

T.C
ÇANAKKALE ONSEKİZ MART ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
YÜKSEK LİSANS TEZİ

FENOKSAZİN TÜRÜ BOYAR MADDE MODİFİYE
ELEKTROT KULLANILARAK NADH'NİN
ELEKTROKATALİTİK YÜKSELTGENMESİNE
İŞIĞIN ETKİSİ

Bensu ERTEK

Kimya Anabilim Dalı

Tezin Sunulduğu Tarih: 25/06/2010

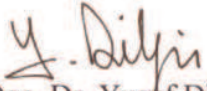
Tez Danışmanı:

Doç. Dr. Yusuf DİLGİN

ÇANAKKALE

YÜKSEK LİSANS TEZİ SINAV SONUÇ FORMU

BENSU ERTEK tarafından DOÇ. DR. YUSUF DİLGİN yönetiminde hazırlanan “FENOKSAZİN TÜRÜ BOYAR MADDE MODİFİYE ELEKTROT KULLANILARAK NADH'NİN ELEKTROKATALİTİK YÜKSELTGENMESİNE İŞİĞİN ETKİSİ” başlıklı tez tarafımızdan okunmuş, kapsamı ve niteliği açısından bir Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.


Doç. Dr. Yusuf DİLGİN

(Danışman)


Doç. Dr. Mustafa Kemal SEZGİNTÜRK

Jüri Üyesi


Yrd. Doç. Dr. Ömer Faruk ÖZTÜRK

Jüri Üyesi

Sıra No:

Tez Savunma Tarihi: 25/06/2010

Prof. Dr. İsmail TARHAN

Müdür


Fen Bilimleri Enstitüsü

Hazırlanan bu Yüksek Lisans tezi TÜBİTAK tarafından TBAG107T572 nolu projeden desteklenmiştir.

İNTİHAL (AŞIRMA) BEYAN SAYFASI

Bu tezde görsel, işitsel ve yazılı biçimde sunulan tüm bilgi ve sonuçların akademik ve etik kurallara uyularak tarafımdan elde edildiğini, tez içinde yer alan ancak bu çalışmaya özgü olmayan tüm sonuç ve bilgileri tezde kaynak göstererek belirttiğimi beyan ederim.

Bensu ERTEK



TEŞEKKÜR

Yüksek lisans öğrenimimin başlangıcından sonuna kadar, gerekli bütün yardım, tavsiye ve yönlendirmeleri yapan, karşılaştığım problemlerin çözümünde deneyimlerinden yararlandığım, yüksek lisans eğitimimde emeği bulunan danışman hocam sayın Doç. Dr. Yusuf DİLGİN'e katkılarından dolayı teşekkürü borç bilirim.

Araştırma süresince büyük yardımlarını gördüğüm, benimle sabırla çalışan arkadaşım Burcu BAYRAK'a ve yardımlarından dolayı Öğr.Gör. Didem GİRAY DİLGİN'e çok teşekkür ederim.

Bu yüksek lisans tezi 107T572 nolu proje TÜBİTAK tarafından desteklenmiştir. Desteklerinden dolayı TÜBİTAK'a teşekkür ederim.

Her koşulda bana verdikleri manevi ve maddi destekten dolayı canım aileme sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Bensu ERTEK

SİMGELER VE KISALTMALAR LİSTESİ

A	Amper
ACDE	Asılı Civa Damla Elektrot
ADH	Alkol Dehidrogenaz
ADP	Adenozin Difosfat
AgCl	Gümüş Klorür
AMP	Amperometri
ATP	Adenozin Trifosfat
Au	Altın
AzA	Azure A
AzB	Azure B
BKM	Brilliant Kresil Mavisı
B-R	Britton-Robinson Fosfat Tamponu
C	Derişim
CFE	Cıva Film Elektrot
CME	Kimyasal Modifiye Elektrot (Chemically Modified Electrode)
CO ₂	Karbon Dioksit
CPE	Karbon Pasta Elektrot (Carbon Paste Electrode)
CV	Döngüsel Voltammetri (Cyclic Voltammetry)
D	Difüzyon Katsayısı
DCE	Damlayan Cıva Elektrot
DKE	Doygun Kalomel Elektrot
DNA	Deoksiribonükleik Asit
e ⁻	Elektron
E ⁰	Formal Potansiyel
ΔE _p	Pik Potansiyelleri Farkı
E _{pa}	Anodik Pik Potansiyeli
E _{pc}	Katodik Pik Potansiyeli
ECE	Elektrokimyasal-Kimyasal-Elektrokimyasal
G	Grafit
GCE	Camımsı Karbon Elektrot (Glassy Carbon Electrode)
HCl	Hidroklorik Asit
He	Helyum

Hg	Civa
HNO ₃	Nitrik Asit
H ₂ O ₂	Hidrojen Peroksit
H ₃ PO ₄	Fosforik Asit
H ₂ SO ₄	Sülfirik Asit
i _{pa}	Anodik Pik Akımı
i _{pc}	Katodik Pik Akımı
KCl	Potasyum Klorür
k _{obs}	İkinci mertebeden hız sabiti
k _s	İmmobilize edilmiş mediyatör ile elektrot arasındaki elektron transfer hızı
M	Molar
µA	Mikro Amper
MdM	Meldola Mavisi
Med _{ind}	İndirgenmiş Formda Olan Mediyatör
Med _{yük}	Yükseltgenmiş Formda Olan Mediyatör
mM	Mili Molar
MM	Metilen Mavisi
mol/L	Mol/Litre
mV	Mili Volt
mV/s	Milivolt/saniye
MY	Metilen Yeşili
MWCNT	Çok çeperli karbon nanotüp (Multiwalled Carbon Nanotube)
n	Mol Sayısı
N ₂	Azot
nA	Nano Amper
NAD ⁺	Nikotinamid Adenin Dinükleotid
NADH	NAD ⁺ 'nin indirgenmiş hali
NaH ₂ PO ₄ .2H ₂ O	Sodyum Dihidrojenfosfat
Na ₂ HPO ₄ .2H ₂ O	Disodyum Hidrojenfosfat
NaNO ₃	Sodyum Nitrat
NaOH	Sodyum Hidroksit
NK	Nötral Kırmızı1S1
NM	Nil Mavisi

NMA	Nil Mavisi A
nm	Nanometre
O ₂	Oksijen
OPG	Pirolitik Grafit
Poli-BKM/GCE	Poli Brilliant Kresil Mavisi Modifiye Camımsı Karbon Elektrot
Poli-NM/GCE	Poli Nil Mavisi Modifiye Camımsı Karbon Elektrot
Pt	Platin
s	Saniye
S	Substratın Yükseltgenmiş Formu
SH ₂	Substratın İndirgenmiş Formu
SWCNT	Tek çeperli karbon nanotüp (Single Walled Carbon Nanotube)
TM	Toluidin Mavisi
TiO ₂	Titanyum Dioksit
UV	Ultraviyole
UV-Vis	Mor ötesi-Görünür Bölge Absorpsiyon Spektroskopisi
W	Watt
V	Volt
v	Tarama Hızı
VC	Cam Karbon

ÖZET

FENOKSAZİN TÜRÜ BOYAR MADDE MODİFİYE ELEKTROT KULLANILARAK NADH'İN ELEKTROKATALİTİK YÜKSELTGENMESİNE IŞIĞIN ETKİSİ

Bensu ERTEK

Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Kimya Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi

Danışman: Doç. Dr. Yusuf DİLGİN

25/06/2010, 63

Bu çalışmada, fenoksaazin türü boyar maddelerden olan brilliant kresil mavisi ve nil mavisi olmak üzere farklı redoks mediyatörüyle elektropolimerizasyon yöntemi kullanılarak modifiye camımsı karbon elektrotlar hazırlanmış ve NADH'nin elektrokatalitik ve fotoelektrokatalitik yükseltgenmesine yönelik çalışmalar döngüsel voltammetri ve amperometri için geleneksel voltammetrik hücrede gerçekleştirilmiştir.

Her bir modifiye elektrotun hazırlanması esnasındaki destek elektrolit türü veya pH'ı, monomer derişimi, döngü sayısı ve potansiyel aralığı gibi parametreler modifiye elektrot hazırlandıktan sonra NADH'ye en iyi yanıt vereceği konum dikkate alınarak optimize edilmiştir. Hazırlanan modifiye elektrotlara tarama hızının ve destek elektrolit pH'nın etkisi ile modifiye elektrotların kararlılığı döngüsel voltammetri tekniği ile incelenmiştir.

NADH'nin elektrokatalitik yükseltgenmesi bu modifiye elektrotlar kullanılarak döngüsel voltammetri ve amperometri tekniği ile incelenmiş ve modifiye elektrotların NADH'ye iyi bir elektrokatalitik etki gösterdiği saptanmıştır.

Aynı yöntemler kullanılarak; modifiye elektrotların yüzeyi fiber optikli bir halojen lamba ışık kaynağından elde edilen ışıkla ışıklandırılıp NADH'nin fotoelektrokatalitik yükseltgenmesi gerçekleştirilmiş ve elektrokatalitik akımın normal ışıksız olana göre yaklaşık 1,5-2 kat arttığı sonucuna varılmıştır. Her bir modifiye elektrot için NADH derişimine karşı pik akımları hem amperometrik hem de fotoamperometrik yöntemle izlenmiş ve 1×10^{-6} – 1×10^{-3} M arasında doğrusal derişim aralığı elde edilmiştir.

Anahtar sözcükler: Fotoelektrokatalitik Yükseltgenme; Modifiye Elektrot; NADH; Fenoksaazin türü boyar maddeler; Voltammetri.

ABSTRACT

THE EFFECT OF LIGHT ON THE ELECTROCATALYTIC OXIDATION OF NADH USING PHENOXAZINE TYPE DYES MODIFIED ELECTRODE

Bensu ERTEK

Çanakkale Onsekiz Mart University

Graduate School of Science and Engineering

Chair for Chemistry Thesis of Master of Science

Advisor: Assoc. Prof. Dr. Yusuf DİLGİN

25/06/2010, 63

In this study the modified glassy carbon electrodes were prepared by electropolymerization of phenoxazine type redox dyes such as, brilliant cresyl blue and nile blue. The studies on electrocatalytic and photoelectrocatalytic oxidation of NADH using these modified electrodes were performed by using traditional voltammetric cell for cyclic voltammetry and amperometry.

The parameters during the preparation of each modified electrode such as supporting electrolyte type or its pH, monomer concentration, cycle number and potential window were optimized according to their best response toward NADH. The effect of the scan rate, pH of the supporting electrolyte on the modified electrodes and their stability were investigated with cyclic voltammetry.

The electrocatalytic oxidation of NADH was investigated with amperometry and cyclic voltammetry methods using these modified electrodes and it was determined all of modified electrodes showed a good electrocatalytic effect on NADH.

With the same methods, when the surface of modified electrodes were illuminated by a fiber optic halogen lamp, it was concluded that the electrocatalytic oxidation current response of NADH increased about 1,5-2 times compared with that exhibited without irradiation. The concentration of NADH versus peak currents were investigated and a linear concentration range was obtained between $1,0 \times 10^{-6}$ - $1,0 \times 10^{-3}$ M for each modified electrode.

Keywords: Photoelectrocatalytic oxidation; Modified electrodes; NADH; Phenoxazine type dyes; Voltammetry.

İÇERİK

	Sayfa
TEZ SINAVI SONUÇ BELGESİ	ii
İNTİHAL (AŞIRMA) BEYAN SAYFASI	iii
TEŞEKKÜR	iv
SİMGELER VE KISALTMALAR	v
ÖZET	viii
ABSTRACT	ix
BÖLÜM 1- GİRİŞ	1
1.1. Fenoksazin Türü Boyar Maddeler	1
1.2. Voltammetri	2
1.2.1. Döngüsel Voltammetri	4
1.3. Voltammetride Kullanılan Elektrotlar	5
1.3.1. Çalışma Elektrotları	5
1.3.1.1. Kimyasal Modifiye Elektrotlar (Chemically Modified Electrodes, CME)	7
1.3.1.2. Doğrudan Adsorpsiyonla CME Hazırlanması	9
1.3.1.3. Kovalent Bağlanmayla Hazırlanan CME'ler	10
1.3.1.4. Polimer ya da Metalik İnce Film Kaplanmasıyla Hazırlanan CME'ler (Homojen Çokkatmanlı CME'ler)	10
1.3.1.5. Kompozit Oluşumu İle Hazırlanan CME'ler (Heterojen Çokkatmanlı CME'ler)	11
1.3.2. Karşılaştırma Elektrotları	11
1.3.3. Yardımcı Elektrotlar	11
1.4. Voltammetrik Analizde Temel İşlemler	12
1.4.1. Destek Elektrolit Seçimi	12
1.4.2. pH Ayarı	12
1.4.3. Sıcaklık Kontrolü	12
1.4.4. Oksijen Uzaklaştırılması	12
1.5. NADH (Nikotinamid Adenin Dinükleotit)	13

1.5.1. Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri	13
1.5.2. Canlı Sistemlerdeki Rolü	15
1.5.3. NADH'nin Elektrokatalitik Yükseltgenmesi	17
1.5.3.1. NADH'nin Direk Elektrokimyasal Yükseltgenmesi	17
1.5.3.2. NADH'nin Elektrokatalitik Yükseltgenmesinde Redoks Mediyatörlerin Rolü	18
1.5.4. NADH'nin Elektrokatalitik Yükseltgenmesinde Kullanılan CME'ler	20
1.6. Fotoelektrokimya ve NADH'nin Fotoelektrokatalitik Yükseltgenmesi	21
BÖLÜM 2- ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR	22
2.1. Fenoksazinlerle Hazırlanmış Modifiye Elektrotlar ve Analitik Uygulamaları	22
2.1.1. NADH'nin Elektrokatalitik Yükseltgenmesine Dayalı Yapılan Çalışmalar	22
2.1.2. NADH'nin Elektrokatalitik Yükseltgenmesine Dayalı Geliştirilen Biyosensör Uygulamaları	26
BÖLÜM 3- MATERYAL VE YÖNTEM	30
3.1. Kullanılan Kimyasal Malzemeler	30
3.2. Kullanılan Cihazlar	30
3.3. Yöntem	30
3.4. Stok NADH Çözeltisinin (5×10^{-2} M) Hazırlanması	31
3.5. Stok Brilliant Kresil Mavisi (BKM) Çözeltisinin (1×10^{-3} M) Hazırlanması	31
3.6. Stok Nil Mavisi (NM) Çözeltisinin (1×10^{-3} M) Hazırlanması	31
3.7. Elektropolimerizasyon Esnasında Kullanılan Destek Elektrolit Çözeltilerinin Hazırlanması	31
3.7.1. 0,1 M NaNO ₃ İçeren 0,1 M H ₃ PO ₄ Çözeltisinin Hazırlanması ...	31
3.7.2. 0,1 M NaNO ₃ İçeren 0,1 M H ₂ SO ₄ Çözeltisinin Hazırlanması ...	31
3.8. Fosfat Tampon ve Fosfat Çözeltilerinin Hazırlanması	32
3.8.1. 0,1 M NaNO ₃ içeren 0,1 M NaOH Çözeltisinin Hazırlanması ...	32
3.8.2. 0,1 M NaNO ₃ içeren 0,1 M NaH ₂ PO ₄ Çözeltisinin Hazırlanması	32

3.8.3. 0,1 M NaNO ₃ içeren 0,1 M Na ₂ HPO ₄ Çözeltisinin Hazırlanması	32
3.9. NADH'nin Elektrokatalitik ve Fotoelektrokatalitik Yükseltgenmesinde Kullanılan Destek Elektrolit Çözeltisinin Hazırlanması.....	32
3.10. Poli-BKM Modifiye GCE Hazırlanması	32
3.10.1. En Uygun Destek Elektrolit pH'nın Belirlenmesi	32
3.10.2. En Uygun Monomer Derişiminin Belirlenmesi	33
3.10.3. En Uygun Döngü Sayısının Belirlenmesi	33
3.10.4. En Uygun Potansiyel Aralığının Belirlenmesi	33
3.11. Poli-NM Modifiye GCE Hazırlanması	33
3.11.1. En Uygun Destek Elektrolit pH'nın Belirlenmesi	33
3.11.2. En Uygun Monomer Derişiminin Belirlenmesi	34
3.11.3. En Uygun Döngü Sayısının Belirlenmesi	34
3.11.4. En Uygun Potansiyel Aralığının Belirlenmesi	34
3.12. Modifiye Elektrotların Karakterizasyonu	34
3.13. Modifiye Elektrotlarla NADH'nin Elektrokatalitik ve Fotoelektrokatalitik Yükseltgenmesinin İncelenmesi	35
3.13.1. Döngüsel Voltammetri Yöntemiyle	35
3.13.2. Amperometrik Yöntemle	35
3.13.2.1. Uygulama Potansiyelinin Belirlenmesi	35
3.13.2.2. En Uygun Potansiyelde Farklı Derişimlerde NADH'nin Elektrokatalitik ve Fotoelektrokatalitik Akım Değerlerinin Kaydedilmesi	36
BÖLÜM 4- ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA	37
4.1.Modifiye Elektrotların Hazırlanması	37
4.2.Poli-BKM Modifiye GCE	37
4.2.1. BKM'nin Elektropolimerizasyon Mekanizması	44
4.3.Poli-NM Modifiye GCE	45
4.4.Modifiye Elektrotların Karakterizasyonu	47
4.5. Hazırlanan Modifiye Elektrotlarla NADH'nin Elektrokatalitik ve Fotoelektrokatalitik Yükseltgenmesi	49
4.5.1. Döngüsel Voltammetrik Yöntemle	49
4.5.2.Amperometrik Yöntemle	52
BÖLÜM 5- SONUÇLAR VE ÖNERİLER	57

KAYNAKLAR	59
Ekler	I
Çizelgeler	III
Şekiller	IV
Özgeçmiş	VIII

BÖLÜM 1

GİRİŞ

1.1. Fenoksazin Türü Boyar Maddeler

Fenoksazinler yapılarında azot ve oksijen içeren trisiklik heterohalkalı bileşiklerdir. Fenoksazinlerin 1887 yılında Bernthsen tarafından ilk kez sentezlenmesinden önce, ticari olarak fenoksazin türü iki boyar madde olan Meldola mavisi ve Gallosiyanin kullanılmaktaydı (Advances in Heterocyclic Chemistry, 2010).

Fenoksazinlerin sahip olduğu heterosiklik oksijen atomu bu halka sisteminin aromatikliğine belirli bir sınır getirmektedir. Atomik modeller fenoksazin çekirdeğinin kısa aksis tarafına katlandığını göstermektedir. Dipol momentinin 1,93 D olmasının sebebi ise düzlemsel olmayışından kaynaklanmaktadır. Azot atomundaki proton veya süstitüye, ya iki yan halkanın arasına ya da dışına yerleşmektedir. Fenoksazin halkası, öngörülen bu iki konfigürasyon H-ekstra ve H-intra konfigürasyonları olarak bilinmektedir. Fenoksazinlerin spektrumu orto-süstitüye benzen halkalarının karakteristik absorpsiyonlarını göstermektedir.

Fenoksazinler kristalimsi yapıdadır ve birçok fenoksazinin erime noktası 200⁰C'nin altındadır.

Fenoksazin türü boyar maddeler, ilaçlarda, polimerizasyonda, asit-baz indikatörü olarak, redoks indikatörü olarak, tekstilde ve boya sanayinde boya veya pigment olarak kullanılmaktadır (Okaför C. O., 1986). Redoks mediyatörü olarak kullanılan fenoksazin türü boyar maddeler aşağıda verilmiştir.



Şekil 1. Nil Mavisi, Meldola Mavisi ve Brilliant Kresil Mavisinin molekül yapısı.

1.2. Voltammetri

Voltammetri, bir indikatör ya da çalışma elektrodunun polarize olduğu şartlar altında akımın, uygulanan potansiyelin bir fonksiyonu olarak ölçülmesinden faydalanarak, analit hakkında bilgi edinilen bir grup elektroanalitik yöntemlere verilen isimdir. Genellikle polarizasyonu sağlamak için, voltammetride çalışma elektrotları yüzey alanı pek çok uygulamada birkaç milimetre kare ve bazılarında ise birkaç mikrometre kare olan mikroelektrotlardır.

Voltammetri, Çekoslovak kimyacı Jaroslav Heyrovsky tarafından 1920'lerin başında geliştirilen ve voltammetrinin özel bir tipi olan polarografi tekniğine dayanarak geliştirilmiştir. Voltammetrinin hala önemli bir kolu olan polarografinin diğer voltammetrik tekniklerden en büyük farkı, çalışma mikroelektrodu olarak bir damlayan civa elektrot (DCE) kullanılmasıdır.

Voltammetri, anorganik kimyacılar, fizikokimyacılar ve biyokimyacılar tarafından çeşitli ortamlarda meydana gelen yükseltgenme ve indirgenme işlemlerinin incelenmesi, yüzeylerdeki adsorpsiyon işlemlerinin araştırılması ve kimyasal olarak modifiye edilmiş elektrot yüzeylerindeki elektron aktarım mekanizmalarının aydınlatılması gibi temel çalışmalar için oldukça yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. Voltammetrik yöntem kullanılan akım türlerine ve çalışma elektroduna bağlı olarak isimlendirilir. Voltammetrik tekniklerin sınıflandırılmasına ilişkin tablo Çizelge 1'de verilmiştir (Tural ve ark., 2006).

Çizelge 1. Voltammetrik tekniklerin sınıflandırılması (Tural ve ark., 2006)

TEKNİK	ÇALIŞMA ELEKTRODU	BELİRTME SINIRI (M)	YANIT ŞEKLİ
Doğru Akım Polarografisi	DCE	10^{-5}	DALGA
Normal Puls Polarografisi	DCE	5×10^{-7}	DALGA
Diferansiyel Puls Polarografisi	DCE	10^{-8}	PİK
Diferansiyel Puls Voltammetrisi	Katı Elektrot	5×10^{-7}	PİK
Kare Dalga Polarografi	DCE	10^{-8}	PİK
Alternatif Akım Polarografisi	DCE	5×10^{-7}	PİK
Kronoamperometri	Durgun Elektrot	10^{-5}	ÜSTEL
Döngüsel Voltammetri	Durgun Elektrot	10^{-5}	PİK
Sıyırma Voltammetrisi	ACDE, CFE	10^{-10}	PİK
Adsorbif Sıyırma Voltammetrisi	ACDE	10^{-10}	PİK
Adsorbif Sıyırma Voltammetrisi	Katı Elektrot	10^{-9}	PİK
Adsorbif Katalitik Sıyırma Voltammetrisi	ACDE	10^{-12}	PİK

*DCE: Damlayan civa elektrot, ACDE: Asılı civa damla elektrot, CFE: Civa film elektrot.

Bunlar arasında sıyırma voltammetrisi, günümüzün eser analitik yöntemlerinden biri olup özellikle çevre numunelerinde metal tayini için kullanılır. Diferansiyel puls polarografisi ve hızlı taramalı voltammetri, farmasötik numunelerdeki tahlillerde önemlidir.

Sensör teknolojisinde ve biyolojik açıdan önemli reaksiyonların ve titrasyonların izlenmesinde, amperometrik teknikler yaygın kullanılır. Amperometri; sabit potansiyelde akım değişiminin ölçülmesi üzerine kurulu elektroanalitik yöntemdir (Tural ve ark., 2006).

