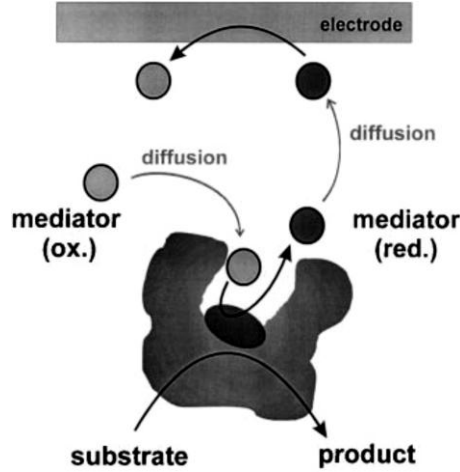


Şekil 2.21. Enzim redoks merkezi ile sentetik yöntemlerle DET mekanizması

2.7.2. Medyatörlü Elektron Transferi (MET)

Birinci nesil biyosensörler doğada, substratın oksidasyonu sonucu indirgenmiş duruma geçen enzimlerin birçoğunun prostetik grubunun serbestçe difüzlenebilen bir kosubstrat (O_2 veya NAD^+) tarafından geri kazanılması prensibinden yararlanmaktadır. Bazı kosubstratlar elektrot yüzeyinde indirgenip

yükseltgenebildiğinden enzim ile çevirici arasında “elektron transfer ajanı” olarak kullanılabilir. (Şekil 2.22) Enzimin kosubstratının konsantrasyonundaki azalma veya kosubstrat ile prostetik grup etkileşimi sonucu oluşan ürün konsantrasyonundaki artış substrat eklenmesiyle uygun bir çalışma potansiyeli altında ölçülen akım ile saptanabilmektedir.



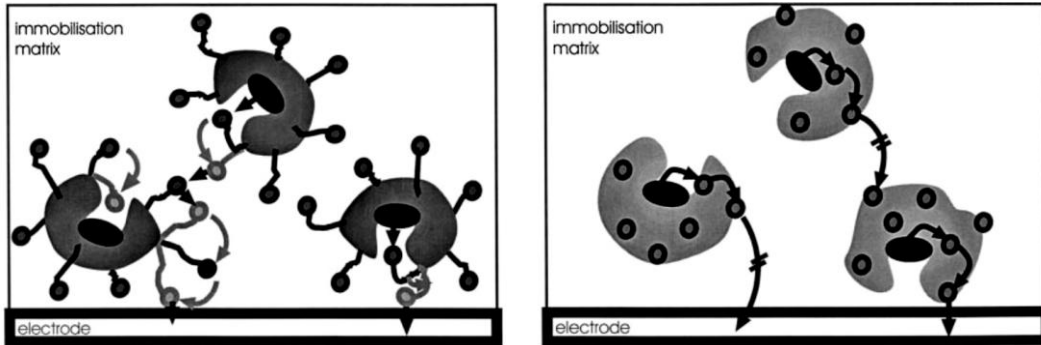
Şekil 2.22. Enzim ve elektrot arasında MET mekanizması

Şu bir gerçektir ki, birçok uygulamada toplam enzimatik reaksiyon, dolayısıyla sensörün lineer ölçüm aralığı doğal kosubstratların yüksek konsantrasyonda varlığı gerekli olduğundan kısıtlanmaktadır. Buna verilecek önemli örneklerden biri in-vivo glukoz ölçümlerinin kandaki veya dokudaki O_2 kısmı basıncına bağlı olmasıdır.

İkinci nesil biyosensörlerde ölçüm sırasında O_2 'ye bağlı kısıtlamaları engellemek ve elektrot yüzeyinde direk olarak indirgenip yükseltgenebilen bileşiklerin girişimini azaltmak üzere çalışma potansiyelini düşürmek için doğal kosubstratlar yerine yapay redoks medyatörleri kullanılmaktadır. En basit tasarımlarda kullanılan başlıca yapay redoks medyatörlerini düşük molekül ağırlıklı tersinir elektron transfer kinetikleri gösteren ferrosen türevleri, $K_4[Fe(CN)_6]$ gibi metal kompleksleri, kinonlar, Os-kompleksleri olup örneğe eklenerek serbestçe difüzlenebilen elektron transfer ajanları olarak kullanılmaktadırlar. Ancak biyosensörlerin uygun çalışması için enzimi indirgeme yoluyla rejenere eden O_2 ile yapay redoks medyatörünün yarışabilmesi için enzim ve medyatör arasındaki elektron transfer kinetiklerinin yeterince hızlı olması gerekmektedir. Açıkça görülüyor ki, redoks medyatörünün

serbest difüzyonel hareketi verimli elektron transfer kinetikleri için kaçınılmaz bir önkoşuldur. Bu hesaba katıldığında biri enzim ve elektrot arasında hızlı bir elektrokimyasal iletişim oluşturmak diğeri redoks medyatörünü sensör yüzeyinde tutmak üzere iki farklı mekanizma formüle edilebilmektedir. Birinci yaklaşım enzim ile elektrot arasındaki toplam elektron transfer prosesinin matrikse kovalent bağlanmış redoks medyatörleri arasındaki zincirleme elektron-sıçrama reaksiyonlarına bölünmesi ile elektron transfer mesafesinin kısaltılmasıdır. Buradaki elektron transfer mekanizmasında komşu redoks medyatörleri arasındaki çoklu kendiliğinden değişim (self-exchange) reaksiyonları ağır basmaktadır. Böyle bir tasarımda sensör cevabını limitleyen basamağın kendiliğinden değişim reaksiyonlarından ziyade prostetik grup ve ona en yakın medyatör molekülü arasında meydana gelen elektron transfer reaksiyonu olması sağlanmalıdır (Habermüller et al., 2000).

İkincil bir yaklaşım redoks medyatörünü moleküllerinin elektrot yüzeyine veya uygun bir matrikse ya da enzimin dış yüzeyine uzun ve esnek uzatma kolu ile kovalent bağlanmasını kapsamaktadır (Şekil 2.23).



Şekil 2.23. Medyatörler ile modifiye edilmiş redoks enzimleri

2.8. Enzim İmmobilizasyonu

Enzimler aktivasyon enerjisini düşürerek kendileri reaksiyon ürünlerine dahil olmadan biyokimyasal reaksiyonları hızlandıran biyolojik olarak aktif ve oldukça spesifik katalizörlerdir. Katlanmış amino asit zincirlerin meydana getirdiği tersiyer ve kuaterner (oligomerik enzim) yapılar enzimde katalitik veya aktif bölge olarak

adlandırılan reaksiyon merkezini oluştururlar. Ancak bu katlanmış yapı amino asit zincirlerini bir arada tutan kovalent bağların aksine genellikle kovalent olmayan etkileşimler ile bir arada tutulmaktadır. Bu etkileşimler iyonik köprüler, hidrojen bağları, hidrofilik ve hidrofobik etkileşimlerden oluşmaktadır.

Yüksek sıcaklık, yüksek veya düşük pH, organik solventlerin varlığı hatta uygun kataliz koşulları gibi durumlarda dahi enzimlerin katalitik aktivitesini sürdürebilmesi için gerekli olan moleküler yapının parçalanması olasıdır. Bu nedenle bunu engellemek ve biyolojik katalizörün ömrünü uzatmak amacıyla enzimin destek yüzeyler üzerine veya matriks içerisine immobilizasyonu önemli bir yöntemdir.

İşlevsel bir biyosensör tasarımında enzimin reaksiyon katmanına uygun biçimde immobilizasyonu çok önemlidir. Enzim katmanının analitik performansı immobilize enzimin işlevselliğini devam ettirmek ve analit moleküllere erişilebilirliği sağlamak üzere enzimi matriks içinde alıkoymak için seçilen immobilizasyon yöntemine bağlıdır.

Enzimin hareket kabiliyeti (mobility) kimyasal veya fiziksel araçlarla kısıtlandığı zaman enzim "immobilize" olarak adlandırılır. İmmobilize enzimin özellikleri destek materyalin aşağıda belirtilen özelliklerinden etkilenebilir (Norouzian, 2003).

- geniş yüzey alanı
- parçacık büyüklüğü
- geçirgenlik
- hidrofilitik/hidrofobiklik
- çözünmezlik
- kimyasal/mekanik kararlılık
- yüksek bükülmezlik
- rejenere olabilme

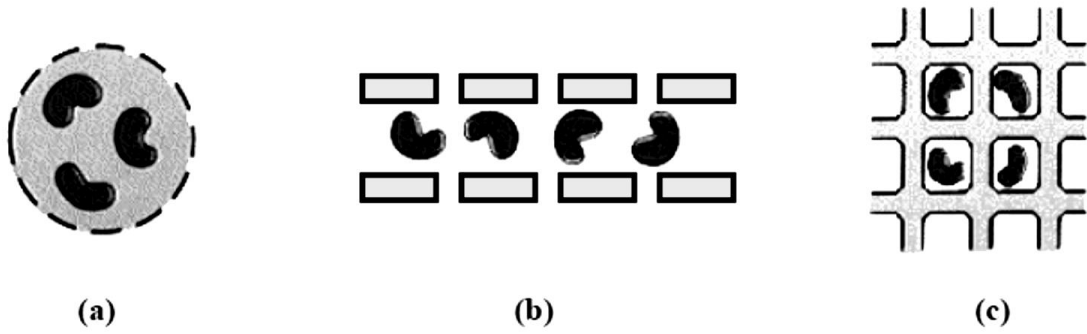
Başarılı biyosensörlerin geliştirilmesinde çok çeşitli immobilizasyon yöntemleri kullanılmıştır. Bu farklı yaklaşımlar başlıca dört ana immobilizasyon tekniği altında kategorize edilebilmektedir: tutuklama, adsorpsiyon, kovalent bağlama ve çapraz bağlama. Son yıllarda basit immobilizasyon yöntemlerinde karşılaşılan problemlerin aşılmasında kombine immobilizasyon yöntemlerinin kullanılması başarı sağlamıştır.

2.8.1. Enzim İmmobilizasyonu Yöntemleri

Enzimlerin immobilizasyon işleminden sonra istenilen aktiviteyi ve karakteristikleri gösterebilmeleri için enzime uygun bir taşıyıcının ve immobilizasyon yönteminin seçilmesi gereklidir. Enzimlerin immobilizasyon yöntemleri aşağıdaki gibi sınıflandırılmaktadır.

2.8.1.1. Hapsetme Yöntemi

Taşıyıcı içine hapsetme, enzimin yarı-geçirgen bir zar arkasına ya da hapsetme matriksi oluşturan polimerize jel içerisindeki latislere Şekil 2.24'de görüldüğü gibi tutuklanmasını kapsamaktadır. Bu yöntem ilk biyosensörlerde kullanılmıştır. Clark ve arkadaşları ilk oksijen tabanlı biyosensör tasarımında platin elektrot yüzeyindeki diyaliz membranına glukoz oksidaz hapsetmişlerdir.



Şekil 2.24. (a) mikrokapsül, (b) yarı-geçirgen membran ve (c) matriks içerisine enzim hapsedilmesi

Bu yöntemin en önemli avantajı enzim ve matriks arasında herhangi bir bağ oluşumu meydana gelmediğinden enzimin asıl yapısında ve işlevselliğinde çok az veya hiç bozulma olmamasıdır. Bu nedenle enzim denatürasyonu sonucu oluşabilecek aktivite kaybı ihmal edilebilir düzeydedir. Oluşan matriks düşük molekül ağırlıklı substrat ve ürünlerin membrandan serbest difüzyon ile geçişine olanak sağlarken, proteazların ve yüksek molekül ağırlıklı enzim inhibitörlerinin etkisini de ortadan kaldırmaktadır. Buna karşın hapsedildiği takdirde aktif merkezlerine zor ulaşılan ribonükleaz ve dekstranaz gibi büyük molekül ağırlıklı substratları olan enzimlerin uygulamalarını da kısıtlamaktadır (Eggins, 1996).

Hapsetme yönteminde substratın matriks içine girmesi sırasında difüzyon bariyeri oluşabilmektedir. Bu durum biyosensörlerde substratın difüzyon limitli cevap akımı oluşturması neden olmakta ve lineer sensör cevabı elde edilmesinde yararlı olabilmektedir (Harwood and Pouton, 1996). Ancak substrat difüzyonun da meydana gelen yavaşlama reaksiyonu da yavaşlattığından biyokimyasal reaksiyonun yatışkın duruma geçmesi uzun sürmekte ve cevap süresi uzamaktadır (Eggins, 1996). Cevap süresi membran kalınlığına bağlı olup, ince bir membranla kısa cevap sürelerine ulaşılabilir (Wang, 1988).

2.8.1.2. Adsorpsiyon

Fiziksel adsorpsiyon enzim ile çözünmez destek yüzey arasındaki hidrojen bağı, Van der Waal's kuvvetleri veya yük-transfer kuvvetleri gibi spesifik olmayan etkileşimleri içermektedir. Özellikle tek kullanımlık biyosensörlerin hazırlanmasında hızlı ve basit bir yöntemdir. Adsorpsiyon enzim ve elverişli bir adsorbentin uygun pH ve iyonik kuvvet gibi koşullarda karıştırılıp yeterli bir süre inkübe ile gerçekleştirilebilmektedir. Zayıf bağlanmış ve bağlanmamış enzimler daha sonra yıkama ile uzaklaştırılmaktadır.



Şekil 2.25. Katı yüzeye enzim adsorpsiyonu

Bu yöntemde çoğunlukla reaktiflere gerek duyulmamaktadır ve çok az sayıda aktivasyon basamağına ihtiyaç vardır. Bu nedenle hem ucuz hem de uygulaması kolaydır. Adsorpsiyonda yer alan fiziksel etkileşimler enzimin aktif merkezinde kovalent bağlamaya oranla daha az konformasyonel değişimin meydana gelmesine neden olarak aktivitenin korunmasını sağlamaktadırlar.

Adsorpsiyonun kısıtlamalarının altında yatan en önemli neden enzim ve destek yüzey arasındaki bağlanma kuvvetlerinin zayıf olmasıdır. Bu kuvvetler pH, iyonik kuvvet, sıcaklık ve çözücü gibi ölçüm ortamındaki değişimlere aşırı duyarlıdır. Bunun sonucu olarak immobilize enzimin destek yüzeyden ayrılarak matriks dışına sızması dayanım ömrünün azalmasıyla sonuçlanır (Sirvent et al, 2000).

Bundan başka diğer proteinlerin ve maddelerin ilaveten spesifik olmayan adsorpsiyonu ile immobilize enzimin özelliklerinin değişimi de meydana gelebilmektedir. Enzimin dışarıya sızmasını minimize etmek adsorpsiyonda kullanılacak destek materyalin özel olarak seçimine bağlıdır. Bunun için uygun bazı destek materyaller DEAE-sefadeks, CM-sefadeks, alümina, silika sol-gel gibi iyon-değişim matriksleridir. Perde-baskılı (screen-printed) elektrotların kullanıldığı biyosensörlerde enzimler direk olarak elektrot yüzeyine adsorplanıp daha sonra bir dış membranla örtülmektedirler. Sharma ve arkadaşları indiyum-kalay oksit (ITO) kaplı cam tabakalar üzerinde elektrokimyasal olarak sentezlenmiş poli(2-floroanilin) filmlere glukoz oksidazın fiziksel adsorpsiyon ile immobilizasyonu ile 32 güne kadar stabiliteyi sağlamışlardır.

Enzim sızıntısı probleminin üstesinden gelmek amacıyla adsorplanmış enzimlerin kendi aralarında kovalent bağlanması gerekli olabilmektedir. Matrikse adsorplanmış enzimler fiziksel adsorpsiyonu takiben kendi aralarında çapraz bağlanarak kararlı duruma getirilmiştir (Fernandez-Lafuente et al., 1995; Rosatto et al., 2002).

2.8.1.3. Kovalent Bağlama

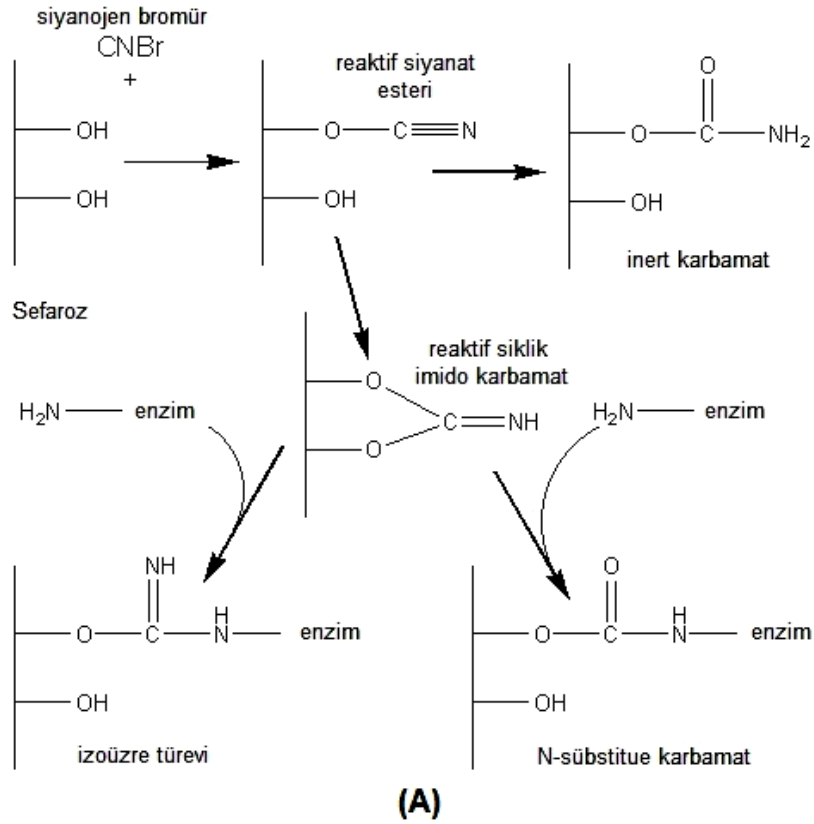
Enzimin suda çözünmeyen bir taşıyıcıya kovalent bağlanması her iki bileşenin tamamlayıcı fonksiyonel gruplarının yardımıyla gerçekleştirilebilmektedir. Bu iki bileşen arasında kuvvetli kovalent bağ oluşumu enzimin katalitik aktivitesi için gerekli olan reaktif bölgeyi içermemelidir. Kovalent bağ oluşumu için yararlı bazı gruplar amino grubu (-NH₂), karboksil grubu (-COOH), disülfid grubu (-S-S-) ve imidazol olarak sıralanabilir (Eggins, 1996).

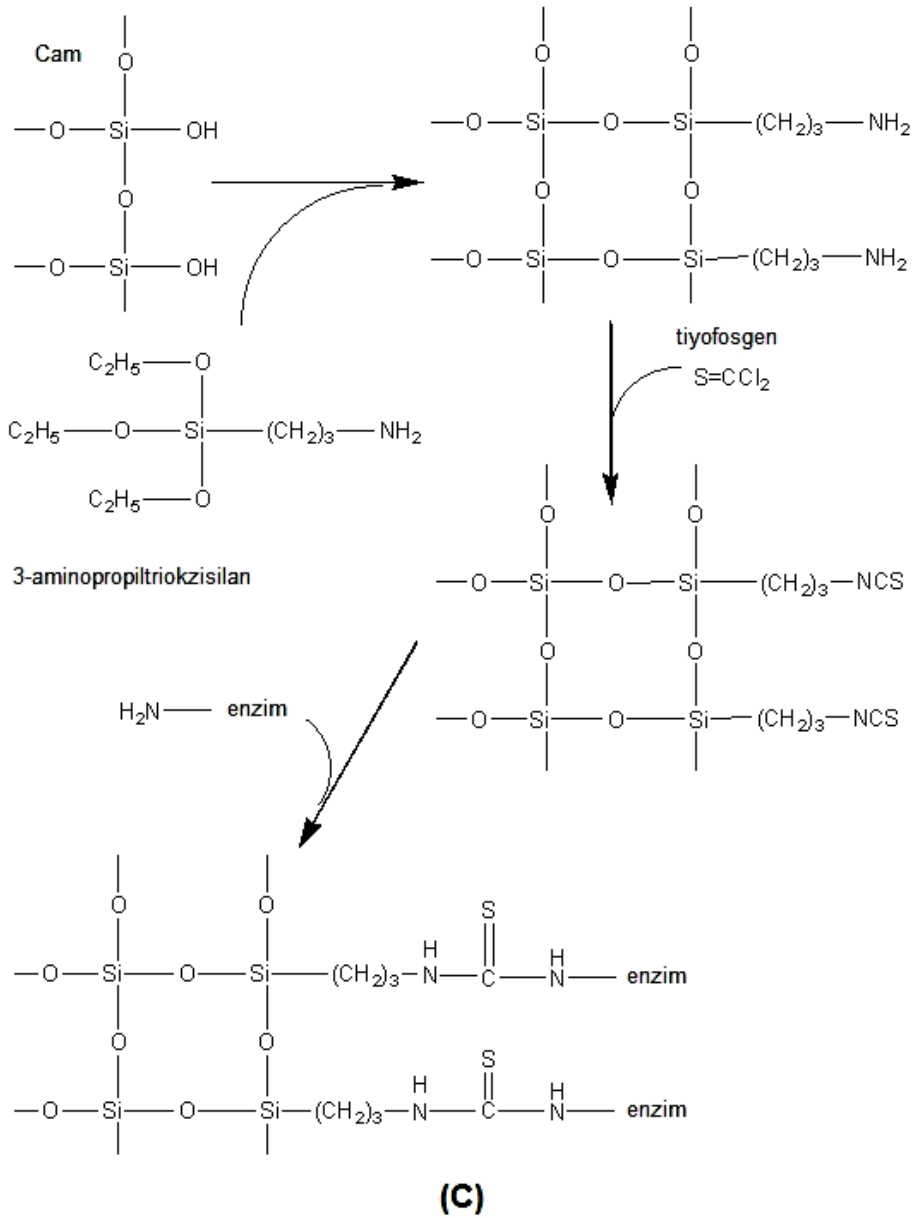
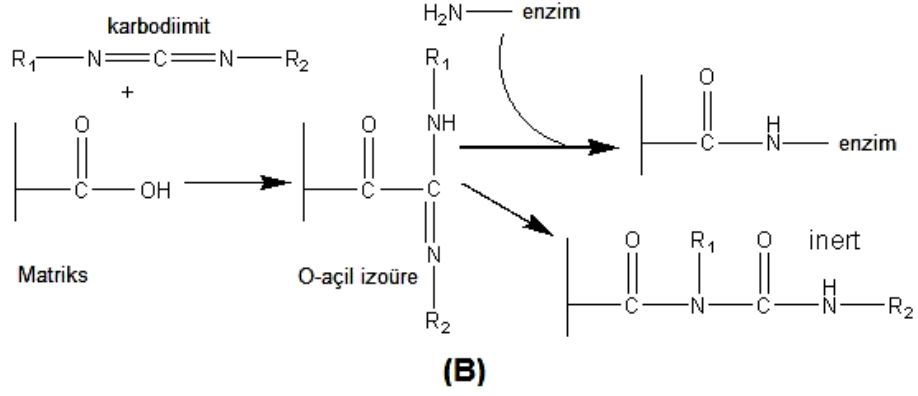
Bağlama reaktiflerinin bazı fonksiyonel gruplarının yararlılığı reaktifliklerine ve kullanılabilirliklerine bağlıdır. Yaygın olarak kullanılan bazı reaksiyonlar Şekil 2.26'da gösterilmiştir.



Şekil 2.26. Katı desteğe kovalent bağlanmış enzimlerin şematik gösterimi

Küre formunda, oldukça hidrofilik bir polimer olan sefaroz ılımlı koşullarda lisinin amino grupları ile reaksiyona girebilen reaktif siklik imido-karbonat grupları oluşturmak üzere siyanojen bromür ile aktive edilebilmektedir. Yaygın kullanımı olan ve aminleri karboksilik asitlere bağlayan bir diğer reaktif ise karbodiimittir. Reaksiyon koşullarının dikkatli kontrolü ile karbodiimit bağlanma yüksek seçicilik sağlamaktadır. (3-aminopropil-trimetoksi) silan gibi trialkoksisilan türevleri cam gibi inert materyallerin enzimleri kovalent bağlamak üzere amino grupları ile fonksiyonelleştirilmesine olanak sağlamaktadır. Bunun dışında hidrazitlerin nitroz asit ile muamele edilmesi ile diazonyum grupları ve tiyol gruplarının açıl gruplarına bağlanması gibi birçok yöntem vardır. Henri ve arkadaşları glukoz oksidazı direk olarak aminosilanlanmış platin elektroda 1,2,4,5- benzentetrakarboksilik asit dianhidrit ve suksinit anhidrit ile bağlamışlardır. Bu yöntem kesikli (batch) koşullarda 30 mM'a kadar lineer cevap elde edilmesine ve 2 ay sonra bile ilk aktivitenin % 50'sinin korunmasını sağlamıştır.





Şekil 2.27. Enzimlerin (a) siyanojen bromür, (b) karbodiimid ve (c) 3-aminopropil alkoksilan ile kovalent bağlanması

Bu tür immobilizasyon yöntemlerinde oluşan kovalent bağların çok kuvvetli olması nedeniyle enzim sızması çok azdır. Sonuç olarak bu yöntemlerle ömrü uzatılmış kararlı immobilize enzimler hazırlanabilmektedir. Ancak kovalent bağlama nedeniyle aktif merkezin etkilenmesinden kaynaklı enzim inaktivasyonları meydana gelebilmektedir ya da substratın enzim aktif merkezine ulaşabilirliği engellenebilmektedir. Enzimin aktif merkezini korumak için farklı stratejiler uygulanmaktadır. Enzimin fonksiyonelleştirilmiş katı desteğe kovalent bağlanması substrat, ürün ya da yarışmalı inhibitörlerin ortamda varlığında gerçekleştirilerek aktif merkezin reaksiyona girmemesi sağlanarak katalitik özellikler korunabilmektedir. İstenilmeyen moleküller daha sonra immobilize enzimin yıkanmasıyla uzaklaştırılmaktadır.

2.8.1.4. Çapraz Bağlama

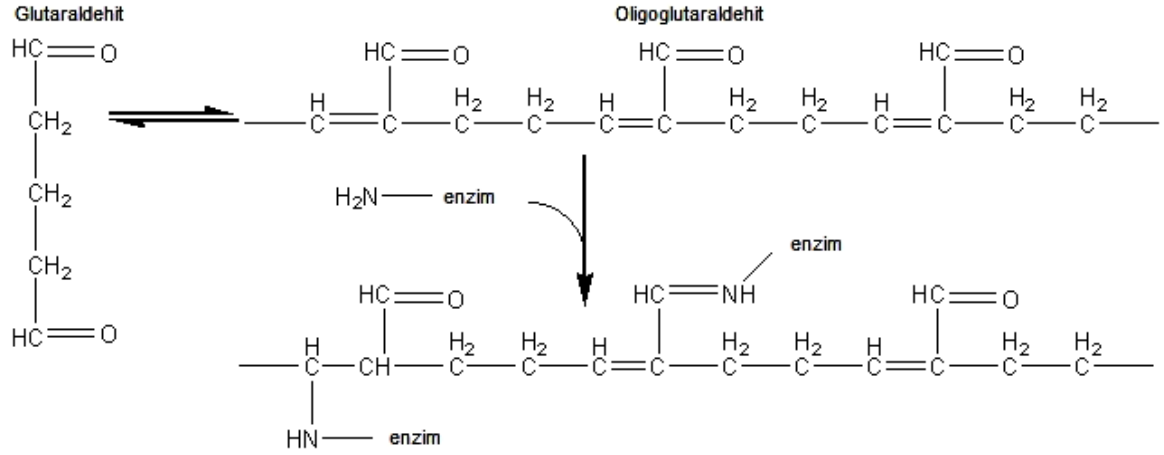
Birçok durumda çapraz-bağlama prosedürü enzimin immobilizasyon matriksine tutturulmasına yardım etmede kullanılmaktadır. Bu yöntem enzimin moleküllerinin molekül içi ya da moleküller arası birbirine veya taşıyıcı matriksteki fonksiyonel gruplara çapraz bağlanması ile büyük enzim molekülü matriksleri oluşması ile gerçekleştirilmektedir. Şekil 2.28'de enzimlerin çapraz bağlama ağ örgüsündeki düzenlemesi görülmektedir. Çapraz bağlama ajanlarından bazıları aşağıda verilmiştir.

- ✓ Glutaraldehit
- ✓ Hekzandiamin
- ✓ Hekzametilen diizosiyanat
- ✓ Fenol-2,4-disülfonik asit
- ✓ 1,5-Difloro-2,4-dinitrobenzen
- ✓ Bisdiazobenzidin-2,2'-disülfonik asit



Şekil 2.28. Enzimlerin birbirine ve katı desteğe çapraz bağlanması

Bu reaktiflerden glutaraldehit (GA) taşıyıcının organik hidroksil gruplarıyla ve enzimdeki lisin aminoasit molekülünün açıkta kalan fonksiyonel grubuyla Şekil2.29'daki gibi reaksiyona girebilmektedir.



Şekil 2.29. Glutaraldehit ile enzimlerin amino gruplarının çapraz bağlanması

Çapraz bağlayıcı fiziksel immobilizasyonla karşılaştırıldığında enzimin katı desteğe daha çok bağlanmasını sağlayan fonksiyonel gruplar arz ve böylece ihmal edilebilir enzim sızıntısına neden olmaktadır.

Bundan başka moleküller arası çapraz bağlama boyutsal olarak katlanmış protein moleküllerinin stres durumunda açılmasını önleyerek stabilize etmektedir. İlave enzim molekülleri hâlihazırda yüzeye kovalent bağlanmış enzim katmanı üzerine kümeleştirilerek enzim yüklemesi arttırılabilmektedir. Ancak çapraz bağlama enzimin aktif merkezinde konformasyonel değişimlere yol açabildiğinden aktivite kaybına yol açabilmektedir.

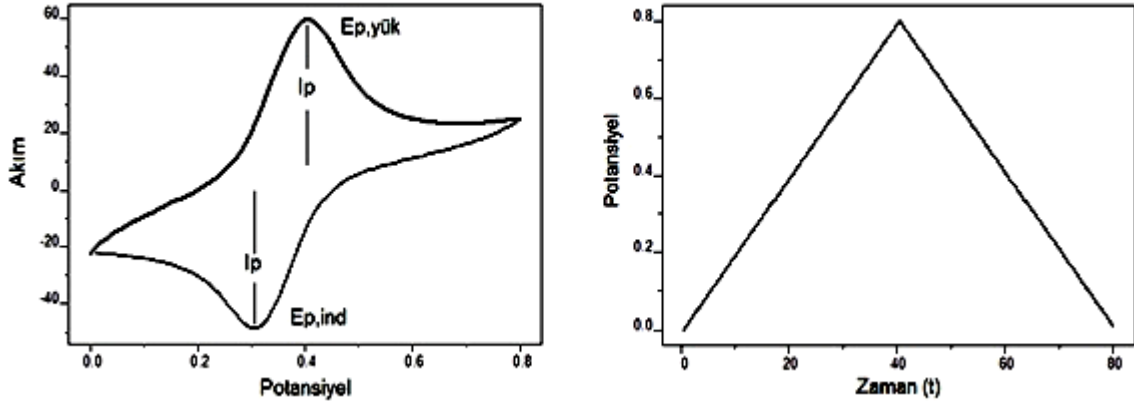
Oluşan sıkı çapraz bağlanmış ağ örgüsü ayrıca enzim kinetiklerini ve substrat difüzyonunu etkilemektedir. Matriks içerisinde reaksiyon ürünleri oluşması sonucu enzimin yerel ortamında zarar verici değişimler ortaya çıkabilmektedir. Bu nedenle biyomolekül immobilizasyonunda aktivite ve uygun difüzyon için optimizasyon gereklidir (Ling, 2008).