1.2.1. Döngüsel Voltammetri

Döngüsel voltammetri (Cyclic Voltammetry, CV), önemli ve yaygın kullanılan bir elektroanalitik tekniktir. Nicel amaçla kullanımı seyrek olmakla beraber, yükseltgenme/indirgenme reaksiyonlarının incelenmesinde, reaksiyon ara ürünlerinin gözlenmesinde ve elektrotlarda oluşan ürünlerin oluşum sonrası reaksiyonlarını yakalamada çok yaygın olarak uygulanabilmektedir. CV yönteminde, uygulanan potansiyel önce bir yönde, sonra ters yönde taranırken akım ölçülür. Bir CV deneyinde tek bir tam döngü, bir yarım döngü veya birçok döngüler kullanılabilir.

Bir CV deneyinde, küçük boyutlu durgun bir elektrot, durgun bir çözeltilde, belli bir potansiyel değişimi uygulanarak, bir akım sinyali vermesi sağlanır. Üçgen dalga formu, ileri ve bunun tersi yöndeki potansiyel taramasını temsil eder.

Örneğin, potansiyel, önce +0,8 V'dan -0,15 V'a (standart kalomel elektroda karşı) değiştirilir, sonra tarama yönü terse çevrilip potansiyelin başlangıçtaki +0,8 V değerine geldiği yerde, tarama durdurulur. Tarama hızı her iki yönde de aynıdır. Çoğu zaman bu döngü defalarca tekrarlanır. Taramanın ters döndüğü potansiyellere dönüş potansiyeli denir. Belli bir deneyde, dönüş potansiyelleri, bir veya daha çok sayıda türün difüzyon kontrollü yükseltgenmesini veya indirgenmesini gözlemeyi mümkün kılacak şekilde seçilir. İlk taramanın yönü, numunenin bileşimine bağlı olarak, negatif yönde olabileceği gibi, bunun tersi de olabilir. Daha negatif potansiyellere doğru gidilerek tarama yapılıyorsa, buna ileri tarama; diğer yöndekine de geri tarama denir. Tarama süreleri 1 ms veya daha kısa değerlerden başlar; 100 s veya daha uzun değerlere çıkabilir.

Döngüsel voltammogramda önemli parametreler, katodik pik potansiyeli (E_{pc}), anodik pik potansiyeli (E_{pa}), katodik pik akımı (i_{pc}) ve anodik pik akımıdır (i_{pa}). Tersinir bir elektrot reaksiyonunda, anodik ve katodik pik akımları mutlak değerce yaklaşık eşit, işaretce zıttır. Yine tersinir bir elektrot reaksiyonu için, 25°C'de, pik potansiyelleri farkının (ΔE_p),

$$\Delta E_p = |E_{pa} - E_{pc}| = 0,059/n \quad (1.1)$$

olması beklenir. Burada n , yarı-reaksiyonda kullanılan elektron sayısıdır. Elektron aktarım kinetiği çok yavaş olduğu için, tersinmezlik varsa, ΔE_p beklenen değerden daha büyük çıkar. Bir elektron aktarım reaksiyonu, düşük tarama hızlarında tersinir gibi görülürken, tarama hızı büyüdükçe ΔE_p büyüyorsa, bu sağlam bir tersinmezlik işaretidir. Bu yüzden, elektrot aktarım kinetiğinin yavaş olup olmadığını gözlemek ve hız sabitlerini elde etmek için farklı tarama hızlarındaki ΔE_p değerleri bulunur.

Nicel bilgi için, Randles-Sevcik eşitliği kullanılır. 25°C 'de bu eşitlik aşağıdaki gibidir;

$$I_p = 2,686 \times 10^5 n^{3/2} A C D^{1/2} v^{1/2} \quad (1.2)$$

Burada i_p , pik akımı (Amper); A , elektrot yüzey alanı (cm^2); D difüzyon katsayısı (cm^2/s); C , derişim (mol/cm^3) ve v , tarama hızıdır (V/s). CV , derişim, elektrot yüzey alanı ve tarama hızı biliniyorsa, difüzyon katsayılarını tayin için bir yoldur.

CV 'nin esas kullanım alanı, farklı şartlar altında elektrokimyasal süreçlerle ilgili nitel bilgi sağlamaktır. CV , organik ve anorganik kimyada yaygın olarak kullanılmaktadır.

Elektroaktif türler içeren sistemleri incelemek için akla gelen ilk teknik budur. Çoğu zaman indirgenme/yükseltgenme reaksiyonlarındaki ara ürünlerin döngüsel voltammogramlarla yakalanması mümkün olmaktadır. Bu yöntemde, çoğu zaman platin elektrotlar kullanılır. Negatif potansiyeller bölgesinde, civa film elektrotlar tercih edilebilir. Diğer yaygın çalışma elektrotları arasında, camımsı karbon, altın grafit ve karbon pasta elektrotlar (Carbon paste electrode, CPE) sayılabilir. Kimyasal olarak modifiye elektrotlar da sıkça kullanılmaktadır (Skoog ve ark., 2004).

1.3. Voltammetride Kullanılan Elektrotlar

1.3.1. Çalışma Elektrotları

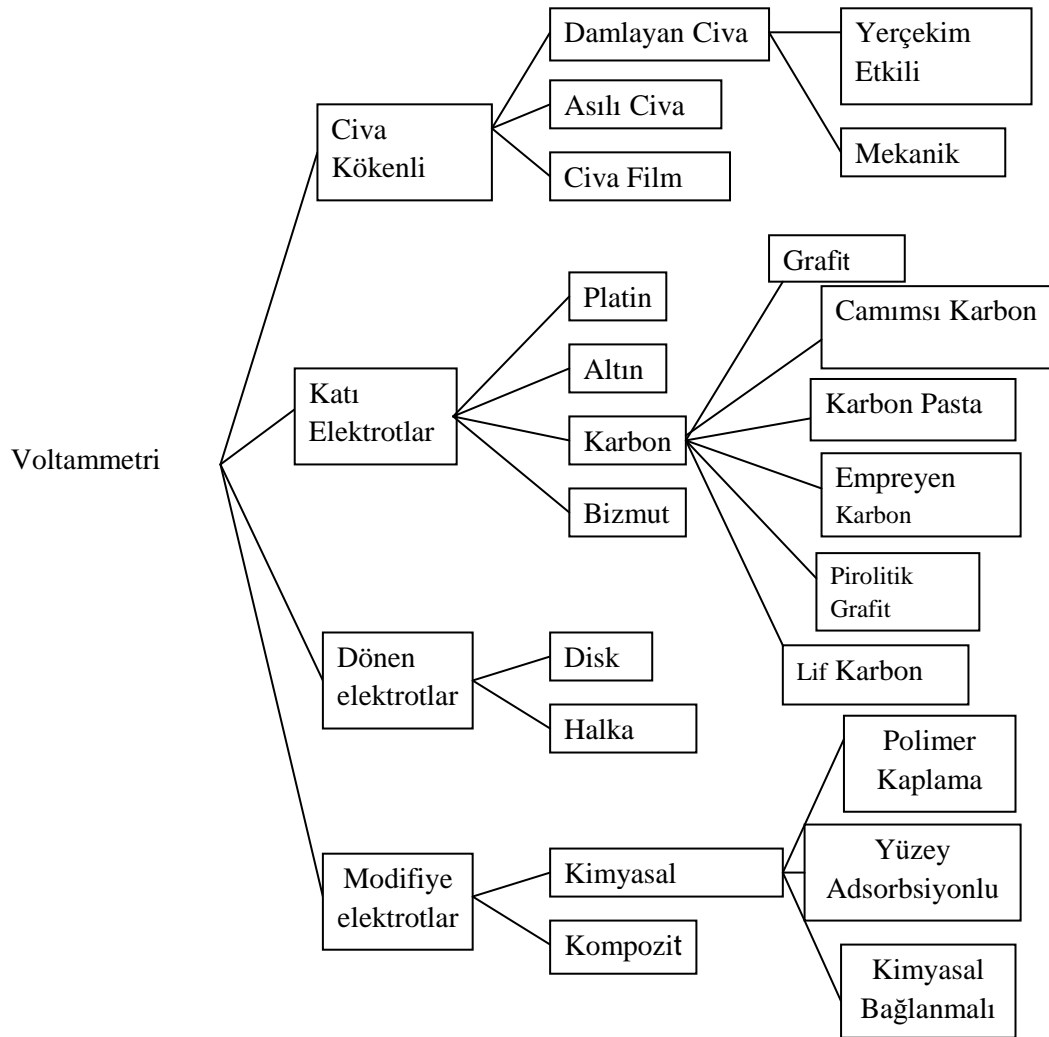
Voltammetride kullanılan elektrotların hem kimyasal hem de elektrokimyasal özellikleri önemlidir. Bu nedenle voltammetride sınırlı sayıda polarlanabilen elektrot kullanılır. Bunlar, civa, platin, altın, bizmut ve karbon bazlı katı elektrotlar ile modifiye elektrotlardır. Durağan ya da döndürülerek kullanılabilen bu elektrotların her birinin potansiyel çalışma aralığı farklıdır. Bu aralık elektrot türüne bağlı olduğu gibi, çözücüye,

kullanılan elektrolit türüne ve pH'ye de bağlıdır. Katodik sınırı, hidrojenin oluşumu ya da destek elektrolitinin indirgenmesi, anodik sınırı ise elektrot materyalinin ya da çözücünün yükseltgenmesi belirler.

Asitlik arttıkça katodik bölge daralır. Elektrolit metal iyonu ile kompleks oluşturan iyon ya da molekül içeriyorsa, metal elektrotlara ilişkin anodik bölgede daralma gözlenir. Örneğin Pt, Hg, Au gibi elektrotların çalışma aralığı, halojenürler varlığında, halojenürlerin bu metal iyonlarıyla kompleks oluşturmaları nedeniyle daralmaktadır (Tural ve ark., 2006).

Voltammetrik yöntemin performansı, çalışma elektrodunun materyali tarafından güçlü bir şekilde etkilenmektedir. Çalışma elektrodunun hem geometrisi hem de bileşimi düşünülmelidir. Çalışma elektrodu yüksek sinyal-ses karakteristiği ve tekrarlanabilir yanıt sağlamalıdır (Zen ve ark., 2003).

Voltammetride kullanılan çalışma elektrotları Şekil 2'de özetlenmiştir.



Şekil 2. Voltammetride kullanılan çalışma elektrotları (Tural ve ark., 2006).

Çalışma elektrotlarının içinde kimyasal modifiye elektrotlar (Chemically Modified Electrodes, CME) diğer elektrotlara göre daha fazla avantaja ve geniş kullanım alanına sahip olduğundan burada sadece CME'lere değinilecektir.

1.3.1.1. Kimyasal Modifiye Elektrotlar (Chemically Modified Electrodes, CME)

Analitik voltammetrik yöntemler, yüksek duyarlılık, seçicilik, yüzey modifikasyonu ve geniş elektrot, hücre ve tanıma moduna sahiptir. Voltammetride kullanılan katı elektrotların yüzeylerinin kullanımı kolaydır fakat adsorpsiyondan zarar görmektedir (Bu yüzden de elektroaktif bileşen karışımı içeren bir kompleks matrikse direk uygulandığında doğruluğu zayıf olmaktadır). Yüzey modifikasyonu, seçicilik, doğruluk ve elektrokimyasal metodlarca birçok analitin tanımlanabilir olmasını sağlayan bir prosedürdür. Elektrot yüzeyi fiziksel, kimyasal veya biyolojik modifikasyonla duyarlı hale getirilebilmektedir. Son 20 yıldır elektrokimyada CME'nin keşif ve gelişimi üzerine odaklanılmıştır. CME, IUPAC tarafından 1997'de "kimyasal modifiye edici maddenin seçici monomoleküler, iyonik veya polimerik filmiyle kaplanmış iletken veya yarıiletken materyalden yapılmış bir elektrot" olarak tanımlanmıştır. Faradayik reaksiyonlar ve potansiyel farklılıklar, buradaki filmin kimyasal, elektrokimyasal veya optik özelliklerini göstermektedir (IUPAC, 1997).

Yalın elektrot yüzeyine, analitik amaç için uygun olan kimyasal grupların katılmasıyla CME elde edilir. Bu prosedürler, yüksek duyarlılık ve seçicilik, elektroaktif yapıları yükseltmek veya indirmek için gerekli düşük potansiyel, metal iyonlarının zenginleştirilmesi ve iyon-değişim özellikleri kullanılarak elektro inaktif bileşiklerin tanımlanması gibi özellikler sağlamaktadır.

Modifiye edici malzemeler organik veya inorganik olabilir. Organik madde olarak genelde polimerler kullanılmasına karşılık inorganik madde olarak da ligandlar, kompleksler ya da metal oksitleri kullanılır (Zen ve ark., 2003).

CME'ler ;

a) Temel elektrokimyasal incelemelerde; örneğin heterojen elektron geçişi, elektrot yüzey kimyasında, polimer yüzeylerde iyon ve elektron geçişlerinde

b)Uygulamada; yeni elektrokimyasal düzenek tasarımında, kimyasal duyarlı sistemlerin oluşturulmasında, enerji dönüşümü ve depolanmasında, moleküler elektronikte, korozyon önlenmesinde, elektroorganik sentezlerde kullanılmaktadır.

Genel olarak CME'ler 4 yolla hazırlanmıştır:

1- Elektrot yüzeyini modifiye edecek ortama daldırarak doğrudan adsorbsiyonla

2- Modifiye edicinin elektrot yüzeyine kovalent bağla bağlanması ile

3- Elektrot yüzeyinin polimer ya da metalik ince filmle kaplanması ile (elektropolimerizasyon)

4- Az çözünen modifiye maddenin iletken elektrot materyali ile karıştırılarak kompozit oluşturması ile hazırlanmıştır (Nişli G., 2001).

Elektrot modifikasyon yöntemleri Çizelge 2’de verilmiştir.

Çizelge 2. Elektrot modifikasyon yöntemleri (Murray ve ark., 1987)

Tekmoleküler tabaka

Reaktiflerin kimyasal sorpsiyonu

- Platin yüzeyinde
- Karbon yüzeyinde
- Civa yüzeyinde
- Altın yüzeyinde

Elektrot ve elektroaktif reaktif arasında kovalent bağ oluşumu

- Metal oksit yüzeylerinde
- Karbon yüzeylerinde
- Yarıiletkenlerde
- Elektroaktif, kiral maddeler

Çokmoleküler tabakalar,

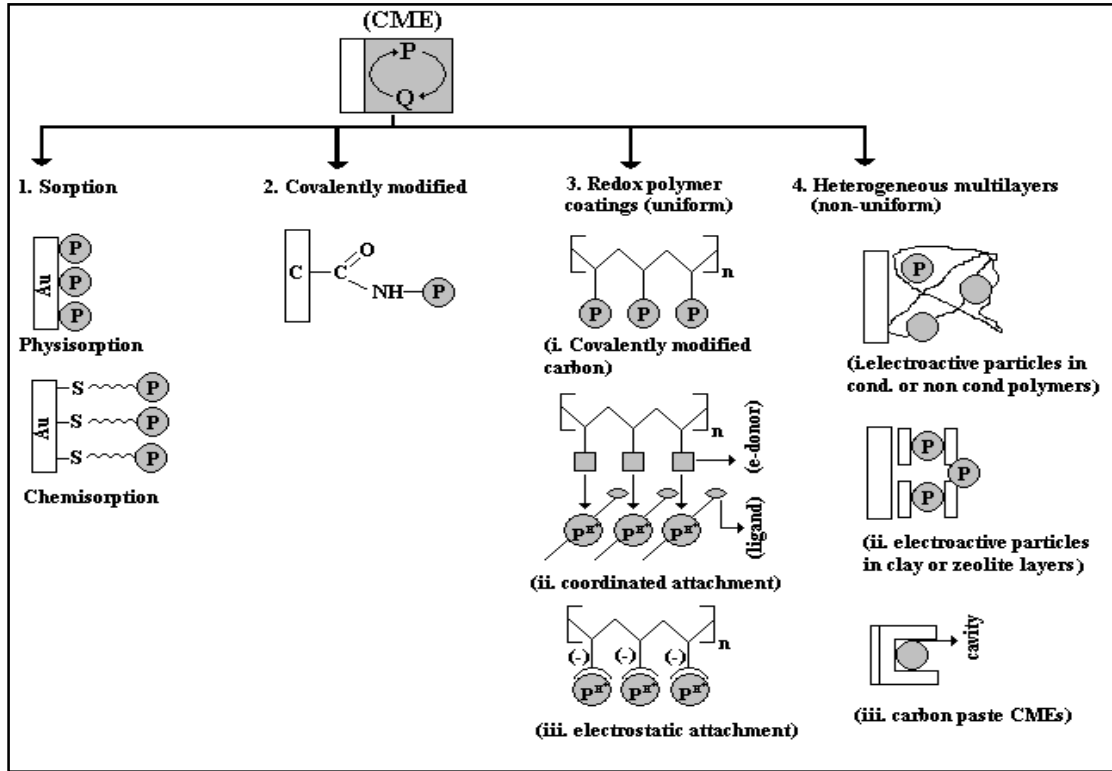
Elektrot yüzeyine polimer film kaplama

- Redoks polimerler
- İyon değişimi-Elektrostatik olarak tutuklama
- Elektronik olarak iletken polimerler
- İyonik olarak iletken polimerler
- Taç eterler veya kompleksleştirici reaktifler
- Elektroaktif kiral polimerler

Heterojen Çokmoleküler tabakalar

- Karbon pasta ile modifiye edici maddenin karışımı
- Kil modifiye elektrotlar
- Zeolit modifiye elektrotlar
- Elektroaktif polimerlerde elektroaktif partiküller

Farklı yollarla hazırlanan CME'lerin şematik gösterimi Şekil 3'de verilmiştir.



Şekil 3. Farklı yollarla hazırlanan CME'lerin şematik gösterimi (Zen ve ark., 2003).

1.3.1.2. Doğrudan Adsorpsiyonla CME Hazırlanması

Adsorpsiyon elektrot modifikasyonunda başvurulan en eski prosedürdür. İlk kez Lane ve Hubbard tarafından platin elektrotlar için çalışılmıştır; olefinler Pt üzerine adsorbe olduğunda Pt-C bağlarının varlığını göstermişlerdir. Adsorpsiyon prosesi, fiziksel yerleşme ve kemisorpsiyon olarak uygulanabilir. Sorpsiyon CME hazırlamak için, saf organik veya organometalik kompleksler cam karbon (VC), grafit (G), sıradan pirolitik grafit (OPG) gibi karbon bazlar üzerine adsorbe edilirler (Nişli, 2001).

Bu sistemler analitik uygulamalar için kullanışlı olmasına rağmen, bu tarz elektrotlar için kararlılık her zaman kritik bir problem olmuştur. Bu prosesle, elektrot yüzeyine güçlü ve tersinmez bir şekilde adsorbe olan ve genellikle mono tabaka veren ince bir film oluşturulmaktadır. Genel metotta, elektrot modifiye edici maddenin çözeltisinde belli bir süre tutulmaktadır. Daha sonra elektrot saf su ile yıkanıp adsorpsiyon oluşumu voltammetrik yöntemle saptanır. Bu elektrot modifikasyonu kolay görünse de birtakım dezavantajları vardır. En önemli dezavantajı elektrot yüzeyinde adsorpsiyon için yarışan elektroaktif bileşenlerin elektrot prosesini etkilemesidir (Nişli, 2001).

1.3.1.3. Kovalent Bağlanmayla Hazırlanan CME'ler

Kolay yüzey modifikasyonu ve fonksiyonel grup bağlanması bu yaklaşımın temel avantajlarıdır. Elektrot yüzeyinin spesifik bir fonksiyonel grupla modifikasyonu CME'nin hazırlanmasına has bir durumdur. Kovalent bağlanma, elektrot yüzeyinin birçok mono tabaka tarafından kaplanmasına öncülük eder. Elektrot yüzeyi modifiye edici madde ile kovalent bağlanmaya girer. İki çeşit kovalent bağlanma vardır bunlar; silanizasyon ve direkt bağlanmadır (Nişli, 2001).

Silanizasyon, tarihte ilk kullanılan yüzey modifiye etme tekniğidir. Bu, elektrot materyalinin altında birden üçe kadar bağ oluşturmak için trialkoksi veya triklorosilanlarla reaksiyona giren yüzey hidroksi veya oksit gruplarının oluşumunu içermektedir. Organosilanlar hidroksil grupları içeren yüzeyleri modifiye etmede kullanılırlar (Symth ve Vos, 1992).

Diğer bir alternatif yaklaşımda, yüzey karboksilik asit grupları birkaç yöntem kullanılarak oluşturulmaktadır. Bunların en popüler olanı elektrot yüzeyinin termal ve radyo frekanslı plazma ile önışleme tabi tutulmasıdır. Böyle reaktif gruplar ya direkt olarak ya da asit klorürlere dönüşerek CME'lerin hazırlanması için yararlı sentetik yollar sağlar.

Elektrot yüzeyine tutturulmuş asit klorürleri amin grupları ile kondensasyon tepkimesi için kullanılabilir. Böylece geçiş metalleri kompleksleri oluşturan amin gruplarının elektrot yüzeyine tutturulması sağlanmış olur (Symth ve Vos, 1992).

Direkt bağlanmada, karbon ve platin gibi materyaller elektrot yüzeyine direkt bağlanmaktadır.

1.3.1.4. Polimer ya da Metalik İnce Film Kaplanmasıyla Hazırlanan CME'ler (Homojen Çokkatmanlı CME'ler)

Elektrot yüzeyinde polimer ya da metal, ince film halinde oluşturulur ve elektrot yüzeyi kaplanır. Bu tür yüzey kaplamasının mekanik ve kimyasal kararlılığı, duyarlılığı, seçiciliği daha iyidir. Polimer filmler iletken olsun olmasın organik, inorganik ve organometalik yapıda olabilir. Polimerler modifiye etme malzemesi olarak doğrudan kendisi etkin olduğu gibi, modifiye eden için destek (tutturucu) niteliğinde de kullanılır. Bu son durumda düşük ve kararlı zemin akımı oluşur (Nişli, 2001).

Elektrot yüzeyinde polimer oluşumu; elektrodu daldırma ile; modifiye eden çözeltiyi elektrot yüzeyine damlatıp buharlaştırma ile; elektrolitik biriktirme ya da elektropolimerleştirme ile sağlanır. Polimer filmlerin tekli katman halinden çokluya ardışık katmanlar halinde geçişinin elektrostatik etkileşime dayalı olduğu bildirilmiştir. İnce

polimer film katı elektrot yüzeyinde katodik ya da anodik elektrolitik biriktirme ile elde edilmiştir. İyonsal nitelikli polimerlerin oluşumu, kullanılan çözeltilerdeki çözünürlüklerine dayanır (Nişli, 2001).

Elektropolimerleşmede polimer, elektrot ürünü olarak elektrot çevresinde radikalik basamak üzerinden giderek elde edilir (Örn. Pirolün yükseltgenmesi ile polimerleşmesi). Radikal oluşum hızı potansiyel ve akım kontrol edilerek sağlanır. Ürünün çözücü ortamında çözünürlüğü azdır; katmanın yapısı, karakteristikleri biriktirme hızına bağlıdır. Akım-zaman verileri film kalınlığı ve büyümesinde önemli etkindir (Nişli, 2001).

1.3.1.5. Kompozit Oluşumu İle Hazırlanan CME'ler (Heterojen Çokkatmanlı CME'ler)

Karbon temelli elektrotlarda özellikle CPE modifiye edilmesinde en çok kullanılan yöntemdir. Çoğunlukla elektron transfer işlemini kolaylaştıran modifiye malzeme, karbon tanecikleri ile birleştirilerek kompozit yapı oluşturulur. Heterojen çokkatmanlı CME'lerde, katı destekler uniform olmayan bir yolla mediyatör sistemleriyle birleştirilmiştir. Grafit/bağlayıcı pasta ile redoks mediyatörünün basit karışımıyla CME hazırlamada CPE en elverişli materyallerden biridir. Bu prosedürle, enzimatik kil, zeolit, zirkonyum fosfat ve silika ile modifiye edilmiş kompozit elektrotlar hazırlanabilir.

1.3.2. Karşılaştırma Elektrotları

Bu amaçla polarize olmayan ikinci sınıftan metal-metal iyonu elektrotları kullanılır. Bu elektrotlar ancak küçük akım şiddetlerinde polarlanmazlar. Akım şiddeti artınca ideal konumlarından saparlar. En çok kullanılanlar kalomel ve $Ag|AgCl$ elektrotlarıdır. Bu elektrotlardan anodik akım geçtiğinde metaller yükseltgenir ve ortamdaki aşırı klorürle çökdiklerinden, elektrot yüzeyindeki derişimleri değişmez ve böylece potansiyelleri akımdan bağımsız olur. Bu elektrotlardan katodik akım geçtiğinde ise, çözünürlükten gelen metal iyonları indirgenir, elektrot yüzeyinde çökelek ayrışarak tekrar aynı denge düzeyinde metal iyonu oluşturur, böyle potansiyeli yine değişmez kalır (Tural ve ark., 2006).

1.3.3. Yardımcı Elektrotlar

İki elektrotlu sistemlerdeki polarlanmayan elektrot, üzerinden akım geçtiği için, yüksek akımlarda polarlanır. Ayrıca eğer çözeltili direnci yüksek ise bu direnci yenmek için gerekli olan potansiyel (iR) önemli bir düzeye çıkar. Bu iki nedenle çalışma elektrodunun polarizasyon potansiyeli yanılgılı algılanır. Bunun sonucu olarak $i=f(E)$ eğrileri yatıklaşırlar ve belirli bir noktadan sonra basamak ya da pikler kaybolur. Bu sorun sistemde üçüncü bir elektrot kullanılarak çözümlenir. Akım, çalışma elektrodu ile yardımcı

elektrot ikilisinden geçirilir ve çalışma elektrodunun potansiyeli karşılaştırma elektroduna karşı sıfır akım altında hesaplanır. Akım yardımcı elektrot üzerinden geçtiği için bu elektrotların soy metal olmaları gerekir. Bu nedenle daha çok platin, grafit, tantal ya da tungsten tel çubuklar kullanılır (Tural ve ark., 2006).

1.4. Voltammetrik Analizde Temel İşlemler

1.4.1. Destek Elektrolit Seçimi

Voltammetrik tekniklerde kullanılan destek elektrolit yeterince saf olmalıdır. Eğer safsızlık varsa, bunların derişimi analit derişiminin %1' ini geçmemelidir. Aksi halde saflaştırma işlemlerinden biri uygulanmalıdır. Ayrıca destek elektrolit çalışma elektrodunun çalışma potansiyel aralığını daraltır nitelikte olmamalıdır. Başka bir deyişle destek elektrolit anyonu elektrodun metal iyonu ile kompleks oluşturmamalı, katyonu veya çözücü indirgenerek katodik bölgeyi daraltmamalıdır.

Bunların dışında eğer örnekte birden fazla analit varsa ve bunlardan bazılarının voltammetrik dalgaları çakışiyorsa, destek elektrolit bu çakışmayı giderici biçimde olmalıdır (Tural ve ark., 2006).

1.4.2. pH Ayarı

Organik moleküllerin elektrot tepkimelerinin çoğunda proton görev alır. Bu nedenle akım-potansiyel ilişkileri pH'a bağımlı olur. Voltammetrik çalışmalarda bu bağımlılığın oluşturacağı yanılığardan kurtulmak için çözeltilerin tamponlanması gerekir. Seçilen tampon çalışma penceresini daraltmayacak nitelikte olmalıdır. Çalışma potansiyel aralığı katodik yönde geliştirilmek istendiğinde bazik tamponlar kullanılmalıdır. Analit dalgalarının örtüşmesi halinde bunların birbirinden ayrılabilmesi için analitin akım-potansiyel ilişkilerinin pH'a bağımlılığı göz önüne alınarak destek elektrolitin pH'ı ayarlanmalıdır (Tural ve ark., 2006).

1.4.3. Sıcaklık Kontrolü

Tüm voltammetrik sınır akım eşitliklerinde difüzyon katsayısı (D) yer aldığında sıcaklık, akım şiddetini değıştirir. Sıcaklıktaki 1 °C'lik değışim, elektroetkinlerin çoğunun difüzyon katsayısının %1-2 oranında değıştirir. Bu nedenle çalışmalarda termostatik koşullarla yapılmalı ve sıcaklık $\pm 0,5$ °C aralığında sabit tutulmalıdır (Tural ve ark., 2006).

1.4.4. Oksijen Uzaklaştırılması

Çalışma çözeltilerinde çözünmüş oksijen gazı, çalışma elektrotlarında iki basamakta indirgenir. Bu basamaklar,



tepkimeleriyle gösterilebilir.

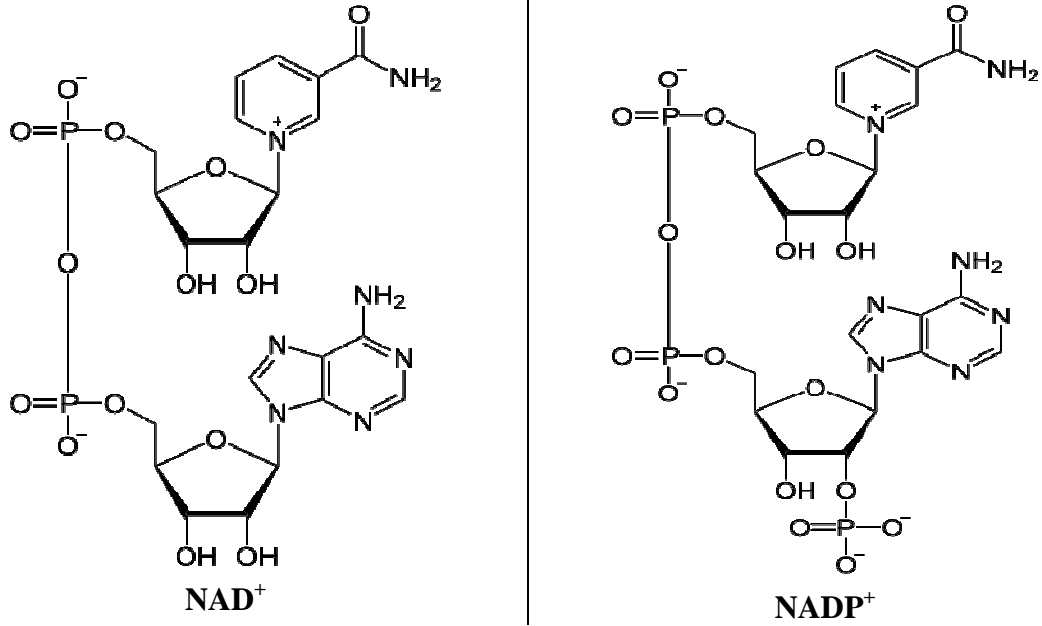
Çözünmüş oksijenin çözeltilerden N_2 , He, CO_2 gibi elektroinert bir gaz geçirilerek uzaklaştırılması gerekir. İnert gaz geçirme süresi; 2-30 dakika kadardır. Pratikte, oksijene ait bu dalgalar tamamen kaybolana dek gaz geçirme işlemi sürdürülür. Ayrıca çalışma süresince sisteme atmosferik oksijenin difüzyonunu önlemek amacıyla çözelti inert gaz atmosferinde tutulur. Bazı çözeltilerle çalışıldığında, oksijen soydum sülfid ile de giderilebilir (Tural ve ark., 2006).

1.5. NADH (Nikotinamid Adenin Dinükleotit)

Nikotinamid adenin dinükleotid (NAD^+) hücrelerde bulunan önemli bir koenzimdir. NADH, NAD^+ 'nin indirgenmiş halidir, dolayısıyla NAD^+ de NADH'nin yükseltgenmiş (okside olmuş) halidir.

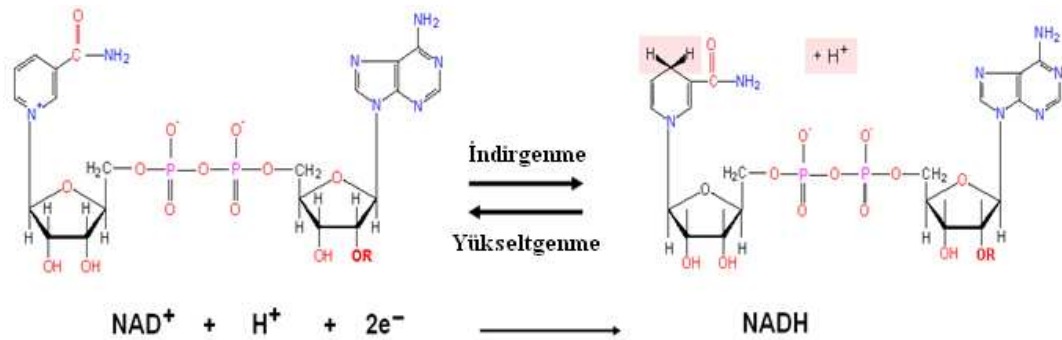
1.5.1. Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri

NADH'nin molekül formülü $\text{C}_{21}\text{H}_{27}\text{N}_7\text{O}_{14}\text{P}_2$ olup, molekül ağırlığı 663,43 g/mol iken sodyum tuzunun molekül ağırlığı 709,41 g/mol'dür. NAD^+ molekülünün bir ucunda adenin buna bağlı bir riboz şekeri, riboz şekere bağlı iki fosfat grubu, bunlara bağlı bir riboz şekeri daha ve bu riboz şekere bağlı bir nikotinamid halkası bulunmaktadır (Gözükara, 2001) (Şekil4). Yapıdaki riboz halkalarından birinin ilk karbon atomuna (1' pozisyonu) adenin nükleotidi bağlyken, diğerindeki karbon atomuna nikotinamid nükleotidi bağlanmıştır. NADP^+ 'nin NAD^+ 'den farkı adenine bağlı riboz şekerinin ikinci karbonundaki hidroksil grubuna bir fosfat grubunun bağlanmasıdır. Bu iki koenzime piridin koenzimler ya da piridin nükleotidler adı verilmektedir. Bu koenzimin tüm formları beyaz amorf toz halinde olup, hidroskopik özelliğe ve suda yüksek çözünürlüğe sahiptir (50 mg/mL). Katı olarak kuru ve karanlıkta saklandığı sürece kararlıdır (Wikipedia, 2010).

Şekil 4. NAD⁺ ve NADP⁺ nın yapısı.

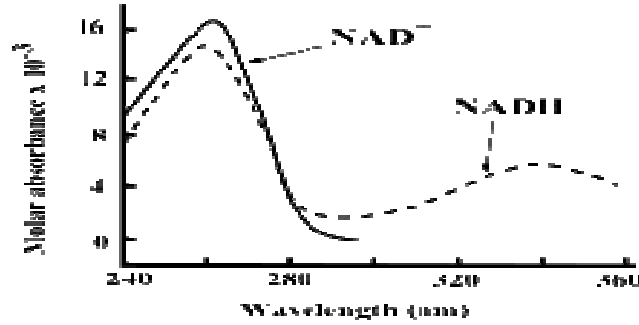
NAD⁺ 2 elektron ve 1 H⁺ alarak NADH'ye indirgenir. Bu redoks tepkimesinde bir elektron NAD⁺'nin nikotinamid halkasının pozitif yüklü azotuna transfer olurken, bir elektron ve hidrojen atomu bu azotun karşısındaki C₄ karbon atomuna transfer olmaktadır.

NAD⁺/NADH redoks çiftinin yarı dalga potansiyeli -0,32 V olup, bu potansiyel NADH'nin çok güçlü bir reaktif olduğunu göstermektedir.

Şekil 5. NAD⁺'nin redoks tepkimesi.

Hem NAD⁺ hem de NADH, yapısındaki adenin bazından dolayı morötesi bölgedeki ışınları kuvvetli bir şekilde absorblarlar. NAD⁺ ve NADH maksimum absorpsiyon yaptığı dalga boyu 259 nm olup molar soğurma katsayısı 16900 L/mol.cm iken NADH ayrıca 339 nm'de molar soğurma katsayısı 6222 L/mol.cm olan ikinci bir absorpsiyon piki

vermektedir (Şekil 6). Yüksek dalga boyundaki koenzimin indirgenmiş ve yükseltgenmiş formların UV absorpsiyon spektrumları arasındaki fark, enzim analizlerinin kolay ve basit bir şekilde gerçekleşmesine olanak sağlar. Bu tür analizler, bir spektrofotometre yardımıyla 340 nm’de birinin diğerine dönüşümü ölçülerek gerçekleştirilir.



Şekil 6. NAD⁺ ve NADH'nin UV absorpsiyon spektrumu.

Ayrıca NAD⁺ ve NADH floresans özelliklerinde de farklılık gösterirler. NADH çözeltileri 460 nm dalga boyunda bir emisyon pikine sahip olup floresans ömrü 0,4 nanosaniye iken, NAD⁺ floresans özellik göstermemektedir. NADH proteinlere bağlandığında floresans sinyalinde değişme gözlenir, bu özellik enzim kinetiği çalışmalarında oldukça yararlı olan ayrışma sabitlerinin ölçülmesinde kullanılabilir. Ayrıca floresanstaki bu değişimler floresans mikroskobu ile ölçülerek, canlı hücrelerindeki redoks basamağının belirlenmesinde de kullanılabilir.

1.5.2. Canlı Sistemlerdeki Rolü

Enzimler çok güçlü katalizörler olup, bunların çoğu canlı hücrede her iki saniyede bir 10.000'den fazla tepkimenin gerçekleşmesinde kullanılmaktadır. Bunlar arasında, yükseltgenme indirgenme tepkimelerini katalizleyen redoks enzimleri, basit elektron transfer tepkimelerinin, atom transferinin veya küçük gruplu atomların, substrata taşınmasının katalizlenmesinde bulunurlar. Bazı redoks enzimleri aktivite gösterebilmek için koenzim olarak adlandırılan küçük bir moleküle ihtiyaç duyar. Koenzimler küçük gruplar, atomlar veya elektronlara karşı bir alıcı veya verici olarak görev yapar ve substratın yükseltgenmesi veya indirgenmesinde yürütücü bir güç sağlar (Simon ve Bartlett, 2003).

Piridin nükleotitleri olarak bilinen nikotin amid adenin dinükleotid (NAD⁺) ve nikotinamid adenin dinükleotid fosfat (NADP⁺) tüm canlı hücrelerde bulunan ve 400'den

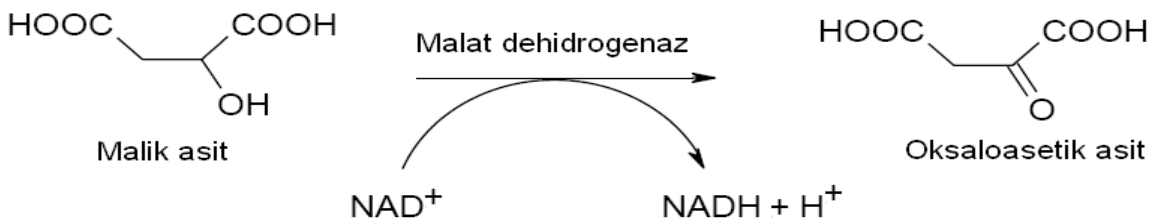
fazla oksidoreduktazın (yükseltgenme indirgenme tepkimelerini katalizleyen enzimler) tepkimelerinin gerçekleşmesi için gerekli olan koenzimlerdir (Gorton ve Dominguez, 2002). Bu sayı sınıflandırılan tüm enzimlerin % 17'sini ifade eder ve bu nükleotidler diğer tüm koenzimlerden daha çok enzimatik reaksiyonlardan sorumludurlar.

Metabolizmada NAD^+ redoks tepkimelerine katılarak elektronları bir tepkimeden diğerine taşımakta görev alır ve yakıt moleküllerinin yükseltgenmesinde en büyük elektron taşıyıcısıdır. Bu yüzden bu koenzim hücrede iki formda bulunur ki birincisi yükseltgenme reaktifi NAD^+ olup diğer moleküllerden elektron alır ve indirgenmiş formuna dönüşür. İkincisi ise bu tepkime sonucu oluşan NADH , indirgenme reaktifi olup elektron vericisi olarak kullanılır. Bu elektron transfer tepkimeleri NAD^+/NADH 'nin ana özelliklerindedir (Wikipedia, 2010). Özellikle substrattan bir elektron alıcısına hidrojen atomlarının ve elektronların transferinin gerçekleştiği dehidrogenaz enzimlerinin tepkimelerinde (Tepkime 1.6), NAD^+ elektron alıcısı olarak görev alır.



SH_2 ve S sırasıyla substratın indirgenmiş ve yükseltgenmiş formudur. Bu tür enzimatik reaksiyonlarda, NAD(P)^+ 'nin nikotinamid halkası, bir hidrür iyonuna eşdeğer olan 2 elektron 1 proton alarak NAD(P)H 'ye indirgenir.

NAD^+ 'nın koenzim olarak girdiği reaksiyonlardan birisi, malat dehidrogenaz enziminin yardımıyla malik asit oksaloasetik asite dönüşmektedir. Reaksiyon şekil 7'deki gibi meydana gelmektedir (Gözükara, 2001).



Şekil 7. Malik asitin enzimatik tepkimesi.

Tepkimede görüldüğü gibi malik asitin 2 nolu karbonundan 2 elektron ve iki hidrojen atomu NAD^+ molekülüne transfer edilmiş ve bir hidrojen ise ortamda serbest kalmıştır.

Organizmada, NAD^+ amino asitler triptofan ya da aspartik asitten sentezlenebilir. Alternatif olarak, koenzimlerin daha karmaşık karışımları gıdalardan niyasin olarak

isimlendirilen vitamin B₃'den alınabilir. Bazı NAD⁺ molekülleri NADP⁺'ye dönüşebilir, bu iki enzimin kimyasal yapısı ve özellikleri birbirine çok yakın olmasına karşın (Şekil 4), metabolizmadaki rolleri farklıdır (Wikipedia, 2010). NADPH, enerjice zengin biyolojik molekülleri sentezlemek için gerekli elektronları sağlayarak anabolik tepkimeleri katalizleyen enzimlerle çalışır. Buna karşın, NADH hücredeki mitokondride yiyecek maddelerinin yükseltgenmesiyle gerçekleşen Adenozin trifosfat (ATP)'nin oluşum sisteminde bir ara ürün olarak önemli bir rol oynar. Mitokondride yiyeceklerin yükseltgenmesiyle salınan enerjinin % 42'si ATP molekülünde saklanmaktadır. NADH mitokondride büyük bir miktarda bulunarak Adenozin difosfatın (ADP)'nin ATP'ye dönüşümünde önemli rol oynar. Oksijenle bir molekül NADH'nin yükseltgenmesi ADP'den birkaç molekül ATP ve inorganik fosfat sentezlemek için yeterli enerji sağlar (Simon ve Bartlett, 2003).

Bu önemli fonksiyonları yanında, NADH organizmada aşağıda özetlenen fonksiyonlara da sahiptir.

- 1- NADH zarar görmüş hücre ve DNA'ları onarır.
- 2- NADH oldukça güçlü bir antioksidandır.
- 3- NADH adrenalin ve dopamini uyarma özelliğine sahiptir.
- 4- NADH nörotaşıyıcı (neurotransmitter) özellik gösteren ve kan damarlarının gevşemesinde en önemli etki gösteren, nitroksit üretimini arttırmaktadır.

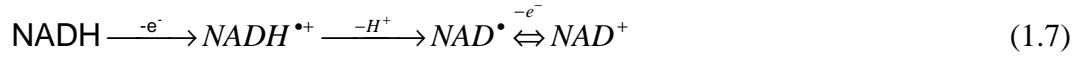
1.5.3. NADH'nin Elektrokatalitik Yükseltgenmesi

1.5.3.1. NADH'nin Direk Elektrokimyasal Yükseltgenmesi

NADH'nin biyolojik rolü ve öneminden dolayı, elektrokimyasal yükseltgenmesine yönelik çalışmalar büyük bir ilgi görmüştür. NADH'nin elektrokimyasal yükseltgenmesi üzerine yapılan çalışmalar döngüsel voltammetri, kronoamperometri, sabit potansiyelde kulometri ve döner disk elektrot metodolojisi kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Camımsı karbon, karbon pasta, pirolitik grafit ve karbon fiber gibi karbon bazlı elektrotlar, Pt, Au gibi katı elektrotlar bu amaçla kullanılan elektrotlardır. NADH'nin bu elektrotlarda (modifiye edilmemiş) direk olarak yükseltgenmesi oldukça tersinmez olup, çok büyük aşırı potansiyel gerektirmektedir. Elektrot materyali, aşırı potansiyel üzerine önemli bir etkiye sahiptir. Sulu çözelti ortamında NADH'nin yükseltgenmesi, karbon, Pt ve Au elektrotlarda sırasıyla yaklaşık 0,4; 0,7 ve 1,0 V bulunmuştur (Gorton ve Dominguez, 2002).

Normal yalın elektrotta NADH'nin yükseltgenmesi bir ECE (Elektrokimyasal-Kimyasal-Elektrokimyasal) mekanizması önerilerek açıklanmıştır. Bu mekanizmaya göre;

ilk olarak NADH'nin bir elektrot tepkimesiyle bir e^- vererek $NADH^{\bullet}$ radikaline yükseltgendiği; ikinci olarak oluşan bu radikalın da bir kimyasal tepkimeyle $1 H^+$ vererek NAD^{\bullet} ye dönüştüğü; son olarak da yine bir elektrot tepkimesiyle NAD^{\bullet} $1 e^-$ vererek NAD^+ ya yükseltgendiği rapor edilmiştir (Tepkime 1.7). NADH'nin sulu ortamdaki döngüsel voltammogramlarında NADH'nin yükseltgenmesine ilişkin sadece tek bir pik gözlenmesi yani geri dönüşümde herhangi bir pikin gözlenmemesi oluşan NAD^{\bullet} 'nin ara türe (NAD^{\bullet}) indirgenmesinden kaynaklanmaktadır. Sonuçta kimyasal olarak oldukça tersinmez $2e^-$ ve $1 H^+$ 'lu yükseltgenme tepkimesi gerçekleşmiştir (Tepkime 1.8) (Gorton ve Dominguez, 2002).