2.9. Elektrokimyasal Ölçümler

Elektrot yüzeylerinde gerçekleştirilen iletken polimer ve medyatör modifikasyonu ile biyoloji molekül tutuklanması işlemlerinden sonra elektrokimyasal yöntemlerle yüzeylerin performansı değerlendirilebilir.

2.9.1.1. Dönüşümlü Voltametri

Dönüşümlü voltametri, çalışma elektroduna Şekil 2.30'da görüldüğü gibi üçgensel dalga formunda potansiyel uygulanıp eşzamanlı olarak akım değerlerinin kaydedildiği analiz yöntemidir.



Şekil 2.30. Dönüşümlü voltametri prensibi

Anodik tarama sırasında $E_{p, yük}$ potansiyelinde oluşan reaksiyon ürünleri katodik tarama sırasında $E_{p, ind}$ potansiyelinde geri indirgenirler. Tamamen tersinir bir redoks prosesi için;

$$\Delta E_p = E_{p, yük} - E_{p, ind} = (59/n) \text{ mV} \quad (2.14)$$

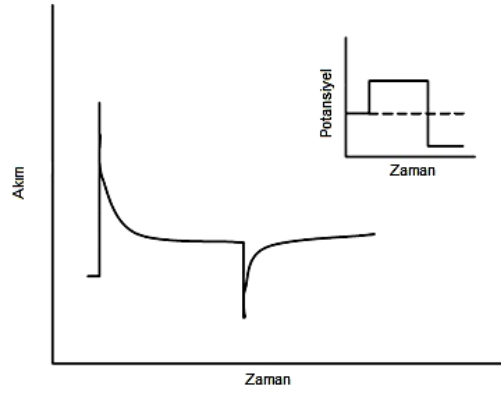
Bu durumda akım piklerinin pozisyonu potansiyel tarama hızından bağımsızdır ve iki pikte eşit yükseklikte olur. Tersinmezliğin artmasıyla birlikte ΔE_p değeri artar. Yarı-tersinir reaksiyonlar ve düşük tarama hızları için bu fark $(60/n)$ mV'tur ancak tarama hızı arttıkça ΔE_p değeri artar. Tamamıyla tersinmez bir reaksiyon için ise yükseltgeme ürünü indirgenemez. Bu nedenle indirgenme piki gözlenmez.

Bu yöntem, çoğunlukla elektrot proseslerinde tersinirliğin ve kinetiklerin incelenmesinde kullanılmaktadır. Elektrokimyasal olarak aktif türlerin redoks

davranışları ve elektrot kinetikleri hakkında bilgi vermesine ilaveten reaktif ara ürünlerin veya reaksiyon sonrası türlerin tanımlanmasına da olanak sağlamaktadır. Dönüşümlü voltametri rutin olarak nicel analizlerde kullanılsa da organik ve metal-organik sistemlerin mekanistik çalışmalarında ve indirgenme-yükseltgenme proseslerinin incelenmesinde önemlidir (Arslan Udum, 2004).

2.9.1.2. Kronoamperometri

Kronoamperometri, çalışma elektrodunun potansiyelinin Faradaik reaksiyonların gözlenmediği bir değerden (E_i) aniden Faradaik proseslerin meydana geldiği potansiyele (E_f) değiştirilmesi nedeniyle elektrotta oluşan akımın zamanın fonksiyonu olarak kaydedildiği elektrokimyasal analiz yöntemidir (Şekil 2.31).



Şekil 2.31. Potansiyel değişimine bağlı olarak akımın zamanla değişimi

Sabit bir çalışma elektrodu ile karıştırma olmayan durgun bir çözelti içerisinde uygulanmaktadır. Bu koşullar altında gerçekleşen kütle transferi difüzyonla olduğundan akım-zaman eğrisi yüzeydeki konsantrasyon gradientindeki değişimi yansıtmaktadır. Bu yöntem genellikle elektroaktif türlerin difüzyon sabitlerinin veya elektrot yüzey alanlarının hesaplanmasında kullanılmaktadır.

Buna ek olarak elektrot proseslerindeki mekanizmaların incelemesinde de kronoamperometriden yararlanılmaktadır (Zutshi, 2006).

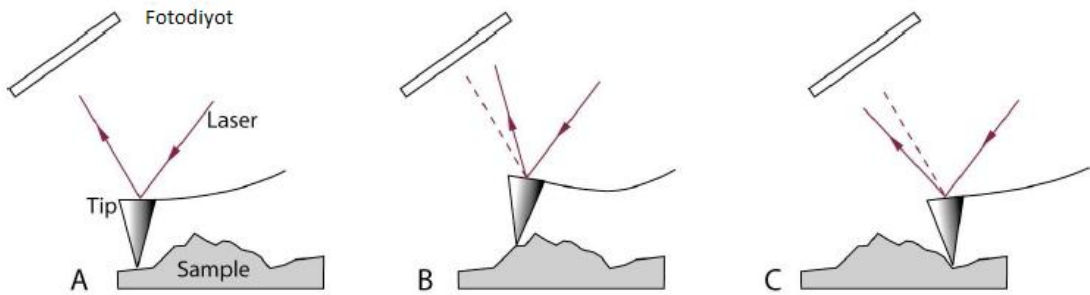
2.10. Yüzey Karakterizasyonu

Elektron aktarımı gerçekleştiren elektro-aktif ve biyolojik katalizleme yapabilecek biyo-aktif yapıyı kazandırmak üzere elektrot yüzeylerine uygulanan modifikasyon işlemleri sonrasında elde edilen enzim elektrotlarının yüzey özellikleri karakterize edilmelidir.

Sunduğumuz çalışma kapsamında yüzey analizleri gerçekleştirilirken sırasıyla Atomik Kuvvet Mikroskopisi (AFM), Fourier Transform İnfared Spektroskopisi (FTIR) yöntemleri kullanılarak topografik ve kimyasal olarak işlem görmüş karbon elektrot yüzeyleri tanımlanmıştır.

2.10.1. Atomik Kuvvet Mikroskobu (AFM)

Atomik Kuvvet Mikroskobu, 1980'lerde buluşu gerçekleştirilen bir grup Taramalı Prob Mikroskopisi (SPM) tekniği içerisinde en tanınmış ve yüksek çözünürlüğü (1-5 nm) olanlardan biridir. Atomik Kuvvet Mikroskobu, kantilever yayın ucuna yerleştirilmiş örnek yüzeyini taramaya yarayan sivri bir tipten oluşur. Kantilever genellikle eğrilik yarıçapı nanometre mertebesinde olup silikon veya silikon nitritten yapılmıştır. Tip örneğe yaklaştırıldığında, tip ve örnek arasındaki kuvvetler Hook Yasasına göre kantileverin bükülmesine sebep olur (Butt et al., 2005).

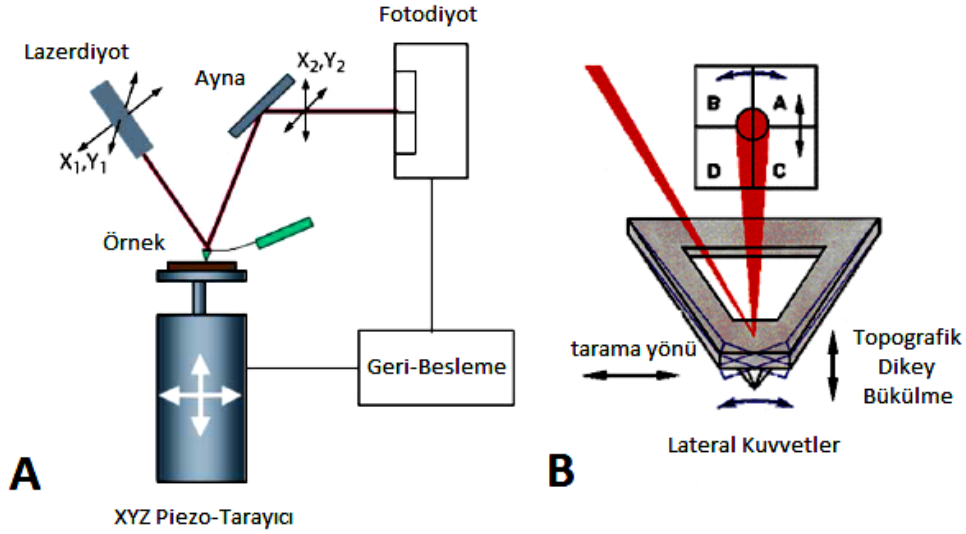


Şekil 2.32. AKM' de yüzey analizinin şematik gösterimi

İncelenen duruma bağlı olarak AKM' de ölçülen kuvvetler mekanik temas kuvveti, van der Waals kuvvetleri, kapiler kuvvetler, kimyasal bağlanma, elektrostatik kuvvetler, manyetik kuvvetler, Casimir kuvvetleri ve çözünme kuvvetlerini içerebilir.

Örneğin topografik görüntüsü tipin örnek üzerindeki pozisyonuna göre bükülmesi XYZ ekseninde grafiğe geçirilerek elde edilir. Tipin bükülmesi, lazerden çıkan ışınının kantilever üzerinden yansiyarak bir dizi pozisyona duyarlı foto

diyotüzerinde elektrik akımına dönüştürülmesiyle ölçülür. Foto diyot 4 bölümden oluşmuştur. Lazer topografi nedeniyle dikey ekseninde yukarı (B-A) ve aşağı (D-C) yer değiştirirken eğer bu yer değiştirme sürtünme nedeniyle burulma şeklinde olursa yatayda sola (B-D) ve sağa (A-C) kayma görülür (Giessibl, 2003) (Şekil 2.33).



Şekil 2.33. AKM'nin parçaları (A) ve tipe etkileyen yatay-dikey kuvvetler (B)

2.10.2. Fourier Transform Infrared Spektroskopisi (FTIR)

İnfrared (IR) spektroskopisi moleküllerdeki çeşitli bağların titreşim frekanslarını ölçer ve moleküldeki fonksiyonel gruplar hakkında bilgi verir. Düşük enerjili IR bölgedeki ışınların kullanıldığı bir absorpsiyon spektroskopisi yöntemidir. Belirli şartlara sahip moleküller IR ışınını absorplayarak molekül içi titreşim enerji düzeyleri arasında geçişlere sebep olur. Moleküllerdeki titreşim frekanslarına uyan infrared fotonlarının dalga sayıları $4000-650 \text{ cm}^{-1}$ arasında, yani yaklaşık $15 \mu\text{m}$ ile $2.5 \mu\text{m}$ dalga boyu aralığında değişmektedir. Monokromotörler yardımıyla dalga boylarını seçerek ölçümün yapıldığı spektrofotometrelerde herhangi bir anda sadece seçilen dalga boyundaki spektroskopik bilgi toplanır. Ancak bazı spektrofotometrelerde özel yöntemler kullanılarak tüm frekanslardaki bilgileri aynı anda elde etmek mümkündür. Bu tür spektrofotometrelerde monokromotör bulunmaz ve spektrumları frekans ölçeğinde değil zaman ölçeğinde elde edilir.

İnterferogram denilen spektrumları absorpsiyon spektrumunun Fourier dönüşümüdür. Elde edilen veri bilgisayar aracılığı ile matematiksel bir metot uygulanarak frekans ölçeğindeki bilgilere dönüştürülür. Ters Fourier dönüşümü adı verilen bu yöntemle veri zaman alanından frekans alanına aktarılır ve değişik frekanslarda oluşan absorpsiyonlar grafiğe dökülür. Bu şekilde gerçekleştirilen IR uygulaması Fourier Transform İnfrared Spektroskopisi (FTIR) adını alır (Büyüknohutçu, 2009).

2.10.3. Taramalı Elektron Mikroskopisi (SEM)

Taramalı elektron mikroskopisi yüzey davranışlarının daha iyi anlaşılabilmesi için morfolojik ve topografik bilgi veren yüzey analiz yöntemlerinden biridir. SEM tekniğinde örnek, elektron demetleri ile bombardıman edilir. Elektronların dalga boylarının kısa olması optik mikroskopiye göre daha iyi çözünürlük elde edilmesini sağlar. Böylece, örneklerin yüzey görüntüleri daha büyük büyütme oranlarında kaydedilebilir.

Elektronların örnek içerisinden geçebilmesi için örneğin iletken olması gerekmektedir. Analizi yapılacak örneğin yalıtkan olması durumunda yüzeye özel yöntemlerle altın püskürtülerek ince bir iletken film oluşturulur.

SEM analizinde, elektron tabancasında bulunan filamentten yayılan elektron demeti örneğe doğru hızlandırılır ve çeşitli yoğunlaştırıcı manyetik lensler yardımıyla odaklanır. Odaklanan elektron demeti örnek üzerinde bir noktaya çarptığında, örnek yüzeyindeki atomlarla elektron demetindeki elektronlar arasında birçok çarpışma meydana gelir. Bu çarpışmaların sonucu olarak örnek yüzeyinde en dışta bulunan atomların elektronları kopar. İkincil elektronlar da denen bu elektronların kinetik enerjileri göreceli olarak daha azdır ve kolaylıkla bir dedektör tarafından çekilebilirler. Bu noktasal alandan yayılan elektronlar dedektörde sayılarak bilgisayarda nokta olarak kaydedilirler. Örneğin büyütülmüş görüntüsü, küçük bir alanın elektron demeti ile taranarak her noktadan çıkan elektronların belirlenip ekran üzerinde işlenmesiyle oluşur. Hem örneğin topografisi hem de atom numaraları örnekten yayımlanan ikincil elektronların sayısını etkiler ve bu faktörler oluşan görüntüde yansıtılır. Sonuç olarak elde edilen görüntüde tıpkı olağan fotoğraflardaki gibi gölge ve perspektif oluşur (Skoog et al., 1998).

3. DENEYSEL ÇALIŞMALAR

Sunulan tez kapsamında nötral pH'larda redoks türlerinin (ferrosen, kinon, osmiyum kompleksleri vb.) indirgenme-yükseltgenme reaksiyonlarını katalizleme özelliğini yitiren PAN'ın özelliklerini geliştirmek üzere yeni bir PAN türevinin sentezi grafit elektrot yüzeyinde gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla farklı konsantrasyonlarda monomerler kullanılarak grafit elektrot yüzeyleri iletken polimer filmler ile modifiye edilmiş ve hazırlanan elektrotların bir ferrosen türevi olan N,N-dimetilaminometil ferrosenin (DMAMFc) redoks reaksiyonlarını katalizleme özelliği ve biyosensör elemanı olarak kullanımı elektrokimyasal tekniklerle incelenmiştir. Bu doğrultuda gerçekleştirilen çalışmalar beş temel konu başlığı altında toplanmaktadır. Yapılan çalışmalar aşağıdaki basamaklarda yürütülmüştür.

- Ortanilik Asit/2-Aminobenzilamin (*o*-ASA/2-ABA) kopolimer filmlerin grafit elektrot üzerinde sentezlenmesi: Sentez iki aşamada yapılmıştır. Bu aşamalar,
 - i. Elektrokimyasal önışlem (pretreatment)
 - ii. Elektrokimyasal oksidasyon ile polimerizasyon
- Hazırlanan modifiye elektrotlara medyatör (DMAMFc) adsorpsiyonu gerçekleştirilmiş ve medyatör varlığında elektrolitik hücrede akım-voltaj ölçümleri ile elektrokimyasal karakterizasyonu yapılmış, adsorplanan medyatör miktarı belirlenmiştir.
- Enzim immobilizasyonu gerçekleştirilmiş elektrotların sabit potansiyelde analit (glukoz) varlığında elde edilen akım-zaman ölçümleri ile elektrot performansı değerlendirilmiştir. Ölçümlere etki eden parametreler olarak;
 - i. Yüzey medyatör konsantrasyonu, Γ_{DMAMFc} (mol cm⁻²)
 - ii. İletken polimer film kompozisyonu

incelenmiştir.

- Sensör özellikleri açısından optimum olarak belirlenen kompozisyona ve yüzey medyatör konsantrasyonuna sahip elektrodun kalibrasyonunun

yapılması amacıyla glukoz ortamında zamana karşı akım değerlerinin ölçümü yapılmıştır.

- Çalışmanın son kısmında ise gerçekleştirilen modifikasyon işlemleriyle elde edilen elektrot yüzeyleri AKM, SEM, ve ATR/FT-IR teknikleri ile fiziksel ve kimyasal olarak karakterize edilmiştir.

3.1. Kullanılan Malzemeler

o-ASA/2-ABA kopolimerlerin yüzeyde film olarak sentezlenmesinde elektrot materyali olarak grafit kullanılmıştır. Kopolimerlerin sentezi ve elde edilen iletken polimerlerin elektrokimyasal karakterizasyonunu kapsayan çalışma parametrelerinin incelendiği deneyler, ısıyla daralan tüplerle çevrelenmiş (2 mm Ø) silindirik çubuk şeklindeki grafitin (Faber Castell TK 9071 2B min) dairesel uç kısmı açıkta kalacak şekilde oluşturulan elektrotlar ile gerçekleştirilmiştir. Çalışma kapsamında kullanılan kimyasallar ve deney sistemleri de aşağıda sıralanmıştır.

3.1.1. Kimyasal Maddeler

Grafit elektroların elektropolimerizasyon öncesinde yüzeylerinin aynı özellikler göstermesi amacıyla elektrokimyasal önışleminde (pretreatment) kullanılan sülfürik asit (%98), elektrot yüzeylerinde üzerinde enzim immobilizasyonu için uygun yüzeyler oluşturmak için iletken polimer film sentezinde kullanılan monomerler 2-aminobenzilamin, anilin ve anilin-2-sülfonik asit (%95) Merck (Almanya) firmasından firmasından temin edilmiştir.

Yüzey modifikasyonu sonrasında enzimlerin kendi aralarında kovalent bağlanması için çapraz bağlayıcı ajan olarak kullanılan glutaraldehit (GA), biyosensör tasarımında kullanılan model enzim Glukoz oksidaz (GOx) (*Aspergillus niger* kökenli, 200 U/mg) ve analit olarak kullanılan α -D(+) glukoz ISOLab (Almanya) firmasından temin edilmiştir. Enzim elektrodu yapısında elektron aktarım mekanizmasında medyatör olarak kullanılan N,N-dimetilaminometil ferrosen (DMAMFc) ISOLab (Almanya) firmasından temin edilmiştir.

Deneysel çalışmalarda kullanılan diğer kimyasal maddeler, elektrokimyasal ölçümlerde tampon çözelti olarak kullanılan potasyum dihidrojen fosfat, dipotasyum hidrojen fosfat, destek elektrolit olarak kullanılan sodyum perklorat ve perklorik asit ISOLab (Almanya) firmasından temin edilmiştir.

3.1.2. Deney Sistemleri

Grafit elektrot yüzeyinin farklı konsantrasyonlarda monomerler kullanılarak elde edilen iletken kopolimerler filmler ile modifikasyonu elektrokimyasal polimerizasyon yöntemi ile yapılmıştır. Elektropolimerizasyon yönteminin uygulanması, elektrot karakterizasyon ve performans çalışmalarında izlenen akım-voltaj, akım-zaman verileri Elektrokimyasal Potansiyostat - Galvanostat Cihazı (Iviumstat, Hollanda) kullanılarak Iviumsoft yazılımıyla kayıt edilmiştir.

Elektrokimyasal deneyler, Iviumstat Potansiyostat-Galvanostat cihazına entegre edilebilen hücre standında (C3 cell stand, BASi; USA) bir hücre (5-10 mL) ve üçlü elektrot sistemi kullanılarak yürütülmüştür. Deneylerde elektrolitik bir hücre içinde çalışma elektrodu olarak yüzeyinde modifikasyon gerçekleştirilmiş grafit çalışma elektrodu, referans elektrodu olarak gümüş/gümüş klorür (Ag/AgCl, 3 M NaCl) ve karşıt elektrot olarak da platin (Pt- 0.5 mm Ø – 7.5 cm uzunluk) elektrottan oluşan üçlü elektrot sistemi kullanılmıştır.

Yüzey karakterizasyonu için Atomik Kuvvet Mikroskobu (AFM, Ambios Universal SPM, USA) cihazı ve Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM, Quanta 200 FEG, USA) ile yüzey topografyası görüntülenmiştir. Fourier Transform Kızılötesi Spektroskopisi (FTIR, Vertex, 80, Bruker, Almanya) cihazı ile yüzey modifikasyon işlemleri sonucunda yüzeyde elde edilen kimyasal bağ yapıları tespit edilmiştir.

3.2. Elektrot Yüzey Modifikasyonu

Bu çalışmada, biyosensör uygulamalarında immobilizasyon matriksi ve çevirici olarak kullanılması düşünülen *o*-ASA/2-ABA kopolimerlerinin farklı konsantrasyonlarda monomerler kullanılarak sentezi gerçekleştirilmiştir.

Tüm çalışmalarda 0,031 cm² yüzey alanına sahip grafit elektrotlar kullanılmıştır. Ana PAn yapıdan farklı olarak nötral pH'da redoks türlerinden DMAMFc'nin redoks reaksiyonlarını katalizleyebilmesi ve fonksiyonel gruplar oluşturması için polimer sentezinde sülfon (-SO₃⁻) ve primer amin (-CH₂NH₂) fonksiyonelliği sağlayan anilin türevi monomerler kullanılmıştır. Grafit elektrot yüzeylerinin elektropolimerizasyon ile modifikasyonu aşağıda detayları ile sunulmuştur.

3.3. Ortanilik Asit/2-Aminobenzilamin Kopolimerlerin Sentezi

Grafit elektrot yüzeylerinin modifikasyonu farklı konsantrasyonlarda monomerler kullanılarak elektrokimyasal polimerizasyon metodu ile ince filmler halinde gerçekleştirilmiştir. Elektropolimerizasyonda polimer potansiyostatik, galvanostatik veya döngülü potansiyel taraması ile sentezlenebilmektedir. Bu tez çalışmasında polimer filmlerin sentezi döngülü potansiyel taraması (cyclic voltammetry, CV) ile 2 aşamada gerçekleştirilmiştir.

1. Aşama: Elektrokimyasal Önilem (Pretreatment)

Literatür araştırmalarında elektrokimyasal önilemlerin yüzeydeki karbon/oksijen oranlarını değiştirdiği, adsorpsiyonu arttırdığı, tekrarlanabilir yüzeyler oluşturduğu ve standart heterojen elektron transfer hız sabitini (k^0) etkilediğine dair bilgiye ulaşılmıştır.

Edinilen bu bilgiden yola çıkılarak elektrot yüzeylerinde geręekleřtirilen her elektropolimerizasyon öncesinde grafit substratların yüzeyleri safsızlıklarından arındırılarak yüzey aktivitelerinin eşitlenmesi ve oluşan polimerin yüzeye adsorpsiyonunu arttırmak amacıyla önileme tabi tutulmuştur. Bu önilem elektrokimyasal bir metot olan dönüşümlü voltametri ile yapılmıştır. Önilem sırasında elektrolit ortam olarak 1.0 M H_2SO_4 kullanılmış olup dönüşümlü voltametri belirlenen parametreler olan 0.20-1.20 V potansiyel aralığında ve 5 mVs^{-1} tarama hızında geręekleřtirilmiřtir. Önilem sonrasında elektrotlar saf su ile yıkanarak kullanılacakları zamana kadar +4 C° sıcaklıkta saklanmıştır.

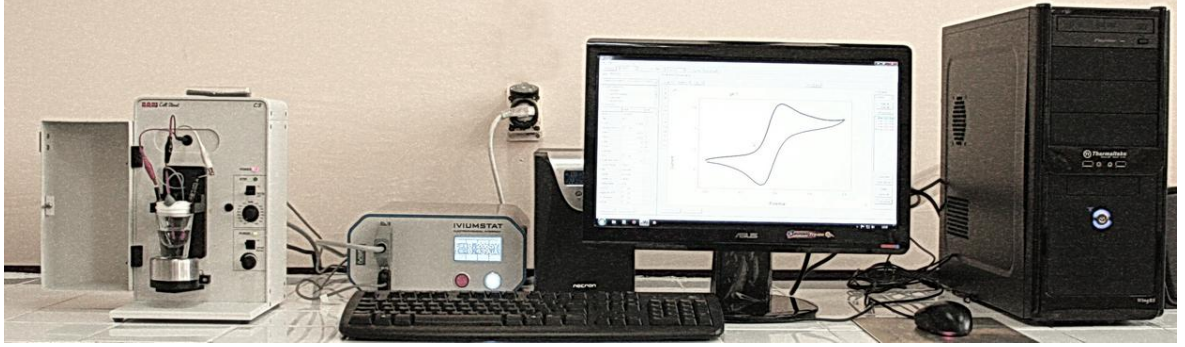
2. Aşama: Potansiyodinamik Elektropolimerizasyon

Döngülü potansiyel taraması ile geręekleřtirilen elektropolimerizasyon yönteminin oda sıcaklığında geręekleřtirilebilmesi, homojen filmler elde edilebilmesi, film kalınlığının kontrol edilebilmesi, polimer katkılanmasının film senteziyle aynı anda geręekleřtirilebilmesi, kopolimerlerin elde edilebilmesi gibi avantajları bu yöntemi kolay ve etkili bir yöntemle dönüştürmektedir. Bu nedenle çalışmada grafit yüzeylerinde geręekleřtirilen tüm polimer film sentezlerinde bu yöntem kullanılmıştır.

Bu yöntemde, elektrokimyasal önilem uygulanan grafit elektrotlar, 10 mL hacimli çalışma hücresinde platin karşıt elektrot (CE) ve Ag/AgCl referans elektrottan (RE)

oluşan 3'lü elektrot sistemine çalışma elektrodu (WE) olarak yerleştirilerek parametre olarak seçilen -0.30-1.20 V potansiyel aralığında ve 50 mVs⁻¹ tarama hızında döngülü potansiyel taramasına tabi tutulmuşlardır.

Elektrokimyasal Potansiyostat - Galvanostat Cihazı (Iviumstat, Hollanda) ve BASI C3 (USA) hücre standı kullanılarak grafit elektrotlar üzerinde iletken polimer film sentezi gerçekleştirilmiştir.



Şekil 3.1. Elektrokimyasal Potansiyostat-Galvanostat Cihazı ve C3 Hücre Standı

Elektrokimyasal polimerizasyon ortamında monomer olarak anilin, anilin-2-sülfonik asit ve 2-aminobenzilamin, destek elektrolit ve katkılama (doping) ajanı olarak da HClO₄ ile NaClO₄ kullanılmıştır (Çizelge 3.2).

Çizelge 3.1. Elektropolimerizasyonda kullanılan monomer konsantrasyonları

Polimerler	Monomer Konsantrasyonu (mM)			Elektrolit ve Dopant
	ASA	ABA	Anilin	
Plym-1	90	2.5	7.5	1.0 M HClO ₄ 0.1 M NaClO ₄
Plym-2	70	22.5	7.5	
Plym-3	50	42.5	7.5	
PAn	-	-	100	

Elektropolimerizasyon süresi döngülü potansiyel tarama sırasında elde edilen potansiyel-akım grafiklerinde polimer oluşumu ile birlikte gözlenen piklerden,

oksidasyona ait olan pikin altındaki alanın integrali alınarak hesaplanan yük miktarına göre belirlenmiştir.

Pik miktarının altındaki alan yüzeyde biriken polimer miktarı ile orantılıdır. Gerçekleştirilen tüm iletken polimer film sentezlerinde polimerizasyonun sonlandırıldığı bu yük miktarı değeri 4.0 mC (milicoulomb) olarak belirlenmiştir.

Elektropolimerizasyon işlemi sonrasında elde edilen iletken polimer filmlerin içerisinde polimerleşmeden kalan monomerler, çözünebilir dimer ve oligomerlerin uzaklaştırmak amacıyla modifiye edilmiş grafit elektrot yüzeyleri saf suyla yıkanmıştır. Hazırlanan modifiye edilmiş elektrotlar kullanılmadıkları zaman +4 C'de karanlık ortamda saklanmıştır.

3.3.1. N,N-Dimetilaminometil Ferrosen (DMAMFc) Adsorpsiyonu

GOx'ın substratı olan glukoz ile reaksiyonu sonucunda ortaya çıkan hidrojen peroksidi düşük potansiyel değerlerinde katalitik olarak yükseltgemek amacıyla polimer filmlere DMAMFc adsorpsiyonu gerçekleştirilmiştir. Literatür araştırmasında ferrosenin yükseltgenmiş formu olan ferrosenyum iyonunun SPAN'daki $-SO_3^-$ anyonik grubuna kuvvetli adsorpsiyonu rapor edilmiştir (Sanchís et al., 2008). Buna göre, elektropolimerizasyonla yüzeyleri ince film halinde Plym-1, Plym-2, Plym-3 ve PAn ile modifiye edilmiş grafit elektrotlara DMAMFc adsorpsiyonu, 2 basamakta gerçekleştirilmiştir. Birinci basamakta pH 7.0 PBS içerisinde farklı DMAMFc konsantrasyonu (0.25-0.50-1.25-2.50 ve 5.00 mM) içeren çözeltiler 30 dakika süresince ultrasonik banyoda tutularak DMAMFc'nin iyice çözünmesi sağlanmıştır. Medyatör adsorpsiyonu, çalışma elektrodu olarak hazırlanan elektrotların, farklı konsantrasyonda DMAMFc çözeltisi içeren 5 mL'lik hücreye yerleştirilmesi ile kurulan 3'lü elektrot sisteminde 0-0.80 V aralığında 20 mVs^{-1} tarama hızında 10 döngü olmak üzere uygulanan döngülü potansiyel taraması ile gerçekleştirilmiştir. Bu yöntemde, grafit elektrot yüzeyindeki polimer filmler, döngülü potansiyel taraması sırasında indirgenip-yükseltgenirken polimer hacminde değişimler meydana gelmektedir. Bu hacim değişimlerine paralel olarak ortamdaki DMAMFc moleküllerinin polimer içerisine difüzyonu sağlanmıştır.

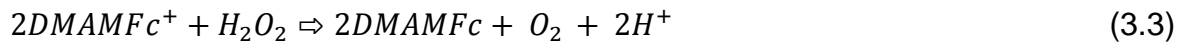
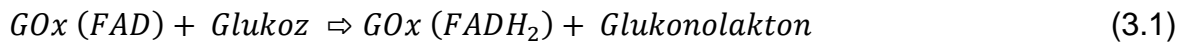
Adsorpsiyonun ikinci basamağında, birinci basamakta 0-0.80 V arasında döngülü potansiyel taramasına maruz bırakılan elektrotlar, işlemin sonlanmasını takiben

aynı çözelti içerisinde kronoamperometri yöntemiyle 600 saniye boyunca 0.45 V'ta polarize edilmiş ve böylece elektrot yüzeylerindeki DMAMFc'nin yükseltgenmesi sağlanmıştır. Bunun sonucunda, elde edilen polimer yapıda bulunan $-\text{SO}_3^-$ gruplarına, çözelti ortamında yükseltgenmiş formdaki DMAMFc⁺ adsorpsiyonu ile işlem tamamlanmıştır. DMAMFc adsorpsiyonu gerçekleştirilmiş elektrotlar, +4°C'de karanlık ortamda muhafaza edilmiştir.