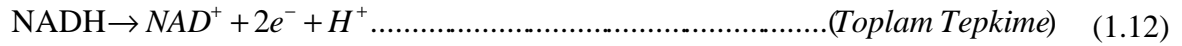
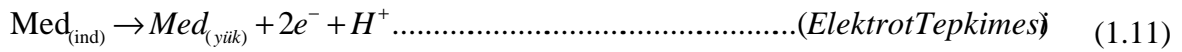
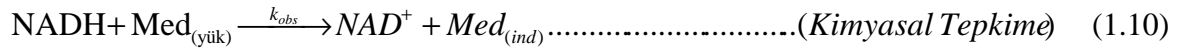
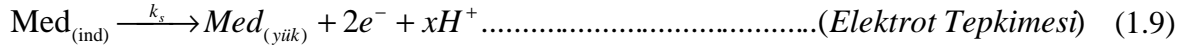
Elektrot olayı sırasında gerek oluşan yükseltgenme ürünü NAD^+ ve gerekse bu yükseltgenme prosesi esnasında oluşan radikaller ($NADH^{\bullet}$ ve NAD^{\bullet}) elektrot yüzeyine adsorplanarak, elektrodun kirlenmesine ve dolaylı olarak da NADH'nin direkt elektrokimyasal yükseltgenmesine bağlı sensörlerin tekrarlanabilirliğinin azalmasına neden olmaktadır (Gorton ve Dominguez, 2002; Simon ve Bartlett, 2003). Bu problemlerin çoğu, redoks mediyatörlerinin elektrot yüzeyine tutturulmasıyla hazırlanan CME'lerin kullanımıyla çözülmüştür (Gorton ve Dominguez, 2002; Simon ve Bartlett, 2003).

1.5.3.2. NADH'nin Elektrokatalitik Yükseltgenmesinde Redoks Mediyatörlerin Rolü

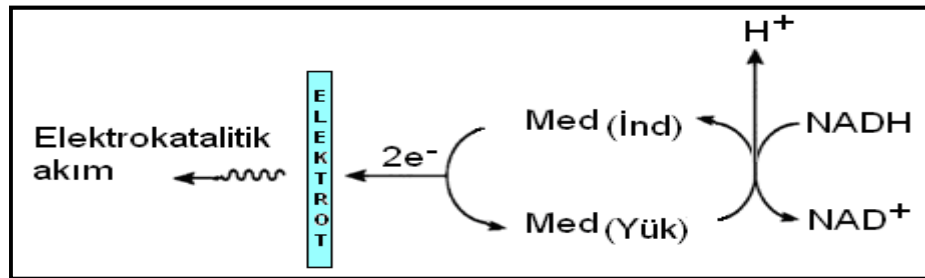
Mediyatörler substrat ile elektrot arasındaki elektronları götürüp getiren küçük moleküller olup, elektrot reaksiyonlarını katalizlerler. Bir mediyatörün NADH'ye iyi bir elektrokatalitik etki gösterebilmesi için, i) mediyatör elektrokimyasal olarak aktif olmalı ii) redoks mediyatörün formal potansiyeli (E^0) NADH'nin yükseltgenme potansiyelinden daha düşük olmalı iii) yüksek elektron transfer hız sabitine sahip olmalı iv) enzimatik olarak aktif NAD^{\bullet} 'yi oluşturmalı v) elektrot yüzeyini kirlenmeye özelliğine sahip olmalı vi) uzun süre kararlı olmalı vii) $NADH^{\bullet}$ ye ait aşırı potansiyeli oldukça düşürmelidir.

NADH'nin elektrokatalitik yükseltgenmesinin ilk basamağında mediyatörün yükseltgenmiş formu, $NAD(P)H$ ile hızlıca bir kimyasal tepkimeye girip $NAD(P)^{\bullet}$ 'yi oluştururken kendisi indirgenmiş formuna dönüşür, ikinci basamakta ise elektrot tepkimesi aracılığıyla mediyatörün indirgenmiş formu NADH'nin direk yükseltgendiği potansiyelden

daha düşük bir potansiyelde tekrar yükseltgenir (Şekil 8). Oluşan NADH tekrar mediyatörle tepkimeye girerek benzer olaylar devam eder. Gerçekleşen elektrokatalitik yükseltgenme ECE mekanizmasıyla açıklanmış ve aşağıdaki tepkimelerle de ifade edilmiştir. Sonuçta mediyatörün indirgenmiş formunun tekrar yükseltgenmesiyle NADH'ye ilişkin elektrokatalitik akım oluşmaktadır (Gorton ve Dominguez, 2002; Simon ve Bartlett, 2003).



Bu ECE mekanizmasına göre elektrot yüzeyinde başlangıçta indirgenmiş formda olan mediyatör ($\text{Med}_{(\text{ind})}$), pozitif potansiyel uygulandığında, formal potansiyelinin ötesinde pozitif potansiyelde katalitik olarak aktif olan yükseltgenmiş formuna ($\text{Med}_{(\text{yük})}$) dönüşür. k_s immobilize edilmiş mediyatör ile elektrot arasındaki elektron transfer hızıdır. Bu reaksiyondaki proton mediyatörün yapısına ve ortamın pH'ına göre 1 ile 2 arasında değişebilir. Daha sonra çözeltideki NADH'nin elektrot yüzeyine taşınmasıyla kataliz başlar, bu esnada tepkime 1.10'daki kimyasal tepkime gerçekleşir. Bu tepkimedeki k_{obs} ikinci mertebeden hız sabitidir.

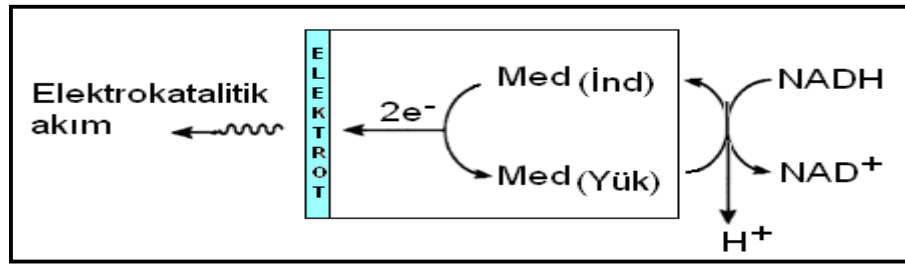


Şekil 8. Destek elektrolit ortamında bir redoks mediyatörle NADH'nin yükseltgenme mekanizması.

Çözelti ortamında kullanılan çözülebilir redoks mediyatörlerinin en büyük dezavantajı elektrot yüzeyinden diffüzlenerak uzaklaşabilmesidir. Böylece mediyatör

elektrot yüzeyinde uzun süre bulunamadığından elektrot tepkimesi katalizlenmeyebilir. Bu problemi gidermek için, bu redoks mediyatörlerle modifiye elektrot hazırlama yoluna gidilmiştir. Daha önceki bölümlerde bahsedildiği gibi modifiye elektrotlar farklı yollarla hazırlanmaktadır. Bunlardan en önemlileri, i) redoks mediyatörlerin seyreltik çözeltilerine daldırarak doğrudan adsorbisyonla ii) bu boyar maddelerin elektrot yüzeyine kovalent bağlanması ile iii) elektrot yüzeyinin polimer ya da metalik ince film ile kaplanması ile (elektropolimerizasyon) iv) boyar maddeler ince tabakalı materyallere (zirkonyum fosfat, titanyum fosfat, zeolit, muskovit vb.) adsorplandıktan sonra, elektrot materyali (genellikle grafit ya da camımsı karbon tozu) ile karıştırılarak kompozit oluşturma ile modifiye elektrot hazırlamaktır.

Böylece, elektrot yüzeyine adsorplanmış ya da tutturulmuş redoks mediyatörleri NADH'nin yükseltgenme potansiyelini daha negatife çekerek hem girişimcilerin etkisini giderir hem de akım artışına neden olan elektrokatalitik etki göstermektedirler. Elektrot yüzeyinde tutturulmuş mediyatör aracılığıyla NADH'den elektrot yüzeyine elektron transferi gerçekleşir (Simon ve Bartlett, 2003) (Şekil 9).



Şekil 9. Redoks mediyatörle modifiye edilmiş elektrotlarda NADH'nin yükseltgenme mekanizması.

1.5.4. NADH'nin Elektrokatalitik Yükseltgenmesinde Kullanılan CME'ler

CME hazırlanarak NADH'nin elektrokatalitik yükseltgenmesine yönelik ilk makale 1978 yılında Tse ve Kuwana tarafından yayınlanmıştır (Tse ve Kuwana, 1978). Bu çalışmada, primer amin grubu içeren 2 orto-kinon türevi, dopamin ve 3-4-dihidroksi benzilamin, siyanürik klorürle aktive edilmiş camımsı karbon elektrot (Glassy Carbon Electrode, GCE) yüzeyine kovalent bağlanma yoluyla tutturulmuştur. Bu modifiye elektrodun pH 7,0'de alınan döngüsel voltammogramlarından, formal potansiyel doymuş kalomel elektrota (DKE) karşı 0,16 V, NADH varlığında ise anodik pik potansiyeli yaklaşık +0,2 V olarak bulunmuştur. Böylece aşırı potansiyel, yalnız GCE'a göre yaklaşık

0,4 V indirgenmiştir. Bu ilk çalışmadan sonra NADH'nin elektrokatalitik yükseltgenmesinde kullanılmak üzere değişik türlerde mediyatörlerle CME'ler hazırlanmıştır.

Özellikle azin türü boyar maddeler NADH'nin elektrokatalitik yükseltgenmesinde redoks mediyatörü olarak oldukça çok kullanılmışlardır. Bunun nedeni birçok bileşiğin yükseltgenmesine iyi bir elektrokatalitik etki gösterme özelliğine sahip olmalarındandır. Bu amaçla toluidin mavisi (TM), metilen mavisi (MM), metilen yeşili (MY), azure A (AzA), azure B (AzB) gibi fenotiyazin grubu boyar maddeler, nil mavisi (NM), meldola mavisi (Mdm), brilliant kresil mavisi (BKM) gibi fenoksazin ve nötral kırmızısı (NK) gibi fenazin türü boyar maddelerle modifiye elektrotlar hazırlanmıştır.

1.6. Fotoelektrokimya ve NADH'nin Fotoelektrokatalitik Yükseltgenmesi

Bir fotoakım spektroskopisi olarak da bilinen fotoelektrokimya, bir elektrolitteki metal veya bir elektrodun ışıklandırılmasıyla oluşan elektriksel akımın değerlendirilip ölçüldüğü bilim dalıdır. Işıkla sadece elektrot etkileşime girmez, aynı zamanda elektrodun yakınındaki elektrolit de fotolitik olarak etkileşime girer. Bu olayda, elektrot ve elektrolit tarafından adsorplanan ışık fotoakımı oluşturmaktadır. Bu fotoakım ışığın dalga boyu, elektrot potansiyeli ve elektrolitin bileşimiyle değişmektedir. Bu değişim foto prosesin doğasını, kinetik ve enerji düzeyleri hakkında bilgi verir (Dilgin, 2004). Fotoelektrokimyanın analize uygulanmasında, yarıiletken, modifiye ve kompozit elektrotlar oldukça sık kullanılmaktadır.

Bunun yanında, Wang ve arkadaşları fotoelektrokimyasal sensördeki gelişmeler üzerine bir derleme yayımlayarak, fotoelektrokimyasal analizlerin dikkate değer duyarlılık, doğasındaki minyatürizasyon yeteneği, kolay taşınabilirlik ve entegrasyon gibi özelliklerinden dolayı gelecek için umut verici bir analitik yöntem olduğunu vurgulamışlardır (^aWang ve ark., 2009). Bununla birlikte NADH'nin fotoelektrokatalitik yükseltgenmesi Xu ve arkadaşları tarafından da gerçekleştirilmiş ve dopamin modifiye nanoporöz TiO₂ film elektrot ile duyar NADH tayini için yeni bir fotoelektrokimyasal metodoloji bulmuşlardır (^bWang ve ark., 2009).

BÖLÜM 2

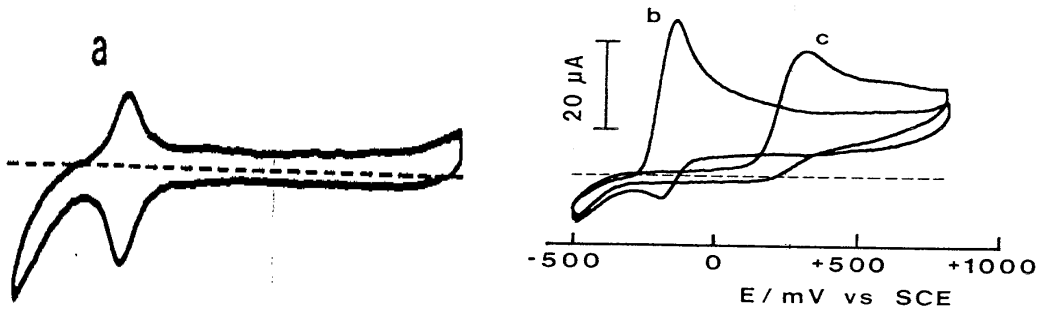
ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

2.1. Fenoksazinlerle Hazırlanmış Modifiye Elektrotlar ve Analitik Uygulamaları

2.1.1. NADPH'nin Elektrokatalitik Yükseltgenmesine Dayalı Yapılan Çalışmalar

Bu konuda yapılmış birkaç çalışma verecek olursak, bu yönde pek çok çalışması olan Gorton ve arkadaşları bir fenoksazin grubu boyar madde olan MdM'yi grafit elektrot yüzeyine adsorplayarak CME hazırlamış ve NADPH'nin elektrokatalitik yükseltgenmesini incelemişlerdir (Gorton ve ark., 1984). Şekil 10a MdM adsorplanmış grafit elektrodun 0,25 M fosfat tamponundaki döngüsel voltammogramını göstermektedir. Şekil 10'dan da görüldüğü gibi, MdM'ye ilişkin tersinir bir redoks çifti elde edilmiştir. Normal yalın elektrotta NADPH +400 mV da yükseltgenirken (Şekil 10c), modifiye elektrotta NADPH'nin yükseltgenmesi MdM'nin yükseltgenme potansiyeli olan -160 mV'a kaymıştır (Şekil 10b). NADPH varlığında MdM'ye ait anodik pik artarken, katodik pikte herhangi bir artış gözlenmemiştir. Bu sonuç MdM'nin NADPH ve dolayısıyla NADH'ye çok iyi bir elektrokatalitik etki yaptığını göstermektedir.

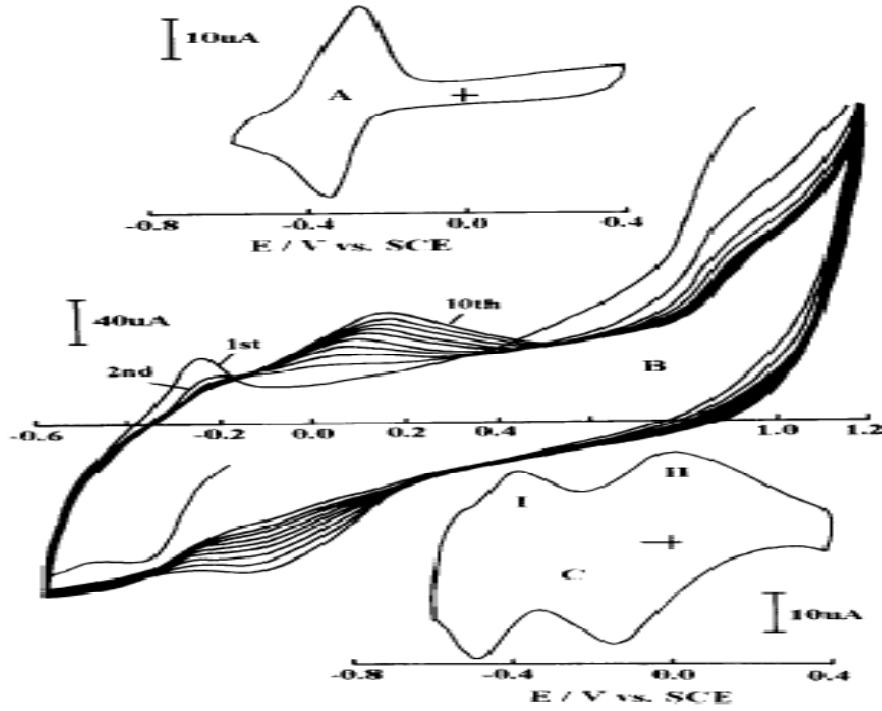
Gerçekleşen elektrokatalitik yükseltgenme ECE mekanizmasıyla açıklanmış ve döner disk elektrot sistemi kullanılarak katalitik hız sabitleri tayin edilmiştir.



Şekil 10. a) MdM ile modifiye grafit elektrodun, b) 3,1 mM NADPH'nin modifiye elektrottaki, c) 3,1 mM NADPH'nin yalın grafit elektrottaki döngüsel voltammogramı. Tarama hızı: 50 mV/s, destek elektrolit: 0,25 M fosfat tamponu (pH 7,0).

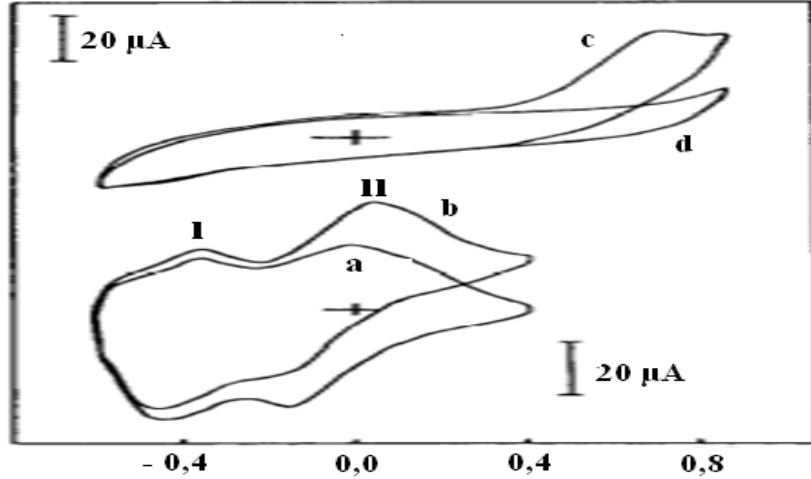
Bu alanda yapılan çalışmalardan bir diğerinde ise Cai ve Xue poli (nil mavisi A) (Poli-NM) boyar maddesini GCE yüzeyine elektropolimerizasyon yoluyla modifiye etmiş

ve elde edilen modifiye elektrotla NADH'nin elektrokatalitik yükseltgenmesini incelemişlerdir (Cai ve Xue., 1997). 5×10^{-4} mol/L NM'nin pH 6,8 fosfat ortamındaki elektropolimerizasyonu şekil 11'de görülmektedir. Şekilden görüldüğü gibi ilk döngüde monomerik NM'ye ilişkin piklerin gözlemlendiği, döngü sayısının artmasıyla da polimerik türe ait yeni piklerin oluştuğu gözlenmiştir.



Şekil 11. (A) ve (B) 100 mV/s tarama hızında pH 6,8 0,1 mol/L B-R fosfat tamponunda 5×10^{-4} mol/L NM içeren ortamda GCE'de alınmış döngüsel voltammogramlar. (C): (B)'de modifiye edilmiş elektrotla 50 mV/s tarama hızında 0,1 mol/L fosfat tampon çözeltide (pH 6,8) alınmış voltammogram. (A) ve (C) için potansiyel aralığı (-0,6) - (+0,4) V (B) için (-0,6) - (+1,2) V.

Şekil 12'de ise elde edilen Poli-NM modifiye GCE'nin NADH varlığında ve yokluğunda döngüsel voltammogramı görülmektedir. Şekilden görüldüğü gibi normal yalın GCE'de NADH yaklaşık +680 mV'da yükseltgenirken, Poli-NM modifiye elektrotta 20 mV'da yükseltgenmiştir. Böylece NM modifiye elektrot NADH'nin aşırı potansiyelini yaklaşık 660 mV daha negatife kaydırarak elektrokatalitik etki göstermiştir.



Şekil 12. 0,1 mol/L fosfat tampon çözeltisinde (pH 6,8) 5×10^{-4} mol/L NADH'nin Poli-NM modifiye elektrotta (b) ve yalın (c) GCE'de yükseltgenmesine ait döngüsel voltammogramlar. (a) ve (d) tarama hızı 50 mV/s'de NADH yokluğunda sırasıyla Poli-NM modifiye elektrot ve yalın elektrotla alınmış voltammogramlar.

Fenoksazin türü boyar maddelerle hazırlanmış CME'ler kullanarak NADH'nin elektrokatalitik yükseltgenmesi üzerine yapılan bazı çalışmalar Çizelge 3'de verilmiştir.

Çizelge 3. Fenoksazin türü boyar maddelerle hazırlanmış CME'ler kullanarak NADH'nin elektrokatalitik yükseltgenmesi üzerine yapılan bazı çalışmalar

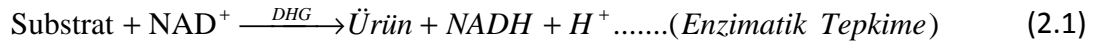
Medyatör	Modifiye Elektrot Şekli	Kullanılan Teknik	Açıklama	Referans
Meldola Mavisi	Grafit elektrot üzerinde adsorpsiyon	CV, RDE	-	Gorton ve ark., 1984.
	Sol-jel ile hazırlanmış SiO ₂ /TiO ₂ /grafit elektrot yüzeyinde adsorpsiyon	CV, AMP	A:0,018-7,29 mM B: 0,008 mM	Maroneze ve ark., 2008
	Screen printed grafit elektrot yüzeyinde elektropolimerizasyon	CV, AMP	A: 8-500 μM B:2,5 μM	^a Vasilescu ve ark., 2003
	MdM adsorplanmış Silikajel/Titanyum fosfat ile modifiye CPE	CV, AMP	A:1,0x10 ⁻⁵ -5,0x10 ⁻⁵ M	Kubota ve ark., 1996.

Meldola Mavisi	a)Grafit elektrot yüzeyinde elektropolimerizasyon; b) screen printed mürekkebinde karıştırılmış MdM'nin grafit elektroda adsorpsiyonu; c) Reinecke tuzu ile çöktürüldükten sonra MdM'nin grafit elektrot yüzeyine tutturulması	CV, AMP	a) A: 8×10^{-6} - 5×10^{-4} M B: 2×10^{-6} M b) A: 2×10^{-5} - $7,5 \times 10^{-4}$ M B: 1×10^{-5} M c) A: 2×10^{-5} - $7,5 \times 10^{-4}$ M B: 5×10^{-6} M	Vasilescu ve ark., 2003
	Sol-jel ile hazırlanmış SiO ₂ /TiO ₂ /Sb ₂ O ₅ /grafit elektrot yüzeyinde adsorpsiyon	CV, AMP	A:0,9-7290 mM B:0,003 mM C: 1V (SiO ₂ /TiO ₂ /Sb ₂ O ₅ /grafit elektrot)	Maroneze ve ark., 2010
	MdM adsorplanmış SWCNT-GCE yüzeyine tutturulması	CV, AMP	A:0,02-2,54 mM B: 0,4 µM C:305 mV (Ag/AgCl)	Arvinte ve ark., 2009.
	GCE yüzeyinde MM/ZnO hibrit film oluşturması	CV, AMP	A:50-300 µM B:10 µM C:600 mV(Ag/AgCl)	Kumar ve Chen, 2007.
	SWCNT tutturulmuş GCE yüzeyinde adsorpsiyon	CV, AMP	A:0,5 mM'a kadar doğrusal B:0,048 µM C:1000 mV'a yakın (Ag/AgCl)	Zhu ve ark., 2007
Nil Mavisi	GCE yüzeyinde elektropolimerizasyon	CV, RDE	C:660 mV(DKE) k:102 l/mol.s civarında	Cai ve Xue, 1997.
	Düzenli mezoporöz karbon kompozit tutturulmuş GCE yüzeyinde adsorpsiyon	CV, AMP	A: 350 µM'a kadar lineer B: 1,2µ M	Zhu ve ark., 2009.
	SWCNT tutturulmuş GCE yüzeyinde elektropolimerizasyon	CV	C:700 mV (DKE)	Du ve ark., 2007.
	NM adsorplanmış ZrP ile modifiye CPE	CV	A: 1×10^{-4} - 2×10^{-3} M B: 5 µM	Pessoa ve ark., 1997.
NM adsorplanmış niyobyum oksit modifiye silika jel ile CPE	CV, AMP	A: 1×10^{-5} - $5,2 \times 10^{-4}$ M B: k: $1,4 \times 10^3$ l/mol.s	Santos ve ark., 2002.	
Brilliant Kresil Mavisi	SWCNT tutturulmuş GCE yüzeyinde elektropolimerizasyon	CV, AMP	A: 3-104,2 µM B: 1 µM	Yang ve Liu, 2009
	BKM adsorplanmış exfoliated grafit elektrot ile modifiye karbon seramik elektrot	CV, AMP	A:0,02-1 mM (AMP için) B: 20 µM	Ramesh ve ark., 2003.

2.1.2. NADH'nin Elektrokatalitik Yükseltgenmesine Dayalı Geliştirilen Biyosensör Uygulamaları

Sensörler fiziksel olguları elektrik sinyallerine dönüştüren cihazlardır. Mekanik duyu organları da diyebileceğimiz bu cihazlar, çalışma şekillerine göre ve dönüştürücü adı verilen yapılarına göre çeşitlere ayrılmaktadır. Bunlardan en önemlileri olan kimyasal sensörler genellikle birbirine seri olarak bağlı iki basit bileşen içerir. Birincisi bir kimyasal (moleküler) tanıma sistemi (reseptör), ikincisi ise fizikokimyasal dönüştürücüdür (Thevenot ve ark., 2001). Biyosensörler de biyolojik yapıdaki analitleri hissedilen sensörler veya reseptör birimi biyomoleküler yapıda olan kimyasal sensörlerdendir.

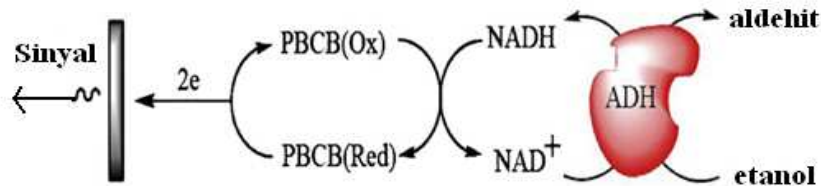
Son yıllarda modifiye elektrotlar kullanılarak $NAD^+/NADH$ redoks çiftine dayalı amperometrik biyosensörler üzerine oldukça fazla çalışma yapılmıştır (Katakis ve Dominguez, 1997; Lobo ve ark., 1997). $NADH$ 'ye bağlı ilk biyosensör, dehidrogenaz enzimleri varlığında substrat ile NAD^+ 'nin enzimatik tepkimesi sonucu oluşan $NADH$ 'nin temiz yalın elektrot yüzeyinde doğrudan elektrokimyasal yükseltgenmesine dayalı olarak geliştirilmiştir (Tepkime 2.1).



Bu sensörler birinci nesil biyosensör (first generation biosensor) olarak adlandırılmıştır. Bu tür biyosensörün en büyük dezavantajı, daha önce $NADH$ 'nin yalın elektrotlardaki yükseltgenmesi kısmında söz edilen yüksek aşırı potansiyel, elektrot yüzeyinin kirlenmesi ve düşük tekrarlanabilirlik ve kararlılıktır. Bu sakıncaları gidermeye yönelik çabaların sonucunda $NADH$ 'ye bağlı ikinci nesil biyosensör geliştirilmiştir (second generation biosensor). Bu tür sensörde, $NADH$ 'nin elektrokatalitik yükseltgenmesinde kullanılan redoks mediyatörle modifiye elektrotlar hazırlanarak, bu elektrotlarla enzimatik reaksiyon sonucu oluşan $NADH$ 'nin ölçümü esas alınmıştır. İkinci nesil biyosensör mekanizması sırasıyla, daha önce verilen tepkime (1.9), (1.10), (1.11) ve (1.12) ile ifade edilmiş ve alkol biyosensörü için Şekil 10'da gösterilmiştir. Üçüncü nesil biyosensörler (third generation biosensor) olarak adlandırılan flavoenzimlere bağlı biyosensörlerde ise enzimin aktif merkezi ve elektrot arasında bir elektron transferi gerçekleşmektedir.

Bu biyosensör türlerinden daha çok ikinci nesil biyosensör kullanılmıştır (Lobo ve ark., 1997). Özellikle, azin türü boyar maddelerle modifiye elektrotlar kullanılarak alkol, karbonhidrat ve glutamat biyosensörü geliştirilmiştir.

Biyosensörlerle ilgili yapılmış bir çalışmada, Yang ve Liu, tek çeperli karbon nanotüp (single walled carbon nanotube, SWCNT) tutturulmuş GCE yüzeyinde BKM elektropolimerizasyon yoluyla modifiye edilmiştir (Yang ve Liu, 2009). Hazırlanan bu modifiye elektrot önce NADH'nin elektrokatalitik yükseltgenmesinde kullanılmış, daha sonra etanol dehidrogenaz enzimi elektrot yüzeyine tutularak etanol biyosensörü geliştirilmiştir. Alkol dehidrogenaz/karbon nanotüp/Poli-BKM modifiye GCE'de etanol tayinine ilişkin akım-zaman eğrilerinden doğrusal yanıt aralığı 0,4-2,4 mM ve belirtme alt sınırı da 0,1 mM olarak bulunmuştur. Geliştirilen biyosensörün mekanizması, aşağıdaki şemayla gösterilmiştir.



Şekil 13. Poli-Brilliant Kresil Mavisi modifiye elektrot kullanılarak NADH'ye bağlı geliştirilen etanol biyosensörün şematik gösterimi.

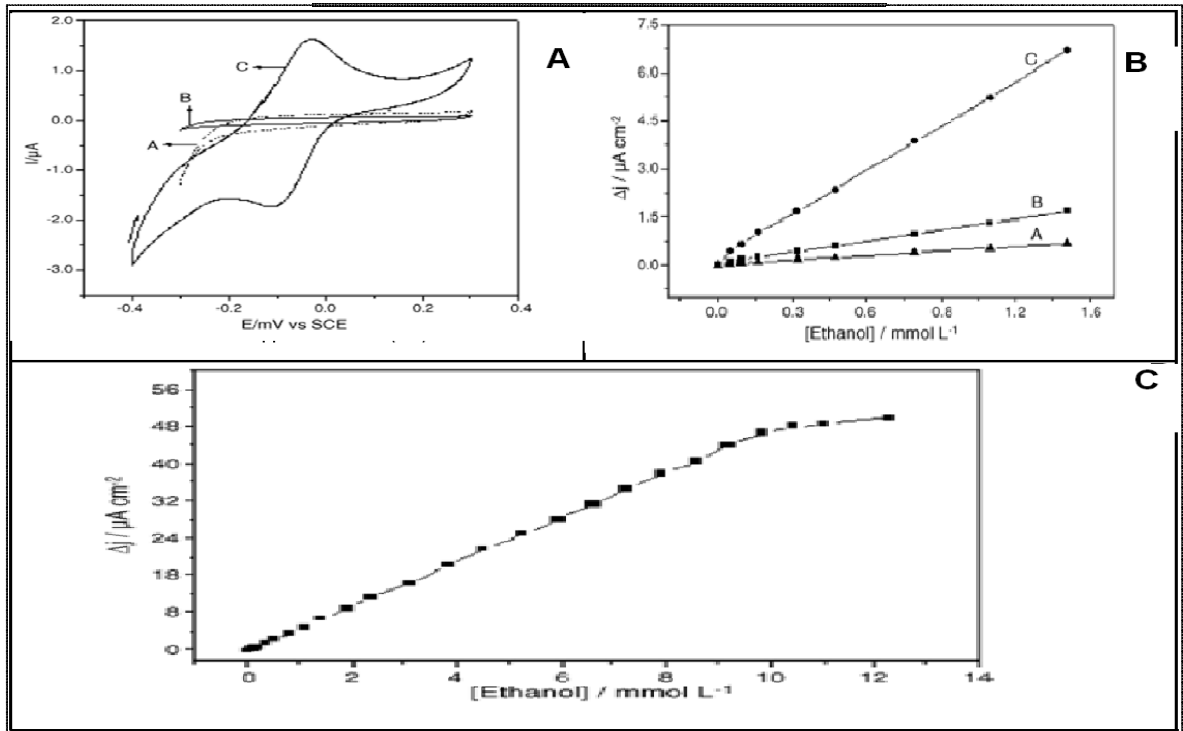
Sonuç olarak, modifiye elektrotlar kullanılarak NADH'ye bağlı biyosensörler yukarıda verilen şemadaki mekanizmaya göre geliştirilmiş ve etanol, glukoz, laktöz, glutamat vb. maddelerin tayini gerçekleştirilmiştir.

Bir başka çalışmada ise çok çeperli karbon nanotüp (Multiwalled carbon nanotube, MWCNT) MdM ile adsorpsiyon yoluyla modifiye edildikten sonra, alkol dehidrogenaz (ADH) enzimi glutaraldehit ile çapraz-bağlama metoduyla elektrot yüzeyine tutturulmuş ve bu şekilde etanol biyosensörü geliştirilmiştir (Santos ve ark., 2006).

Şekil 14A'da MWCNT (B), grafit elektrodun modifiye edilmiş halinin (A) ve MWCNT-MdM'nin (C), döngüsel voltammogramları görülmektedir. (A) ve (B)'de herhangi bir döngüsel voltammetrik pik görülmemesine rağmen, MWCNT-MdM için elde edilmiş voltammogramda anodik ve katodik pik akımları net bir şekilde görülmektedir.

Şekil 14 B’de ise ADH/grafit (A), ADH/MWCNT (B) ve ADH/MWCNT-MdM (C) ile elde edilen, etanol tayinine ilişkin amperometrik yanıtlar görülmektedir. ADH/grafit ve ADH/MWCNT ile 0,0 mV sabit potansiyelde elde edilen yanıt oldukça düşüktür. ADH/MWCNT ile elde edilen yanıtın biraz daha yüksek olmasının sebebi, MWCNT elektrodun bir dönüştürücü olarak daha yüksek iletkenlik göstermesi ve geniş yüzey alanı sağlayabiliyor olmasıdır. Ancak ADH/MWCNT-MdM biyosensörle elde edilen katalitik akım etanol için iyi bir duyarlılık göstermiştir (Santos ve ark., 2006).

Şekil 14 C’de ADH modifiye nanotüp elektrodun geniş bir doğrusal aralıkta etanol için duyarlılık gösterdiği görülmektedir. Tayin sınırı yaklaşık 5×10^{-6} mol/L etanol olarak bulunmuştur.



Şekil 14A. A) Grafit, B) MWCNT ve C) MWCNT-MdM ile elde edilen döngüsel voltammogramlar. (pH 7,0) 0,5 mol/L KCl çözeltisi. **14B.** Etanol için A) ADH/grafit, B) ADH/MWCNT, C) ADH/MWCNT-MdM biyosensörler ile alınmış amperometrik yanıt. Uygulanan potansiyel 0,0 mV, 0,1 mol/L fosfat tamponu (pH 7,5) **14C.** ADH/MWCNT-MdM biyosensör ile elde edilmiş analitik eğri. Uygulama potansiyeli 0,0 mV, 0,1 mol/L fosfat tamponu (pH 7,5).

Fenoksazin grubu redoks mediyatörler kullanılarak NADH’ye bağlı biyosensörler üzerine yapılan bazı çalışmalar Çizelge 4’de verilmiştir.

Çizelge 4. Fenoksazin grubu redoks mediyatörler ile NADH'ye bağlı biyosensörler üzerine yapılan bazı çalışmalar

Kullanılan elektrot	Enzim	Analit	Açıklama	Referans
BKM'nin SWCNT tutturulmuş GCE yüzeyinde elektropolimerizasyonu	ADH	Etanol	A: 0,4-2,4 mM B: 0,1 mM	Yang ve Liu, 2009.
MdM tutturulmuş SWCNT ile modifiye CPE hazırlanması	ADH	Etanol	A: 0,05-10 mM B: 5×10^{-6} M	Santos ve ark., 2006.
NM'nin SWCNT tutturulmuş GCE yüzeyinde elektropolimerizasyonu	ADH	Etanol	A: 0,1-3 mM B: 50 mM	Du ve ark., 2007.
MdM adsorplanmış Citosan ve MWCNT'nin GCE yüzeyine tutturulması	GIDH	Glutamat	B: 2 μ M	Chakraborty ve Raj, 2007.

*GCE: Camımsı karbon elektrot, SWCNT: Tek çeperli karbon nanotüp, MWCNT: Çok çeperli karbon nanotüp, MdM: Meldola mavisi, CPE: Karbon pasta elektrot, BKM: Brilliant kresil mavisi, NM: Nil mavisi.

BÖLÜM 3

MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Kullanılan Kimyasal Malzemeler

H₂SO₄ (% 95-97, d: 1,83 g/mL), H₃PO₄ (% 85, d: 1,71 g/mL), HCl (% 37, d: 1,19 g/mL), NaOH, Na₂HPO₄.2H₂O, NaH₂PO₄.2H₂O, NaNO₃, alümina (0,5 µm) Alfa Aesar, Brilliant Kresil Mavisi çinko klorür tuzu (C₁₇H₂₈ClN₃O.1/2ZnCl₂, BKM), Nil Mavisi sülfat tuzu (C₄₀H₄₀N₆O₆S, NM) Sigma firmasından, NADH'nin disodyum tuzu (Na₂NADH) Merck, etanol ise J.T. Baker firmalarından, argon gazı ve çözeltileri hazırlamak için kullanılan bidistile saf su Milli-Q (Millipore, Bedford, USA) cihazından sağlandı.

3.2. Kullanılan Cihazlar

Voltammetrik ve amperometrik ölçümler, Compactstat Electrochemical Interface (Ivium Technologies, Eindhoven, the Netherlands) cihazları kullanılarak gerçekleştirildi.

Voltammetrik ölçümler, 3 mm çapında GCE çalışma elektrodu, platin tel yardımcı elektrot, Ag/AgCl (doymuş KCl) elektrodu karşılaştırma elektrodu olacak şekilde üçlü elektrot sisteminde yapıldı. Çalışma elektrodu GCE, alümina ile parlatıldıktan sonra 3 dk sırasıyla etanol ve saf su içerisinde ultrasonik banyoda (Bandelin Sonorex RK 100H Ultrasonic bath) bekletildi. Fotoelektrokatalitik çalışmalarda elektrot yüzeyi Fiber optikli 250 W halojen lamba (fiber optic illuminator 250 W halogen bulb with Foi-5-light guide, Titan Tool Supply Inc., USA) ile aydınlatıldı. Tüm çözeltilerin pH'ı kombine cam elektrotlu (Hanna HI 1332) Hanna HI 221 pH metre kullanılarak ayarlandı. Hazırlanan standart NADH çözeltilerinin, 340 nm dalga boyunda absorbanlarını ölçmek için Spektrofotometre (Perkin Emler Lambda 35 Uv-Vis Spectrometer) cihazı kullanıldı.

3.3. Yöntem

Öncelikle çalışılacak boyar maddelerin (NM, BKM) 10⁻² M'lık stok çözeltileri hazırlandı. Her biri 0,1 M NaNO₃ içeren; 0,1M H₂SO₄, 0,1M H₃PO₄ ve pH'ı 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 olan 0,1 M fosfat tamponu ya da çözeltisi destek elektrolitlerinde çalışıldı. Voltammogramlar, oksijeni uzaklaştırmak için destek elektrolitten 5 dk argon gazı geçirildikten sonra alındı.

NM ve BKM mediyatörleri ile de modifiye elektrot hazırlanılarak, NADH'nin bu modifiye elektrotlarla elektrokatalitik ve fotoelektrokatalitik yükseltgenme çalışmaları başarılı bir şekilde gerçekleştirildi. Bu mediyatörlere ilişkin amperometrik ve fotoamperometrik çalışmalar da gerçekleştirildi.

NADH'ye en iyi yanıtı veren modifiye elektrodu belirlemek için seçilen redoks mediyatörlerin GCE yüzeyinde elektropolimerizasyonuna destek elektrolit türü veya pH'nın, monomer derişiminin, döngü sayısının ve potansiyel çalışma aralığının etkisi incelendi.

3.4. Stok NADH Çözeltisinin (5×10^{-2} M) Hazırlanması

NADH'nin disodyum tuzundan (MA: 709,5 g/mol) 0,1774 g tartılarak, 5 ml argon gazı geçirilmiş pH 7,0 fosfat tamponunda çözüldü. Hazırlanan çözeltiler, kullanma süresi hariç ağız kapalı renkli şişelerde, karanlık ve buzdolabında muhafaza edildi. Ara ve standart çözeltiler, bu stok çözeltilerden belli hacim alınarak argon gazı geçirilmiş pH 7,0 fosfat tamponu ile seyreltilerek hazırlandı. Tüm NADH çözeltileri günlük olarak hazırlandı. Seyreltilen tüm NADH çözeltilerinin, 340 nm dalga boyunda bir spektrofotometreden absorbansları okunarak, molar absorplama katsayısı değeri yardımıyla ($A=\epsilon lC$) derişimleri kontrol edildi.

3.5. Stok Brilliant Kresil Mavisi (BKM) Çözeltisinin (1×10^{-3} M) Hazırlanması

BKM (MA: 771,92 g/mol)'dan 0,03860 g tartılıp, saf su veya 0,1 M NaNO_3 içeren 0,1M H_3PO_4 çözeltisinde çözümlenerek 50 ml'lik balon jogenin çizgisine kadar tamamlandı.

3.6. Stok Nil Mavisi (NM) Çözeltisinin (1×10^{-3} M) Hazırlanması

NM (MA: 732,84 g/mol)'dan 0,0366 g tartılıp, mutlak etanolde çözümlenerek 50 ml'lik balon jogenin çizgisine kadar tamamlandı.

3.7. Elektropolimerizasyon Esnasında Kullanılan Destek Elektrolit Çözeltilerinin Hazırlanması

3.7.1. 0,1 M NaNO_3 İçeren 0,1 M H_3PO_4 Çözeltisinin Hazırlanması

% 85'lik yoğunluğu 1,71 g/ml olan H_3PO_4 'den, bir pipetle 6,74 ml alınıp ve NaNO_3 'dan 8,499 g tartılıp az miktar saf su içeren 1 L'lik balon jojeye ilave edilerek yine saf su ile balon jogenin çizgisine kadar tamamlandı.

3.7.2. 0,1 M NaNO_3 İçeren 0,1 M H_2SO_4 Çözeltisinin Hazırlanması

% 95-97'lik yoğunluğu 1,83 g/ml olan H_2SO_4 'den, bir pipetle 5,58 ml alınıp ve NaNO_3 'dan 8,499 g tartılıp az miktar saf su içeren 1 L'lik balon jojeye ilave edilerek yine saf su ile balon jogenin çizgisine kadar tamamlandı.

3.8. Fosfat Tampon ve Fosfat Çözeltilerinin Hazırlanması

pH 2-10 arasında değişen ve 0,1 M NaNO₃ içeren fosfat tampon ve fosfat çözeltileri; aşağıdaki çözeltilerin uygun karışımları pH metreden kontrol edilerek hazırlandı.

3.8.1. 0,1 M NaNO₃ içeren 0,1 M NaOH Çözeltisinin Hazırlanması

4 g NaOH ve 8,449 g NaNO₃ tartılarak, az miktar saf suda çözüldükten sonra 1 L'lik balon jojenin çizgisine kadar saf su ile tamamlandı.

3.8.2. 0,1 M NaNO₃ içeren 0,1 M NaH₂PO₄ Çözeltisinin Hazırlanması

15,602 g NaH₂PO₄.2H₂O ve 8,449 g NaNO₃ tartılarak, az miktar saf suda çözüldükten sonra 1 L'lik balon jojenin çizgisine kadar saf su ile tamamlandı.

3.8.3. 0,1 M NaNO₃ içeren 0,1 M Na₂HPO₄ Çözeltisinin Hazırlanması

17,799 g Na₂HPO₄.2H₂O ve 8,449 g NaNO₃ tartılarak, az miktar saf suda çözüldükten sonra 1 L'lik balon jojenin çizgisine kadar saf su ile tamamlandı.

3.9. NADH'nin Elektrokatalitik ve Fotoelektrokatalitik Yükseltgenmesinde Kullanılan Destek Elektrolit Çözeltisinin Hazırlanması

pH 7,0 fosfat tampon çözeltisi NaNO₃ içermeyecek şekilde yukarıdaki çözeltilerin (nitratsız çözeltileri) uygun karışımları pH metre ile kontrol edilerek hazırlandı.

3.10. Poli-BKM Modifiye GCE Hazırlanması

3.10.1. En Uygun Destek Elektrolit pH'nın Belirlenmesi

Deneyel çalışmalarda, her biri 0,1 M NaNO₃ içeren; 0,1M H₂SO₄, 0,1M H₃PO₄ ve pH'ı 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 olan 0,1 M fosfat tamponu ve fosfat çözeltileri destek elektrolitlerinde 0,05 mM BKM'nin GCE üzerinde elektropolimerizasyon işlemleri, -0,7 ile +1,2 potansiyel aralığında ve 100 mV/s tarama hızında gerçekleştirilerek Poli-BKM/GCE'ler hazırlanmıştır.

Poli-BKM modifiye elektrodun karakterizasyonu; her bir destek elektrolit için elde edilen Poli-BKM/GCE'nin voltammetrik davranışı, pH'sı 7,0 olan 0,1 M fosfat tamponu ortamında, -0,8 ile +0,8 V potansiyel aralığında, 50 mV/s tarama hızında, döngüsel voltammogramları kaydedilerek incelendi.

Poli-BKM modifiye elektrotların NADH ortamındaki elektrokimyasal davranışının incelenmesi; her bir destek elektrolit için elde edilen Poli-BKM/GCE'nin, 0,4 mM NADH içeren 0,1 M pH 7,0 fosfat tamponu ortamında, -0,8 ile +0,8 V potansiyel aralığında, 50 mV/s tarama hızında döngüsel voltammogramları kaydedildi. Yalın GCE'le de 0,4 mM NADH'nin elektrokimyasal davranışı aynı koşullarda incelenerek Poli-BKM/GCE ile karşılaştırıldı.

3.10.2. En uygun Monomer Derişiminin Belirlenmesi

0,1 M NaNO₃ içeren 0,1 M H₃PO₄ ortamında BKM derişimi 0,005 ile 0,1 mM arasında farklı değerlerde olacak şekilde hazırlanan çözeltilerin -0,7 ile +1,2 V potansiyel aralığında, 100 mV/s tarama hızında, 10 döngü sayılı voltammogramları alınarak, Poli-BKM/GCE'ler elde edildi.

BKM modifiye elektrodun karakterizasyonu ve Poli-BKM modifiye elektrotların NADH ortamındaki elektrokimyasal davranışının incelenmesi en uygun destek elektrolitin belirlenmesi basamağındaki gibi gerçekleştirildi.

3.10.3. En Uygun Döngü Sayısının Belirlenmesi

9,9 ml'lik destek elektrolite BKM derişimi 0,01 mM olacak şekilde 10⁻³ M stok BKM çözeltilisinden 100 µL ilave edildi. -0,7 ile +1,2 V potansiyel aralığında, 100 mV/s tarama hızında, farklı döngü sayılarında döngüsel voltammogramlar alınarak, Poli-BKM/GCE'ler elde edildi.