3.3.2. Enzim İmmobilizasyonu

Elektropolimerizasyonla yüzeyleri Plym-1, Plym-2 ve Plym-3 olmak üzere üç farklı iletken polimer film ile modifiye grafit elektrotlara DMAMFc adsorpsiyonunu takip eden basamakta model enzim olarak seçilen GOx immobilizasyonu yapılmıştır. Elde edilen polimer filmlerin, aşağıda ayrıntılı olarak verilen enzimatik reaksiyonun ürünü olan hidrojen peroksit (H_2O_2) oksidasyonunu elektrokimyasal olarak katalizleme özelliğini incelemek üzere tüm enzim elektrotlarda aynı miktarda enzim kullanılmıştır.

Aynı miktarda enzim kullanılmasıdaki temel amaç elde edilen katalitik akımın enzim miktarından bağımsız olarak gözlenmesi ile polimer kompozisyonu ve adsorplanan DMAMFc miktarının oksidasyonun efektifliği üzerindeki etkisini tartışmaktır.



Modifiye elektrotlara enzim immobilizasyonu 2 basamakta gerçekleştirilmiştir. Birinci basamakta 200 U mg^{-1} aktiviteye sahip 2 mg enzim tartılarak 0.1 M pH 7.0 PBS ile 250 μL enzim çözeltisi (1600 U mL^{-1}) hazırlanmıştır. Mikropipet yardımıyla modifiye elektrot yüzeyine 5 μL (8 U) enzim çözeltisi homojen bir şekilde uygulanmıştır. Hazırlanan enzim elektrot daha sonra +4 C^o'de 1,5 saat boyunca karanlık ortamda kurutulmuştur.

İkinci basamakta ise yüzeydeki enzimlerin elektrot yüzeylerine kovalent bağlanmasını sağlayarak elektrokimyasal ölçümler sırasında çözeltiye sızmasını önlemek amacıyla ve stabiliteyi arttırmak üzere birbirileri arasında çapraz bağlanmaları için glutaraldehit (GA) ile çapraz bağlama işlemi gerçekleştirilmiştir. Çapraz bağlama için % 50'lik GA'nın 0.1 M pH 7.0 PBS ile 50 kat seyreltilmesi ile elde edilen %1'lik GA çözeltisi kullanılmıştır. Yüzeylerine GOx immobilize edilmiş enzim elektrotlar 1,5 saatlik kurutma sonucunda çapraz bağlamayı gerçekleştirmek üzere 500 µL %1'lik GA bulunan apendorflarda 30 dakika boyunca inkübe edilmiştir. İnkubasyon işlemi tamamlandıktan sonra enzim elektrotlar 10 dakika boyunca manyetik karıştırıcıda 0.1 M pH 7.0 PBS ile yıkanarak kullanılmadıkları zaman 0.1 M pH 7.0 PBS içerisinde +4 C^o'de karanlık ortamda muhafaza edilmiştir.

3.4. Elektrot Karakterizasyonu ve Performans Çalışmaları

Grafit elektrot yüzeylerde sülfonik asit (SO₃H) ve primer amin (-CH₂NH₂) fonksiyonel gruplarını içeren anilin türevlerinin farklı oranlarda bileşiminde bulunan Plym-1, Plym-2 ve Plym-3 iletken kopolimer filmler sentezlenmiş ve bu farklı iletken polimer filmlerin elektrokimyasal davranışı kurulan 3 elektrotlu hücrede incelenmiştir. Elektropolimerizasyon yöntemi kullanılarak iletken polimer ile modifiye edilen grafit yüzeylerin farklı pH'daki redoks aktivitesi ve DMAMFc'nin redoks reaksiyonlarını katalizleme etkinliği incelenmiştir. Daha sonraki aşamada DMAMFc adsorplanmış polimer film yüzeylere model oksidaz enzimi olarak GOx immobilize edilerek elde edilen enzim elektrotların performansının değerlendirildiği elektrokimyasal ölçümler yapılmıştır.

3.4.1. İletken Polimer Filmlerin Elektrokimyasal Karakterizasyonu

Anilin kopolimerleri ile modifiye edilmiş grafit elektrotlar dönüşümlü voltametri (cyclic voltammetry) metoduyla elektrokimyasal olarak karakterize edilmiştir. Yüzeyleri iletken polimer ile modifiye edilmiş grafit elektrot sisteme çalışma elektrodu olarak bağlanmış; referans elektrodu olarak gümüş/gümüş klorür (Ag/AgCl) elektrot ve karşıt elektrot olarak da platin (Pt) elektrot kullanılmıştır. Şekil 3.2'de elektrokimyasal çalışma istasyonuna bağlı elektroliz hücresi (üçlü elektrot sistemi) görülmektedir.



Şekil 3.2. Elektrokimyasal çalışma istasyonuna bağlı üçlü elektrot sistemi

Yürütülen elektrokimyasal karakterizasyon çalışmaları polimerin farklı pH'larda dönüşümlü voltamogramlarının elde edilmesini, DMAMFc varlığında dönüşümlü voltametri çalışmalarını ve adsorpsiyon sonrasında yüzeyde adsorplanan DMAMFc konsantrasyonlarının, Γ (mol cm^{-2}), tayinini kapsamaktadır.

3.4.1.1. Polimer Filmlerin Elektrokimyasal Davranışına pH Etkisinin İncelenmesi

Diğer iletken polimerlerden farklı olarak PAN'ın elektroaktivitesinde ortam proton konsantrasyonunun büyük etkisi vardır. Anilin ile yapılan çalışmalarda, ortam pH'sı 4'ün üzerinde ise redoks reaksiyonları gözlenememektedir. Bu tez çalışmasında, grafit elektrot yüzeylerde farklı konsantrasyonlarda anilin türevi monomer bileşimlerinin elektropolimerizasyonu ile sentezlenen filmlerde daha yüksek pH ortamlarında da redoks aktivitesi göstermesi amaçlanmıştır. Bu nedenle, polimerlerin farklı pH (pH=1, 4 ve 7) ortamındaki redoks aktiviteleri dönüşümlü voltametri (cyclic voltammetry) tekniği kullanılarak incelenmiştir. Analiz sırasında çalışma potansiyel aralığı olarak redoks reaksiyonlarının gerçekleştiği -0.30-0.80 V aralığında tarama yapılmıştır. Elektron transferinin difüzyon kontrollü olduğu düşünüldüğünden döngülü potansiyel tarama ile iletken polimer analizlerinde tarama hızı 5 mV s^{-1} olarak belirlenmiştir.

Elde edilen polimer film ile her modifiye grafit elektrot için indirgenme ($E_{p,ind}$) ve yükseltgenme ($E_{p,yük}$) potansiyelleri belirlenmiştir. Monomer konsantrasyonundaki değişimin farklı polimer filmlerin sentezlenmesine yol açıp açmadığı nitel olarak

incelenmiştir. Tarama hızı (2, 5, 10, 20, 50 ve 100 mV.s⁻¹) değiştirilerek elde edilen voltamogramlar ile polimer içerisindeki elektron transfer kinetikleri tartışılmıştır.

3.4.1.2. Modifiye Elektrot Yüzeylerinde Katalitik DMAMFc Oksidasyonu

Bu çalışmada elde edilen kopolimerlere DMAMFc adsorpsiyonu gerçekleştirilerek enzimatik reaksiyon sonucu oluşan H₂O₂'nin standart elektrot potansiyelinden (0.70 V Ag/AgCl) daha düşük potansiyelerde katalitik olarak oksidasyonu istenilmeyen bileşiklerin oksidasyonunu minimuma indirmek için amaçlanmıştır. Bu nedenle H₂O₂'den elektron alarak indirgenmiş forma geçen DMAMFc'nin hem enzim immobilizasyonu için matris oluşturulan hem de DMAMFc oksidasyonun meydana geldiği yer olan kopolimer yüzeyde oksidasyonu basamağının verimli bir şekilde gerçekleşmesi gerekmektedir.

DeneySEL çalışmaların bu basamağında kopolimerler ile modifiye edilen yüzeylerin DMAMFc'nin redoks reaksiyonlarını potansiyel biyosensör elemanı olarak kullanılabileceği nötral pH değerinde (pH 7) katalizleme özelliği elektrokimyasal olarak incelenmiştir.

Polimer modifiye grafit elektrotların anodik ve katodik çalışma performansları, elektrokimyasal hücreye beslenen farklı konsantrasyonlardaki DMAMFc çözeltilerinde (pH 7.0 0.1 M PBS içerisinde 0.25-0.50-1.25-2.50 ve 5.00 mM DMAMFc) dönüşümlü voltamogramları (CV) alınarak incelenmiştir. Bu şekilde çalışma elektrodu ile referans elektrot arasına uygulanan gerilim taramasına karşı çalışma elektrodu ve karşıt elektrot arasındaki akım değerleri grafiğe aktarılmış; elektrotlarının DMAMFc oksidasyonunu katalizleme verimi akım değerleri incelenerek değerlendirilmiştir. Dönüşümlü voltametri sırasında seçilen potansiyel aralığı bu kısımda gerçekleştirilen tüm deneylerde 0-0.80 V olup tarama hızı 20 mV s⁻¹ olarak seçilmiştir.

Çalışmanın ikinci basamağında DMAMFc adsorpsiyonu gerçekleştirilen elektrotların dönüşümlü voltamogramları yukarıda belirtilen potansiyel aralığında 5 mVs⁻¹ tarama hızında elde edilmiş ve voltamogram altında kalan katalitik akımın integralinin alınması ile elde edilen anodik pik alanı, Q, Faraday Sabiti, F, oksidasyon reaksiyonundaki elektron sayısı, n ve elektrot alanı, A olmak üzere

yüzeyde adsorplanan DMAMFc konsantrasyonu, Γ (mol cm^{-2}) aşağıdaki eşitliğe göre belirlenmiştir (Gaudiello et al., 1985).

$$\Gamma = \frac{Q}{nFA} \quad (3.4)$$

3.5. Enzim Elektrotların Performans Çalışmaları

Grafit elektrotların iletken polimerler ile uygun modifikasyonunu takiben DMAMFc adsorpsiyonu sonrasında enzim immobilizasyonu yapılmıştır. Elde edilen enzim elektrotların testleri, analit olarak kullanılan glukoz varlığında kronoamperometri ile gerçekleştirilmiştir. 3 elektrotlu hücrede 100 rpm karıştırma hızında çalışma elektroduna 0.40 V potansiyel uygulanmasıyla zamana karşı elde edilen akım değerleri takip edilmiştir. Analiz sırasında ortamda analit olmadan gözlenen zemin-değer (Non-Faradaic) akımı sabitlendikten sonra ortama analit eklenerek plato akım değeri kaydedilerek ölçüm sonlandırılmıştır. Elektrotların kalibrasyonları için 0.1 M pH 7.0 PBS ile hazırlanmış farklı konsantrasyonlarda glukozlara (2.5-20.0 mM) karşı akım ölçümleri alınmıştır.

Hazırlanan enzim elektrotların performansına etki eden parametreler olarak düşünülen polimer kompozisyonu ve DMAMFc konsantrasyonunun etkileri incelenmiştir. Polimerizasyon sırasında kullanılan monomer konsantrasyonun etkilerini incelemek üzere Plym-1, Plym-2 ve Plym-3 ile hazırlanan elektrotlara sabit 5.0 mM DMAMFc içeren çözelti içerisinde adsorpsiyon gerçekleştirerek elektrotların 15 mM glukozu verdikleri cevaplar takip edilmiştir.

Enzim ile elektrot arasında elektron transfer ajanı olarak kullanılan DMAMFc'nin elektrot cevabına etkisini incelemek üzere farklı polimerler ile modifiye edilen elektrotlara değişen konsantrasyonlarda DMAMFc (0.25-5.00 mM) adsorpsiyonu yapılmıştır. Elde edilen elektrotların 15 mM glukozu verdikleri cevapların değişimi incelenerek adsorplanan medyatör konsantrasyonunun enzim elektrodu kinetiklerine etkisi tartışılmıştır.

3.6. Elektrot Yüzeylerinin Fiziksel ve Kimyasal Karakterizasyonu

Elektrot yüzeylerin, elektropolimerizasyon ile ince film halinde iletken polimer sentezinden sonra değişen fiziksel ve kimyasal yapılarının incelenmesi amacıyla FTIR (Fourier Transform Kızılötesi Spektroskopisi), SEM (Taramalı Elektron Mikroskobu) ve AKM (Atomik Kuvvet Mikroskobu) analizlerine tabi tutulmuştur.

3.6.1. Fourier Transform Kızılötesi Spektroskopisi (FTIR) Analizi

Elektropolimerizasyonla yüzeylerinde iletken polimer sentezlenen grafit elektrotların modifikasyonları öncesi ve sonrasındaki kimyasal yapılarının tayini için Fourier Transform Kızılötesi Spektroskopisi (FTIR, Vertex, 80, Bruker, Almanya) kullanılmıştır. Farklı monomer konsantrasyonları kullanılarak elde edilen *o*-ASA/2-ABA kopolimer filmleri ile kaplanmış grafit elektrot yüzeyleri üzerinde 500-4000 cm⁻¹ dalga boyu aralığında analiz yapılmıştır.

3.6.2. Atomik Kuvvet Mikroskobu (AFM) Analizi

Grafit elektrotların yüzeyleri, modifiye edilmeden önce, elektropolimerizasyon yöntemi ile yüzeyleri ince film halinde iletken polimer ile modifiye edildikten sonra yüzeylerinde meydana geleni topografik değişimleri incelemek amacıyla AKM (Atomik Kuvvet Mikroskobu) (Ambios, USA) cihazı ile görüntülenmiş ve yüzey morfolojilerindeki değişim incelenmiştir. AKM görüntüleri temassız (non-contact) moda 40x40 µm, 20x20 µm, 10x10 µm ve 5x5 µm boyutlarında elde edilmiştir. Yüzey görüntülemesi sırasında 20 Nm⁻¹ yay sabitine sahip kantileverler kullanılmış olup tarama hızı 5x5 µm'de 0.5 Hz diğer ölçümlerde ise 1.0 Hz'dir.

3.6.3. Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) Analizi

Sentezlenen kopolimerlerin morfolojilerindeki farklılığın daha net bir biçimde gözlenebilmesi amacıyla SEM analizleri ile yapılmıştır. SEM görüntülerinin alınmasında örnekler altın kaplama gerektirmemiştir. Kopolimerlere ait görüntüler vakum altında 3000x ve 12000x büyütme oranlarında Quanta 200 FEG marka mikroskop ile elde edilmiştir.

4. DENEYSEL SONUÇLAR VE TARTIŞILMASI

Sunulan çalışma, biyosensör uygulamalarında kullanılmak üzere elektrokatalitik özellikleri geliştirilmiş PAn türevlerinin sentezini ve GOx'ın model enzim olarak kullanıldığı MET bazlı biyosensör uygulamalarını kapsamaktadır.

Bu kapsamda yapılan çalışmanın amacı, istenilen polimer özelliklerinin elde edilmesine yönelik, uygun monomerlerin polimerizasyonu ile nötral ortamda ferrosen türevlerini katalitik yükseltgeme özellikleri geliştirilmiş PAn türevlerinin sentezi ve biyosensörlerde uygulanabilirliğinin araştırılmasıdır. Sunulan çalışma, iletken kopolimer sentezi, sentezlenen iletken kopolimerlerin elektrokimyasal karakterizasyonu, kopolimer filmlere GOx immobilizasyonu yapılarak biyosensör uygulaması, biyosensör performansının değerlendirilmesi ve elektrot yüzey karakterizasyonu basamaklarında gerçekleştirilmiştir. İzlenen çalışma basamakları aşağıda verilmiş ve alınan sonuçlar değerlendirmeleriyle birlikte ilgili bölümlerde açıklamalarla sunulmuştur.

- *Ortanilik asit/2-aminobenzilamin (o-ASA/2-ABA) kopolimerlerinin sentezi.* Grafit elektrot yüzeylerinde farklı oranlarda o-ASA ve 2-ABA monomerleri kullanılarak elektropolimerizasyon ile iletken polimer filmler sentezlenmiştir.
- *Sentezlenen kopolimerlerin elektrokimyasal karakterizasyonu.* Grafit elektrot yüzeyinde sentezi gerçekleştirilen kopolimerleri elektrokimyasal karakterizasyonu dönüşümlü voltametri (CV) ile yapılmıştır.
- *Kopolimerler ile modifiye grafit elektrot yüzeyinde katalitik DMAMFc oksidasyonu ve DMAMFc adsorpsiyonu.* Modifiye elektrot yüzeylerinde DMAMFc'nin katalitik olarak oksidasyon etkinliği dönüşümlü voltametri (CV) ile incelenmiştir. Kopolimer modifiye elektrotlara DMAMFc adsorpsiyonu kronoamperometri ile yapılmıştır. Adsorpsiyonda incelenen çalışma koşullarının etkisi aşağıda verilmiştir.
 - Adsorpsiyon çözeltisindeki DMAMFc konsantrasyonu
 - Kopolimerizasyon çözeltisindeki monomer oranları

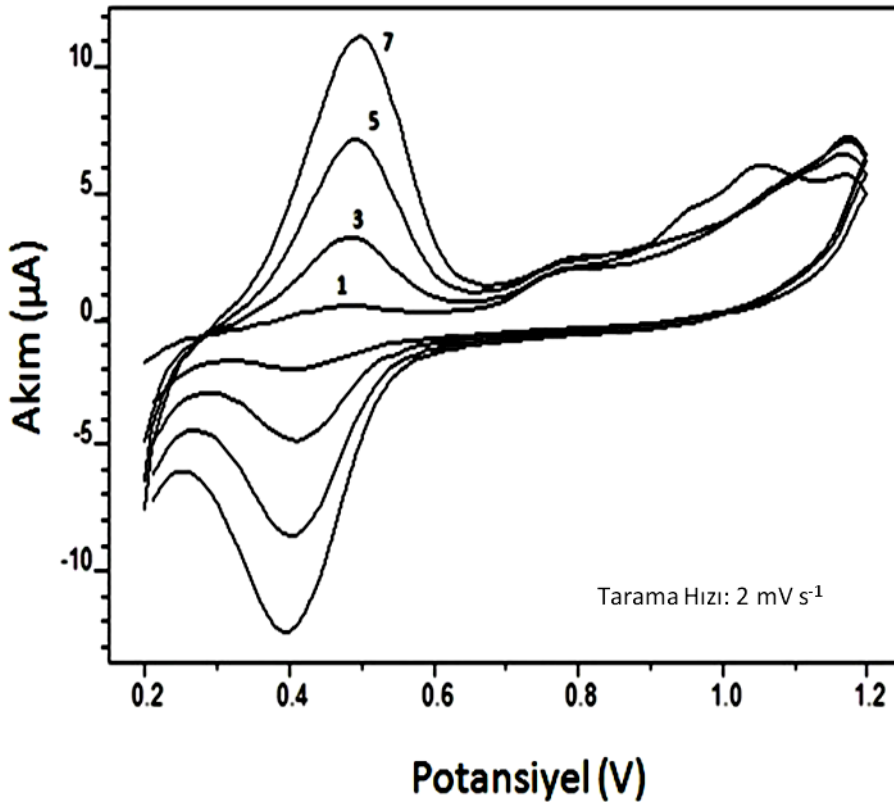
- *Kopolimerin glukoz biyosensörü uygulaması ve biyosensör performansı çalışmaları.* DMAMFc adsorpsiyonu yapılan kopolimer ile modifiye elektrotlara GOx immobilizasyonu ile biyosensör uygulaması yapılmıştır. Optimum olarak belirlenen parametrelerde hazırlanan enzim elektrotların biyosensör performansı test edilmiştir. Bu amaçla incelenen parametreler aşağıda verilmiştir.
 - Kopolimerizasyon çözeltisindeki monomer oranları
 - Adsorplanan DMAMFc miktarı
- *Kopolimer yüzeylerin karakterizasyonu.* Grafit elektrot yüzeyinde kopolimer sentezi sonucu oluşan fiziksel ve kimyasal değişimler AKM, SEM ve ATR/FT-IR analizleri ile saptanmıştır.

4.1. Ortanilik Asit/2-Aminobenzilamin Kopolimerlerin Sentezi

Grafit elektrot yüzeylerinde iletken kopolimerlerin sentezi iki aşamada gerçekleştirilmiştir. Birinci aşamada grafit elektrot yüzeylerindeki safsızlıkların anodik oksidasyonla giderilmesi ve yüzey aktivitelerinin homojen filmler elde etmek üzere eşitlenmesi için elektrokimyasal önışlem uygulanmıştır. İkinci aşamada ise elektrokimyasal önışlem uygulanan elektrot yüzeylerinde potansiyodinamik elektropolimerizasyon destek elektrolit içeren monomer çözeltisi içerisinde 3'lü elektrot sisteminde dönüşümlü voltametri yöntemi kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

1) Aşama: Elektrokimyasal Önışlem (Pretreatment)

Grafit elektrot yüzeyindeki safsızlıkların anodik oksidasyon ile giderilmesi ve oluşan polimerin yüzeye adsorpsiyonunu arttırmak amacıyla grafit elektrotlara dönüşümlü voltametri (CV) ile elektrokimyasal önışlem uygulanmıştır. Dönüşümlü voltametri 0.20-1.20 V aralığında anodik pik akım değeri (I_{Pa}) 10 μA 'e ulaşınca kadar 5 $mV s^{-1}$ tarama hızında sürdürülmüştür.



Şekil 4.1. Grafit elektrodun 1.0 M H₂SO₄ içerisindeki dönüşümlü voltamogramı

Şekil 4.1'de 1.0 M H₂SO₄ elektrolit ortam içerisinde elde edilen 1, 3, 5 ve 7. döngüye ait voltamogramlar görülmektedir. Voltamogramlar incelendiğinde döngü sayısındaki artışla birlikte yüzeydeki oksidasyon sonucunda tersinir olarak indirgenip yükseltgenebilen grupların oluştuğu görülmektedir.

Pozitif yöndeki taramada gözlenen anodik pik potansiyeli ($E_{p,yük}$) 0.50 V ve katodik pik potansiyeli ($E_{p,ind}$) 0.40 V olarak belirlenmiştir. Döngülü potansiyel taramasına devam edildiğinde $E_{p,yük}$ değerinde anodik ve $E_{p,ind}$ değerinde katodik bölgeye kayma gözlenmiştir.

Anodik ve katodik taramada gözlenen bu piklere grafitin H₂SO₄ içerisinde yükseltgenmesi ve indirgenmesi sonucu oluşan kinon tipte aktif yüzey yapılarının neden olduğu düşünülmektedir. Bunun yanında literatürde grafit ile yapılan XPS çalışmalarında H₂SO₄ elektrolit ortam içerisinde döngülü potansiyel taraması uygulanan karbon elektrot yüzeylerinde –C=O, -COOH, -COH gruplarının oluştuğu rapor edilmiştir (Sullivan et al., 2000). Bu grupların polimerizasyonun ilk basamağında oluşan anilinyum katyon radikalinin yüzeye adsorpsiyonunu kolaylaştırdığı ve oluşan filmlerin daha homojen olmasına neden olduğu düşünülmektedir.

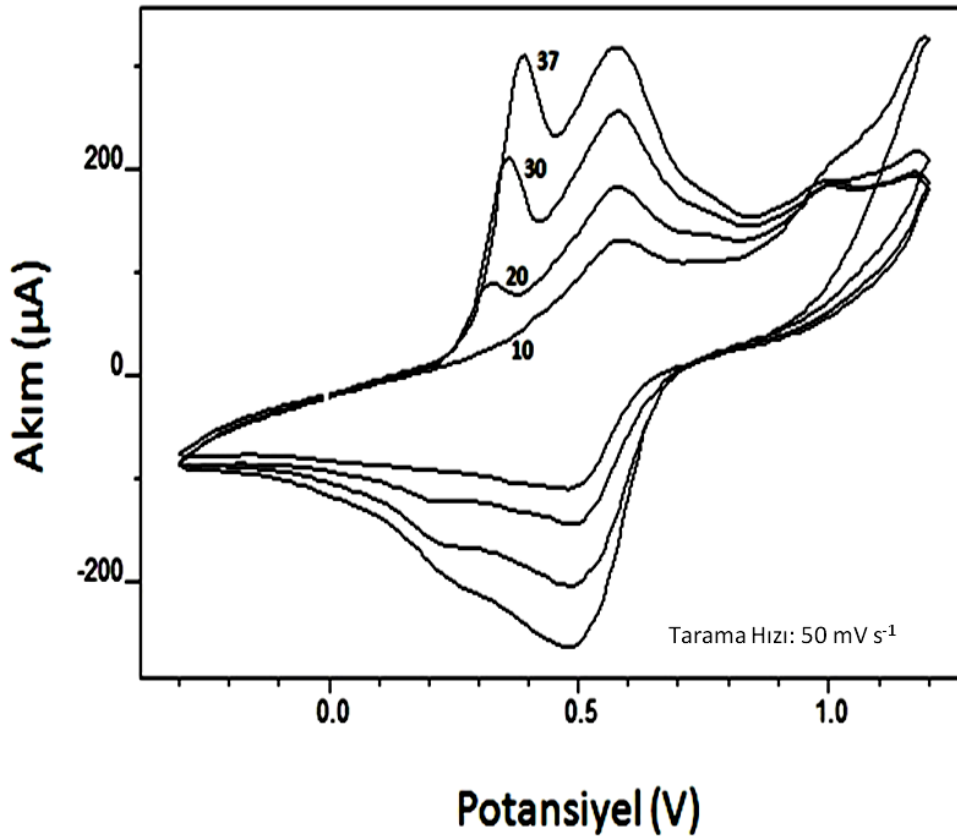
2) Aşama: Potansiyodinamik Elektropolimerizasyon

Grafit elektrot yüzeylerinde iletken polimer film oluşumunda yöntemin etkinliği göz önünde bulundurularak potansiyodinamik elektropolimerizasyon yöntemi kullanılmıştır. Platin karşıt elektrot ve Ag/AgCl referans elektrottan oluşan üçlü elektrot sistemine önışlem uygulanmış grafit elektrot çalışma elektrodu olarak bağlanarak elektropolimerizasyon -0.30-1.20 V arasında 50 mV s⁻¹ tarama hızında gerçekleştirilmiştir.

Yapılan ön çalışmalarda monomer olarak sadece 2-aminobenzilamin ve ortanilik asit kullanılmıştır. Ancak elektropolimerizasyon süresince elektrot yüzeyinde belirgin bir film oluşumu gözlenmemiştir. Buradan monomerlerde fenil halkaya bağlı –SO₃⁻ ve –CH₂NH₂ gruplarının yarattığı sterik etki nedeniyle polimerleşmenin suda çözünür dimer ve oligomer oluşum safhasında kaldığı sonucuna varılmıştır. Buna nedenlesterik etkiyi önlemek amacıyla monomer çözeltisine sabit konsantrasyonda anilin eklenerek film oluşumu sağlanmıştır.

4.1.1. Plym-1'in Elektrokimyasal Sentezi

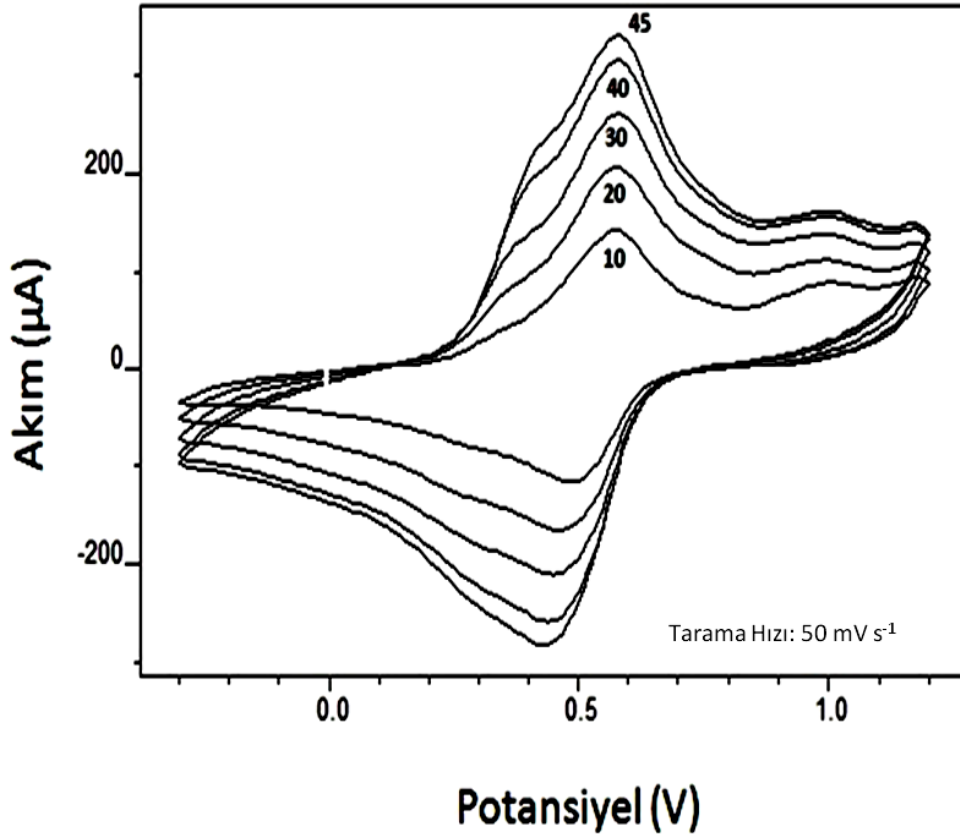
0.1 M NaClO₄ ve 1.0 M HClO₄ elektrolit içeren sulu çözelti içerisinde 7.5 mM anilin, 2.5 mM 2-aminobenzilamin ve 90.0 mM ortanilik asit monomerleri karışımından oluşan Plym-1'e ait sentez ortamında elde edilen filmin oluşumuna ait voltamogram Şekil 4.2'de verilmiştir. Döngü sayısındaki artışla birlikte yüzeyde biriken polimer filmin kalınlığı artmaktadır. Bu sonuç, oluşan filme ait indirgenme ve yükseltgenme pik akımlarındaki gözlenen artış (elektroaktif materyalin birikmesi) ile açıklanmaktadır. Film oluşumu süresince 0.37 V ile 0.58 V potansiyelinde, lökomeraldinden emeraldine ve emeraldinden pernigraniline geçişlere ait olduğu düşünülen iki tane yükseltgenme piki gözlenmiştir. 0.37 V potansiyelinde gözlenen pik döngü sayısı arttıkça belirginleşmektedir. Katodik taramada ise 0.49 V potansiyelinde bir indirgenme ile 0.22 V potansiyelindeki omuz görünümü ikinci indirgenme piki gözlenmiştir.



Şekil 4.2. Plym-1'in elektropolimerizasyonuna ait dönüşümlü voltamogramlar

4.1.2. Plym-2'nin Elektrokimyasal Sentezi

Şekil 4.3'te Plym-2'nin 0.1 M NaClO₄ ve 1.0 M HClO₄ elektrolitlerini içeren sulu monomer çözeltisi içerisinde (7.5 mM anilin, 22.5 mM 2-aminobenzilamin ve 70.0 mM ortanilik asit) film oluşumuna ait -0.30V ile 1.20 V potansiyelleri arasında 50 mV s⁻¹ tarama hızında çoklu döngülü potansiyel taraması görülmektedir.



Şekil 4.3. Plym-2'nin elektropolimerizasyonuna ait dönüşümlü voltamogramlar

Elektrot yüzeyinde polimer filmin oluşumu süresince 0.58 V potansiyelinde bir tane yükseltgenme ve 0.43 V potansiyeli civarında da bir tane indirgenme piki gözlenmektedir. Ayrıca, ortanilik asit konsantrasyonunun azaltılıp 2-aminobenzilamin konsantrasyonunun artırılması sonucu Plym-1'in sentezi sırasında alınan voltamogramlarda görülen 0.37 V potansiyelindeki pik Plym-2'de anodik bir kayma göstermiştir. Bu kayma sonucu, ana yükseltgenme pikine girişim yapan bir omuz

oluşumu Şekil 4.3'teki Plym-2'ye ait voltamogramda 0.41 V potansiyeli civarında görülebilmektedir.