BKM modifiye elektrodun karakterizasyonu ve Poli-BKM modifiye elektrotların NADH ortamındaki elektrokimyasal davranışının incelenmesi en uygun destek elektrolitin belirlenmesi basamağındaki gibi gerçekleştirildi.

3.10.4. En Uygun Potansiyel Aralığının Belirlenmesi

Poli-BKM/GCE hazırlamak için 0,1 M NaNO₃ içeren 9,9 ml'lik 0,1 M H₃PO₄ destek elektrolitine, BKM derişimi 0,01 mM olacak şekilde 100 µL 10⁻³ M stok BKM'den ilave edilerek, 100 mV/s tarama hızında, 10 döngü sayısında, anodik bölgenin potansiyel değeri 600 ile 1600 mV arasında değiştirilerek voltammogramlar kaydedildi. BKM modifiye elektrodun karakterizasyonu ve Poli-BKM modifiye elektrotların NADH ortamındaki elektrokimyasal davranışının incelenmesi en uygun destek elektrolitin belirlenmesi basamağındaki gibi gerçekleştirildi.

3.11. Poli-NM Modifiye GCE Hazırlanması

3.11.1. En Uygun Destek Elektrolit pH'ının Belirlenmesi

Deneysel çalışmalarda, her biri 0,1 M NaNO₃ ve % 30 etil alkol içeren; 0,1M H₂SO₄, pH'ı 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 olan 0,1 M fosfat tamponu ve fosfat çözeltileri destek elektrolitlerinde 0,08 mM NM'nin GCE üzerinde elektropolimerizasyon işlemleri, -0,7 ile +1,2 V potansiyel aralığında ve 100 mV/s tarama hızında gerçekleştirilerek Poli-NM/GCE'ler hazırlanmıştır.

Poli-NM modifiye elektrotların NADH ortamındaki elektrokimyasal davranışının incelenmesi; her bir destek elektrolit için elde edilen Poli-NM/GCE'nin, 0,4 mM NADH

içeren 0,1 M pH 7,0 fosfat tamponu ortamında, -0,8 ile +0,8 V potansiyel aralığında, 50 mV/s tarama hızında döngüsel voltammogramları kaydedildi. Yalın GCE'le de 0,4 mM NADH'nin elektrokimyasal davranışı aynı koşullarda incelenerek Poli-NM/GCE ile karşılaştırıldı.

3.11.2. En Uygun Monomer Derişiminin Belirlenmesi

0,1 M NaNO₃ ve %30 etanol içeren 0,1 M pH 4,0 fosfat tamponu ortamında NM derişimi 0,02 ile 0,2 mM arasında farklı değerlerde olacak şekilde hazırlanan çözeltilerin -0,7 ile +1,2 V potansiyel aralığında, 100 mV/s tarama hızında, 10 döngü sayılı voltammogramları alınarak, Poli-NM/GCE'ler elde edildi.

NM modifiye elektrodun karakterizasyonu ve Poli-NM modifiye elektrotların NADH ortamındaki elektrokimyasal davranışının incelenmesi en uygun destek elektrolitin belirlenmesi basamağındaki gibi gerçekleştirildi.

3.11.3. En Uygun Döngü Sayısının Belirlenmesi

9,2 ml'lik destek elektrolite NM derişimi 0,08 mM olacak şekilde 10⁻³ M stok NM çözeltilisinden 800 µL ilave edildi. -0,7 ile +1,2 V potansiyel aralığında, 100 mV/s tarama hızında, farklı döngü sayılarında döngüsel voltammogramlar alınarak, Poli-NM/GCE'ler elde edildi.

NM modifiye elektrodun karakterizasyonu ve Poli-NM modifiye elektrotların NADH ortamındaki elektrokimyasal davranışının incelenmesi en uygun destek elektrolitin belirlenmesi basamağındaki gibi gerçekleştirildi.

3.11.4. En Uygun Potansiyel Aralığının Belirlenmesi

Poli-NM/GCE hazırlamak için 0,1 M NaNO₃ ve % 30 etanol içeren 9,2 ml'lik 0,1 M pH 4,0 fosfat tamponu destek elektrolitine, NM derişimi 8x10⁻⁵ M olacak şekilde 800 µL 10⁻³ M stok NM'den ilave edilerek, 100 mV/s tarama hızında, 8 döngü sayısında, anodik bölgenin potansiyel değeri 600 ile 1400 mV arasında değiştirilerek voltammogramlar kaydedildi.

NM modifiye elektrodun karakterizasyonu ve Poli-NM modifiye elektrotların NADH ortamındaki elektrokimyasal davranışının incelenmesi en uygun destek elektrolitin belirlenmesi basamağındaki gibi gerçekleştirildi.

3.12. Modifiye Elektrotların Karakterizasyonu

Tüm modifiye elektrotlar uygun koşullarda hazırlandıktan sonra saf su ile yıkanıp kullanıma hazır hale getirildi. Her bir modifiye elektrodun pH'ı 2 ile 9 arasında değişen 0,1 M fosfat tamponu veya fosfat çözeltilisi ortamında, -0,8 ile +0,8 V, potansiyel

aralığında, 50 mV/s tarama hızında, döngüsel voltammogramları alınarak, modifiye elektrotların pik akım ve potansiyellerine pH'ın etkisi incelendi.

Her bir modifiye elektrodun voltammetrik davranışı pH'ı 7 olan 0,1 M fosfat tamponu ortamında, tarama hızı 20-6400 mV/s arasında değişen farklı tarama hızlarında döngüsel voltammogramları (potansiyel aralığı, -0,8 ile +0,8 V) alınarak modifiye elektrotlara farklı pH'larda tarama hızının etkisi incelendi.

Her bir modifiye elektrodun voltammetrik davranışı 0,1 M pH 7,0 fosfat tamponu ortamında, tarama hızı 50 mV/s tarama hızında 200 veya 300 döngü sayılı voltammogramları (potansiyel aralığı, -0,8 ile +0,8 V) alınarak modifiye elektrotların pik akımlarının döngü sayısı ile ne kadar azaldığı incelendi.

3.13. Modifiye Elektrotlarla NADH'nin Elektrokatalitik ve Fotoelektrokatalitik Yükseltgenmesinin İncelenmesi

3.13.1. Döngüsel Voltammetri Yöntemiyle

Elde edilen modifiye elektrotlara ışığın etkisinin olup olmadığını tespit etmek için elde edilen her bir modifiye elektrodun 0,1 M pH 7,0 fosfat tamponunda ve 50 mV/s tarama hızında elektrot yüzeyine 250 W'luk ışık düşürülerek ve düşürülmeden döngüsel voltammogramları kaydedildi.

Modifiye elektrotların NADH'ye fotoelektrokatalitik etki gösterip göstermediğini tespit etmek için, 0,4 mM NADH'nin 0,1 M pH 7,0 fosfat tamponunda, her bir modifiye elektrot için ışıklı ve ışiksiz ortamda döngüsel voltammogramları kaydedilmiştir.

3.13.2. Amperometrik Yöntemle

3.13.2.1. Uygulama Potansiyelinin Belirlenmesi

Her bir modifiye elektrotun, 10 mL 0,1 M pH 7,0 fosfat tamponu içeren destek elektrolit ortamında -100 ile + 600 mV arasında değişen uygulama potansiyellerinde akım zaman eğrileri kaydedildi. Her bir potansiyelde akım yatışkın hal (steady state) konumuna geldikten sonra, önce ortamda NADH yok iken yüzey ışıklandırılarak modifiye elektrodun akımının ışıkla etkilenip etkilenmediği incelendi. Sonra ortamdaki derişimi 0,2 mM olacak şekilde stok NADH çözeltisinden (5×10^{-2} M) 40 μ L ilave edilip karıştırıldıktan sonra, çözelti karıştırılmaksızın NADH'nin akımı zamana karşı izlendi, belli bir süre sonunda ise yüzey tekrar ışıklandırılarak NADH'nin fotoamperometrik akımı izlendi. Karşılaştırma yapabilmek için aynı işlemler yalnız GCE için de tekrarlandı.

3.13.2.2. En Uygun Potansiyelde Farklı Derişimlerde NADH'nin Elektrokatalitik ve Fotoelektrokatalitik Akım Değerlerinin Kaydedilmesi

Her bir modifiye elektrot için bulunan en uygun potansiyelde, yine 10 mL 0,1 M pH 7,0 fosfat tamponu içeren destek elektrolit ortamında akım zaman eğrileri kaydedildi.

Akım yatışkın hal konumuna geldikten sonra NADH'nin 1×10^{-6} - 1×10^{-3} M aralığında değişen derişimlerdeki akım-zaman eğrileri önce yüzey ışıklandırılmadan, sonra ışıklandırılarak kaydedildi. Bu değerlerden yararlanılarak hem elektrokatalitik hem de fotoelektrokatalitik metod için kalibrasyon grafiği elde edildi.

BÖLÜM 4

ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA

4.1. Modifiye Elektrotların Hazırlanması

Modifiye elektrotların hazırlanmasında modifiye elektrodun elde edildiği en uygun koşuldan ziyade, modifiye elektrotların NADH'nin elektrokatalitik yükseltgenmesine verdiği en iyi yanıt dikkate alınarak optimum koşullar belirlendi. NADH'nin elektrokatalitik yükseltgenmesine en iyi yanıtı veren optimum modifiye elektrodu elde etmek için, öncelikle sırasıyla farklı destek elektrolit, monomer derişimi, döngü sayısı ve potansiyel çalışma aralıklarında (özellikle anodik potansiyel sınırı değiştirilerek) redoks mediyatörlerin GCE yüzeyinde elektropolimerizasyonu gerçekleştirildi. Daha sonra elde edilen modifiye elektrotların NADH'nin yükseltgenmesine verdiği elektrokatalitik yanıt incelendi.

4.2. Poli-BKM Modifiye GCE

Poli-BKM/GCE'nin hazırlanması esnasındaki destek elektrolitin NADH'nin elektrokatalitik yükseltgenmesine etkisini belirlemek için, 0,1 M NaNO₃ içeren 0,1 M H₂SO₄, 0,1 M H₃PO₄ ve pH'ı 2-10 arasında değişen fosfat tamponu veya fosfat çözeltisi destek elektrolitlerinde, 100 mV/s tarama hızında, 10 döngü sayısında, -0,7 ile +1,2 V potansiyel aralığında, 0,01 mM BKM'nin döngüsel voltammogramları alınarak modifiye elektrotlar hazırlandı.

Daha sonra pH'ı farklı destek elektrolitlerde hazırlanan Poli-BKM/GCE'lerin pH'ı 7,0 fosfat tamponu ortamında 0,4 mM NADH'nin döngüsel voltammogramı alınarak, NADH'nin elektrokatalitik yükseltgenmesi incelendi.

BKM'nin de GCE yüzeyinde elektropolimerizasyonu asidik bölgelerde zorlaşırken nötral ve bazik bölgelerde daha belirgin gözlenmiştir. Ancak, zayıf asidik bölgede elde edilen Poli-BKM/GCE'lerin NADH'ye daha iyi elektrokatalitik etki gösterdiği pik akım yüksekliklerinden belirlenmiştir.

Şekil 15A, 0,01 mM BKM'nin, 0,1 M NaNO₃ içeren 0,1 M H₃PO₄ ortamında ve GCE yüzeyinde elektropolimerizasyonuna ilişkin döngüsel voltammogramı göstermektedir. İlk döngüde 170 mV (anodik) ve 110 mV (katodik) da görülen tersinir piklerin monomerik BKM'ye ait olduğu, ancak yaklaşık 950-1100 mV'da gözlenmesi gereken katyonik radikalın oluşumuna ait tersinmez anodik pikin bu potansiyel aralığında çok iyi görülmediği şekilden anlaşılmaktadır. Asidik ortamda bu potansiyel aralığında elektropolimerizasyonun çok iyi olmadığı sonucuna varılmıştır.

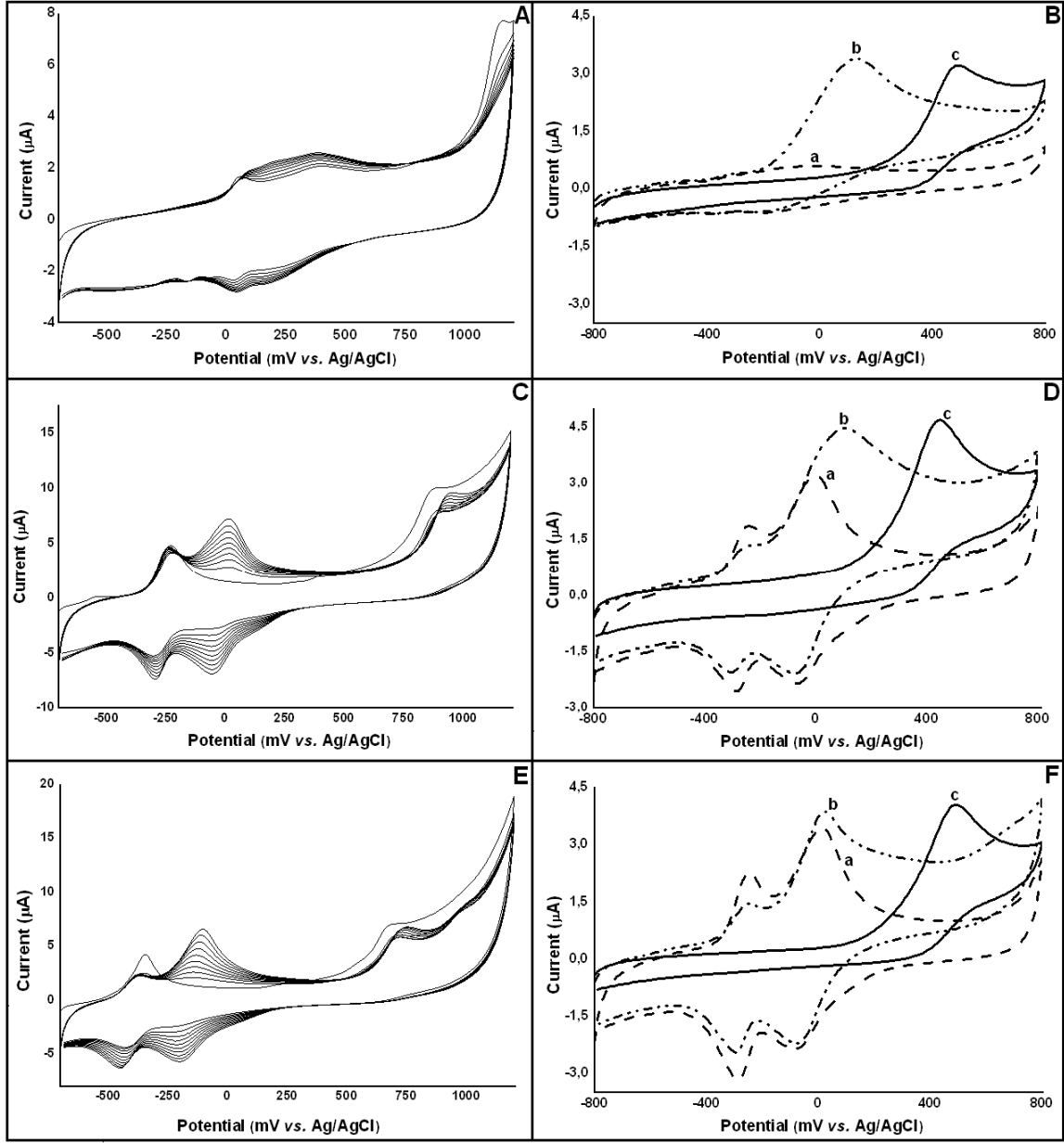
Şekil 15B, 0,1 M H_3PO_4 ortamında elde edilen Poli-BKM/GCE'nin 0,1 M pH 7,0 fosfat tamponunda NADH'siz ve 0,4 mM NADH ortamında, 50 mV/s tarama hızında ve (-0,8) – (+0,8) V potansiyel aralığında kaydedilen döngüsel voltammogramlarını göstermektedir. Ayrıca karşılaştırma yapabilmek için yalın GCE'de, 0,4 mM NADH'nin voltammogramı da kaydedilmiştir. Poli-BKM/GCE'nin 0,1 M pH 7,0 fosfat tamponundaki voltammogramında monomerik redoks çiftlerine ait piklerin çok iyi gözlenmediği, ancak polimerik türe ait anodik ve katodik piklerin, çok belirgin olmamakla birlikte sırasıyla yaklaşık +60 mV ve -80 mV'da gözlendiği tespit edilmiştir (Şekil 15/a). NADH'nin yükseltgenme piki; yalın elektrotta yaklaşık 500 mV'da gözlenirken (Şekil 15B/c), Poli-BKM modifiye elektrotta polimerik türe ait anodik pikin gözlendiği potansiyele yakın bir potansiyele (200 mV'a) kaymıştır (Şekil 15B/b). -10 mV'da görülen Poli-BKM'ye ait modifiye elektrodun polimerik türüne ait anodik pik akımının NADH ortamında arttığı, ancak -90 mV da görülen katodik pikte herhangi bir değişim olmadığı şekilde görülmektedir. Sonuç olarak asidik ortamda elektropolimerizasyon çok iyi olmamasına rağmen, asidik ortamda elde edilen Poli-BKM/GCE'nin NADH'ye karşı iyi bir elektrokatalitik etki gösterdiği saptanmıştır.

Şekil 15C 0,01 mM BKM'nin, 0,1 M $NaNO_3$ içeren pH 7,0 fosfat çözeltisindeki elektropolimerizasyonuna ilişkin döngüsel voltammogramlarını göstermektedir. İlk döngüde -200 mV (anodik) ve -250 mV'da (katodik) görülen tersinir piklerin monomerik BKM'ye, yaklaşık 900 mV'da görülen tersinmez anodik pikinde monomere ait katyonik radikal oluşumuna ait olduğu literatür bilgileriyle desteklenmiştir (Ghica ve Brett, 2009). İkinci döngüde +50 mV da yeni bir anodik pikin ve -40 mV'da da yeni bir katodik pikin oluştuğu ve döngü sayısının artmasıyla bu piklerin arttığı şekilden görülmektedir. Aynı şekilde 900 mV'da ki pikin ise azaldığı görülmektedir. Bu yeni oluşan pikler, BKM'nin GCE yüzeyinde elektropolimerizasyonunun gerçekleştiğini göstermektedir.

Şekil 15D ise pH 7,0'de elde edilen Poli-BKM/GCE'nin NADH'ye elektrokatalitik yanıtını göstermektedir. Poli-BKM/GCE'nin 0,1 M pH 7,0 fosfat tamponundaki voltammogramında monomerik redoks çiftlerine ait pikler -250 mV (anodik) ve -300 mV (katodik) da polimerik türe ait anodik ve katodik pikler de, sırasıyla yaklaşık +20 mV ve -20 mV da görülmektedir (Şekil 15D/a). NADH'nin yükseltgenmesi ise yaklaşık 100 mV'a kaymıştır (Şekil 15D/b).

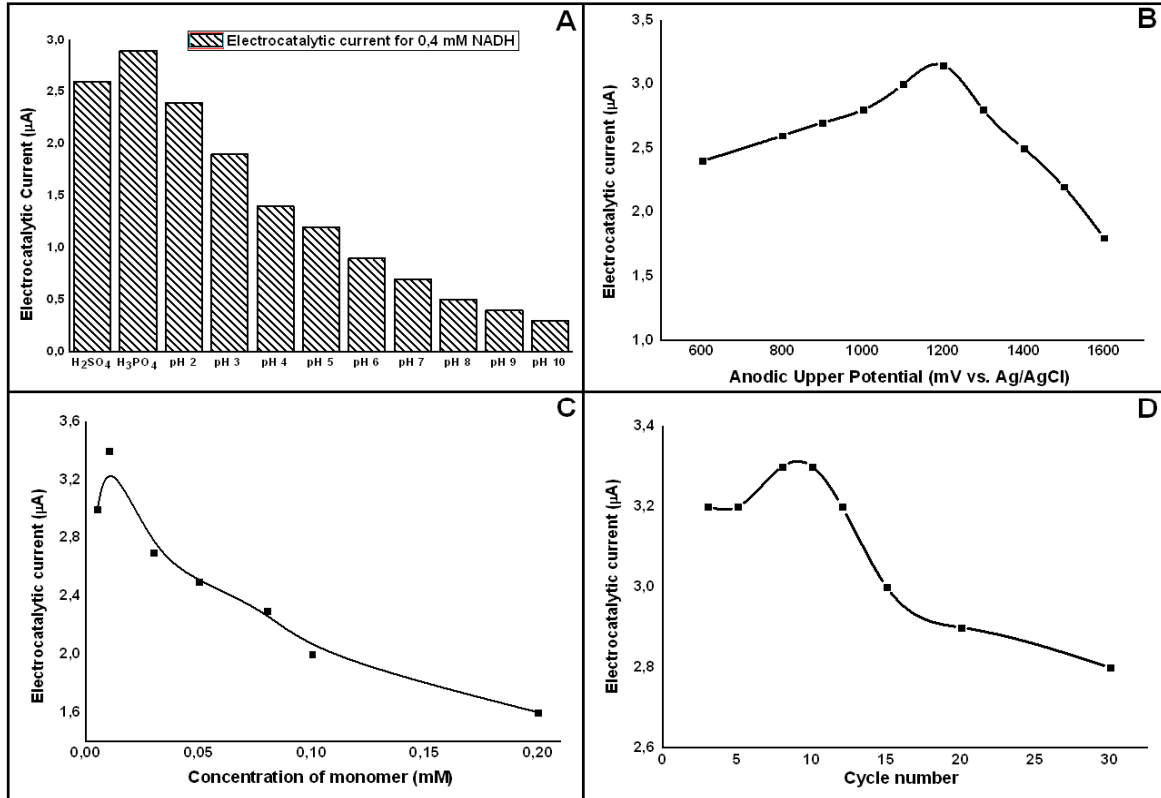
Şekil 15E ise en iyi elektropolimerizasyonun gerçekleştiği 0,1 M pH 10 fosfat çözeltisindeki BKM'nin GCE üzerindeki elektropolimerizasyonunu göstermektedir. İlk

döngüde monomerik türe ait pikler -340 mV (anodik), -410 mV (katodik), katyonik radikalik türün oluşumuna ait anodik tersinmez pik ise 680 mV'da gözlenmiştir. Döngü sayısının artmasıyla polimerik türe ait piklerin oluştuğu (yaklaşık -110 mV (anodik) ve -190 mV (katodik)) gözlenmiştir. Elde edilen modifiye elektrodun 0,1 M pH 7,0 fosfat tamponundaki döngüsel voltammogramı ve NADH ortamındaki döngüsel voltammogramı Şekil 15F'de verilmiştir. Şekilden bu ortamda elde edilen modifiye elektrodun NADH'ye yanıtının çok iyi olmadığı; hem pik akım farklarından (yaklaşık 1 μ A), hem de NADH'nin daha pozitif potansiyelde (yaklaşık 100 mV) yükseltgenmesinden anlaşılmaktadır. Bu olayın nedeni, bazik ortamda elektropolimerizasyonun çok iyi olmasından dolayı elektrot yüzeyindeki polimerik film kalınlığının ve dolayısıyla elektrot alanına düşen polimerik BKM'nin miktarının fazla olmasına bağlanmıştır. Bu da NADH'ye olan yanıtı sınırlamaktadır.