Bu kaymanın nedeni Plym-1'e oranla Plym-2'de polimer zincire daha fazla 2-aminobenzilamin ünitesinin girmiş olmasıdır. 2-aminobenzilamin monomerinde fenil halkaya bağlı $-CH_2NH_2$ grubu oluşturduğu sterik etki polimerin emeraldin-vernigranilin geçiş enerjisini arttırmakta ve oluşan filmin yükseltgenmesi ve indirgenmesine ait elektrot proseslerinde bir iç direnç oluşturmaktadır. Bunun sonucunda pik potansiyellerinde yükseltgenme sırasında anodik, indirgenme sırasında ise katodik kayma meydana gelmektedir. Gözlenen bu farklılığın nedeni bir sonraki bölümde daha ayrıntılı biçimde açıklanmıştır.

Birinci yükseltgenme pikinde meydana gelen farklılaşmanın başka bir açıklaması ise indirgenme ve yükseltgenme sırasında rol oynayan anyon ve katyonlardır.

Bilindiği gibi, PAN'ın asidik ortamdaki redoks dönüşümlerinde anyonların rolü büyüktür. Belirli bir biçimde anyonlar, lökomeraldinden emeraldine elektrokimyasal olarak yükseltgenme sırasında PAN filmlere girer ve polimer zincirlere bağlanan anyonlar katodik indirgenme sırasında tekrar çözelti içerisine salınırlar.

SPAN filmlerin asidik çözelti içerisindeki elektrokimyasal redoks proseslerinde ise hem anyonların hem de katyonların alınımının gerçekleştiği kuartz kristal mikrogravimetri ile gösterilmiştir. Literatürde, katyon içeren çözeltilerde katyonların SPAN filminden çözeltiliye geçtiği basamağın anodik yükseltgenme sırasında belirleyici proses olduğu saptanmıştır (Mažeikienė et al., 2003).

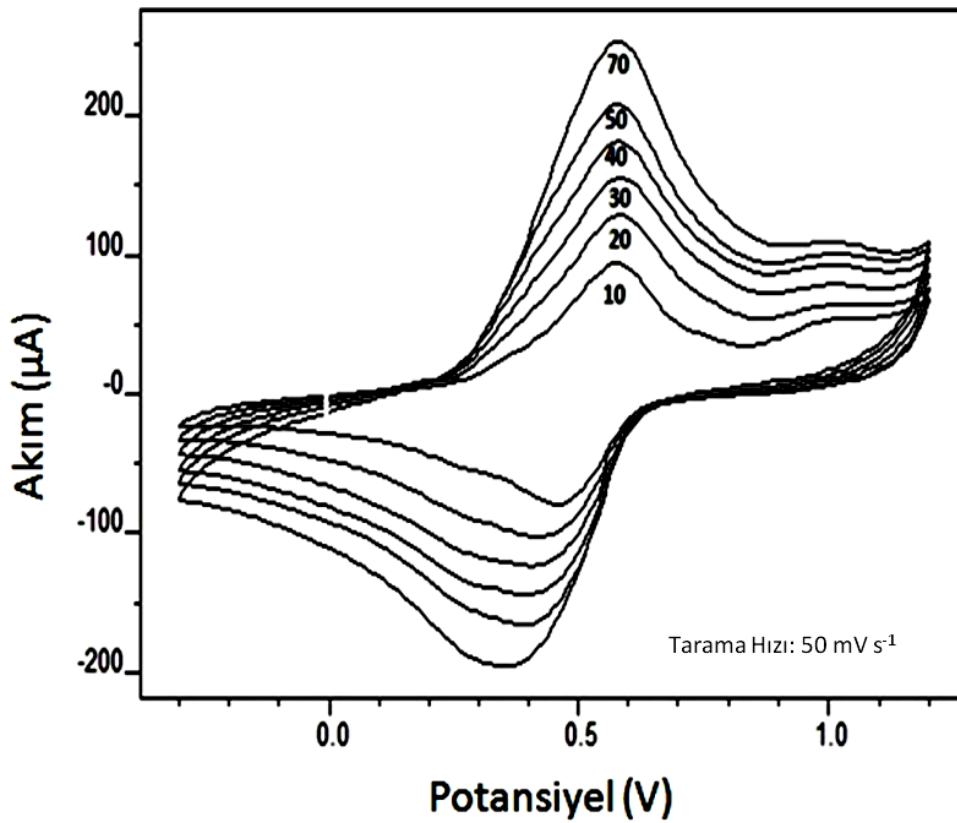
Plym-2'nin sentezinde ortanilik asit konsantrasyonu daha düşük tutulmuştur. Bu nedenle Plym-2'nin sülfonasyon oranının Plym-1'e göre daha düşük olması beklenmektedir.

Sonuç olarak polimerizasyon çözeltisinde bulunan katyonların Plym-2'nin redoks piklerinin şekillenmesindeki etkisinin Plym-1'e oranla daha az olması beklenmektedir. Polimerlerin farklı potansiyellerde indirgenme ve yükseltgenme piki göstermesindeki nedenlerden diğerinin de bu olduğu düşünülmektedir.

4.1.3. Plym-3'ün Elektrokimyasal Sentezi

Plym-3'ün sentezini gerçekleştirmek üzere 0.1 M NaClO₄ ile 1.0 M HClO₄'ün elektrolit olarak kullanıldığı sulu çözelti içerisinde 7.5 mM anilin, 42.5 mM 2-aminobenzilamin ve 50.0 mM ortanilik asitten oluşan monomer karışımının -0.30 V ile 1.20 V potansiyelleri arasında dönüşümlü voltamogramları alınmıştır.

Elektropolimerizasyon ile elde edilen tüm polimer filmlerde aynı kalınlığın sağlanması için anodik taramaya çalışma elektrodundan 4 mC'luk yük geçişi elde edilene kadar devam edilmiştir.



Şekil 4.4. Plym-3'ün elektropolimerizasyonuna ait dönüşümlü voltamogramlar

Şekil 4.4 Plym-3'ün sentezi sırasında -0.30 V ve 1.20 V potansiyel aralığında alınan voltamogramlara aittir. Voltamogram üzerinde elektropolimerizasyon sırasında elde edilen her on döngüden biri görülmektedir.

Döngülü tarama sırasında, anodik taramada 0.58 V potansiyelinde bir yükseltgenme piki ve katodik taramada 0.35 V civarında yükseltgenen filmin

indirgenmesine ait bir indirgenme piki gözlenmektedir. Film oluşumunun ilk safhalarında indirgenme pik potansiyeli 0.46 V iken devam eden polimerizasyonla birlikte indirgenme pik potansiyelinde polimerizasyonun sonlandığı döngüye kadar 110 mV'a yakın bir katodik kayma gözlenmiştir.

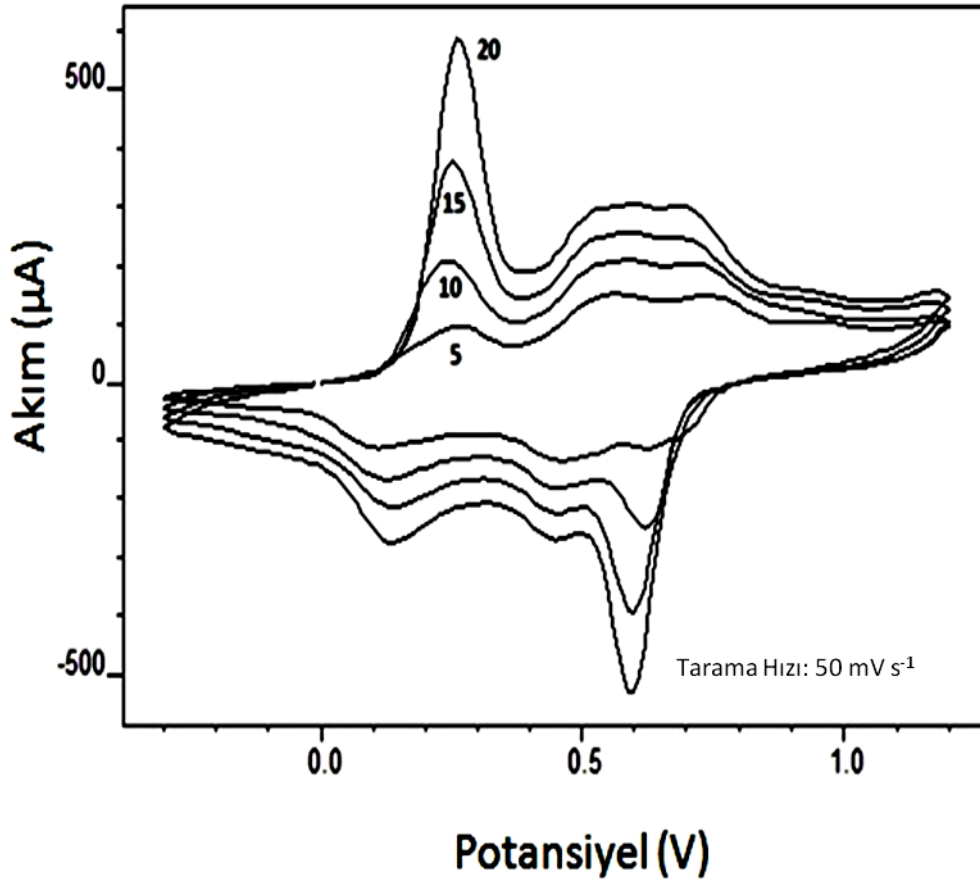
Şekil 4.3'te görülen Plym-2'ye ait voltamogramla karşılaştırıldığında Plym-2'de anodik tarama sırasında gözlenen 0.41 V potansiyelindeki omuz pikinin 2-aminobenzilamin artışı ile birlikte Plym-3'te ana pikle örtüştüğü gözlenmektedir. Bu emeraldin ve pernigranilinredoks formları arasındaki geçişin çok dar bir potansiyel aralığında gerçekleştiğini göstermektedir.

Buna ek olarak, Şekil 4.2 ve Şekil 4.3'te görülen Plym-1 ve Plym-2'ye ait voltamogramlardan farklı olarak Şekil 4.4'te görülen Plym-3'e ait voltamogramda film oluşumunun çok yavaş gerçekleştiği görülmektedir. Anodik taramada çalışma elektrodundan geçen 4 mC'luk yük miktarına Plym-1'de 37, Plym-2'de 45 döngüde ulaşılırken Plym-3'ün sentezinde pik akımlarının sabit akım değerine ulaştığı 70. döngüye kadar taramaya devam edilmiştir. Polimerizasyon hızındaki bu düşüş polimerizasyon çözeltisindeki 2-aminobenzilaminin artırılması ile primer amin grubunun neden olduğu sterik etkiye bağlı olarak açıklanmaktadır (Yang, 1998). Ayrıca 2-aminobenzil monomerin yükseltgenmesi sonucu oluşan katyon radikalının reaktivitesinin anilinin katyon radikalinden daha düşük olduğu literatürde belirtilmiştir (Raffa and Battaglini, 2001).

Elektrokimyasal polimerizasyonun başlangıcında film oluşumu monomerlerin doğrudan grafit elektrot yüzeyinde yükseltgenmesi ile gerçekleşmektedir. Devam eden süreçte ise polimerizasyonun devamını sağlayan katyon radikali oluşumu, monomerlerin oluşan polimer film yüzeyinde yükseltgenmesi ile meydana gelmektedir. Bu nedenle polimerizasyonun devamında polimerleşme hızını ilk döngüde oluşan polimerin özellikleri doğrudan etkilemektedir. Bu durum göz önünde bulundurulduğunda Plym-3'ün polimerizasyon hızında gözlenen yavaşlamanın bir başka nedeninin de 2-aminobenzilamin konsantrasyonunun artırılması sonucu oluşan filmin monomer oksidasyonu için yeterli katalitik etkiyi gösterememesi olarak düşünülmektedir.

4.1.4. Polianilin'in Elektrokimyasal Sentezi

PAn sentezi, 0.1 M NaClO₄ ile 1.0 M HClO₄'ün elektrolit olarak kullanıldığı sulu ortamda 100 mM anilin içeren çözelti içerisinde gerçekleştirilmiştir. Sentezlenen diğer polimerlerle karşılaştırmak üzere anilin elektropolimerizasyonu -0.30 V ile 1.20 V potansiyel aralığında 50 mV s⁻¹ tarama hızında dngölü potansiyel taraması ile yapılmıştır. şekil 4.5'te PAn sentezi sırasında elde edilen filmin oluşumuna ait voltamogramlar görülmektedir.



şekil 4.5. PAn elektropolimerizasyonuna ait dönüşümlü voltamogramlar

Film oluşumu sırasında, anodik taramada 0.26 V potansiyelinde lökomeraldinden emeraldine geçişe ait olduğu dşnlen şiddetli bir oksidasyon piki ile 0.69 V potansiyelinde emeraldinden pernigraniline geçişe ait pik gözlenmektedir. 0.58 potansiyelinde gözlenen pik ise ya orto konumundan bağlanmış polimer oluşumu veya dapolianilin'in degradasyonu (znebilir benzokinon-hidrokinon oluşumu) ile oluşan türler ile ilişkilendirilmiştir. 0.58 V ve 0.69 V potansiyellerinde gözlenen

pikler film kalınlığının artmasıyla birlikte geniş tek bir pik görünümü almaktadır. Ancak film oluşumunun başlangıcında bu iki pik net bir biçimde fark edilebilmektedir. Katodik taramada ise yükseltgenen PAn'ın indirgenmesine ait üç pik gözlenmektedir. Bu pikler sırasıyla 0.60 V, 0.45 V ve 0.14 V potansiyellerinde görülmektedir.

Kopolimer olarak elde edilen filmlerle karşılaştırıldığında PAn'ın aynı film kalınlığına ulaşılması için çalışma elektrodundan geçmesi gerekli olan 4.0 mC'luk yüke çok daha az döngü sayısında ulaşıldığı görülmektedir. Buradan anilin PAn film üzerinde katyon radikali oluşturmak üzere kolayca ykseltendiği ve katyon radikallerinin birleşmesi ile büyüyen polimerin polimerizasyonda kendiliğinden katalizlenen bir karakter gösterdiği anlaşılmaktadır.

4.2. Farklı pH Ortamında Polimer Filmlerin Elektrokimyasal Davranışı

Çalışmanın bu kısmında sentezlenen polimerlerin monomer bulunmayan elektrolit ortamdakielektrokimyasal davranışı ve ortam pH'sının elde edilen kopolimer filmlerin indirgenme ve yükseltgenme reaksiyonları üzerindeki etkisi dönüşümlü voltametri ile incelenmiştir.

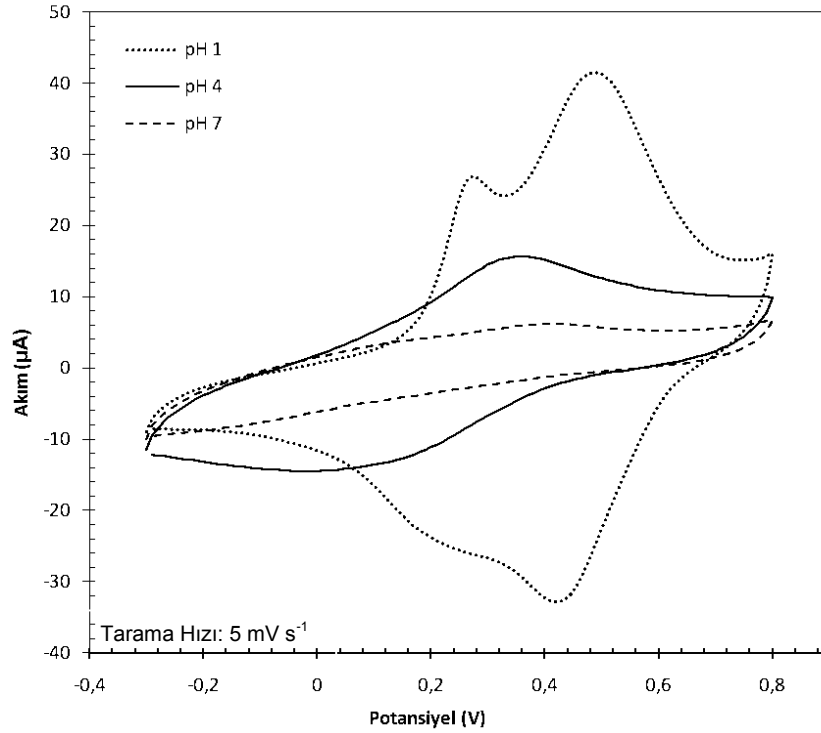
Plym-1

şekil 4.6'da Plym-1'in farklı pH'larda elde edilmiş voltamogramları görülmektedir. pH 1 de alınan voltamogramlarda elektrolit ortam olarak 0.1 M HCl ve 0.1 M KCl, pH 4 ve 7 için ise elektrolit ortam olarak 0.1 M PBS kullanılmıştır.

Plym-1'e ait anodik taramada pH 1'de 0.28 V ve 0.48 V potansiyellerinde lökomeraldinden emeraldine ve emeraldinden pernigraniline geçişlere ait olan yükseltgenme pikleri, katodik taramada ise 0.42 V potansiyelinde bir indirgenme piki görülmüştür.

pH 4'te Plym-1'in elektroaktivitesini büyük oranda yitirdiği, voltamogramlardaki pik akımlarında meydana gelen azalmaya bağlı olarak gözlenmiştir. Pik akım değerlerinin azalması elektroaktivitenin azaldığını göstermektedir. pH 4'te elde edilen voltamogramda 0.36 V'da geniş bir yükseltgenme ve -0.02 V'da yükseltgenen filme ait geniş bir indirgenme piki gözlenmiştir. Redoks piklerindeki

bu genişleme proton konsantrasyonundaki düşüş nedeniyle yükseltgenme ve indirgenmeye karşı direnç olduğunu göstermektedir. pH 7'de elde edilen voltamogramda ise herhangi bir indirgenme-yükseltgenme (redoks) piki gözlenmemiştir.



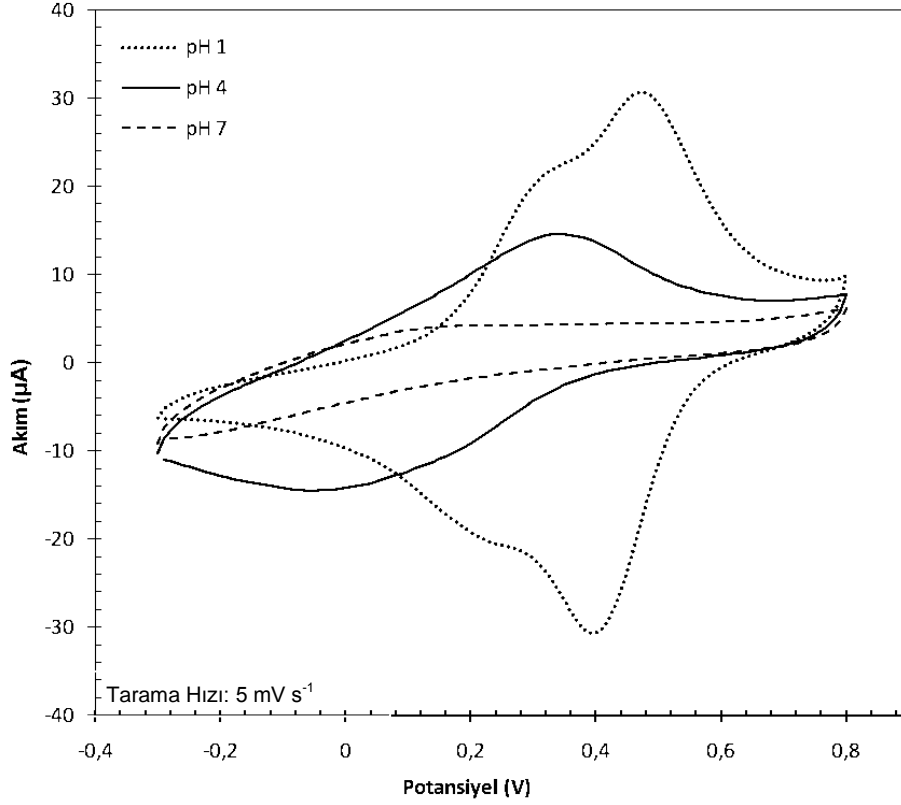
Şekil 4.6. Plym-1'in farklı pH'larda elde edilmiş dönüşümlü voltamogramlar (pH 1: 0.1 M HCl+0.1 M KCl, pH 4: 1.0 M PBS, pH 7: 0.1 M PBS)

Plym-2

Plym-2'nin farklı pH değerlerinde elde edilmiş döngülü voltamogramları Şekil 4.7'de verilmiştir. Voltamogramlarda ortanilik asit konsantrasyonu azaltılıp 2-aminobenzil konsantrasyonu artırılarak sentezlenen Plym-2'nin pH 1'de Plym-1'e benzer elektrokimyasal özellikler gösterdiği görülmüştür.

Şekil 4.7 incelendiğinde Plym-2'nin pH 1 'de elde edilen döngülü potansiyel taramasında 0.47 V potansiyelinde filmin yükseltgenmesine ait anodik pik görülmektedir. Plym-1'de 0.28 V potansiyelinde lökomeraldinden emeraldine geçişe ait olduğu düşünülen pik pozitif doğrultuda bir kaymaya uğrayarak Plym-

2'de 0.31 V'da bir omuz oluşumuna neden olmaktadır. Bununla birlikte elektropolimerizasyon çözeltisinde 2-aminobenzilamin konsantrasyonunun artışı emeraldin formun gözlenebildiği potansiyel aralığında bir daralma meydana gelmesine neden olmuştur.



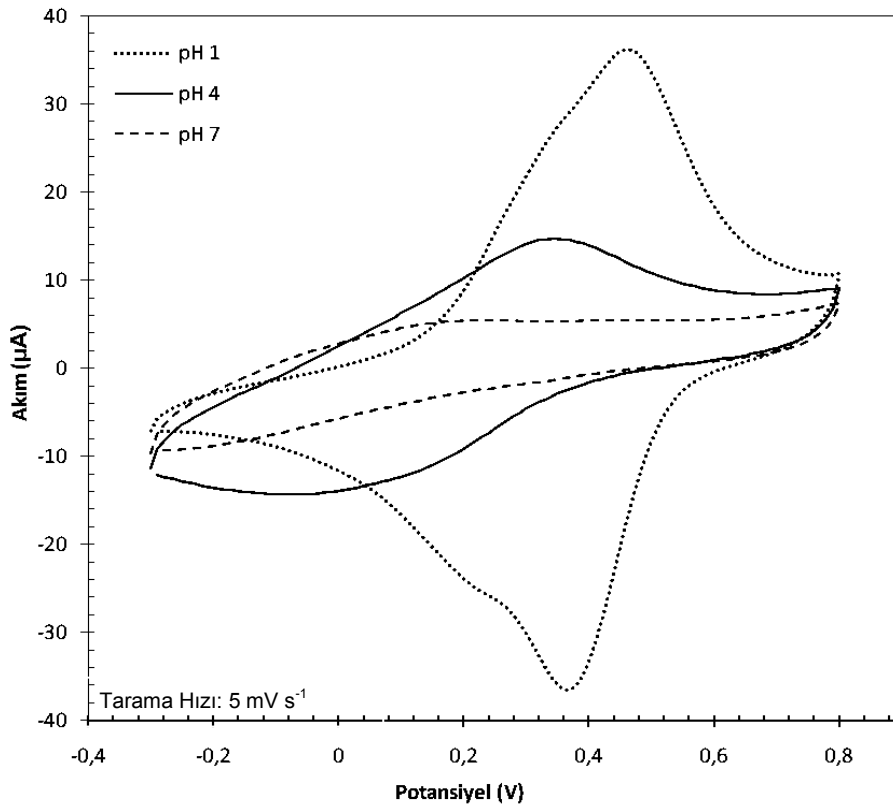
Şekil 4.7. Plym-2'nin farklı pH'larda elde edilmiş dönüşümlü voltamogramlar (pH 1: 0.1 M HCl+0.1 M KCl, pH 4: 1.0 M PBS, pH 7: 0.1 M PBS)

Katodik tarama incelendiğinde yükseltgenen filmin indirgenmesine ait pik Plym-1'e göre 20 mV negatif yönde kaymaya uğrayarak 0.40 V potansiyelinde görülmüştür. Buradan filmin indirgenme sırasında bir dirençle karşılaştığı düşüncesine varılmaktadır. Plym-2'nin pH 4'te elde edilen voltamogramında 0.34 V'da bir yükseltgenme ve -0.05V'da bir indirgenme görülmektedir. Bu pH değerinde Plym-1 ile karşılaştırıldığında filmin daha kolay yükseltgendiği ve daha zor indirgendiği görülmektedir. pH 7'de alınan voltamogramda ise redoks piki vermemesine bağlı olarak kopolimer filmin elektroaktivitesinin ortadan kalktığı gözlenmiştir.

Plym-3

Plym-3'ün elektroaktivitesine pH etkisini incelemek için üç farklı pH değerinde elde edilen voltamogramları Şekil 4.8'de görülmektedir. pH 1'de elde edilen voltamogram incelendiğinde lökomeraldinden emeraldine ve emeraldinden pernigraniline geçişleri gösteren yükseltgenme reaksiyonları 0.46 V potansiyelinde tek bir pik olarak görülmektedir. Katodik taramada ise bu tek yükseltgenme pikine ait indirgenme piki 0.37 V'da gözlenmektedir.

Plym-3'e ait pH 4'te elde edilen voltamogramda 0.35 V'da bir yükseltgenme ve -0.07 V'da geniş bir indirgenme görülmektedir. pH 7'de alınan voltamogramda polimer film elektroaktivitesini tamamen kaybetmiştir.



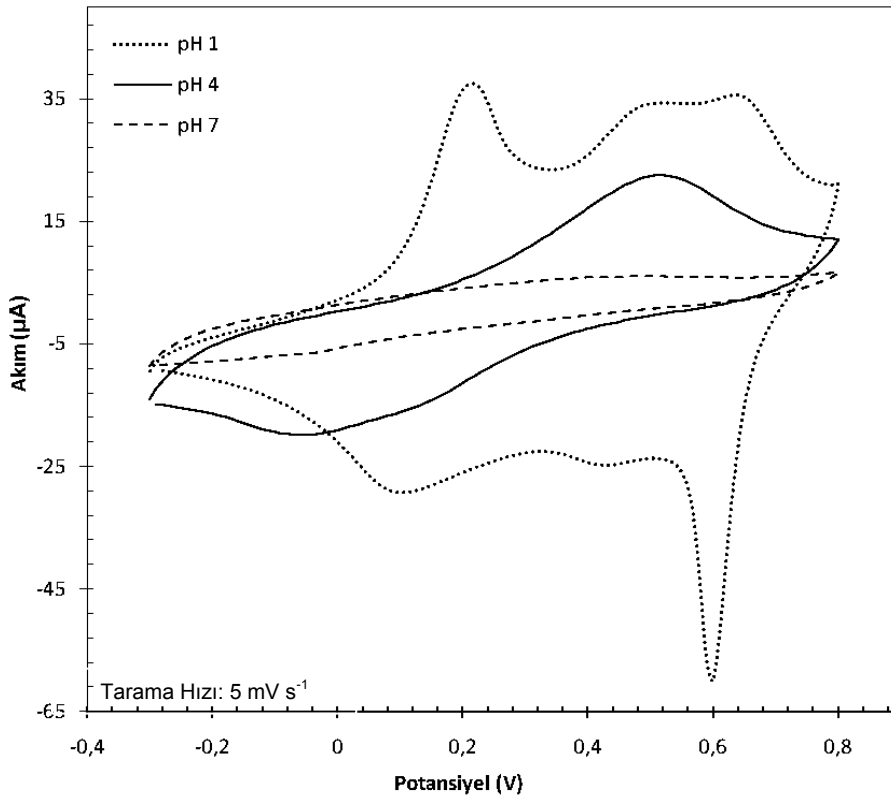
Şekil 4.8. Plym-3'ün farklı pH'larda elde edilmiş dönüşümlü voltamogramlar (pH 1: 0.1 M HCl+0.1 M KCl, pH 4: 1.0 M PBS, pH 7: 0.1 M PBS)

Polianilin

Sentezlenen kopolimerlerin PAN'dan farklı elektroaktif özelliklere sahip olduğunu göstermek amacıyla anilin sentezi gerçekleştirilerek farklı pH'larda döngülü voltamogramları alınmıştır.

Kopolimerler ile karşılaştırmak için PAN elektropolimerizasyonunda 100 mM anilin ünitesi sabit tutularak 1.0 M HClO₄ ve 0.1 M NaClO₄'ten oluşan destek elektrolit kullanılmıştır.

Şekil 4.9'da PAN'a ait üç farklı pH'da (1,4 ve 7) elde edilen voltamogramları görülmektedir. Voltamogramlarda PAN'ın redoks aktivitesinin ortam proton konsantrasyonu azaldıkça sentezi gerçekleştirilen kopolimerlerle paralel bir şekilde azaldığı görülmektedir.



Şekil 4.9. PAN'ın farklı pH'larda elde edilmiş dönüşümlü voltamogramları (pH 1: 0.1 M HCl+0.1 M KCl, pH 4: 1.0 M PBS, pH 7: 0.1 M PBS)

0.1 M HCl ve 0.1 M KCl (pH 1) ile hazırlanmış destek elektrolit içerisinde alınan voltamogramları incelendiğinde anodik taramada PAN filme ait üç pik

görülmektedir. Bu pikler sırasıyla 0.21 V, 0.49 V ve 0.63 V potansiyel değerlerinde gözlenmiştir. Katodik geri taramada filmin indirgenmesi sırasında ise 0.10 V, 0.43 V ve 0.60 V potansiyellerinde üç farklı pik görülmüştür.

PAn'a ait pH 4'te elde edilen voltamogramda anodik taramada 0.52 V potansiyelinde bir yükseltgenme pikine ve -0.06 V'da yükseltgenmiş filmin indirgenmesine ait katodik pik görülmüştür. PAn, kopolimerlerde de gözleendiği gibi redoks aktifliğini pH 7'de yitirmiştir.

PAn'ın pH 1'de elde edilen voltamogramı Plym-1, Plym-2 ve Plym-3'ün aynı destek elektrolit ortamında elde edilen voltamogramları ile karşılaştırıldığında gözlenen indirgenme ve yükseltgenme pik potansiyellerinde farklılıklar vardır. Bu elde edilen kopolimerlerin yapı olarak PAn'dan farklı olmasına bağlıdır. PAn'da üç farklı pik görülürken, Plym-1 ve Plym-2'de iki, Plym-3'te ise tek pik görülmesi kopolimerlerin yapısında bulunan $-\text{SO}_3^-$ ve $-\text{CH}_2\text{NH}_2$ grupları nedeniyle indirgenme ve yükseltgenme reaksiyonlarında protonların dışında sterik ve elektronik etkilerinde etkili olduğunu göstermektedir.

Sonuç olarak pH 1'de elde edilen döngülü voltamogramlar incelendiğinde kopolimerler sentezi sırasında sistematik bir biçimde 2-aminobenzilamin konsantrasyonunun artırılıp ortanilik asit konsantrasyonunun azaltılması lökomeraldinden emeraldine geçişte anodik kayma sebep olmuştur. Bu kayma yapıya giren 2-aminobenzilamin miktarının arttığını göstermektedir.

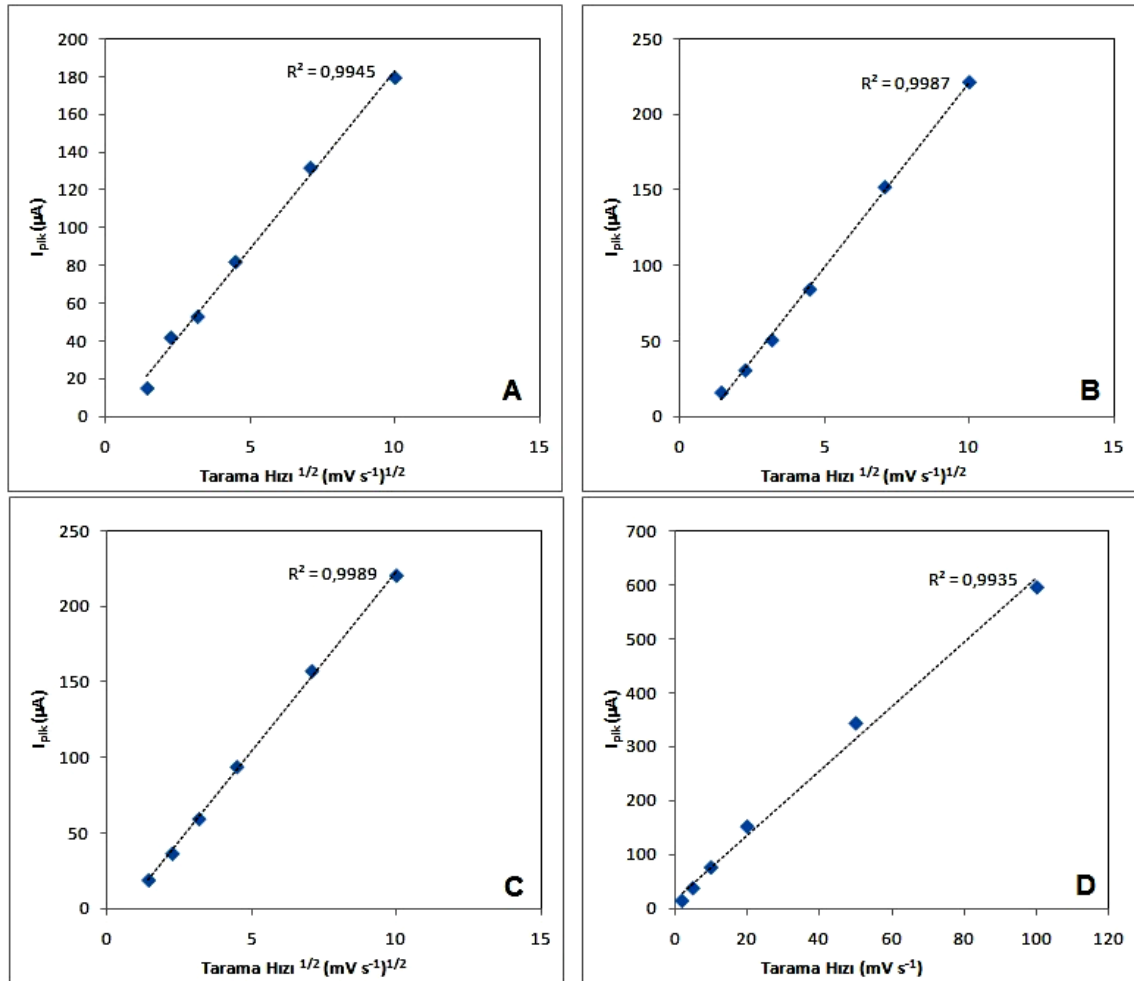
2-aminobenzilamin miktarının artması nedeniyle polimer iskeletindeki fenil halkalara $-\text{CH}_2\text{NH}_2$ gruplarının girmesine bağlı olarak bükülme (torsion) açısında artış olmaktadır. Bu da fenil π elektronları ile nitrojen (sp^3 tip) yalnız çiftlerinin orbital örtüşmesinin derecesini azaltmaktadır. Bu durum π -konjugasyonunun azalmasına ve yarı-yükseltgenmiş semikinon katyon radikalinin enerjisinin artmasına neden olarak semikinon formun tamamen indirgenmiş polianilin türevi yapıdan oluşumunu zorlaştırmaktadır. Bir başka deyişle $-\text{CH}_2\text{NH}_2$ fonksiyonelliğine sahip PAn türevi polimerin lökomeraldinden emeraldine geçiş potansiyelini ana PAn forma göre arttırmaktadır. Alkil grubunun elektron verici özelliği nedeniyle radikal katyonun kararlılığında artış ve bunun sonucu olarak yükseltgenme potansiyelinde azalma beklenmesine rağmen sterik etki elektronik etkiden baskın çıkmaktadır.

Radikal katyon (emeraldin) oluşumundan sonra ikinci tek-elektron yükseltgenmesi ile kinodiimin (protonlanmamış-pernigranilin) oluşumu tamamen sp^2 hibridize iki nitrojenin sterik etkiyi rahatlatması sonucu (imin nitrojenlerinde daha geniş bağ açıları) kolaylaşmaktadır. Bu da ikinci yükseltgenme potansiyelinde PAn'a göre katodik kaymaya neden olmaktadır (Wei et al., 1989).

Çalışmada elde edilen kopolimerlerin birinci yükseltgenme potansiyellerinde bu anodik kayma gözlenmiş aynı zamanda ikinci yükseltgenme potansiyellerinin de PAn'a göre daha düşük değerlerde olduğu görülmüştür.

Sentezlenen Kopolimer Filmler ve Polianilinde Yük Transferinin İncelenmesi

Şekil 4.10'da sentezlenen filmlerin pH 1'de elde edilen döngülü voltamogramlarında tarama hızının pik akımı değerleri üzerindeki etkisi görülmektedir.



Şekil 4.10. Sentezlenen filmlerin alınan döngülü voltamogramlarında tarama hızı ile pik akımının ilişkisi (a) Plym-1, (b) Plym-2, (c) Plym-3 ve (d) PAn

Döngülü voltamogramlarda tarama hızı ile pik akım değerleri arasında bir ilişki vardır. Film içerisinde yükün katı elektrot yüzeyine doğru transferi difüzyon kontrollü ise pik akımları tarama hızının kareköküyle, eğer kinetik kontrollü ise tarama hızı ile doğrusal bir değişim göstermektedir.

Şekil 4.10'a göre Plym-1, Plym-2 ve Plym-3'e ait pH 1'de alınan voltamogramlarda tarama hızı (2, 5, 10, 20, 50 ve 100 mV.s⁻¹) değiştirildiğinde anodik pik akım değerleri tarama hızının kareköküyle doğrusal bir değişim gösterirken PAn'a (D) ait grafik incelendiğinde bu değişimin tarama hızı ile doğrusal olduğu gözlenmiştir. Bu da kopolimerlerde yük transferinin difüzyon kontrollü PAn'da ise kinetik kontrollü olduğunu göstermektedir.

4.3. Modifiye Elektrot Yüzeylerinde Katalitik DMAMFc Oksidasyonu

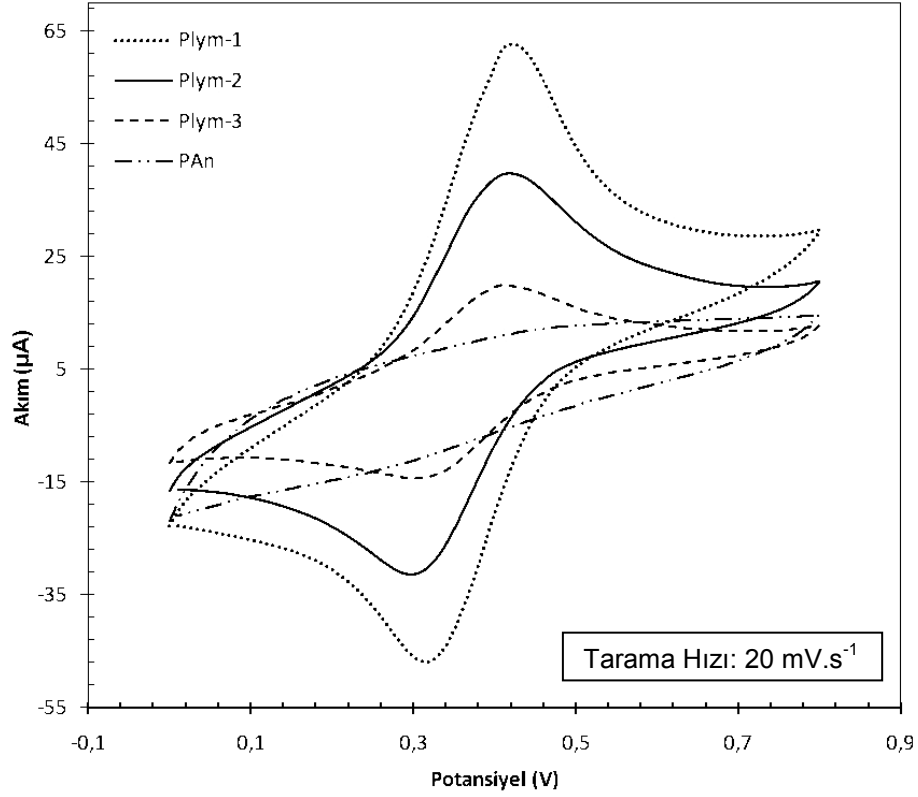
Medyatörlü elektron transferine dayalı biyosensörlerde elektrot yüzeyinde ölçüm sırasında ilgilenilmeyen bileşiklerin direk olarak indirgenip yükseltgenmesine ait akımın girişimini azaltmak üzere çalışma potansiyelini düşürmek gerekmektedir.

Bunun için elektronların elektroda aktarımı enzimatik reaksiyon ürününden daha düşük potansiyelde yükseltgenebilen, aynı zamanda enzimatik reaksiyon ürününü yükseltgeyebilen medyatör moleküller ile sağlanmalıdır.

Doğal elektron alıcısı moleküler oksijen olan oksidaz tabalı enzimlerin yer aldığı enzimatik dönüşümler sırasında H₂O₂ oluşmaktadır. Medyatörlü elektron transfer sisteminde, oluşan H₂O₂, medyatör molekülleri tarafından yükseltgenip elektronlarını yükseltgenmiş durumdaki medyatöre aktararak indirgenmesine neden olmaktadır. Amperometrik bir biyosensör tasarımında, medyatör moleküllerinin enzim immobilizasyonu için modifiye edilmiş elektrot yüzeyinde tekrar yükseltgenebilmesi ile sinyalin sürekliliği sağlanmalıdır. Bu nedenle modifiye edilen yüzeylerin, medyatör moleküllerini efektif olarak yükseltgeyebilmesi ve elektron taşıma ajanını rejenere etmesi gerekmektedir.

Çalışmanın bu kısmında Plym-1, Plym-2 ve Plym-3 iletken kopolimerleri ile modifiye edilmiş grafit elektrot yüzeylerinin istenilen çalışma pH'sı olan pH 7'de medyatör olarak seçilen DMAMFc'yi katalitik olarak yükseltgenme özellikleri dönüşümlü voltametri ile incelenmiştir. Elektropolimerizasyon ortamında kullanılan farklı monomer konsantrasyonları nedeniyle oluşan farklı özellikte

filmlerin DMAMFc'nin redoks reaksiyonlarını katalizlemedeki etkinliği değerlendirilmiştir.



şekil 4.11. Sentezlenen filmlerin 5 mM DMAMFc içerisinde alınımış dđnüşümlü voltamogramları (pH 7 1.0 M PBS). Tarama Hızı: 20 mV.s⁻¹

şekil 4.11'de sentezi geręekleřtirilen farklı kopolimerlerin 0.1 M PBS (pH 7.0) ile hazırlanımış 5 mM DMAMFc içeren elektrolit ortamda 0-0.80 V potansiyel aralığında 20 mV s⁻¹ tarama hızında elde edilen dđnüşümlü voltamogramlarını gđstermektedir.

Plym-1, Plym-2 ve Plym-3'e ait dđnüşümlü voltamogramlarda anodik tarama sırasında 0.43 V potansiyelinde DMAMFc'ye ait bir yükseltgenme piki ve 0.31 V potansiyelinde de katodik taramaya ait indirgenme piki gözlenmiştir.

Çizelge 4.1 incelendiğinde DMAMFc'nin redoks reaksiyonlarının geręekleřtięi potansiyel değerlerinde elektropolimerizasyon sırasında farklı monomer konsantrasyonları kullanılmasıının bir etkisinin olmadığı gđrölmüştür.

Elde edilen kopolimer filmlerin sentezinde ortanilik asit konsantrasyonunun artışıyla birlikte DMAMFc'nin modifiye grafit elektrot yüzeyinde katalitik olarak yükseltgenme veriminin de arttığı pik akımlarındaki artış ile belirlenmiştir.

Elektropolimerizasyon ortamında monomer olarak sadece anilinin kullanıldığı PAn film modifiyeli grafit elektroda ait voltamogramda ise DMAMFc'nin indirgenmesine ya da yükseltgenmesine ait herhangi bir pik gözlenmemiştir.

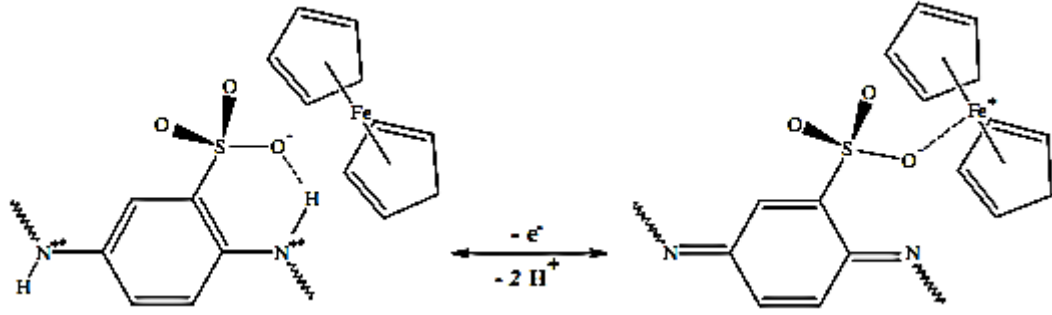
PAn'ın en iletken formu emeraldin bazının protonlanmış halidir. pH 7 (0.1 M PBS) ortamında PAn deprotonasyona uğradığından iletkenliğini tamamen yitirerek voltamogramlardan da görülebileceği üzere DMAMFc'nin redoks reaksiyonlarını katalizleyememektedir.

Ancak, sülfonik asit grupları içeren polimerler (Plym-1, Plym-2, Plym-3) pH 7'de 0.1 M PBS içerisinde redoks aktivitesi göstermemesine rağmen kendiliğinden katkılanmış olduklarından DMAMFc'yi yükseltgeyebilmektedirler. Bu da elde edilen kopolimerlerin pH 7'de iletkenliğini kaybetmediğini göstermektedir.

Çizelge 4.1. DMAMFc'nin Sentezlenen Polimerlerde İndirgenme-Yükseltgenme Potansiyelleri

	$E_{p,yük}$ (mV)	$E_{p,ind}$ (mV)	E_m (mV)
Plym-1	430	310	370
Plym-2	420	300	360
Plym-3	420	300	360
PAn	-	-	-

Buna ek olarak SPAN modifiye elektrotlarda iletken polimer zincirlerindeki $-SO_3^-$ gruplarına kuvvetli ferrosenyum iyonu (Fc^+) adsorpsiyonu gerçekleşmektedir. Ferrosen türleri için sülfonat gruplarının adsorpsiyon bölgeleri oluşturduğu önerilmiştir (Sanchís et al., 2008).



Şekil 4.12. SPAN'da sülfonik asit grubuna ferrosen adsorpsiyonu

Sentezlenen kopolimerler filmlerde DMAMFc'nin redoks reaksiyonlarının nötral ortamda efektif bir biçimde gerçekleştirilebilmesinin bir diğer nedeni de fenil halkalara bağlı $-\text{SO}_3^-$ gruplarına yükseltgenmiş formdaki DMAMFc⁺'nin kuvvetli adsorpsiyonudur.

4.3.1. Modifiye Yüzelelere Adsorplanmış DMAMFc Miktarının Tayini

Kopolimerler filmler ile modifiye edilmiş grafit elektrot yüzeylerine DMAMFc adsorpsiyonunda kullanılan yöntem "Deneysel Çalışmalar" kısmında ayrıntılı olarak açıklanmıştır.

Plym-1, Plym-2 ve Plym-3 kopolimerleri ile modifiye edilmiş grafit elektrotlara DMAMFc adsorpsiyonu gerçekleştirildikten sonra, elde edilen kompozit yüzeylerin biyosensör olarak performans özelliklerini incelemek üzere glukoz oksidaz immobilizasyonu yapılmıştır.

Glukoz oksidazın yer aldığı enzimatik reaksiyon sonucunda oluşan H_2O_2 'nin katalitik oksidasyonu, kompozit yüzeydeki DMAMFc moleküllerinde gerçekleşmektedir. Bu nedenle analiz ortamındaki glukoz konsantrasyonuna karşı alınan amperometrik cevap üzerinde yüzey DMAMFc miktarının (Γ_{DMAMFc}) doğrudan etkisi vardır.

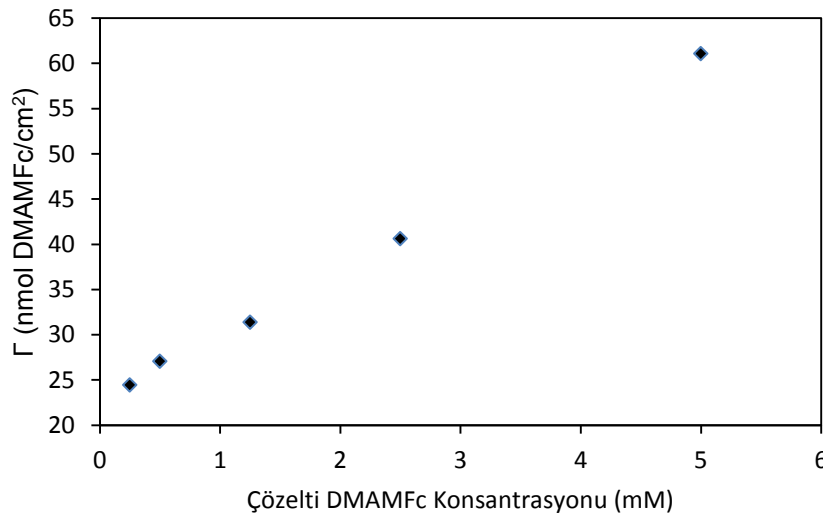
Çalışmanın bu kısmında Γ_{DMAMFc} ile gözlenen sensör cevabı arasındaki ilişkiyi belirlemek üzere adsorpsiyon işlemi sonucunda kopolimer yüzeylere adsorplanan DMAMFc miktarları (Γ_{DMAMFc}) tayin edilmiştir.

Γ_{DMAMFc} değerlerinin tayin edilmesinde DMAMFc adsorpsiyonu gerçekleştirilmiş elektrotların 0.1 M pH 7 PBS içerisinde alınan döngülü voltamogramlarından yararlanılmıştır. Bu işlem sırasında, daha önce 0.1 M pH 7 PBS içerisinde döngülü voltamogramları alınan polimerlerin redoks reaksiyonu vermediği göz önünde bulundurulmuştur. Bu nedenle elde edilen yük değerinin sadece yüzeyde adsorplanan DMAMFc moleküllerinin yükseltgenmesine ait olduğu ve yüzeyde gerçekleşen yükseltgenme reaksiyonlarının tek elektron transferine dayalı kompleks olmayan Nernst davranışı gösterdiği varsayımı yapılmıştır.

Anodik taramada yükseltgenme piki altında kalan alanın integrali alınarak yükseltgenen DMAMFc moleküllerinin elektroda aktardığı yük miktarı belirlenmiştir. Film yüzeyindeki DMAMFc konsantrasyonu, Γ (mol cm^{-2}), hesaplanan yük miktarı, Q , molekül DMAMFc başına transfer edilen elektron sayısı, $n=1$, Faraday sabiti, $F=96,485 \text{ Coulomb mol}^{-1}$ ve elektrot alanı, $A=0.0031415 \text{ cm}^2$ olmak üzere aşağıdaki eşitliğe göre hesaplanmıştır.

$$\Gamma = \frac{Q}{nFA} \quad (4.1)$$

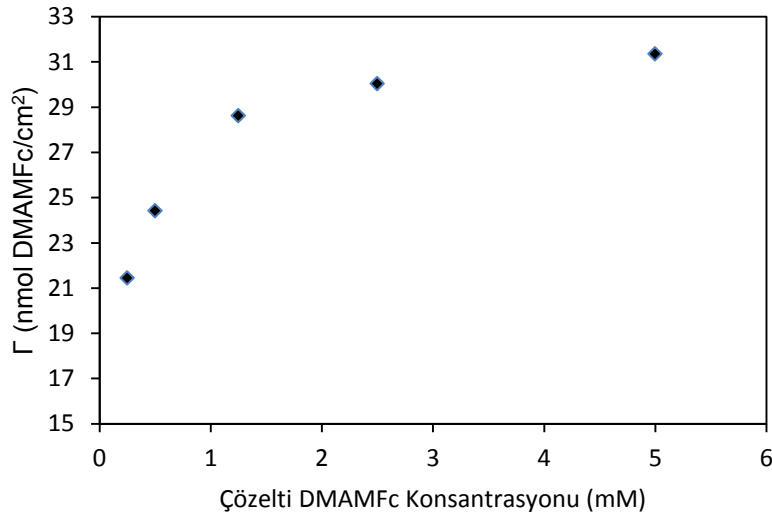
Şekil 4.13'teki grafik incelendiğinde belirlenen konsantrasyon değerlerinde Plym-1 ile modifiye edilmiş yüzeye adsorplanan DMAMFc konsantrasyonunun (Γ_{DMAMFc}) adsorpsiyon çözeltisindeki DMAMFc konsantrasyonu ile doğrusal değişim gösterdiği görülmüştür.



Şekil 4.13. Adsorpsiyon çözeltisindeki DMAMFc konsantrasyonu vs. Plym-1 yüzey DMAMFc konsantrasyonu

Buna ek olarak çözelti ortamındaki medyatör konsantrasyonu 20 kat arttırıldığında Γ_{DMAMFc} değerinin sadece 2.5 kat artış göstermesi adsorpsiyon işleminde bir sürücü kuvvetin varlığını göstermektedir. Bu sürücü kuvveti ise elektrodun DMAMFc'nin yükseltgenme potansiyelinde polarlanmasıdır. Böylece yükseltgenerek DMAMFc⁺ katyonuna dönüşen medyatör moleküllerinin polimer zincirdeki -SO₃⁻ gruplarına bağlandığı doğrulanmaktadır.

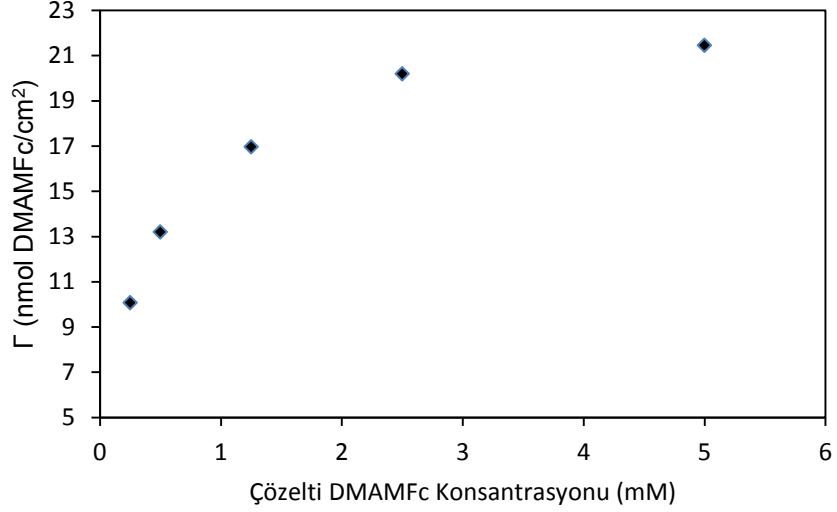
Çözelti içerisindeki DMAMFc konsantrasyonuna bağlı olarak Plym-2 film ile modifiye edilmiş grafit elektrot yüzeyindeki Γ_{DMAMFc} değerleri Şekil 4.14'te verilmektedir.



Şekil 4.14. Adsorpsiyon çözeltisindeki DMAMFc konsantrasyonu vs. Plym-2 yüzey DMAMFc konsantrasyonu

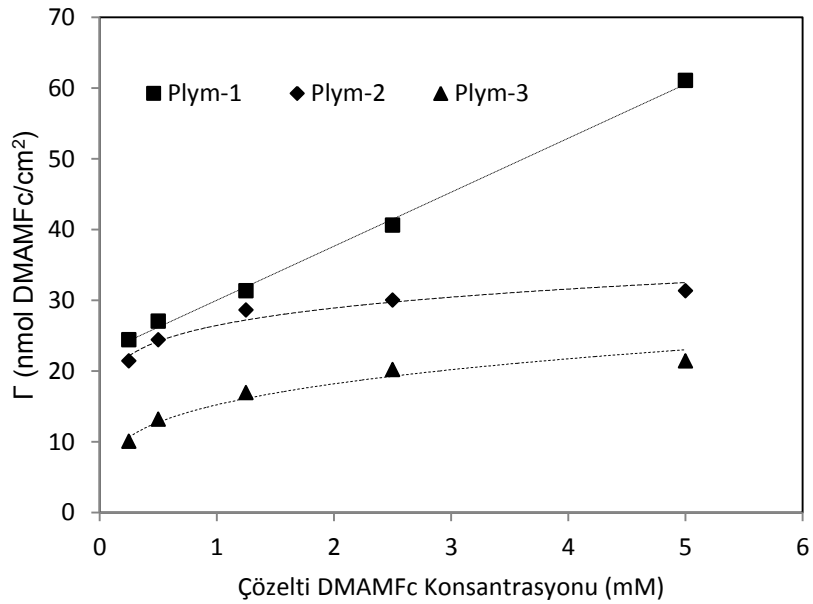
Şekil 4.14'te verilen grafiğe göre adsorpsiyon çözeltisindeki DMAMFc konsantrasyonu 2.50 mM'ın üzerine arttırıldığında film yüzeyindeki DMAMFc adsorpsiyonuna ait Γ_{DMAMFc} değerleri artış göstermemektedir. Bu da bize Plym-2 ile modifiye edilen elektrodun medyatör adsorpsiyonu açısından doymuş hale geldiğini göstermektedir.

Plym-3 film ile modifiye edilmiş elektrotlar ile farklı konsantrasyonlarda DMAMFc içeren çözeltiler içerisinde gerçekleştirilen adsorpsiyon işlemine ait adsorpsiyon verileri Şekil 4.15'te verilmiştir. Grafik incelendiğinde Plym-3'ün DMAMFc adsorpsiyonu açısından Plym-2'ye benzer özellikte olduğu görülmektedir



Şekil 4.15. Adsorpsiyon çözeltisindeki DMAMFc konsantrasyonu vs. Plym-3 yüzey DMAMFc konsantrasyonu

Farklı polimerlere ait adsorpsiyon çözeltisindeki DMAMFc konsantrasyonuna karşı hesaplanan Γ_{DMAMFc} değerleri Şekil 4.16'da aynı grafik üzerinde verilmektedir. Grafiğe göre Plym-1'in yüzey DMAMFc adsorpsiyon kapasitesinin Plym-2 ve Plym-3'e göre daha yüksektir. Bunun yanında adsorpsiyon çözeltisindeki DMAMFc konsantrasyonu 2.50 mM üzerine çıktığında Plym-2 ve Plym-3'e ait Γ_{DMAMFc} değerlerinde belirgin bir artış gözlenmemektedir.

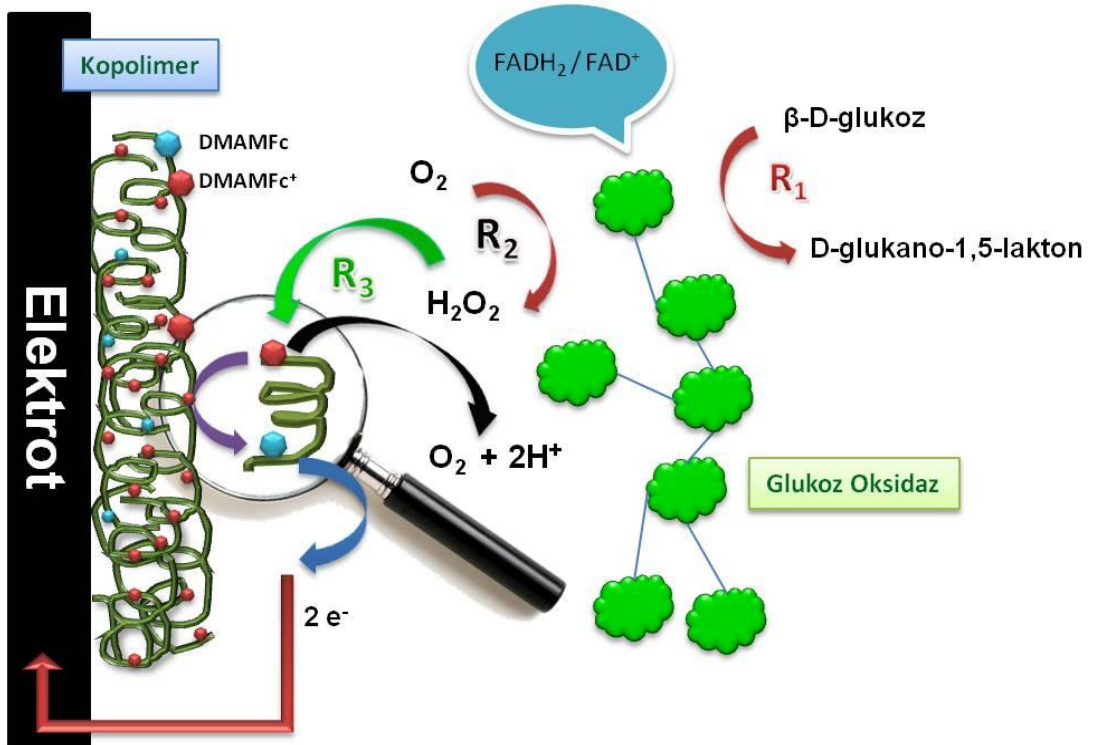


Şekil 4.16. Kopolimerlere ait Γ_{DMAMFc} - çözelti DMAMFc konsantrasyonu grafiği

Polimer zincir üzerinde bulunan $-\text{SO}_3^-$ grupları DMAMFc^+ molekülleri için adsorpsiyon bölgeleri oluşturmaktadır. Elektropolimerizasyonda kullanılan ortanilik asit konsantrasyonunun yüksek olması zincirdeki ortanilik asit ünitelerinin artmasına neden olmaktadır. Bu nedenle Plym-1'in sülfonasyon oranının Plym-2 ve Plym-3'e oranla fazla olduğu düşünülmektedir. Bunun sonucu olarak da Plym-1'e ait Γ_{DMAMFc} değerleri Plym-2 ve Plym-3'ten daha yüksek olup doğrusal değişim gösterirken Plym-2 ve Plym-3 belli bir değerden sonra doygun hale geçmektedir.

4.4. Kopolimerlerin Glukoz Oksidaz Tabanlı Biyosensör Uygulaması

Sentezlenen kopolimerlere DMAMFc adsorpsiyonunu takiben glukoz oksidaz immobilizasyonu gerçekleştirilerek elde edilen enzim elektrodun performansı değerlendirilmiştir. Elektrot ve modifiye yüzey arasındaki elektron transfer mekanizması Şekil 4.17'de şematize edilmiştir.