Şekil 15. 0,01 mM BKM'nin, 0,1 M NaNO₃ içeren **A)** 0,1 M H₃PO₄ **C)** pH 7,0 ve **E)** pH 10,0 fosfat tamponu/fosfat çözeltileri destek elektrolitlerinde ardışık olarak alınan döngüsel voltammogramları (tarama hızı: 100 mV/s). **B, D ve F)** Sırasıyla A, C ve E' den elde edilen Poli-BKM/GCE'nin (a) NADH yokluğunda ve (b) 0,4 mM NADH varlığındaki (c) yalın GCE'nin 0,4 mM NADH varlığındaki döngüsel voltammogramları (destek elektrolit: 0,1 M pH'ı 7,0 fosfat tamponu; tarama hızı: 50 mV/s).

NADH'ye en iyi yanıt veren Poli-BKM/GCE, 0,01 mM BKM'nin (Şekil 16C), 0,1 M NaNO₃ içeren 0,1 M H₃PO₄ destek elektrolitinde (Şekil 15A ve 16A), -0,7 ile +1,2 V potansiyel aralığında (Şekil 16B) ve 100 mV/s tarama hızında 10 döngülü (Şekil 16D) döngüsel voltammogramları kaydedilerek elde edilmiştir. Polimerizasyon mekanizması literatürde de önerildiği gibi, oluşan radikallerin dimerleşme ve ardından polimerleşmeye gitmesiyle açıklanabilir (Ramesh ve ark., 2003; Ghica ve Brett, 2009; Yang ve Liu, 2009).



Şekil 16. Poli-BKM/GCE'nin hazırlanması esnasındaki **A)** destek elektrolitin, **B)** anodik potansiyel sınırının, **C)** monomer derişiminin, **D)** döngü sayısının 0,4 mM NADH'nin elektrokatalitik pik akımına etkisi.

Poli-BKM/GCE'nin hazırlanması esnasındaki anodik üst potansiyel değerinin, NADH'nin elektrokatalitik yükseltgenmesine etkisini belirlemek için, katodik potansiyel değeri -0,7 V'da sabit tutulup, anodik potansiyel değeri +0,6 ile +1,6 V arasında değiştirilerek, 0,1 M NaNO₃ içeren 0,1M H₃PO₄ destek elektrolitlerinde, 100 mV/s tarama hızında, 10 döngü sayısında, 0,01 mM BKM'nin döngüsel voltammogramları kaydedildi.

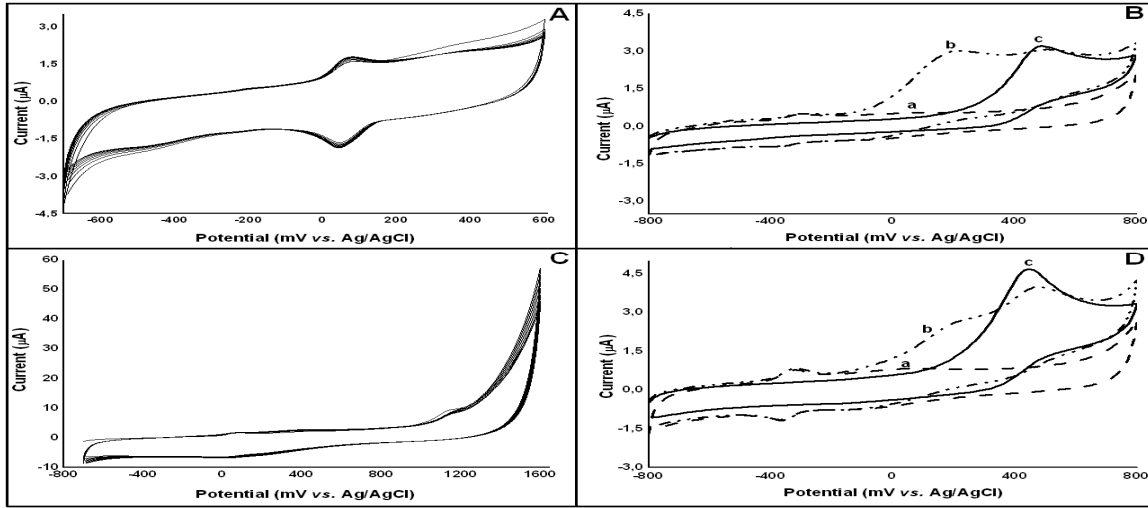
Daha sonra farklı potansiyel aralığında hazırlanan Poli-BKM/GCE'lerin pH'ı 7,0 fosfat tamponu ortamında 0,4 mM NADH'nin döngüsel voltammogramı alınarak, NADH'nin elektrokatalitik yükseltgenmesi incelendi.

Elektropolimerizasyon işlemi -0,7 ile + 0,6 V aralığında gerçekleştirildiğinde, +90 mV ve +60 mV'da BKM'nin monomerik türüne ait redoks çiftinin gözleendiği, fakat polimerik türe ait yeni piklerin oluşmadığı gözlenmiştir (Şekil 17A). Bunun nedeni polimerizasyon mekanizmasının yorumlanmasıyla açıklanabilir. Literatürde bahsedildiği gibi, BKM'nin elektropolimerizasyon mekanizmasında önce katyonik radikal formun oluşması ve oluşan radikalik türlerin rezonans ile aromatik halkaya geçmesi ve C-C bağları ya da C-N bağlarının oluşumu ile dimerleşme ve polimerleşme gerçekleşmektedir (Ramesh ve ark., 2003; Ghica ve Brett, 2009; Yang ve Liu, 2009). Daha önce destek elektrolit belirlenmesinde yorumlanan Şekil 15C'de de görüldüğü gibi, radikalik tür yaklaşık 1150 mV'da gözlenmiştir. O halde -0,7 ile +0,6 V aralığında elektropolimerizasyon işleminin gerçekleşmemesi radikalik formun oluşması için gerekli olan potansiyelin uygulanmamış olmasından kaynaklanmaktadır. Şekil 17B ise bu elektrodun NADH'siz ve 0,4 mM NADH ortamındaki döngüsel voltammogramlarını göstermektedir. Elektropolimerizasyonun bu potansiyel aralığında gerçekleşmemesinden dolayı polimerik türe ait pikler görülmemiş, sadece adsorpsiyondan dolayı monomerik türlere ilişkin pikler gözlenmiştir (Şekil 17B/a). Bu elektrot ile NADH'nin elektrokimyasal davranışı incelendiğinde, elektrokatalitik etkinin gözlenmediği (Şekil 17B/b) ve NADH'nin büyük bir kısmının NADH'nin yalnız elektrotta yükseltendiği potansiyelde (yaklaşık 510 mV, Şekil 17B/c) yükseltendiği ortaya konmuştur.

Potansiyel aralığı -0,7 ile +1,2 V aralığında elde edilen Poli-BKM/GCE'nin, NADH'siz ve 0,4 mM NADH ortamındaki döngüsel voltammogramı daha önce Şekil 15B'de verilmiştir. Bu elektrot ile NADH'nin elektrokimyasal davranışı incelendiğinde, elektrokatalitik etkinin çok iyi gözleendiği şekilde görülmektedir. NADH yalnız elektrotta yaklaşık +500 mV'da yükseltgenirken, Poli-BKM/GCE'de +150 mV'da yükseltgenmiştir. Böylece NADH'nin potansiyeli yaklaşık 350 mV daha negatife kaymıştır.

Şekil 17C'de ise anodik pik potansiyel aralığı 1600 mV kadar arttırıldığında O₂ çıkışına ait aşırı akımın olması polimerizasyonun oluşumuna zarar vermekte ve polimerik piklerin oluşumunu engellemektedir. Bu elektrot ile NADH'nin elektrokimyasal davranışı incelendiğinde, elektrokatalitik etkinin de çok iyi gözlenmediği Şekil 17D'de görülmektedir.

Elde edilen elektrokatalitik akımlar elektropolimerizasyon esnasında kullanılan anodik potansiyel sınır değerlerine karşı grafiğe geçirilmiş ve Şekil 16B elde edilmiştir. Elektropolimerizasyonun gerçekleşmesi için gerekli olan radikalik türün oluşum potansiyelinden (yaklaşık 1140 mV) daha düşük potansiyelerde ardışık döngüsel voltammogramlar alındığında, elde edilen Poli-BKM/GCE'lerin NADH'ye karşı iyi bir elektrokatalitik etki göstermediği şekilden görülmektedir. En iyi elektrokatalitik etkinin, elektropolimerizasyon esnasında potansiyel aralığının -0,7 ile +1,2 V arasında elde edilen Poli-BKM/GCE için gözlemlendiği şekilden görülmektedir. BKM'nin elektropolimerizasyonu, anodik pik potansiyel değeri +1,2 V'dan daha büyük potansiyelerde gerçekleştiğinde, elde edilen Poli-BKM/GCE'lerin NADH'ye elektrokatalitik etkisi gittikçe azalmıştır. Bunun nedeni, daha büyük potansiyelerde O₂ çıkışından dolayı polimerik türün bozulması şeklinde yorumlanabilir.



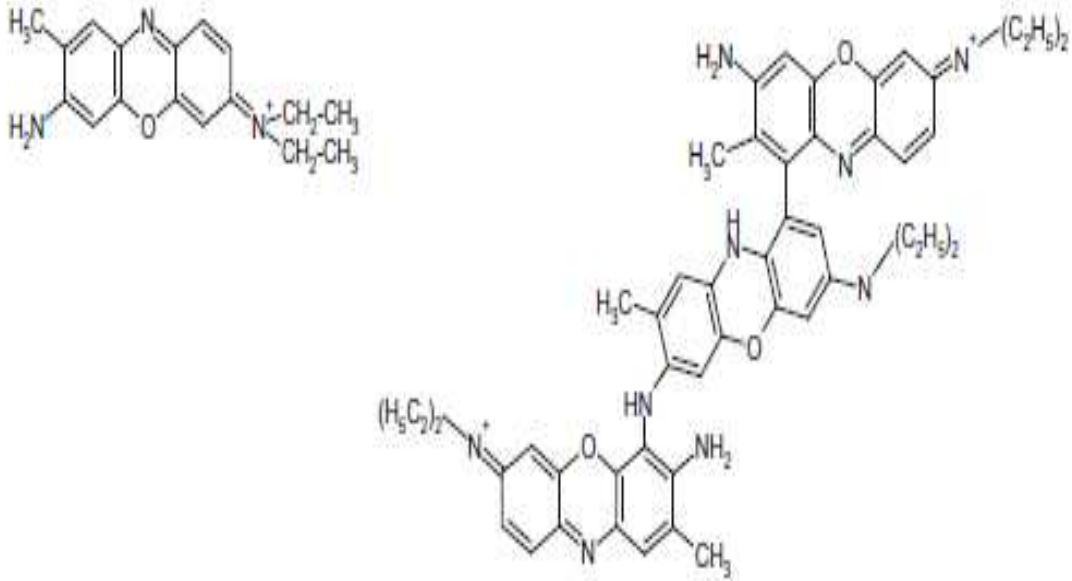
Şekil 17. 0,01 mM BKM'nin, 0,1 M NaNO₃ içeren 0,1 M H₃PO₄ destek elektrolitinde **A)** (-0,7) – (+0,6) V **C)** (-0,7) – (+1,6) V potansiyel aralığında ardışık olarak alınan döngüsel voltammogramları (tarama hızı: 100 mV/s). **B ve D)** Sırasıyla A ve C' den elde edilen poli-BKM/GCE'nin (a) NADH yokluğunda ve (b) 0,4 mM NADH varlığındaki, (c) yalın GCE'nin 0,4 mM NADH varlığındaki döngüsel voltammogramları (destek elektrolit: 0,1 M pH'ı 7,0 fosfat tamponu; tarama hızı: 50 mV/s).

Benzer deneyler monomer derişimi ve döngü sayısı için de tekrarlanmış, NADH'nin elektrokatalitik yükseltgenmesine en iyi yanıt veren modifiye elektrot; 0,01 mM monomer derişimi ortamında (Şekil 16C) ve 10 döngülü (Şekil 16D) voltammogramları alınarak hazırlandığında elde edilmiştir.

Sonuç olarak, NADH'ye en iyi yanıtı elde etmek için, BKM'nin GCE yüzeyinde elektropolimerizasyonu basamağındaki en uygun koşullar; a) destek elektrolit: 0,1 M NaNO₃ içeren 0,1M H₃PO₄ fosfat tamponu, b) potansiyel aralığı: (-0,7) – (+1,2) V, c) monomer derişimi: 0,01 mM, d) döngü sayısı: 10 döngü olarak belirlenmiş, e) tarama hızı: 100 mV/s olarak alınmıştır.

4.2.1. BKM'nin Elektropolimerizasyon Mekanizması

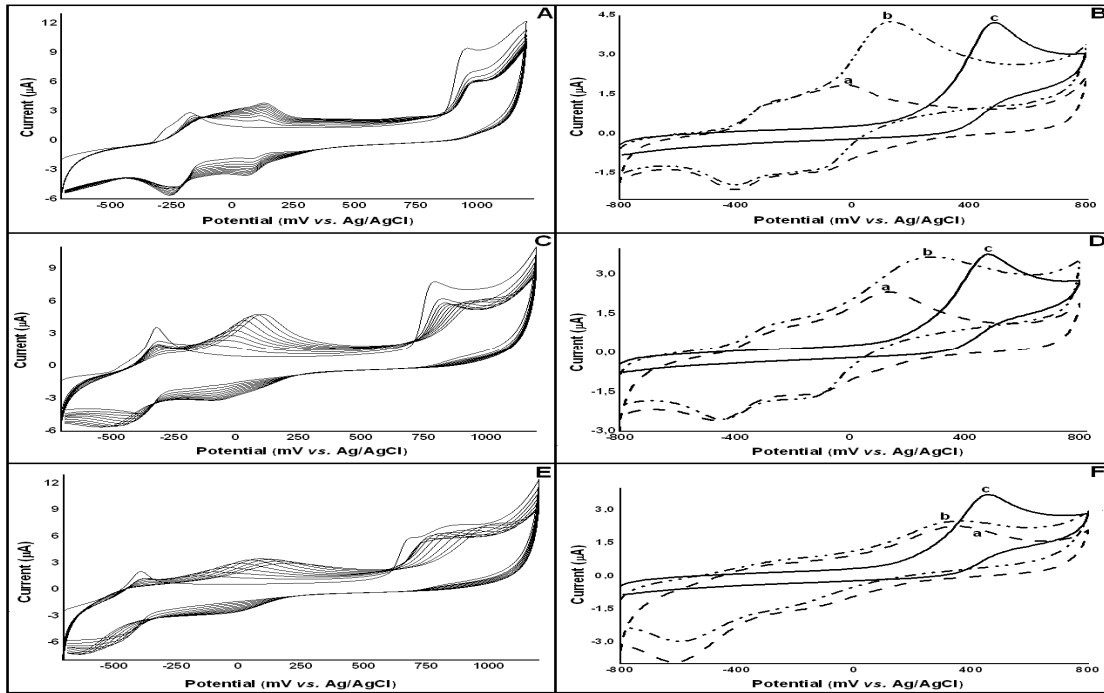
BKM'nin GCE yüzeyinde elektropolimerizasyonunun gerçekleşmesi için yüksek potansiyel değerlerinde (destek elektrolite bağlı olarak yaklaşık 1000-1200 mV) kararsız katyonik radikalik türün oluşumuna ait tersinmez bir anodik pikin oluşması gerekir (Ramesh ve ark., 2003; Ghica ve Brett, 2009; Yang ve Liu, 2009). Oluşan radikalik form aromatik yapıda delokalize olur ve son olarak da olası dimerizasyon tepkimeleri radikal-radikal kaplingi (C-N veya C-C) oluşur. Bu aşamayı, döngü sayısının artmasıyla polimerizasyon izler. Şekil 18'de BKM'ye ait monomerik ve oluşan trimerik yapı verilmiştir.



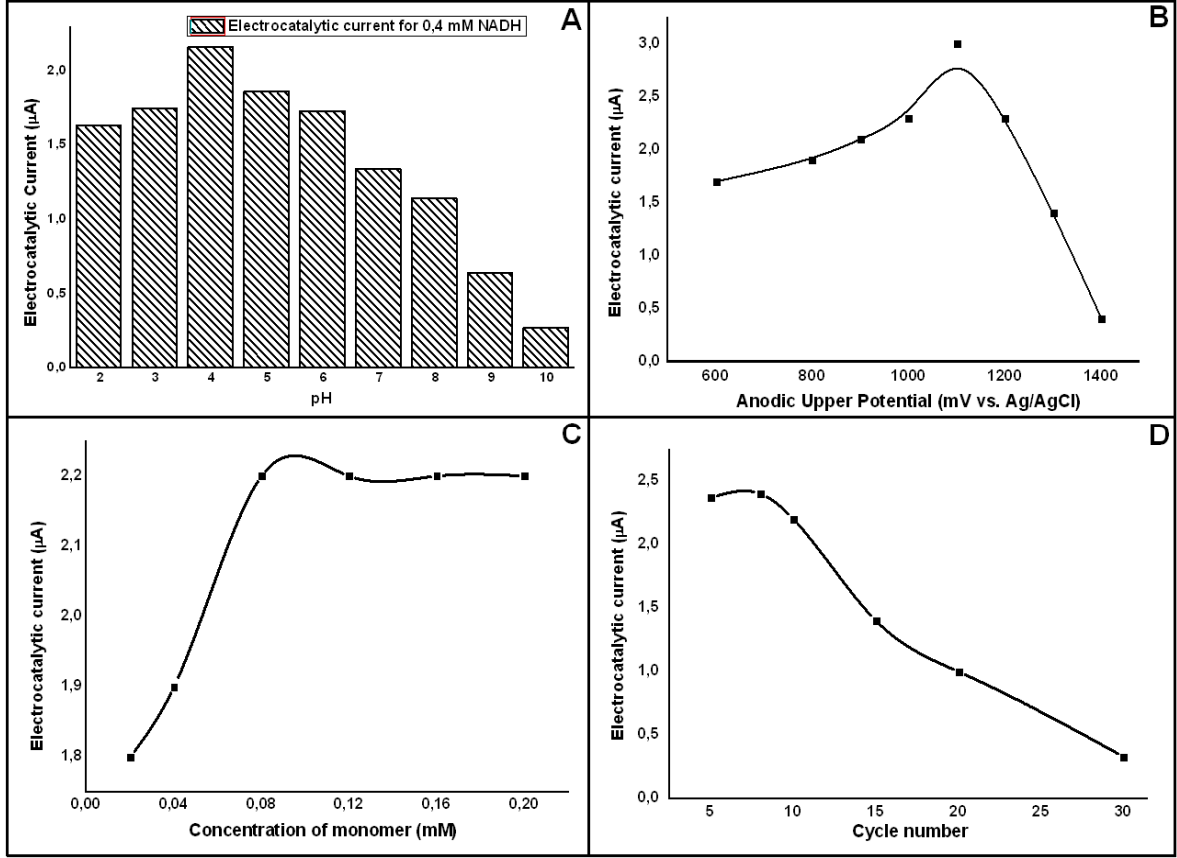
Şekil 18. BKM'ye ait monomerik ve trimerik yapı (Ghica ve Brett, 2009).

4.3.Poli-NM Modifiye GCE

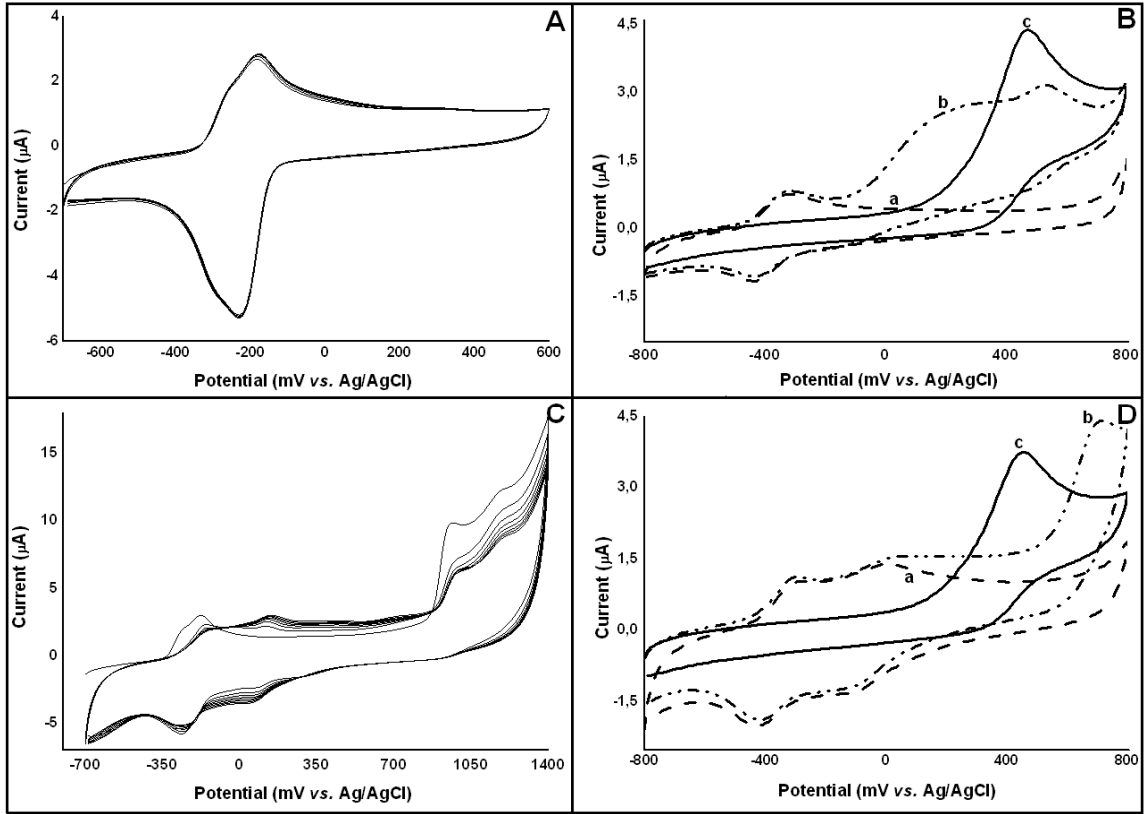
NM'nin elektropolimerizasyonunun optimum koşullarını belirlemek için elde edilen bazı voltammogramlar ve sonuçlar sırasıyla Şekil 19, 20 ve 21'de verilmiştir. NM'nin GCE yüzeyinde elektropolimerizasyonu asidik ve bazik bölgelerde zorlaşırken nötral bölgelerde daha belirgin gözlenmiştir. Ancak, zayıf asidik bölgede elde edilen Poli-NM/GCE'lerin NADH'ye daha iyi elektrokatalitik etki gösterdiği pik akım yüksekliklerinden belirlenmiştir. NADH'ye en iyi yanıt veren Poli-NM/GCE, 0,08 mM NM'nin (Şekil 20 C), 0,1 M NaNO₃ ve %30 etanol içeren pH 4,0 fosfat çözeltisi destek elektrolitinde (Şekil 20A), -0,7 ile +1,1 V potansiyel aralığında (Şekil 20B) ve 100 mV/s tarama hızında 8 döngülü (Şekil 20D) döngüsel voltammogramları kaydedilerek elde edilmiştir. Polimerizasyon mekanizması literatürden de önerildiği gibi, oluşan radikallerin dimerleşme ve ardından polimerleşmeye gitmesiyle açıklanabilir (Ramesh ve ark., 2003; Du ve ark., 2007; Chen ve ark., 2008).