Şekil 4.17. GOx ve grafit elektrot arasındaki reaksiyonların şematik gösterimi

R₁ ile gösterilen reaksiyon, enzim ve substrat arasında gerçekleşerek glukozun elektronlarının enzimin yükseltgenmiş durumda olan kofaktörüne aktarıldığı basamaktır. Bu basamaktaki reaksiyon hızı, yüzeye immobilize enzim miktarına ve analiz ortamındaki glukoz konsantrasyonuna bağlıdır.

R₂ ile gösterilen reaksiyonda enzimin doğal elektron alıcısı olan moleküler oksijen (O₂) indirgenmiş durumdaki kofaktörden elektronları alarak H₂O₂'ye indirgenmektedir. Bu reaksiyonun hızında çözelti içerisindeki çözünmüş oksijen konsantrasyonu etkilidir.

R₂'de oluşan H₂O₂, bir sonraki reaksiyon basamağında kopolimerlere adsorplanmış DMAMFc⁺ moleküllerinde yükseltgenerek tekrar 2H⁺ ve moleküler oksijene(O₂) ayrılmaktadır. R₃ ile gösterilen bu reaksiyonun hızı hem oluşan H₂O₂ hem de yüzeye adsorplanmış olan DMAMFc⁺ moleküllerinin miktarına bağlıdır.

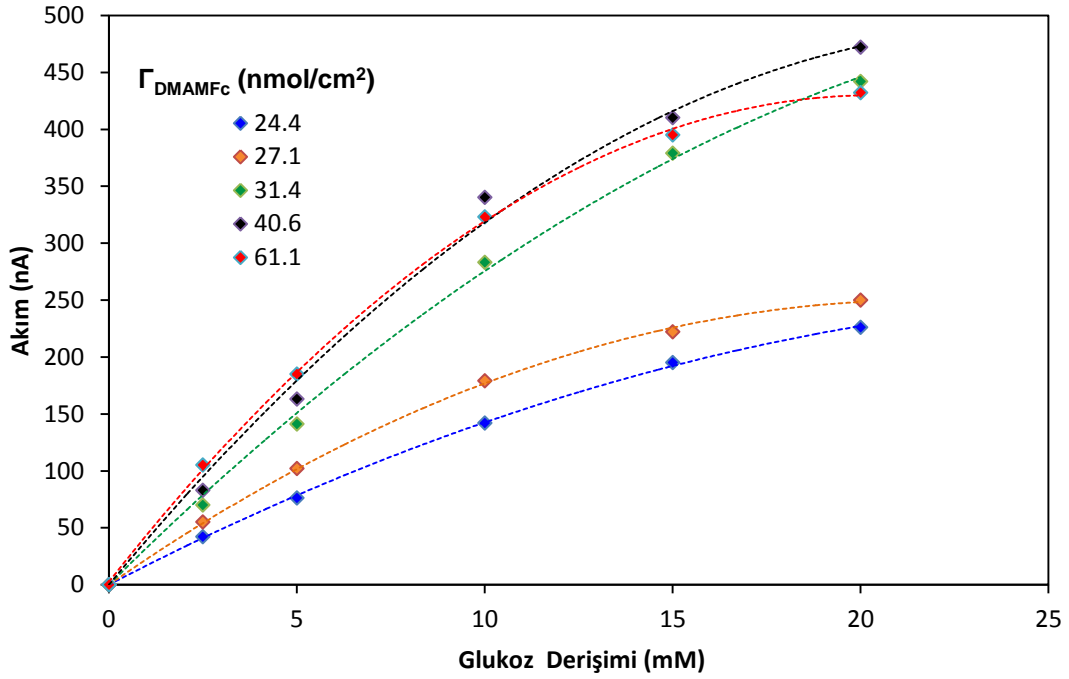
Son basamakta ise, H₂O₂'den elektron alarak indirgenmiş durumuna geçen DMAMFc moleküllerinin kopolimer filmde yükseltgenmesi ile elektronlar grafit elektroda aktarılarak amperometrik sinyal oluşmaktadır.

Bu çalışmada yüzeye adsorplanan enzim miktarı sabit tutularak sentezlenen farklı kopolimerle modifiye yüzeylere adsorplanmış DMAMFc yüzey konsantrasyonunun (Γ_{DMAMFc}) amperometrik sinyal üzerindeki etkisi incelenmiştir.

Bu amaçla, farklı konsantrasyonlarda DMAMFc adsorpsiyonu yapılan kopolimer modifiye yüzeylere sabit miktarda (16 U) enzim immobilizasyonundan sonra elde edilen enzim elektrotların biyosensör uygulaması olarak kalibrasyon eğrileri analit olarak glukoz ortamında elde edilmiştir. Elektrotların 0.1 M pH 7 PBS ile hazırlanmış farklı konsantrasyonlardaki (2.5, 5.0, 10.0, 15.0, 20.0 mM) glukozu karşı amperometrik cevapları değerlendirilmiştir.

4.4.1. Plym-1 ile Hazırlanan Enzim Elektrodun Performansının İncelenmesi

Plym-1'e farklı konsantrasyonda DMAMFc adsorpsiyonu ve sabit miktarda enzim immobilizasyonu ile yapılan biyosensörlerin glukozu karşı verdiği amperometrik cevaplara ait kalibrasyon eğrileri Şekil 4.19'da verilmiştir.



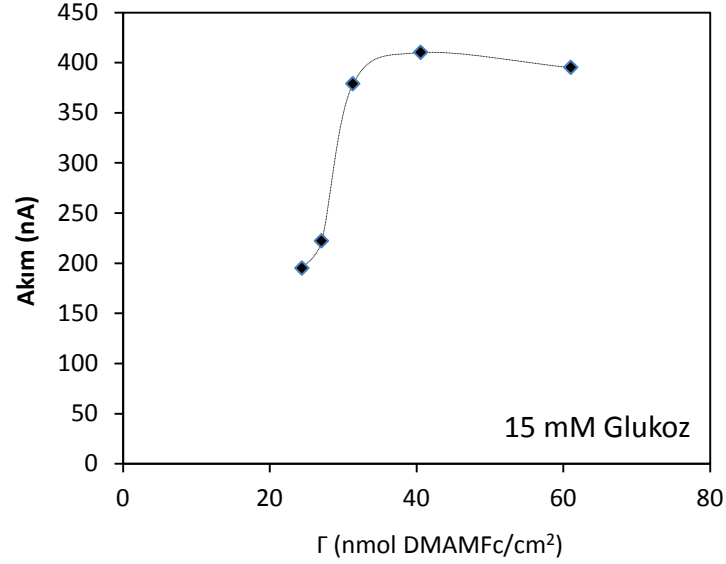
Şekil 4.18. Farklı DMAMFc miktarları için Plym-1 ile hazırlanan glukoz sensörünün glukozla karşı cevap grafiği

Şekil 4.18 incelendiğinde farklı miktarda DMAMFc adsorpsiyonu gerçekleştirilerek hazırlanan enzim elektrotlardan alınan amperometrik cevapların artan DMAMFc yüzey konsantrasyonu ile (Γ_{DMAMFc}) birlikte 40.6 nmol DMAMFc/cm² değerine kadar artış gösterdiği görülmüştür. 24.4, 27.1, 31.4 ve 40.6 nmol DMAMFc/cm² medyatör içeren elektrotların cevap akımlarında birbirlerine artış görülmektedir. Ancak 61.1 nmol DMAMFc/cm² medyatör adsorpsiyonu gerçekleştirilmiş enzim elektrotla alınan akım değerleri, 40.6 nmol DMAMFc/cm² yüzey medyatör konsantrasyonu kullanılarak hazırlanmış elektroda göre artış göstermesi gerekirken 10 mM glukozdan itibaren bu elektroda göre akım değerleri daha düşük seviyede gözlenmiştir.

Alınan cevap akımı üzerindeki yüzey medyatör konsantrasyonunun etkisinin daha iyi incelenebilmesi için, sabit glukoz konsantrasyonunda (15 mM) farklı miktarlarda DMAMFc adsorplanmış elektrotlardan alınan cevaplar Şekil 4.19'da grafiğe geçirilmiştir.

Şekil 4.19'da Γ_{DMAMFc} değerlerine göre sabit glukoz konsantrasyonu olarak seçilen 15 mM glukoz içerisindeki biyosensör cevabı incelenmiştir. Γ_{DMAMFc} değeri 24.4 ile

31.3 arasında artırıldığında akım üstel bir değişim göstermiş 31.30 değerinden sonra ise plato değerine ulaşmıştır. Yüzey DMAMFc konsantrasyonu arttırılmaya devam edildiğinde ise cevap akımı düşüşe geçmiştir.



Şekil 4.19. Yüzey DMAMFc konsantrasyonunun Plym-1'in biyosensör cevabına etkisi

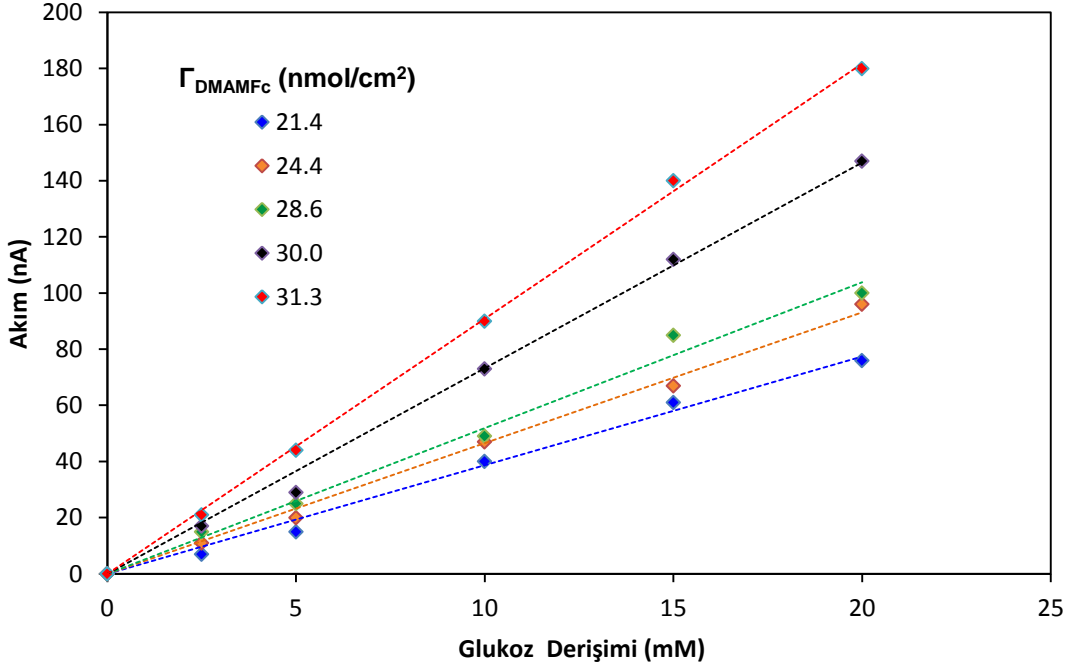
DMAMFc miktarının arttırılmasıyla birlikte akımda meydana gelen artışın R_3 ile gösterilen reaksiyonun kinetikleri ile ilgili olduğu düşünülmektedir. Medyatör moleküllerinin artması sonucu H_2O_2 'nin yükseltgenmesi hızlanacaktır. Bunun sonucunda elektroda aktarılan elektron sayısında meydana gelen artış akımın artmasına neden olacaktır.

Ancak medyatör konsantrasyonunun arttırılması ile $DMAMFC^+$ molekülleri ile H_2O_2 arasında gerçekleşen indirgenme yükseltgenme reaksiyon hızının artması sonucu bu reaksiyonda substrat görevi gören H_2O_2 'in hızla tüketilmesine bağlı olarak reaksiyon bölgesinde konsantrasyonu azalacak ve cevap akımının düşmesine neden olacaktır.

Kısacası düşük medyatör konsantrasyonunda R_1 ile gösterilen reaksiyon baskın iken, medyatör konsantrasyonu arttırıldığında R_3 ile gösterilen reaksiyon gözlenen sensör cevabında belirleyicidir.

4.4.2. Plym-2 ile Hazırlanan Enzim Elektrodun Performansının İncelenmesi

Plym-2'ye farklı konsantrasyonda DMAMFc adsorpsiyonu ve sabit miktarda enzim immobilizasyonu ile yapılan biyosensörlerin glukozu karşı verdiği amperometrik cevaplara ait kalibrasyon eğrileri Şekil 4.20'de verilmiştir.



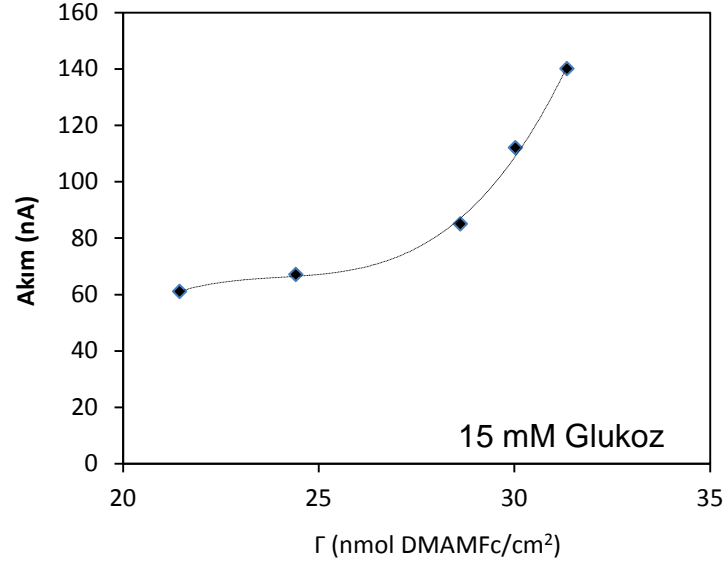
Şekil 4.20. Farklı DMAMFc miktarları için Plym-2 ile hazırlanan glukoz sensörünün glukozu karşı cevap grafiği

Plym-2'nin kullanıldığı glukoz biyosensörü tasarımında farklı glukoz konsantrasyonlarında elde edilen cevap akımı değeri Plym-1'in kullanıldığı biyosensör uygulamasında elde edilen akım değeri oldukça düşüktür.

Gözlenen bu durum, Plym-2'nin elektropolimerizasyonunda sırasında kullanılan ortanilik asit konsantrasyonunun daha az olması nedeniyle içerdiği $-SO_3^-$ ünitelerinde ve dolayısıyla olası DMAMFc adsorpsiyon bölgesi sayısındaki azalma ile ilgilidir.

Bir diğer olasılık ise, Plym-2'nin sülfonasyon oranının azalmasıyla birlikte ölçüm yapılan pH 7'de iletkenliğinin daha düşük olmasından dolayı amperometrik cevabının daha düşük değeri göstermesidir.

Şekil 4.21’de elektrot yüzeyindeki DMAMFc adsorpsiyon miktarının(Γ_{DMAMFc}) biyosensörün amperometrik cevabına etkisi sabit glukoz konsantrasyonunda incelenmiştir.



Şekil 4.21. Yüzey DMAMFc konsantrasyonunun Plym-2’nin biyosensör cevabına etkisi

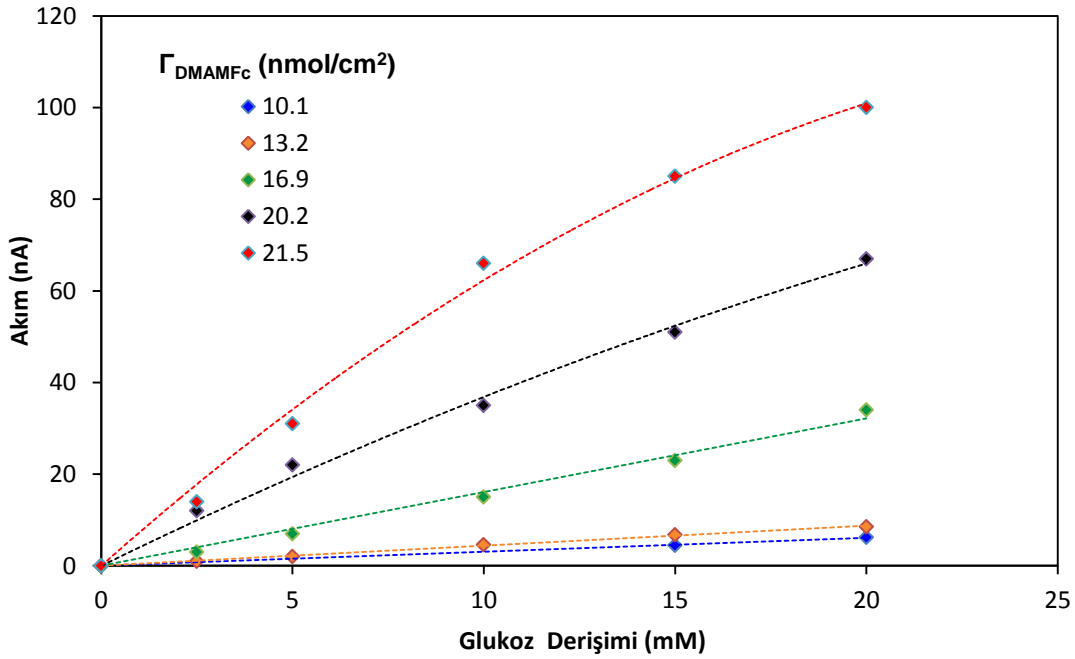
Γ_{DMAMFc} değeri arttıkça cevap akımında üstel bir artışın olduğu görülmektedir. Medyatörün yüzeydeki konsantrasyonunun artırılması ile beraber akımda üstel bir artış görülmesi, redoks merkezlerinin film içerisinde birbirine yaklaşması dolayısıyla elektron transferinin aynı zamanda yükün medyatör molekülleri üzerinden sıçrama (hopping) mekanizması yoluyla elektroda iletildiğini de düşündürmektedir. Aynı durum Plym-1’e ait Şekil 4.19’daki grafikte de kısmen de olsa görülebilmektedir.

Akım artışında görülen bu karakteristik değişim Marcus elektron transfer teorisi ile açıklanabilmektedir. Marcus elektron transfer teorisine göre redoks merkezlerinin arasındaki uzaklık farkının elektron transfer kinetikleri üzerinde üstel bir etkisi vardır (Wu, 2007; Schuhmann et al., 1991). r_0 ve r minimum ve gerçek elektron transfer uzaklığı, λ yeniden düzenlenme serbest enerjisi, β ayrışma parametresi ve ΔG^0 reaksiyon serbest enerjisi olmak üzere elektron transfer hızı (k_{ET}):

$$k_{ET} = 10^{13} \exp[-\beta(r - r_0)] \exp\left[-\frac{(\Delta G^0 + \lambda)^2}{4\lambda RT}\right] \quad (4.2)$$

4.4.3. Plym-3 ile Hazırlanan Enzim Elektrodun Performansının İncelenmesi

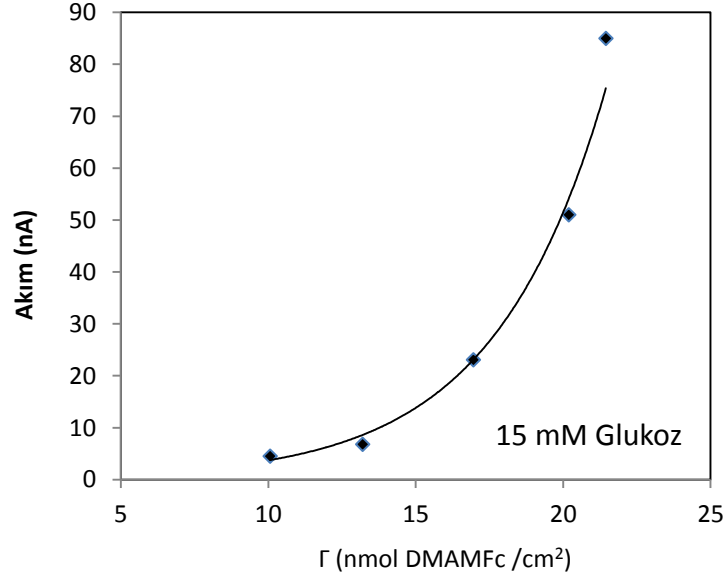
Farklı konsantrasyonlarda DMAMFc içeren çözeltiler içerisinde medyatör adsorplanan Plym-3 filmlere GOx immobilize edilerek biyosensörler hazırlanmıştır. Daha sonra hazırlanan biyosensörlerin farklı konsantrasyonlarda glukoz içeren analiz ortamlarında zamana karşı ölçülen akım değerleri grafiğe geçirilerek kalibrasyon yapılmıştır. Hazırlanan biyosensörlere ait kalibrasyon eğrileri Şekil 4.22'de verilmiştir.



Şekil 4.22. Farklı DMAMFc miktarları için Plym-3 ile hazırlanan glukoz sensörünün glukozla karşı cevap grafiği

Elde edilen kopolimer filmler arasında elektropolimerizasyon sırasında 2-aminobenzilamin konsantrasyonunun en yüksek değerde tutulduğu Plym-3'te amperometrik cevap olarak en düşük akım değerleri alınmıştır. 2-aminobenzilamin monomer ünitelerinin zincire daha çok girmesi filmin iletkenliğini azaltmış ve enzimatik reaksiyon sonucu oluşan H₂O₂'nin kompozit yüzeyde katalitik yükseltgenme reaksiyonu yavaşlamıştır. 0.25 mM DMAMFc içeren çözelti içerisinde gerçekleştirilen adsorpsiyon işleminden sonra hesaplanan Γ_{DMAMFc} değeri olan 10.1 nmol DMAMFc/cm² de 15 mM glukoz konsantrasyonuna kadar enzimatik reaksiyon sonucu oluşan H₂O₂'nin katalitik oksidasyonuna ait bir akım artışı gözlenmemiştir.

Şekil 4.23'te Plym-3'e ait Γ_{DMAMFc} değerlerinin cevap akımına etkisi görülmektedir. Artan Γ_{DMAMFc} ile birlikte akımın sentezlenen diğer kopolimerlerle benzer özellikler göstererek üstel biçimde arttığı gözlenmiştir. Plym-3'ün biyosensör uygulamasında DMAMFc konsantrasyonunun akım üzerinde neden olduğu üstel artış daha net bir biçimde gözlenebilmektedir.

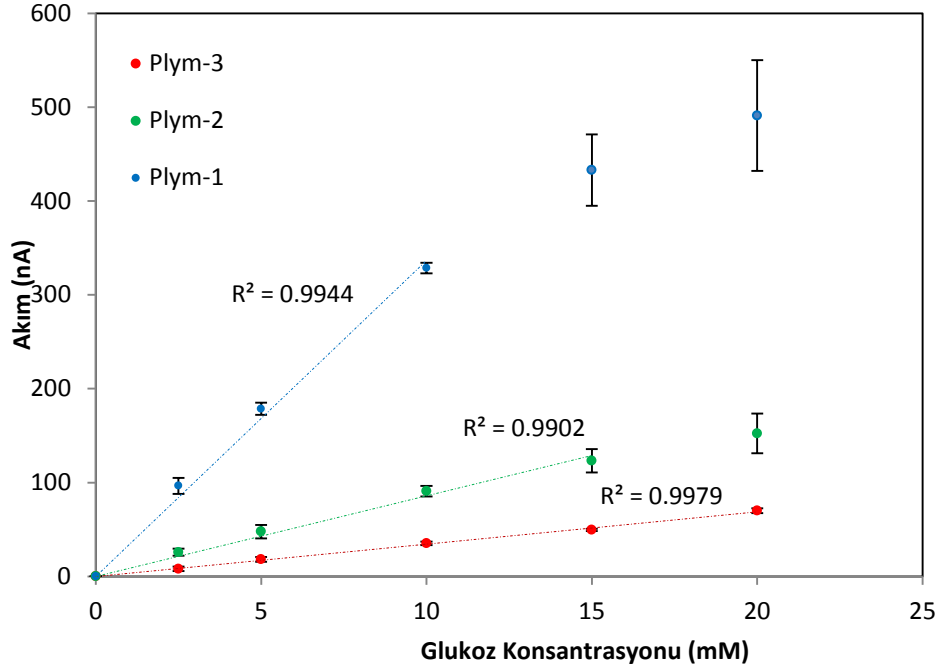


Şekil4.23. Yüzey DMAMFc konsantrasyonunun Plym-3'ün biyosensör cevabına etkisi

Yüzey medyatör konsantrasyonunun artması ile beraber medyatör moleküller arasındaki uzaklığın azalması, Marcus elektron transfer teorisine uygun olarak elektron transfer hızının üstel artmasını açıklamaktadır.

4.4.4. Kopolimerler ile Hazırlanan Glukoz Biyosensörlerinin Kalibrasyonu

pH 7'de 5 mM DMAMFc çözeltisinde medyatör adsorpsiyonu gerçekleştirilen kopolimer filmlere glukoz oksidaz immobilizasyonu yapılarak glukoz biyosensörü uygulamasında tekrarlanabilirliği incelenmiştir. $n=4$ olmak üzere her ölçüm için standart sapmalar hesaplanarak kalibrasyon grafikleri elde edilmiştir. Standart sapmalar ile birlikte verilen 3 farklı kopolimerin kullanıldığı glukoz biyosensörlerine ait kalibrasyon grafiği Şekil 4.24'te görülmektedir.



Şekil 4.24. Plym-1, Plym-2 ve Plym-3 ile hazırlanan sensörlerin kalibrasyon grafiği

En düşük ölçülebilir konsantrasyon olarak ölçüm sırasında cevap alınan en düşük konsantrasyon değeri olan 2.5 mM glukoz belirlenmiştir. Şekil 4.24'te Plym-1 ile tanımlanan biyosensör ile 32.8 nA/mmol hassasiyette, 2.5 ile 10 mM glukoz aralığında doğrusal ölçüm yapılabildiği görülmektedir.

Plym-2 ile yapılan biyosensör uygulamasında 2.5 ile 15 mM glukoz aralığında doğrusal ölçüm yapılabilmiş ancak hassasiyet 8.2 nA/mmol değerine düşmüştür.

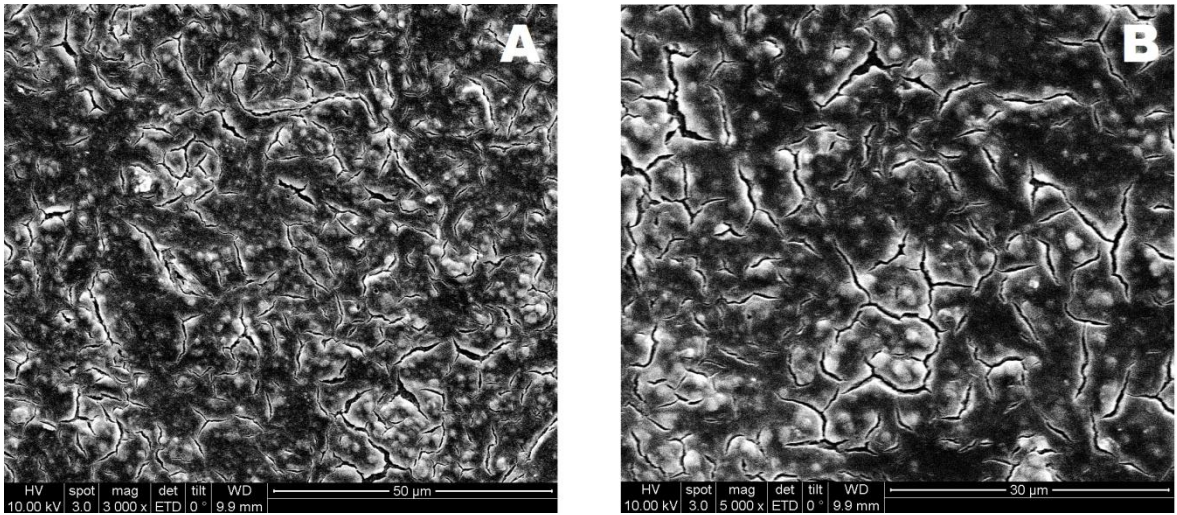
Son olarak Plym-3 ile yapılan biyosensör uygulamasında doğrusal ölçüm aralığı 2.5 ile 20 mM glukoz aralığına kadar artırılmış olsa da hem kopolimer filmin iletkenliğinin Plym-1 ve Plym-2'den düşük olması hem de adsorplanan DMAMFc miktarının bu kopolimerlere göre az olması hassasiyetin daha da düşerek 3.5 nA/mmol glukoz seviyesine gerilemesine neden olmuştur.

4.5. Elektrot Yüzeylerinin Karakterizasyonu

Grafit elektrot yüzeylerinin kopolimer filmler ile modifikasyonunun ardından kimyasal yapılarının incelenmesi amacıyla çekilen FTIR spektrumları ile yapıların morfolojisini veren Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) ve Atomik Kuvvet Mikroskobu (AKM) görüntüleri aşağıda sunulmuştur.

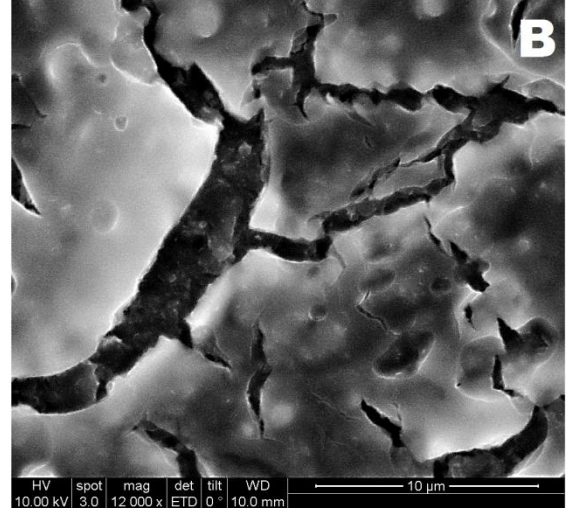
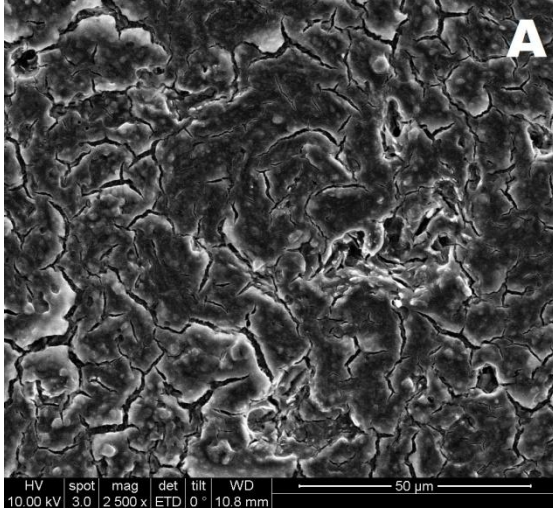
4.5.1. Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) Analizleri

Elektrokimyasal sentez ortamında kullanılan farklı monomer konsantrasyonlarının kopolimer filmlerin morfolojisinde neden olduğu farklılığın gözlenmesi amacıyla taramalı elektron mikroskobu (SEM) görüntüleri alınmıştır. Elde edilen görüntüler Şekil 4.25, Şekil 4.26, Şekil 4.27 ve Şekil 4.28'de verilmiştir.

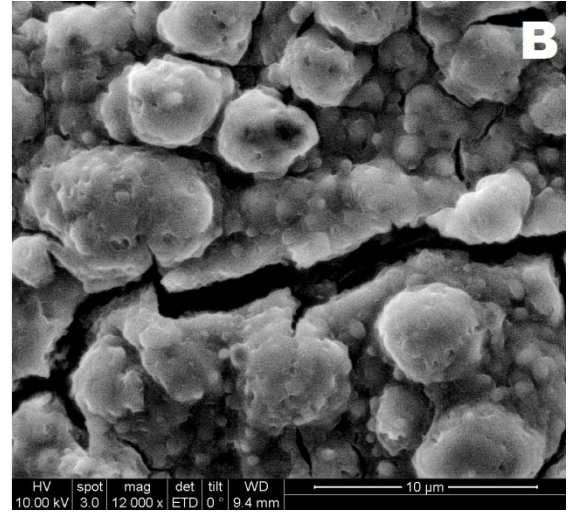
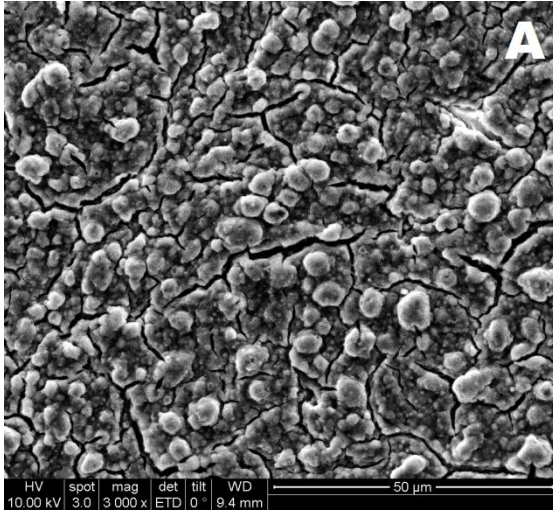


Şekil 4.25. Plym-1'e ait taramalı elektron mikroskobu görüntüleri

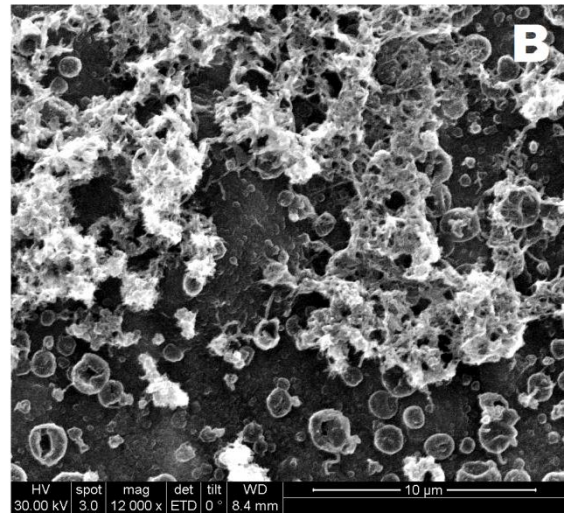
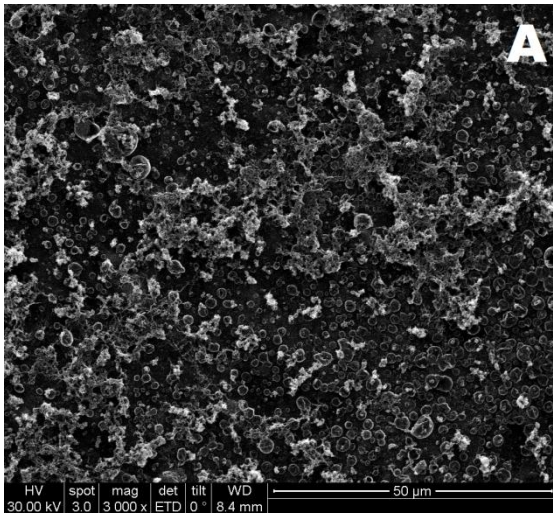
Plym-1, Plym-2 ve Plym-3'e ait yüzey görüntüleri incelendiğinde yüzeyde zaman zaman genişliği 3 mikrona varan çatlak oluşumları dikkat çekmektedir. İlk bakışta bu çatlakların kuruma sırasında artan yüzey gerilimine bağlı olarak oluştuğunu izlenimi edinilse de PAN filmde bu tip bir bozukluk görülmemesi çatlaklara daha başka etkenlerin neden olabileceğini düşündürmektedir.



Şekil 4.26. Plym-2'ye ait taramalı elektron mikroskobu görüntüleri



Şekil 4.27. Plym-3'e ait taramalı elektron mikroskobu görüntüleri



Şekil 4.28. PAn'a ait taramalı elektron mikroskobu görüntüleri

Bazı iletken polimerlerde (PPy, PAn) indirgenmiş formdan yükseltgenmiş forma geçişte mekanik özelliklerin değiştiği, esnekliğin yerini aşırı kırılabilirliğin aldığı bilinmektedir. Yükseltgenmiş formun kırılabilirliği büyük oranda polimer yapı içerisinde zincirler arası dipol-dipol ikincil bağ oluşumlarına dayandırılmaktadır (Wallace et al., 2008).

Bu bağ oluşumları moleküler hareketi kısıtlayarak kırılabilirliğin artmasına neden olmaktadır. Ancak taramalı elektron mikroskopu analizlerinden önce elde edilen polimer filmlerin -0.30 V potansiyelinde 30 dakika indirgenmesine rağmen çatlak oluşumları yine de görülmüştür. Çatlak oluşumlarının ortanilik asidin monomer olarak kullanıldığı tüm kopolimerlerde gözlenmesi $-SO_3^-$ grubunun kopolimerin mekanik özellikleri üzerinde etkisinin olabileceğini göstermektedir.

Kırılabilirliğin artışına bağlı olarak oluşabileceği düşünülen çatlaklar için diğer bir açıklama ise 2-aminobenzilamin monomerinin sahip olduğu $-CH_2NH_2$ grubunun polimerizasyonda sırasında yükseltgenerek zincirler arası çapraz bağlanmalara neden olabileceğidir. Polimer zincirleri arasındaki çapraz bağlanmalarda esnekliğin azalmasına neden olmaktadır.

Filmlere ait görüntülerde dikkat çeken başka bir benzerlik ise yumru ve küre görünümlü oluşumlardır. Plym-1 ve Plym-2'de bu oluşumlar daha çok yumru (nodül) görünümünde olup platoları andıran düz tabakalar üzerinde oluşmuşlardır. Boyutları küçük olup sayıları Plym-3 ve PAn'da gözlenenlere göre daha azdır.

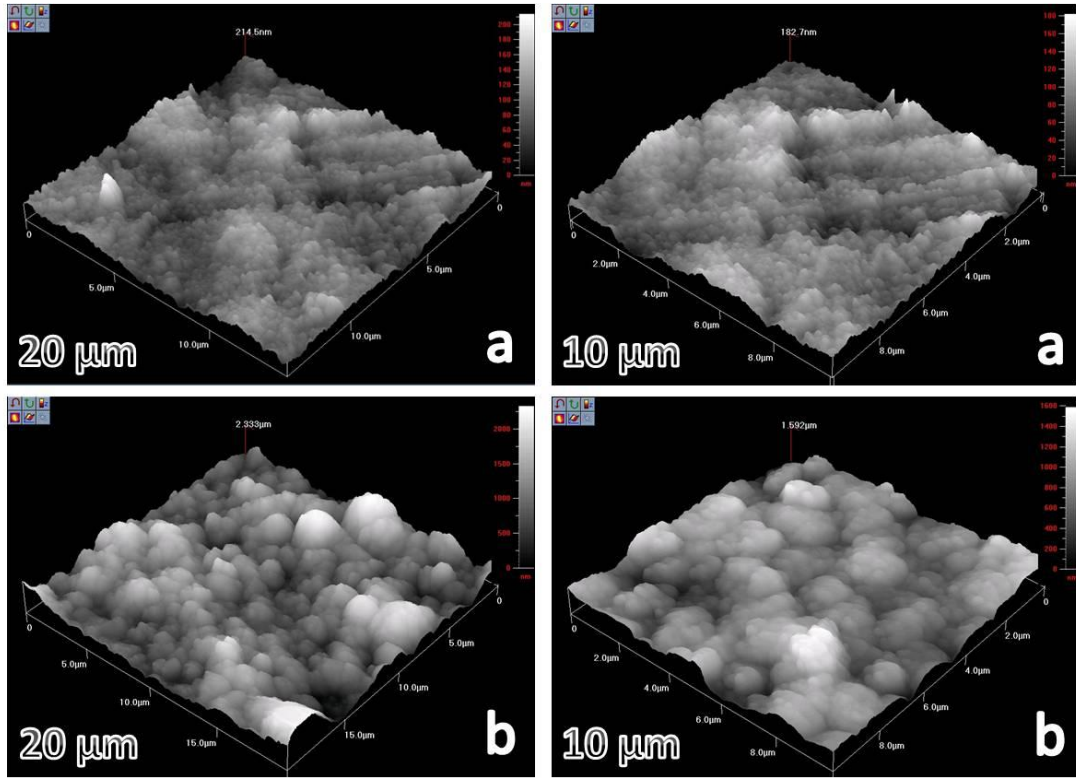
Plym-3'e ait görüntüler incelendiğinde polimer film üzerindeki düz alanlarda çapları yaklaşık olarak 3 ila 7 mikron arasında değişen küre benzeri oluşumlar dikkat çekmektedir. Bu kopolimer filme ait yakınlaştırılmış görüntüde bahsedilen küresel oluşumların çevresinde ve üzerinde daha küçük tanecikli formların varlığı da görülebilmektedir. Plym-3 üzerindeki çatlaklar dikkatli incelendiğinde çatlakların oluştuğu ve ilerlediği hatların küresel oluşumların yoğun olduğu bölgelerin arasında ve çevresinde olduğu görülmektedir. Literatürde küresel formların filme temas ettiği sınırların, daha kolay çatlak ilerlemesine olanak sağlayan zayıf noktalar oldukları belirtilmiştir (Wallace et al., 2008). Elde edilen görüntüler de bunu doğrulamaktadır.

PAn filme ait görüntülerde film morfolojisinin kopolimerlerden çok farklı olduğu görülmektedir. Küresel yapıların yanında düzensiz ve rastgele fiberlerin oluştuğu da dikkat çekmektedir.

Taramalı elektron mikroskobu görüntülerinden, sentezlenen kopolimer filmlerin morfolojik açıdan birbirinden farklı olduğu görülmüştür. Elektropolimerizasyon sırasında farklı monomer konsantrasyonlarının kullanılması farklı yapıda filmlerin oluşmasına yol açmıştır. Film oluşumu sırasında polimer içerisine difüzlenen katkılama ajanlarının polimer zincirlerinin yapısal olarak farklılık göstermesi nedeniyle değişmesi (PAn için anyonlar, SPAN için katyonlar) morfolojide de farklılaşmaya neden olmuştur.

4.5.2. Atomik Kuvvet Mikroskobu (AFM) Analizleri

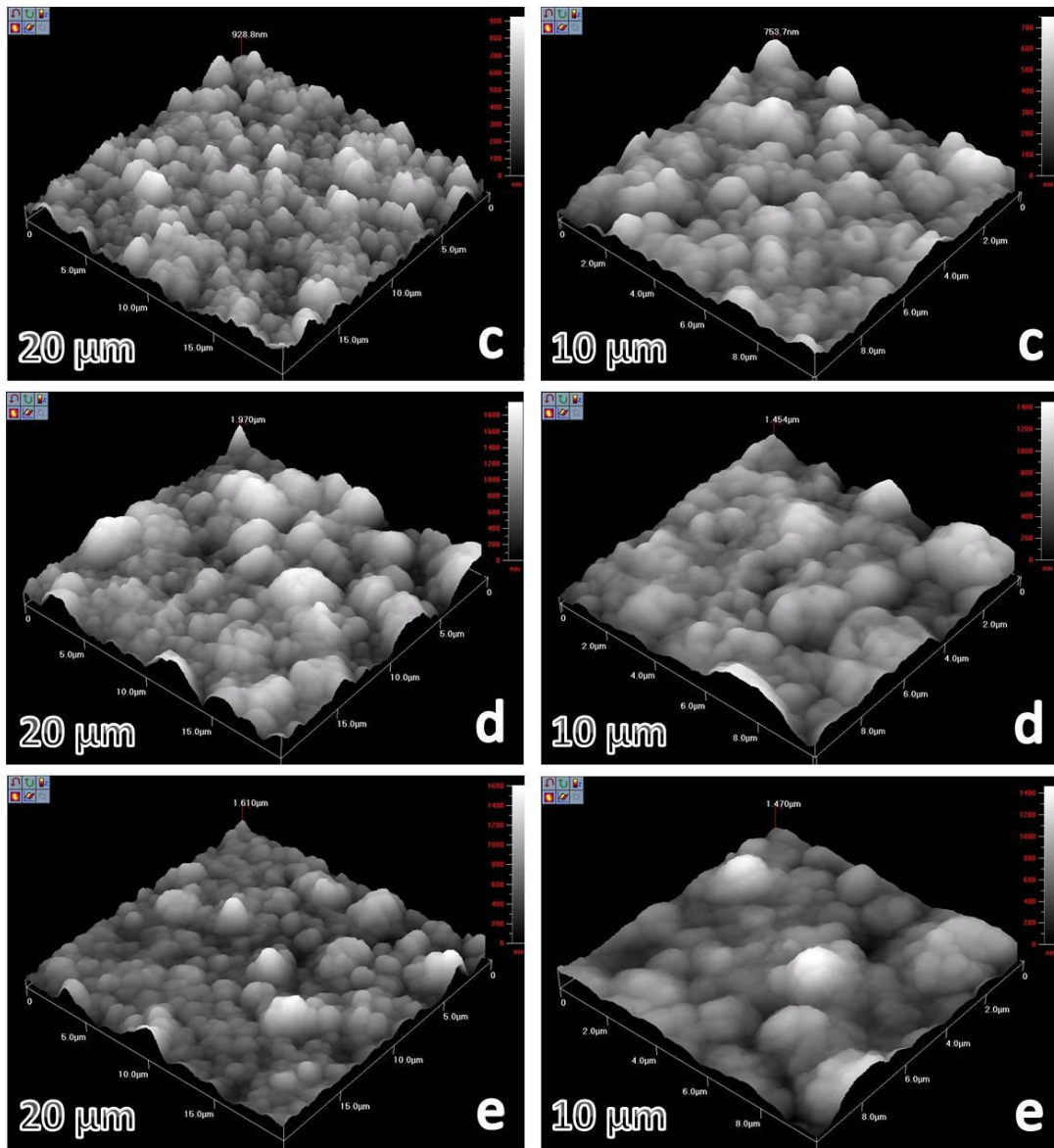
HClO₄ ve NaClO₄ elektrolitik çözeltilerinde sentezlenen kopolimer filmlerin üç boyutlu görüntülerini elde etmek amacıyla AKM görüntüleri 20x20 µm ve 10x10 µm boyutlarında alınmıştır.



Şekil 4.29. Modifiye edilmemiş (a) ve Plym-1 modifiye (b) grafit yüzeye ait AKM görüntüleri

Şekil 4.29'da modifiye edilmemiş (a) ve Plym-1 ile modifiye edilmiş (b) grafit yüzeylere ait AKM görüntüleri verilmiştir. Kopolimer film ile modifiye edilmiş elektrot yüzeylerinde polimer oluşumu ile birlikte yumru görünümlü adacıkların oluşumu gözlenmektedir. Gözlenen bu adacık görünümleriliteratürde iletken polimerlerin substrat yüzeylerinde elektropolimerizasyonu sırasında çekirdeklenme (nucleation) ile oluşum mekanizmasındaki yapılarla benzerlik göstermektedir.

Plym-2 (c), Plym-3 (d) ve PAn (e) ait AKM görüntüleri Şekil 4.30'da verilmiştir. Kopolimerlere ve PAn ait görüntülerdeki ortak nokta film yüzeylerinde konik oluşumların gözlenmesidir.



Şekil 4.30. Plym-2 (c), Plym-3 (d) ve PAn (e) modifiye grafit yüzeylere ait AKM görüntüleri

Kopolimerlerin sentez ortamlarındaki monomer oranları değiştirildikçe ortanilik asit miktarının azalmasıyla birlikte konik oluşumların çapları da artmaktadır. Bu polimerizasyonunda yüksek 2-aminobenzilamin konsantrasyonu kullanılan filmlerin oluşumunda çekirdeklenme esnasında polimer zincirlerin hızla topaklaşmasına bağlanmaktadır. Ortanilik asit miktarının artırılmasıyla birlikte polimer zincirlerin uzunluğunun azalması ve çözünür olmaları topaklaşmayı azaltmakta ve elektroda adsorpsiyonu yavaşlatmaktadır. Zaten Plym-1'in elektropolimerizasyonu sırasında da oluşan oligo ve dimer formundaki yapıların elektrot yüzeyinden çözeltiye difüzyonu gözlenmiştir. Yüksek ortanilik asit kullanımında ki film morfolojisinde etkisi olduğu düşünölen bir diğer faktör ise katkılama ajanıdır. Literatürde AKM çalışmalarında elektropolimerizasyonda büyük moleküllü $-SO_3$ grubu içeren katkılama ajanlarının konsantrasyonunun artırılmasının yüzeyde daha küçük çaplı konik oluşumlara neden olduğu belirtilmiştir (Giz et al., 2000). Yapılan çalışmada yüksek ortanilik asit konsantrasyonları kullanıldığında elektroda adsorpsiyonun azalması, dimer ve oligo oluşumunun artması ve sonuç olarak yüzey morfolojisi analizlerinde ortanilik asit artışıyla birlikte çapları giderek küçölen koniler görölmeye akla başka bir etkinin varolabileceğini getirmektedir. Bu da oluşan filmlerin katkılanmasında anyonik polielektrolit özelliği gösteren ortanilik asit dimer ve oligo yapılarının elektropolimerizasyonda elektrolit olarak kullanılan perklorat anyonlarının yerine katkılamada yer alma olasılığıdır.

PAn ait (e) Şekil 4.30'da verilen AKM görüntülerinde kopolimerler ile karşılaştırıldığında küçük sayılabilecek granöler yapılar tekrar rastlanmaktadır. Bu görüntöler taramalı elektron mikroskobu görüntöleri tarafından da doğrulanmaktadır.

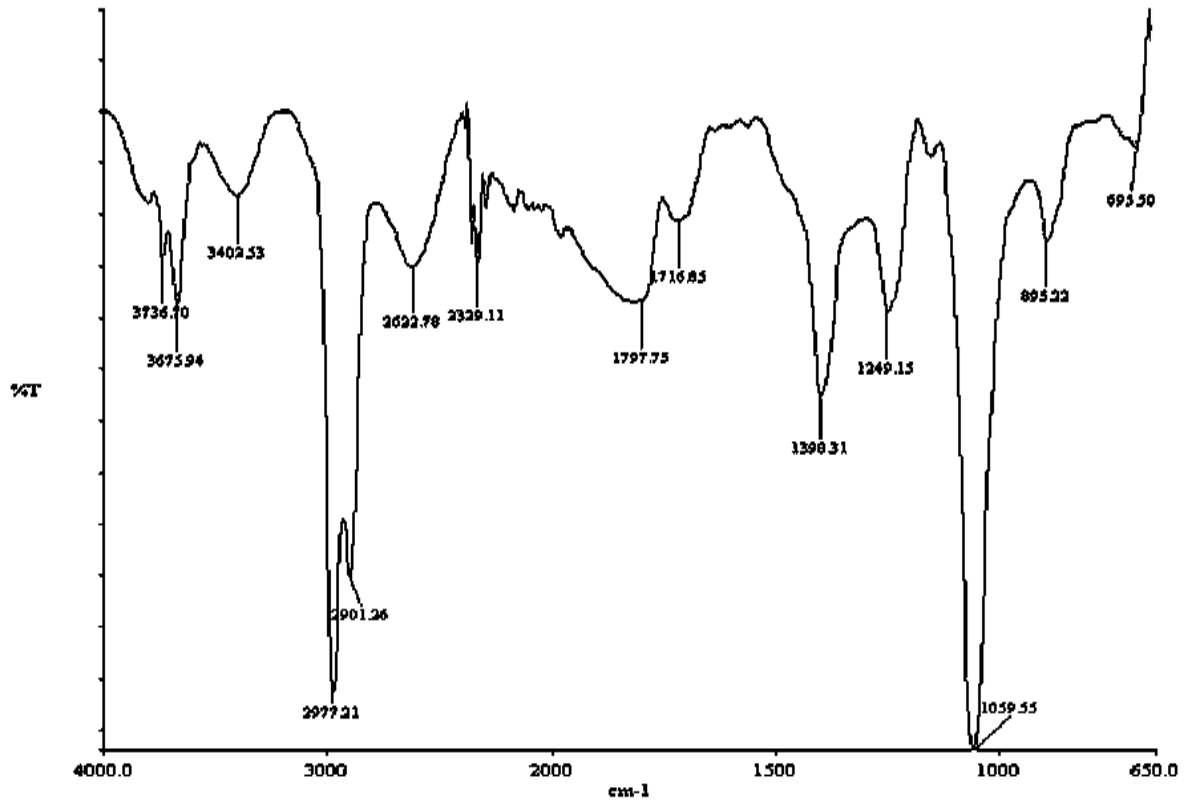
Elde edilen görüntöler değerlendirildiğinde 2-aminobenzilamin miktarının artırılmasının kopolimerlerde elektroda adsorpsiyon açısından saldırgan bir davranışa neden olduğu ve kütleler halinde topaklaşarak yüzeyde biriktiği söylenebilir. Döngölü voltamogramlar incelendiğinde 2-aminobenzilamin konsantrasyonunun en yüksek değerde tutulduğu Plym-3'te 4 mC'luk yüke eşdeğer film kalınlığının elektropolimerizasyon 70 döngüde tamamlanmasına rağmen %80'lik bölümünün ilk 20 taramada elde edildiği görölmüştür. Bu 2-aminobenzilamin monomerinin ortanilik aside göre daha reaktif olduğunu

göstermektedir. Ancak belirli film kalınlığına ulaşıldıktan sonra polimerizasyon yavaşlamış ve film oluşumu sonlanmıştır.

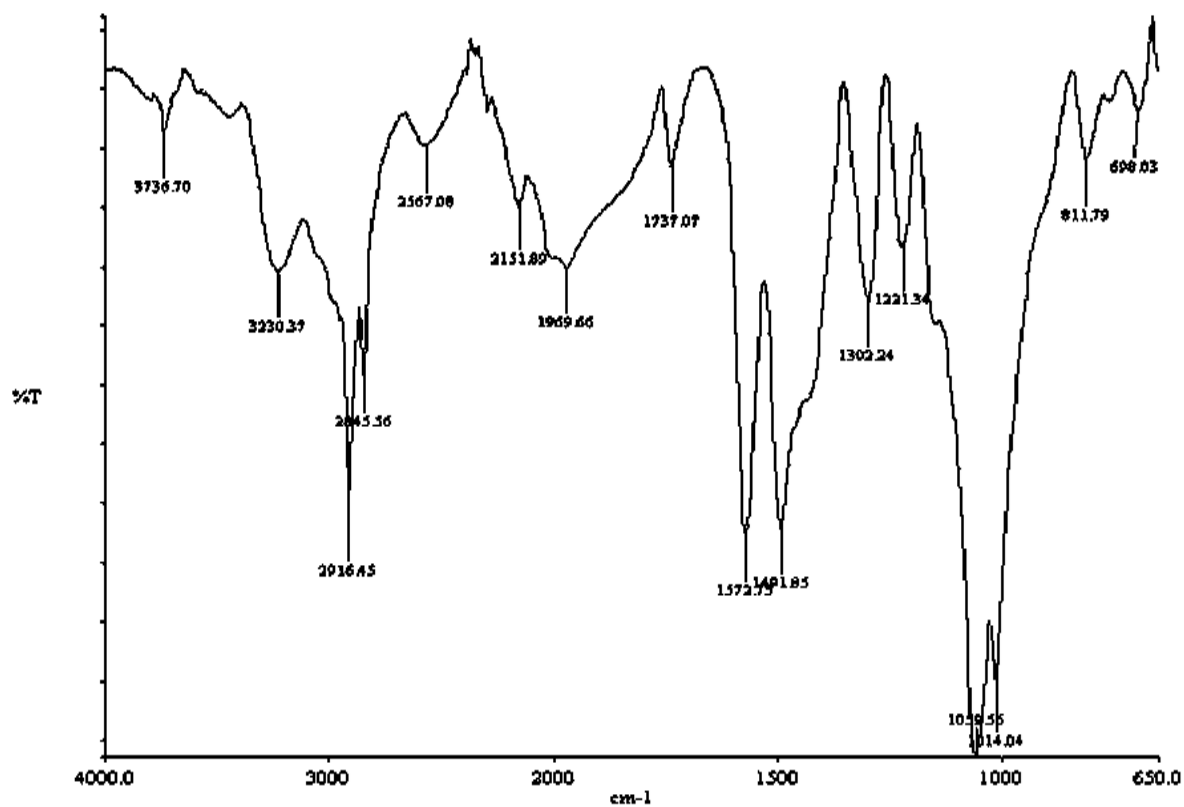
PAn'da ise kendi kendini katalizleyen bir özellik görüldüğünden monomer oksidasyonu ve dolayısıyla polimerizasyon artan bir hızda devam etmektedir. PAn morfolojisinin küçük küre görünümü yapılar içermesi döngü sayısı ile birlikte oluşan her katmanın yüzeyde çekirdeklenmeyi devam ettirecek özellikte olduğunu düşündürmektedir. Bu nedenle de taramalı elektron mikroskobu görüntülerinde gözlenen fibresi yapılar göz ardı edildiğinde adsorpsiyon ve film oluşumu açısından daha homojen bir özellik gösterdiği düşünülmektedir.

4.5.3. Fourier Transform Kızılötesi Spektroskopisi (FTIR) Analizleri

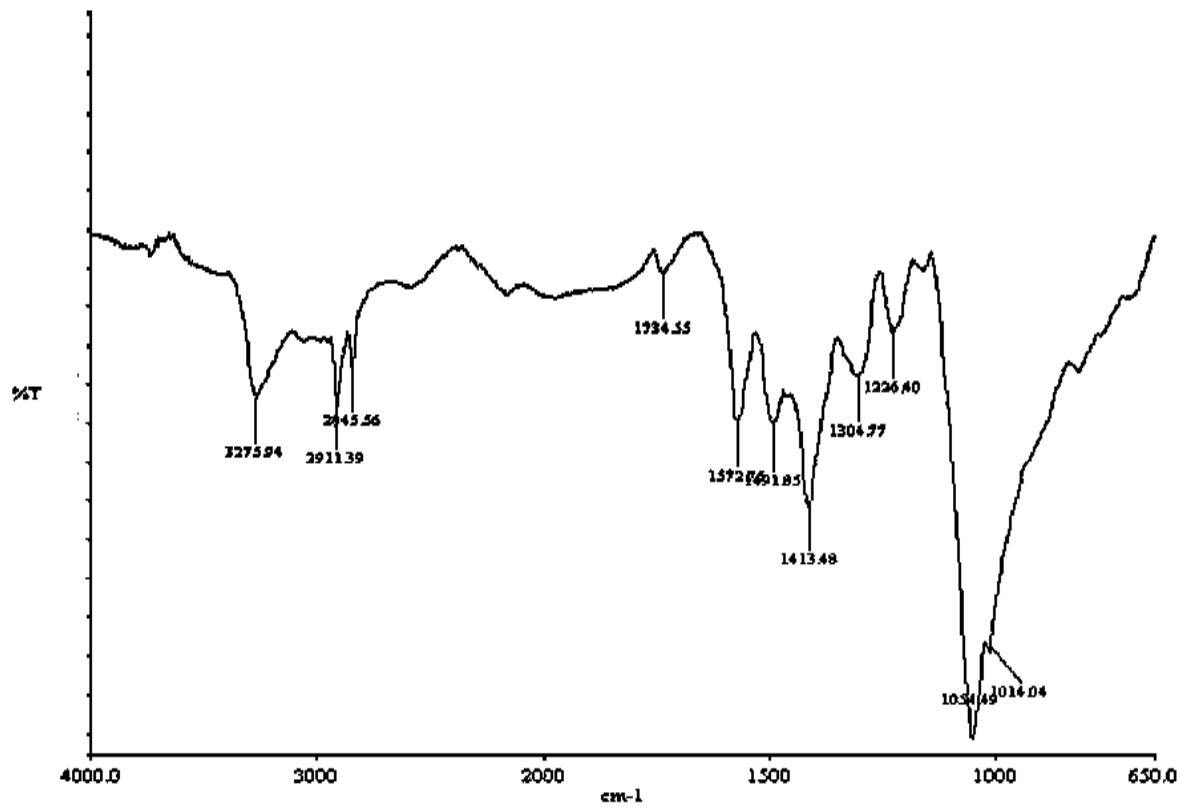
Farklı monomer ortamlarında sentezlenen kopolimer filmlerin kimyasal yapılarının incelenebilmesi ATR/FTIR analizi yapılmıştır. Kopolimerlere ve karşılaştırma yapabilmek üzere ana polimer olan PAn ait ATR/FTIR spektrumu 4000-650 cm^{-1} dalga sayısı aralığında elde edilmiştir (Şekil 4.31).



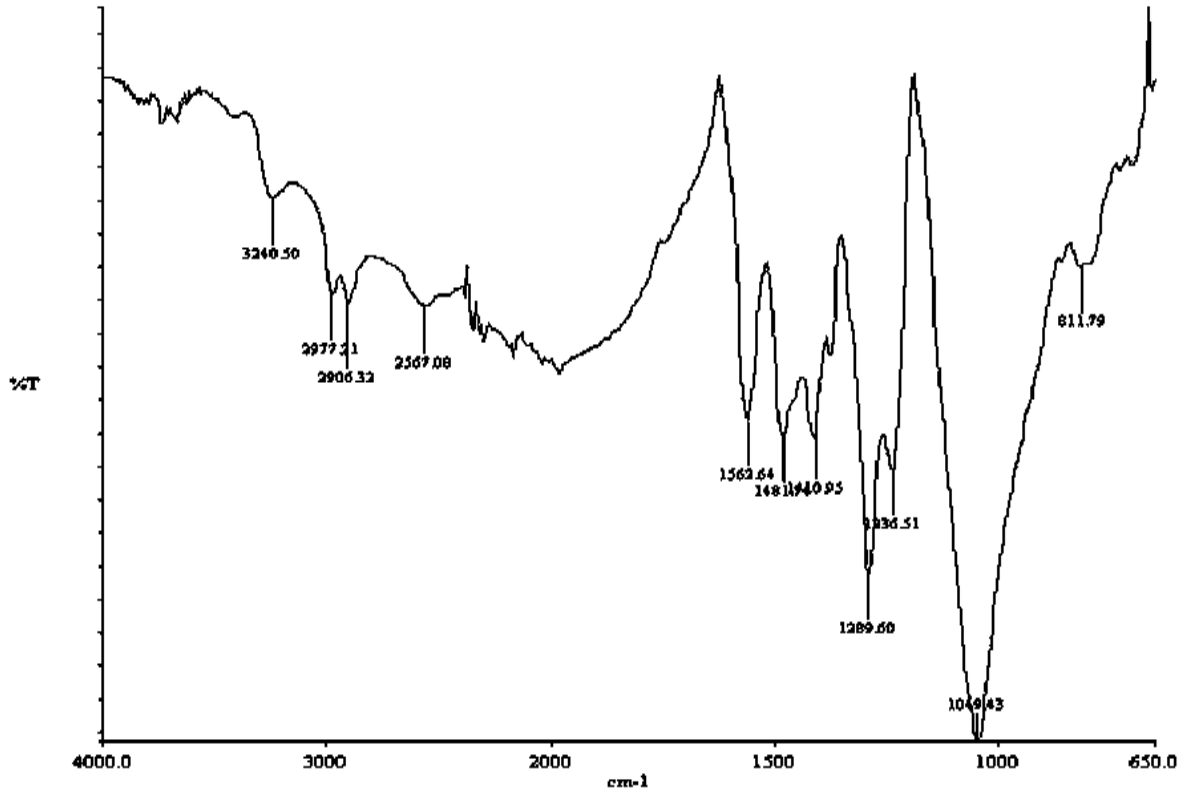
(a)



(b)



(c)



(d)

Şekil 4.31. Plym-1 (a), Plym-2 (b), Plym-3 (b) ve PAN(d) filmlere ait ATR/FT-IR spektrumları

Elde edilen farklı polimerlere ait spektrumlarda benzer dalga sayılarında pikler görüldüğü gibi değişen monomer konsantrasyonlar ile birlikte farklılaşmalara da rastlanmaktadır. Görülen benzerliklere anilin türevi monomerlerin tamamında bulunan benzen halkalarının ve $-NH_2$ gruplarının neden olduğu düşünülmektedir.

Plym-1 ve Plym-2'de 3736 cm^{-1} (Si-OH) ve 3675 cm^{-1} (Al-OH) bağlarına ait iki pik görülmüştür (Trombetta et al., 2000; Madejova' et al., 1998). Bunun nedeni elektropolimerizasyonda kullanılan grafit uçların saf olmamasıdır. Grafit kalem uçlarının yapımında grafit ve kil kullanılmaktadır. Kullanılan kilin kimyasal yapısı bilinmemekle birlikte endüstriyel kil grubu olan kaolinitler ($Al_2Si_2O_5(OH)_4$ polimorfları) $-OH$ grubu bulundurmaktadırlar. Kullanılan elektrotların yapılan EDX analizlerinde Si ve Al elementlerine yüksek oranda rastlanılmıştır. Grafit elektrot yüzeylerinin ATR/FTIR spektrumlarında da aynı dalga sayısında pikler görülmüştür.

3400 cm^{-1} ve 3200 cm^{-1} bant aralığında Plym-1 3402 cm^{-1} , Plym-2 3230 cm^{-1} , Plym-3 3275 cm^{-1} ve PAn 3240 cm^{-1} de gözlenen pikler N-H gerilme titreşimlerini göstermektedir (Sun et al., 2010; Sanchís et al., 2007). Literatürde PAn ile yapılmış benzer çalışmalarda 3230-3275 cm^{-1} aralığında görülen piklerin hidrojen bağı yapmış N-H gerilme titreşimleri ile ilgisi olduğu vurgulanmıştır. Bu piklerin absorbansının Plym-2 ve Plym-3'te yüksek olması $-\text{CH}_2\text{NH}_2$ fonksiyonel grubunun artışıyla dolayısıyla 2-aminobenzilaminin ünitelerinin yapıya daha fazla girmiş olduğunu göstermektedir. Sonuç olarak hidrojen bağı oluşumunda artış beklenmektedir (Drury et al., 2007).

Aynı polimerlerin spektrumlarında daha düşük dalga sayılarında 2625-2567 cm^{-1} aralığında N-H gerilmesine bağlı olduğu düşünülen zayıf pikler gözlenmiştir (Rayar and Selvarajan, 2010).

Plym-2 ve Plym-3'te 2916-2911 cm^{-1} aralığında ve 2845 cm^{-1} dalga sayılarında gözlenen pikler ise 2-aminobenzilamindeki alifatik aminsubstituentinden kaynaklı simetrik C-H gerilme ve bükülme titreşimleri ile ilişkilendirilmiştir. Plym-1'de 2977 ve 2901 cm^{-1} ile PAn'de de 2977 ve 2906 cm^{-1} dalga sayılarında alifatik C-H bağlarına ait gerilme ve bükülme titreşimleri görülmüştür (Du et al., 2010). Ancak teorik polimer yapısı gereği PAn'da bu dalga sayılarında pik gözlenmesi anlamsızdır. Çünkü PAn'da alifatik bir yapı bulunmamaktadır. Yine de elektropolimerizasyon sırasında 1.20 V gibi yüksek bir değere çıkılmasının benzen halkayı açarak düz zincire dönüştürme ihtimali düşünülmektedir.

Plym-1, Plym-2, Plym-3 ve PAn' ait spektrumlarda 1562-1572 cm^{-1} ve 1491-1481 cm^{-1} aralığında gözlenen pikler kinoid ve benzenoid halkalardaki C=C gerilmelerini işaret etmektedir (Quillard et al., 1994). Polimerlerde 1398-1413 cm^{-1} de görülen pikler C-H asimetrik gerilme titreşimleri ile ilişkilendirilmiştir (Rayar and Selvarajan, 2010).

1310-1220 cm^{-1} dalga boyu aralığında polimerizasyonda yer alan amin gruplarına ait C-N gerilme titreşimleri gözlenmektedir. Sülfonik asit gruplarından kaynaklandığı düşünülen sülfonat simetrik gerilme ve asimetrik gerilme titreşimlerine ise sırasıyla 1059-1054 cm^{-1} ve 1014 cm^{-1} bant aralığında rastlanılmaktadır (Sanchís et al., 2007)

Plym-1 ve Plym-2'ye ait spektrumlarında $1000-500\text{ cm}^{-1}$ bant aralığı incelendiğinde 895 cm^{-1} de 1,2,4 substitue benzen halkasına ait C-H düzlem dışı gerilme, 695 cm^{-1} de C-S aromatik gerilme görülmüştür. 811 cm^{-1} de gözlenen pik ise 1,4 disubstitüe halkayı göstermektedir (Salavagione et al.,1999; Tang et al.,1988).

5. GENEL SONUÇLAR

Tez kapsamında, nötral ortamda uğradığı deprotonasyon nedeniyle iletkenliğini kaybeden PAn'ın özelliklerini geliştirmek üzere hem sülfonik asit hem de primer amin fonksiyonel anilin kopolimerleri, elektrokimyasal polimerizasyon yöntemi ile grafit elektrolar üzerinde sentezlenmiş ve bu polimerlerin oksidaz tabanlı biyosensör uygulamasında etkinliği incelenmiştir. Çalışmada elde edilen önemli gözlem ve sonuçlar aşağıda özetlenmiştir.

- Ortanilik asit, 2-aminobenzilamin ve anilin farklı oranlarda bileşimlerinin(o-ASA:2-ABA: An monomer oranları olmak üzere, Plym-1; 90:2.5:7.5, Plym-2; 70:22.5:7.5 ve Plym-3; 50:42.5:7.5) toplam monomer konsantrasyonu 100 mM anilin ünitesi olacak şekilde elektrokimyasal polimerizasyonu grafik elektrotlar üzerinde gerçekleştirilmiştir.
- Elektropolimerizasyon süresi olarak sentezlenen filmlerde aynı film kalınlığı elde etmek üzere 4 mC yük miktarına ulaşılan kadar döngülü potansiyel taraması yapılmıştır. Elektropolimerizasyon için döngü sayısı elektropolimerizasyon ortam bileşimindeki ortanilik asit miktarı artışı ile azalırken, 2-aminobenzilamin miktarının artışı ile artmaktadır.
- Sentezlenen polimerlerin birinci oksidasyonuna ait pik potansiyellerinde elektropolimerizasyon ortamında 2-aminobenzilamin artışıyla birlikte anodik kayma gözlenmiştir. İkinci oksidasyona ait pik pozisyonunda ise herhangi bir değişim olmamıştır. Sentezlenen kopolimerler PAn ile karşılaştırıldığında redoks reaksiyonlarının daha dar bir potansiyel aralığında gerçekleştiği gözlenmiştir.
- Döngülü potansiyel taraması ile redoks özellikleri incelenen kopolimer filmlerin PAn'dan farklı elektroaktif özellikler (redoks potansiyellerindeki değişim) göstermesi elde edilen kopolimerlerdeki zincirlere monomer ünitelerinin farklı oranlarda girdiğini göstermektedir.

- Elde edilen kopolimer filmlerin oksidaz bazlı biyosensörlerin çalışma pH'sı olan pH 7 de potansiyel kullanımını incelemek üzere bir medyatör olan N,N-dimetilaminometil ferrosenin (DMAMFc) katalitik oksidasyonu kopolimer filmler ile modifiye grafit elektrotlar kullanılarak fizyolojik pH'da döngülü potansiyel taraması ile değerlendirilmiştir.
- 5 mM DMAMFc (pH 7, 0.1 M PBS) içerisinde elde edilen döngülü voltamogramlarda katalitik oksidasyon açısından en verimli filmin Plym-1 olduğu pik yüksekliği (pik akım değeri) göz önünde bulundurularak belirlenmiştir. Elektropolimerizasyon ortamında azalan ortanilik asit monomeri ile birlikte katalitik özelliğin sistematik olarak azaldığı ancak yine de ana polimer olan PAn'a oranla daha efektif olduğu görülmüştür. PAn DMAMFc ortamında pik vermemiştir.
- Sentezlenen 3 farklı kopolimer olan Plym-1, Plym-2 ve Plym-3 ile modifiye grafit yüzeylerde DMAMFc yükseltgenmesine ve indirgenmesine ait pik potansiyelleri değişim göstermemiştir. Yükseltgenme Plym-1'de 0.43 V, Plym-2 ve Plym-3'te 0.42 V potansiyellerinde görülürken indirgenme Plym-1'de 0.31 V, Plym-2 ve Plym-3'te ise 0.30 V potansiyelinde gözlenmiştir.
- Plym-1'in DMAMFc'nin redoks reaksiyonlarını katalizleme kapasitesinin modifiye edilmemiş elektroda göre çok daha fazla olması modifikasyon sonrasında polimer oluşumuna bağlı olarak elektrot yüzey alanında artış olduğunu göstermektedir.
- Kopolimer modifiye elektrotlar 0.25-5.00 mM arasında değişen DMAMFc çözeltilerinde 0.45 V potansiyelinde polarlanarak medyatör adsorpsiyonu yapılmıştır ve polimer film yüzeylerindeki DMAMFc miktarları (Γ_{DMAMFc}) hesaplanmıştır. Buna göre 0.25, 0.50, 1.25, 2.50 ve 5.00 mM DMAMFc içerisinde gerçekleştirilen adsorpsiyon işlemi sonrası Plym-1'e ait Γ_{DMAMFc} değerleri 24.4, 27.1, 31.3, 40.6 ve 61.1 nmol/cm²; Plym-2'ye ait Γ_{DMAMFc} değerleri 21.4, 24.4, 28.6, 30.0 ve 31.3 nmol/cm²; Plym-3'e ait

Γ_{DMAMFc} değerleri 10.1, 13.2, 17.0, 20.2 ve 21.4 nmol/cm² olarak bulunmuştur.

- DMAMFc adsorplanmış elektrotlara GOx immobilizasyonu yapılarak biyosensör olarak glukozu karşı verdiği cevaplar incelenmiştir. Plym-1'in biyosensör uygulamasında 10 mM glukozu kadar doğrusal aralık ve 32.8 nA/ mM glukoz hassasiyet elde edilmiştir.
- Elektropolimerizasyon ortamında 2-aminobenzilamin artışıyla birlikte doğrusal ölçüm aralığının arttığı ancak hassasiyetin düştüğü gözlenmiştir. Doğrusal ölçüm aralığı Plym-2'de 15 mM glukozu, Plym-3'te ise 20 mM glukozu kadar artış göstermesine rağmen hassasiyet sırasıyla 8.2 ve 3.5 nA/mM glukozu değerine düşmüştür.
- Yüzeylerin kimyasal karakterizasyonu ATR/FT-IR fiziksel karakterizasyonu ise taramalı elektron mikroskobu (SEM)ve atomik kuvvet mikroskobu (AKM) analizleriyle yapılmıştır. Taramalı elektron mikroskobu görüntülerinde kopolimerlerin farklı yüzey morfolojilerine sahip oldukları gözlenirken, ATR/FT-IR analizlerinde yapıların PAn'dan farklılık gösterdiği görülmüştür.

Sonuç olarak doğal elektron alıcısı moleküler oksijen (O₂) olan oksidaz tabanlı enzimlerin amperometrik biyosensör uygulamalarında anilin, 2-aminobenzilamin ve ortanilik asit monomerlerinin elektropolimerizasyonu ile sentezlenen filmlerin nötral ortamda katalitik DMAMFc oksidasyonu açısında PAn'a göre daha gelişmiş özelliğe sahip olduğu saptanmıştır. Elde edilen kopolimerlerin PAn'a benzer elektroaktif özellikler gösterdiği bunun yanında medyatörlü elektron transferine dayalı biyosensörlerde enzim immobilizasyonuna uygun çevirici yüzeyler oluşturduğu görülmüştür.

KAYNAKLAR DİZİNİ

Adányi, N., Barna, T., Emri, T., Miskei, M. and Pócsi, I., 2007, Hydrogen Peroxide Producing and Decomposing Enzymes: Their Use in Biosensors and Other Applications. Industrial enzymes: structure, function and applications. Polaina, J. and MacCabe, A.P. (eds.), Springer, Dordrecht. pp. 441-461.

Allen, P.B., 2003, Electrical conductivity of metals, Encyclopedia of Science and Technology 10th Edition (Vol. 6, pp. 207-211). McGraw Hill, New York.

Arias-Pardilla, J., Salavagione, H.J., Barbero, C., Morallón, E., Vázquez, J.L., 2006, Study of the chemical copolymerization of 2-aminoterephthalic acid and aniline. Synthesis and copolymer properties, European Polymer Journal. 42, 1521-1532.

Barbero, C., Salavagione, H.J., Acevedo, D.F., Grumelli, D.E., Garay, F., Planes, G.A., Morales, G.M., Miras, M.C., 2004, Novel synthetic methods to produce functionalized conducting polymer I. Polyanilines, Electrochimica Acta. 49, 3671-3686.

Bartlett, P.N., Whitaker, R.G., 1988, Strategies for the development of amperometric enzyme electrodes, Biosensors 3, 359–379.

Benyoucef, A., Huerta, F., Ferrahi, M.I., Morallon, E., 2008, Voltammetric and in situ FT-IRS study of the electropolymerization of o-aminobenzoic acid at gold and graphite carbon electrodes: Influence of pH on the electrochemical behaviour of polymer films, Journal of Electroanalytical Chemistry. 624, 245-250.

Bilge, G., 2010, Glukoz oksidaz bazlı enzim elektrotlarda elektriksel iletkenliğin geliştirilmesi, Yüksek Lisans Tezi, Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü. 105s.

Brédas, J.J. and Street, G.B., 1985, Polarons, bipolarons and solitons in conducting polymers, Accounts of Chemical Research. 18, 309-315.

Bright, H.J. and Porter, D.J.T., 1975, Flavoprotein oxidases, Boyer, P.D. (ed.), The Enzymes (3rd ed.), Academic Press, New York, pp. 421-474.

Bugg, T., 2004, Introduction to enzyme and coenzyme chemistry, Wiley-Blackwell ISBN 978-1-4051-1452-3, Oxford, 304p.

Butt, H.J., Capella, B., Kappl, M., 2005, Force measurements with the atomic force microscope: Technique, interpretation and applications, Surface Science Reports. 59, 1-152.

Büyüknohutçu, C., 2009, Glukoz Oksidaz Tabanlı Biyoyakıt Pili Geliştirilmesi, Yüksek Lisans Tezi, Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara, 121s.

Cahn, T.M., 1993, Biosensors, Chapman and Hall ISBN 0-412-48190-1, London, 211p.

Chao, T.H. and March, J., 1988, A Study of polypyrrole synthesized with oxidative transition metal ions, Journal of Polymer Science Part A: Polymer Chemistry. 26, 743-753.

Courjean, O., Gao, F. and Mano, N., 2009, Deglycosylation of glucose oxidase for direct and efficient glucose elektrooxidation on a glassy carbon electrode, Angewandte Chemie International Edition. 48, 5897-5899.

Çakıroğlu, D., 2006, Electrochemical synthesis and characterization of polyaniline thin films, M.S. Thesis, İstanbul Technical University Institute Of Science And Technology. İstanbul, 62p.

De Taxis du Poet, P., Miyamoto, S., Murakami, T., Kimura, J., Karube, I., 1990. Direct electron transfer with glucose oxidase immobilized in an electropolymerized poly-N-methylpyrrole film on a gold microelectrode, Analytical Chimica Acta. 235, 255–264.

DeBerry, D.W., 1985, Modification of the electrochemical and corrosion behaviour of stainless steels with electroactive coating, Journal of The Electrochemical Society. 132 (5), 1022-1026.

Drury, A., Chaure, S., Kröll, M., Nicolosi, V., Chaure, N. and Blau, W.J., 2007, Fabrication and characterization of silver/polyaniline composite nanowires in porous anodic alumina, Chemistry of Materials. 19, 4252-4258.

Du, D., Ye, X., Cai, J., Liu, J., Zhang, A., 2010, Acetylcholinesterase biosensor design based on carbon nanotube-encapsulated polypyrrole and polyaniline

copolymers for amperometric detection of organophosphates, *Biosensors and Bioelectronics*. 25, 2503-2508.

Eggins B. R., 1996, *Biosensors: An Introduction*, England: John Wiley and Sons ISBN 0-4 7-1962856, New York, 200p.

Fernandez-Lafuente, R., Rosell, C. M., Rodriguez, V. and Guisán, J. M., 1995, Strategies for enzyme stabilization by intramolecular crosslinking with bifunctional reagents, *Enzyme and Microbial Technology*. 17 (6), 517-523.

Gaudiello, J.G., Ghosh, P.K. and Bard, A.J., 1985, Polymer Films on Electrodes. 17. The application of simultaneous electrochemical and electron spin resonance techniques for the study of two viologen-based chemically modified electrodes, *Journal of American Chemical Society*. 107 (11), 3027-3032.

Gerard, M., Chaubey, A., Malhotra, B.D., 2002, Application of conducting polymers to biosensors, *Biosensors and Bioelectronics*. 17, 345-359.

Giessibl, F.J., 2003, Advances in atomic force microscopy, *Reviews of Modern Physics*. 75, 949-983.

Giz, M.J., de Albuquerque Maranhão, S.L., Torresi, R.M., 2000, AFM morphological study of electropolymerised polyaniline films modified by surfactant and large anions, *Electrochemistry Communications*. 2 (6), 377-381.

Habermüller, K., Mosbach, M., Schuhmann, W., 2000, Electron-transfer mechanisms in amperometric biosensors, *Fresenius' Journal of Analytical Chemistry*. 366, 560-

Harun, M.H., Saion, E., Kassim, A., Yahya, N. and Mahmud, E., 2007, Conjugated conductive polymers: A brief review, *Journal for the Advancement of Science and Arts*. 2, 63-68.

Harwood, G. W. J. and Pouton, C. W., 1996, Amperometric enzyme biosensors for the analysis of drugs and metabolites, *Advanced Drug Delivery Reviews*. 18 (2), 163-191.

Heeger, A.J., 2002, Semiconducting and metallic polymers: the fourth generation of polymeric materials, *Synthetic Metals*. 125, 23-42.

Heller, A., 1990, Electrical wiring of redox enzymes. *Accounts of Chemical Research*. 23, 128–134.

Kumar, D. and Sharma, R.C., 1998, Advances in conductive polymers, *European Polymer Journal*. 34 (8), 1053-1060.

Lammers, F. and Scheper, T., 1999, Thermal Biosensors in Biotechnology, Scheper, T. (ed.), *Advances in Biochemical Engineering Biotechnology*, Vol. 64 (35-69), Springer, Berlin, 233p.

Ling, W.F., 2008, Enzyme immobilization and permselectivity analysis of an interference free peroxide based glucose biosensor, Master Thesis, Universiti Teknologi Malaysia Faculty of Chemical and Natural Resource Engineering, Johor, 126p.

Losito, I., Cioffi, N., Vitale, M.P. and Palmisano, F., 2003, Characterization of soluble oligomers produced by electrochemical oxidation of o-phenylenediamine by electrospray ionization sequential mass spectrometry, *Rapid Communications in Mass Spectrometry*. 17, 1169-1179.

Losito, I., Palmisano, F. and Zambonin, P.G., 2003, o-Phenylenediamine electropolymerization by cyclic voltammetry combined with electrospray ionization-trap mass spectrometry, *Analytical Chemistry*. 75, 4988-4995.

Luo, Xiliang. and Cui, X.T., 2009, Electrochemically controlled release based on nanoporous conducting polymers, *Electrochemistry Communications*. 11, 402-404.

MacDiarmid, A.G., 2001, "Synthetic Metals": A novel role for organic polymers (Nobel Lecture), *Angewandte Chemie International Edition*. 40, 2581-2590.

Madejová, J., Bujdák, J., Janek, M., Komadel, P., 1998, Comparative FT-IR study of structural modifications during acid treatment of dioctahedral smectites and hectorite, *Spectrochimica Acta Part A*. 54, 1397-1406.

Martin-Goldberg, M., Raymer, J.H., Voyksner, R.D. and Pellizari, E.D., 1991, *Futuristic Approaches to Environmental Analysis and Monitoring for Pollution Prevention and Control*. Monitoring water in the 1990's: meeting new challenges.

Hall, J.R. and Glysson, G.D. (eds.), ASTM International ISBN 0-8031-1407-9, Philadelphia, 618p.

Mažeikienė, R., Niaura, G., Malinauskas, A., 2003, Voltametric study of the redox processes of self-doped sulfonated polyaniline, *Synthetic Metals*. 139, 89-94., J

Mikhael, M.G., Padias, A.B., Hall Jr, J.K., 1996, N-alkylation and N-acylation of polyaniline and its effect on solubility and electrical conductivity, *Journal of Polymer Science Part A: Polymer Chemistry*. 35, 1673-1679.

Nordén, Bengt., Krutmeijer, E., The Nobel Prize in Chemistry, 2000: Conductive polymers (Advanced Information). The Official Web Site of the Nobel Prize. http://nobelprize.org/nobel_prizes/chemistry/laureates/2000/chemadv.pdf

Norouzian, D., 2003, Enzyme Immobilization: the state of art in biotechnology, *Iranian Journal of Biotechnology*. 1(4), 197-206.

Pohanka, M. and Sklădal, P., 2008, Electrochemical biosensors-principles and applications, *Journal of Applied Biomedicine*. 6, 57-64.

Quillard, S., Louarn, G., Lefrant, S., MacDiarmid, A.G., 1994, Vibrational analysis of polyaniline: A comparative study of leucomeraldine, emeraldine and pernigraniline bases, *Physical Review B*. 50, 12496–12508.

Raffa, D., Battaglini, F., 2001, Novel conducting polyaniline bearing functional groups, *Journal of Electroanalytical Chemistry*. 504, 120-124.

Raffa, D.L., Leung, K.T., Battaglini, F., 2006, Electrochemical polymerization of aniline and o-aminobenzylamin. Studies on its conductivity and chemical derivatization, *Journal of Electroanalytical Chemistry*. 587, 60-66.

Ravichandra, R., Sundarrajan, S., Venugopal, J.R., Mukherjee, S. and Ramakrishna, S., 2010 (accepted for publication), Applications of conducting polymers and their issues in biomedical engineering, *J. R. Soc. Interface*. doi:10.1098/rsif.2010.0120.focus.

Rayar, S.L., Selvarajan, P., 2010, Structural, mechanical, FTIR, SHG and thermal studies of L-HTFA single crystals grown by solution method, *Recent Research in Science and Technology*. 2 (10), 77-81.

Rosatto, S. S., Sotomayor, P. T., Kubota, L. T. and Gushikem, Y., 2002, SiO₂/Nb₂O₅ sol gel as a support for HRP immobilization in biosensor preparation for phenol detection, *Electrochimica Acta*. 47, 4451-4458.

Sadki, Saïd., Schottland, P., Brodie, N. and Sabouraud., 2000, The mechanism of pyrrole electropolymerization, *Chemical Society Reviews*. 29, 283-293.

Salavagione, H., Morales, G.M., Miras, M.C., Barbero, C., 1999, Synthesis of a self-doped polyaniline by nucleophilic addition, *Acta Polymerica*. 50(1), 40-44.

Sanchís, C., Salavagione, H.J., Arias-Pardilla, J., Morallón, E., 2007, Tuning the electroactivity of conductive polymer at physiological pH, *Electrochimica Acta*. 52, 2987-2986.

Sanchís, C., Salavagione, H.J., Morallón, E., 2008, Ferrocenium strong adsorption on sulfonated polyaniline modified electrodes, *Journal of Electroanalytical Chemistry*. 618, 67-73.

Sanchís, C., Salavagione, H.J., Morallón, E., 2008, Ferrocenium strong adsorption on sulfonated polyaniline modified electrodes, *Journal of Electroanalytical Chemistry*. 618, 67-73.

Scheller, F. and Florian, S., 1992, *Biosensors*, Elsevier ISBN 0-444-98783-5, Amsterdam, 353p.

Schuhmann, W., Ohara, T.J., Schmidt, H.L. and Heller, A., 1991, Electron transfer between glucose oxidase and electrodes via redox mediators bound with flexible chains to the enzyme surface, *Journal of American Chemical Society*. 113, 1394-1397.

Shanmugam, S., Sathishkumar, T., 2009, *Enzyme Technology*, I.K. International Publishing House ISBN 978-93-80026-05-3, New Delhi, 209p.

Sirvent, M. A., Merkoçi, A. and Alegret, S., 2000, Configurations used in the design of screen-printed enzymatic biosensors: A review, *Sensors and Actuators B*. 69, 153-163.

Sitaram, S.P., Stoffer, J.O. and O'Kefee, T.J., 1997, Applications of conductive polymers in corrosion protection, *Journal of Coatings Technology*. 69 (866), 65-69.

Skoog, D.A., Holler, F.J. and Nieman, T.A., 1998, Principles of Instrumental Analysis (5th ed.), Brooks/Cole Publishing Company ISBN 0-495-01201-7, 1039p.

Stenger-Smith, J.D., 1998, Intrinsically electrically conducting polymers. Synthesis, characterization and their applications, Progress in Polymer Science. 23, 57-79.

Sullivan, M.G., Schnyder, B., Bärtsch, M., Aliata, D., Barbero, C., Imhof, R. and Közt, R., 2000, Electrochemically modified glassy carbon for capacitor electrodes characterization of thick anodic layers by cyclic voltammetry, differential electrochemical mass spectrometry, spectroscopic ellipsometry, X-Ray photoelectron spectroscopy, FTIR, and AFM, Journal of the Electrochemical Society. 147 (7), 2636-2643.

Sun, F., Pan, Y., Wang, J., Wang, Z., Hu, C., Dong, Q., 2010, Synthesis of conducting polyaniline-montmorillonite nanocomposites via inverse emulsion polymerization in supercritical carbon dioxide, Polymer Composites. 31(1), 163-172.

Syed, A.A. and Dinesan M.K., 1991, Review: Polyaniline-a novel polymeric material, Talanta. 38 (8), 815-837.

Şahin, Y., Pekmez, K., Yıldız, A., 2002, Electropolymerization and in situ sulfonation of aniline in water-acetonitrile mixture containing FSO₃H, Synthetic Metals. 131, 7-14.

Şahin, Y., Pekmez, K., Yıldız, A., 2003, Electrochemical preparation of soluble sulfonated polymers and aniline copolymers of aniline sulfonic acids in dimethylsulfoxide, Journal of Applied Polymer Science. 90, 2163–2169.

Tang, J., Jing, X., Wang, B. and Wang, F., 1988, Infrared spectra of soluble polyaniline, Synthetic Metals. 24, 231-238.

Trivedi, D.C., 1999, Influence of counter ion on polyaniline and polypyrrole, Bulletin of Material Science. 22 (3), 447-455.

Trombetta, M., Busca, G., Storaro, L., Lenarda, M., Casagrande, M. and Zambon, A., 2000, Surface acidity modifications induced by thermal treatments and acid

leaching on microcrystalline H-BEA zeolite. A FTIR, XRD and MAS-NMR study, *Physical Chemistry Chemical Physics*. 2, 3529-3537.

Udum, Y.A., 2004, Electrochemical synthesis and characterization of sulfonated polythiophenes and aniline-thiophene copolymers, Doctor of Philosophy Thesis, Hacettepe University Institute of Science. Ankara, 120p.

Uhlig, H., 1998, *Industrial Enzymes and Their Applications*, John Wiley and Sons ISBN 0-471-19660-6, New York, 435p.

Unwin, P.R., Bard, A.J., 1992, Ultramicroelectrode voltammetry in a drop of solution: a new approach to the measurement of adsorption isotherms at solid-liquid interface, *Analytical Chemistry*. 64, 113-119.

Wallace, G.G., Spinks, G.M., Kane-Maguire, L.A.P. and Teasdale, P.R., 2008, *Conductive electroactive polymers: Intelligent polymer systems*, CRC Press ISBN 978-1-4200-6709-5, New York, 253p.

Wang, J., 1988, *Electroanalytical Techniques in Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*. VCH Publishers ISBN 978-0-471-18705-9, New York, 188p.

Wang, J., Amperometric biosensors for clinical and therapeutic drug monitoring: a review, *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. 19, 47-53.

Wei, X.L., Wang, Y.Z., Long, S.M., Bobeczko, C. and Epstein, A.J., 1996, Synthesis and physical properties of highly sulfonated polyaniline, *Journal of American Chemical Society*. 118, 2545-2555.

Wei, Y., Focke, W.W., Wnek, G.E., Anjay, R. and MacDiarmid, A.G., 1989, Synthesis and electrochemistry of alkyl ring-substituted polyanilines, *Journal of Physical Chemistry*. 93, 495-499.

Wei, Y., Sun, Y., Tand, X., 1989, Autoacceleration and kinetics of electrochemical polymerization of aniline, *Journal of Physical Chemistry*. 93, 4878-4881.

Winokur, M., Moon, Y.B., Heeger, A.J., Barker, J., Bott, D.C. and Shirakawa, H., 1987, X-Ray scattering from sodium-doped polyacetylene: Incommensurate-commensurate and order-disorder transformations, *Physical Review Letters*. 58, 2329-2332.

Wu, Y. and Hu, S., 2007, Biosensors based on direct electron transfer in redox proteins, *Microchimica Acta*. 159, 1-17.

Xiao, R., 2007, Controlled electrochemical synthesis of conductive polymer nanostructures and electrochromism property study, Doctor of Philosophy Thesis, University of Maryland, 174p.

Yang, C.H., 1998, Electrochemical polymerization of aniline and toluidines on a thermally prepared Pt electrode, *Journal of Electroanalytical Chemistry*. 459, 71-89.

Yue, J., Wang, Z.H., Cromack, K.R., Epstein, A.J. and MacDiarmid, A.G., 1991, Effect of sulfonic acid group on polyaniline backbone, *Journal of American Chemical Society*. 113, 113, 2665-2671.

Zoski, C.G. (Editor), 2007, *Handbook of electrochemistry*, Elsevier ISBN 978-0-444-51958-0, Amsterdam, 879p.

Zutshi, K., 2006, *Introduction to polarography and allied techniques*, New Age International Publishers ISBN 81-224-1791-4, New Delhi, 91p.

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Hürkan Çatalkaya
Doğum Yeri : Razgrad-BULGARİSTAN
Doğum Yılı : 1986
Medeni Hali : Bekâr

Eğitim ve Akademik Durumu:

Lise **2001-2004:** İzmir Karşıyaka Anadolu Lisesi;İzmir, Türkiye
Lisans **2004-2008:** Hacettepe Üniversitesi,Ankara, Türkiye
Mühendislik Fakültesi, Kimya Mühendisliği Bölümü
Yabancı Dil: İngilizce
İş Tecrübesi: ---