Şekil 19. 0,08 mM NM'nin, 0,1 M NaNO₃ ve %30 etanol içeren **A)** pH 4,0 **C)** pH 7,0 ve **E)** pH 10,0 fosfat tamponu/fosfat çözeltileri destek elektrolitlerinde ardışık olarak alınan döngüsel voltammogramları (tarama hızı: 100 mV/s). **B, D ve F)** Sırasıyla A, C ve E' den elde edilen Poli-NM/GCE'nin (a) NADH yokluğunda ve (b) 0,4 mM NADH varlığında (c) yalnız GCE'nin 0,4 mM NADH varlığında döngüsel voltammogramları. (destek elektrolit: 0,1 M pH'ı 7,0 fosfat tamponu; tarama hızı: 50 mV/s).



Şekil 20. Poli-NM/GCE'nin hazırlanması esnasındaki **A)** destek elektrolitin **B)** anodik potansiyel limitinin **C)** monomer derişimin **D)** döngü sayısının, 0,4 mM NADH'nin elektrokatalitik pik akımına etkisi.



Şekil 21. 0,08 mM NM'nin, 0,1 M NaNO₃ ve %30 etanol içeren pH 4,0 fosfat çözeltisi destek elektrolitinde **A**) (-0,7) – (+0,6) V **C**) (-0,7) – (+1,6) V potansiyel aralığında ardışık olarak alınan döngüsel voltammogramları (tarama hızı: 100 mV/s). **B ve D**) Sırasıyla A ve C' den elde edilen Poli-NM/GCE'nin (a) NADH yokluğunda ve (b) 0,4 mM NADH varlığındaki (c) yalın GCE'nin 0,4 mM NADH varlığındaki döngüsel voltammogramları (destek elektrolit: 0,1 M pH'ı 7,0 fosfat tamponu; tarama hızı: 50 mV/s).

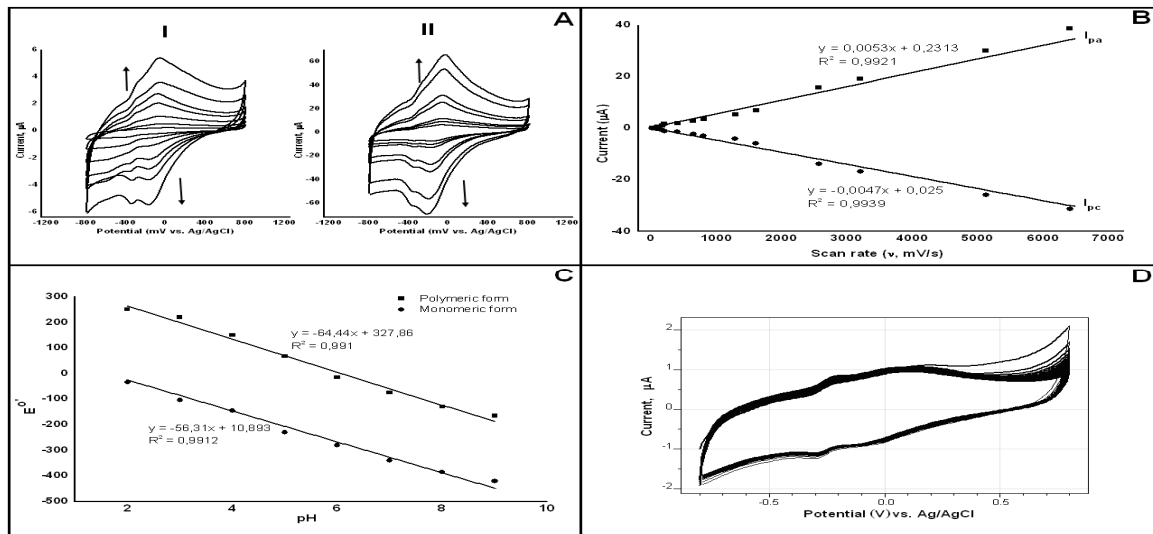
4.4.Modifiye Elektrotların Karakterizasyonu

Optimum koşullarda hazırlanan her bir modifiye elektrodun, 20-6400 mV/s arasında değişen farklı tarama hızlarında ve 0,1 M pH 7,0 fosfat tamponunda döngüsel voltammogramları kaydedilerek, tarama hızına karşı pik akımları değişimi incelendi. BKM ve NM modifiye elektrotların farklı tarama hızlarında elde edilen voltammogramları (A) ve bu voltammogramların değerlendirilmesiyle elde edilen pik akımlarına karşı tarama hızları grafiği (B) sırasıyla Şekil 22 ve 23'de verilmiştir. Şekillerden görüldüğü gibi fenoksazin

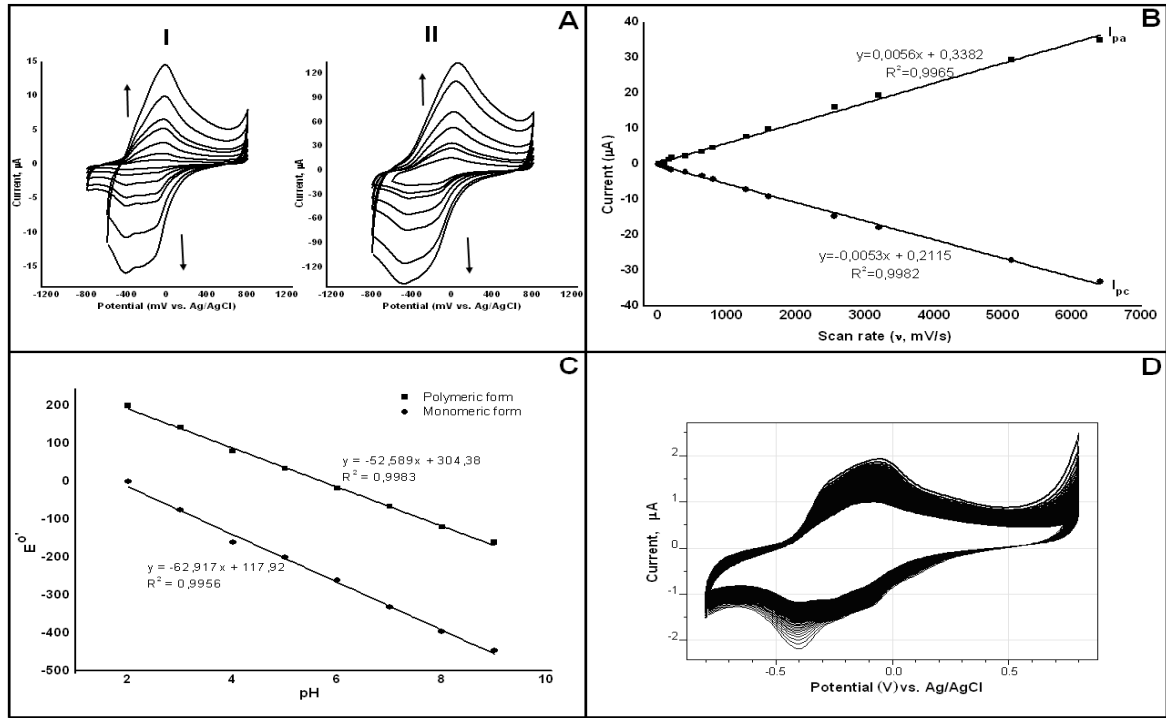
türü boyar maddelerle elde edilen modifiye elektrotların pik akımlarının ise 20-6400 mV/s arasında doğrusal olarak değiştiği tespit edilmiştir.

Aynı şekillerin C ile gösterilen kısmında farklı pH'larda alınan voltammogramlardan polimerik ve monomerik türe ait anodik ve katodik pik potansiyelinin pH ile değişimi gösterilmiştir. Her bir modifiye elektrodun farklı pH'larda kaydedilen döngüsel voltammogramlarından formal potansiyel değerleri ($E^0 = [E_a + E_k]/2$) hesaplanarak pH'a karşı elde edilen grafiklerinde polimerik türün pH 2 ile 10 arasında pH arttıkça, eğimin -59 mV'a yakın değerlerde çıkması, bu modifiye elektrotların redoks olayında $2 e^-$ ve $2H^+$ 'nin katıldığını yansıtmaktadır. Benzer yorumlar literatürde de yapılmıştır (Ghica ve Brett, 2009).

Yine şekillerin D ile gösterilen kısımda ise her bir modifiye elektrodun pH 7,0 fosfat tamponunda elde edilen 200-300 döngülü döngüsel voltammogramları kaydedilerek kararlı olup olmadıkları incelenmiştir. Modifiye elektrotların monomerik ve polimerik türüne ait piklerin döngü sayısının artmasıyla azaldığı, ancak azalmanın yaklaşık 150-200 döngüden sonra daha da azaldığı ve kararlı olduğu söylenebilir.



Şekil 22. Poli-BKM/GCE'nin A) 0,1 M pH 7,0 fosfat tamponunda ve farklı tarama hızlarındaki (I: 20, 50, 100, 160, 200, 400, 640 II: 800, 1280, 1600, 2560, 3200, 5120, 6400 mV/s) döngüsel voltammogramları B) pik akımlarının tarama hızı ile değişim grafiği C) E^0 değeri ile pH değişim grafiği D) 50 mV/s tarama hızındaki 300 döngü sayılı voltammogramı.

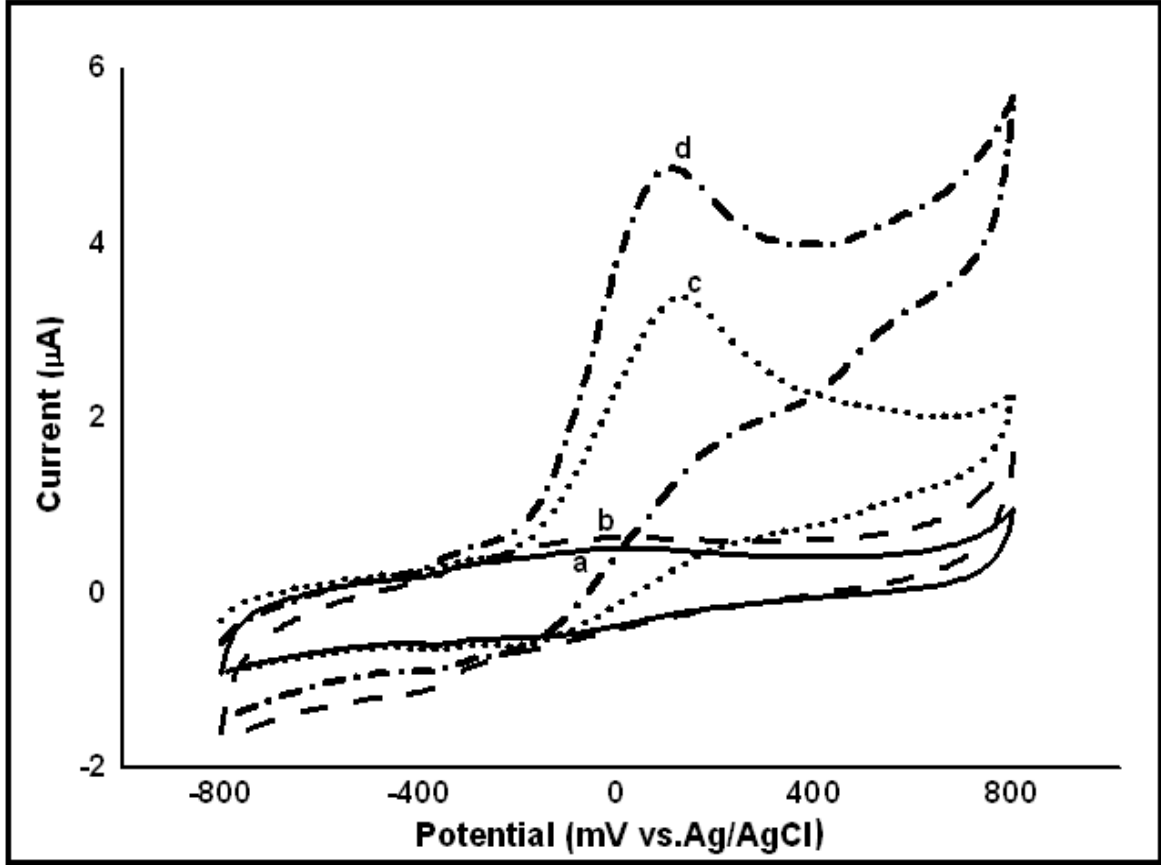


Şekil 23. Poli-NM/GCE'nin A) 0,1 M pH 7,0 fosfat tamponunda ve farklı tarama hızlarındaki (I: 20, 50, 100, 160, 200, 400, 640 II: 800, 1280, 1600, 2560, 3200, 5120, 6400 mV/s) döngüsel voltammogramları B) pik akımlarının tarama hızı ile değişim grafiği C) E^0 değeri ile pH değişim grafiği D) 50 mV/s tarama hızındaki 250 döngü sayılı voltammogramı.

4.5.Hazırlanan Modifiye Elektrotlarla NADH'nin Elektrokatalitik ve Fotoelektrokatalitik Yükseltgenmesi

4.5.1.Döngüsel Voltammetrik Yöntemle

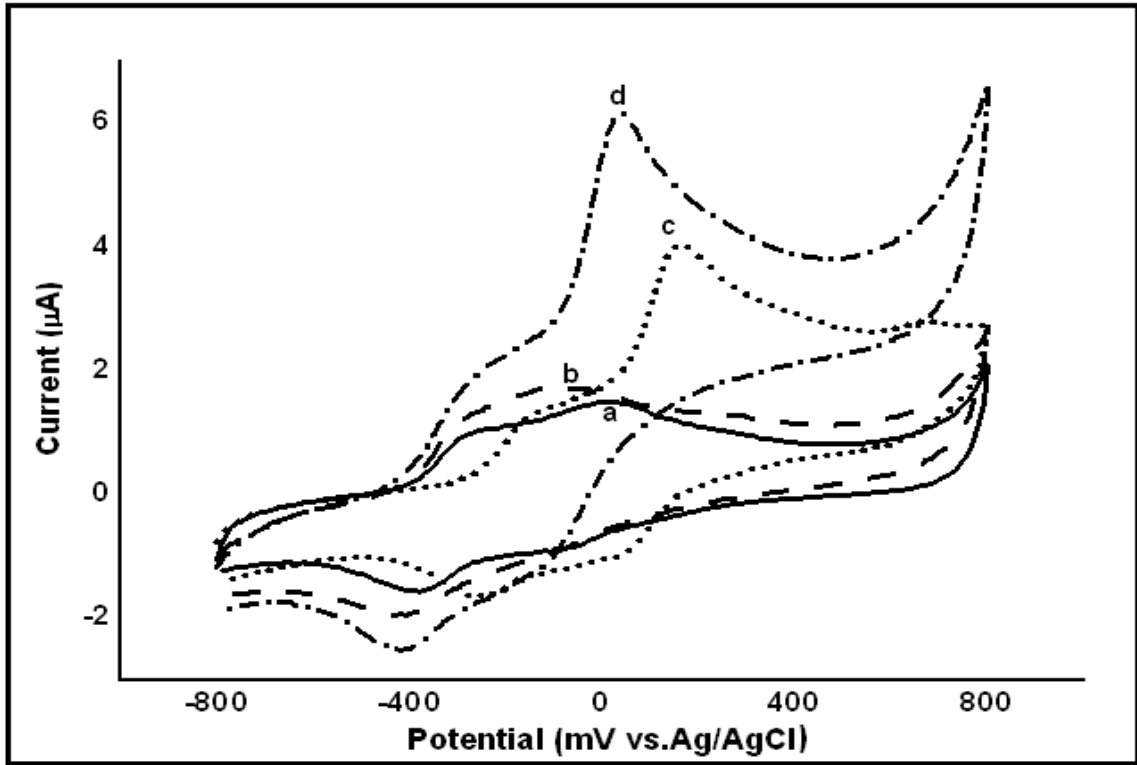
Şekil 24a ve 24b, Poli-BKM/GCE'nin ışısız ve ışıklı ortamdaki voltammogramlarını göstermektedir. Şekilden modifiye elektrota ışığın bir etkisinin olmadığı görülmektedir. 0,4 mM NADH'nin Poli-BKM/GCE kullanılarak kaydedilen döngüsel voltammogramda (Şekil 24c) NADH'nin +160 mV'da yükseltgendiği gözlenmiş ve yalın elektrota göre (+ 510 mV) 390 mV kaymıştır. Modifiye elektrot yüzeyine ışık düşürüldüğünde ise potansiyel 110 mV'a kayarak pik akım yüksekliğinin yaklaşık 1,5 kat arttığı (Şekil 24d) gözlenmiştir. Bu artış Poli-BKM/GCE'nin NADH'ye fotoelektrokatalitik etki gösterdiğini kanıtlamaktadır.



Şekil 24. Poli-BKM/GCE'nin a) ışksız ve b) ışıklı ortamdaki döngüsel voltammogramı; 0,4 mM NADH'nin Poli-BKM/GCE kullanılarak c) ışksız ve d) ışıklı ortamdaki döngüsel voltammogramı. Tarama Hızı: 50 mV/s, destek elektrolit: 0,1 M pH: 7,0 fosfat tamponu.

Uygun koşullarda elde edilen Poli-NM/GCE'nin 0,4 mM NADH ortamındaki ışıklı voltammogramı alındığında elektrokatalitik akımda artış olmadığı hatta azaldığı ve NADH'nin bir kısmında yalın elektrotta yükseltgendiği bölgede yükseltgenme pikinin gözlemlendiği tespit edilmiştir. Bu durum elektrot yüzeyinde NADH'nin fotoelektrokatalitik yükseltgenmesi için yeterli miktarda polimerik türün olmadığı ve ışıkla bu ince filmin bozulduğu sonucuna bağlanabilir. Bunun için bundan sonraki çalışmalarda NM derişimi 0,2 mM olacak şekilde uygun koşullarda elektropolimerizasyon işlemi gerçekleştirildi ve NADH'nin elektrokatalitik ve fotoelektrokatalitik yükseltgenmesinde kullanıldı.

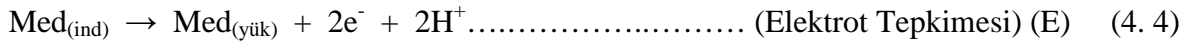
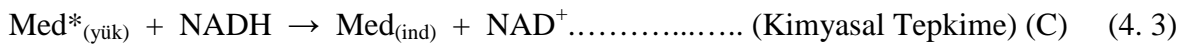
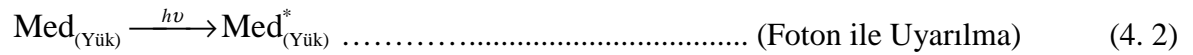
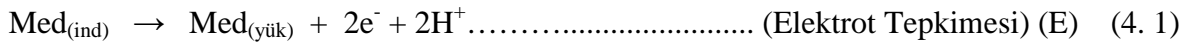
0,2 mM NM'nin elektropolimerizasyonu ile elde edilen Poli-NM/GCE'ye 250 W'lık ışığın etkisinin olup olmadığını tespit etmek için elde edilen modifiye elektrodun 0,1 M pH 7,0 fosfat tamponunda ve 50 mV/s tarama hızında elektrot yüzeyine ışık düşürülerek ve düşürülmeden döngüsel voltammogramları kaydedildi. Şekil 25a ve 25b Poli-NM/GCE'nin ışıksız ve ışıklı ortamdaki voltammogramlarını göstermektedir. Şekilden modifiye elektrota ışığın bir etkisinin olmadığı görülmektedir. 0,4 mM NADH'nin Poli-NM/GCE kullanılarak kaydedilen döngüsel voltammogramda (Şekil 25c) NADH'nin 160 mV'da yükseltildiği gözlenmiş ve yalın elektrota göre (+ 500 mV) 340 mV kaymıştır. Modifiye elektrot yüzeyine ışık düşürüldüğünde ise potansiyel 40 mV'a kayarak pik akım yüksekliğinin yaklaşık 1,5 kat arttığı (Şekil 25d) gözlenmiştir. Bu artış Poli-NM/GCE'nin NADH'ye fotoelektrokatalitik etki gösterdiğini kanıtlamaktadır.



Şekil 25. Poli-NM/GCE'nin a) ışıksız ve b) ışıklı ortamdaki döngüsel voltammogramı; 0,4 mM NADH'nin Poli-NM/GCE kullanılarak c) ışıksız ve d) ışıklı ortamdaki döngüsel voltammogramı. Tarama Hızı: 50 mV/s, destek elektrolit: 0,1 M pH 7,0 fosfat tamponu.

NADH'nin bu tür modifiye elektrotlardaki fotoelektrokatalitik yükseltgenme mekanizması, Cooper ve arkadaşlarının toluidin mavisi, metilen mavisi gibi azin türü boyar maddelerle askorbik asidin fotoelektrokatalitik yükseltgenmesi çalışmalarında

önerdiği mekanizmaya benzer bir şekilde açıklanabilir (Cooper ve ark., 1998, 1999). Önerilen mekanizmaya göre, elektrot yüzeyindeki mediyatör ışık kaynağından gelen ışınla uyarılmış hale geçer, uyarılan mediyatörün yükseltgenmiş formu ile askorbik asit hızlıca tepkimeye girer ve mediyatör indirgenmiş formuna dönüşürken askorbik asit dehidroaskorbik asite dönüşür. Daha sonra mediyatörün indirgenmiş formu elektrot yüzeyinde tekrar yükseltgenirken elektrokatalitik akım oluşur. NADH'nin bu tür modifiye elektrotlarla fotoelektrokatalitik yükseltgenmesi de buna benzer bir foto-ECE mekanizmasıyla açıklanabilir. Önerilen mekanizma doğrultusunda gerçekleşen tepkimeler aşağıdaki şekilde verilebilir.



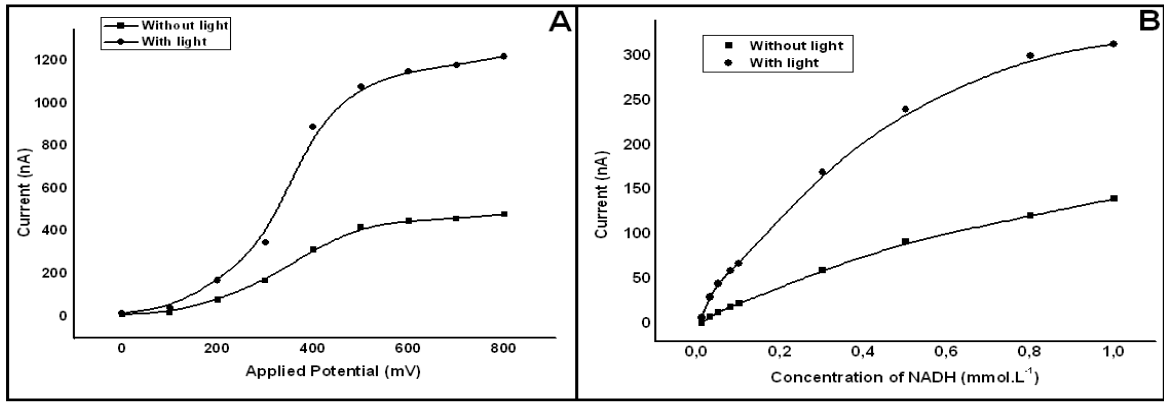
4.5.2. Amperometrik Yöntemle

Amperometrik çalışmaların gerçekleştirilmesi için öncelikle en uygun uygulama potansiyeli optimize edildi. Bu amaçla 0 mV ile 800 mV arasında değişen sabit potansiyelerde öncelikle yalnız GCE kullanılarak 0,1 M pH 7,0 fosfat tamponu destek elektrolit ortamında 0,2 mM NADH için akım-zaman eğrileri ışıklı ve ışıksız ortamda kaydedilmiştir. Aynı şekilde uygun şartlar altında elde edilmiş tüm modifiye elektrotlar kullanılarak -100 mV ile 600 mV arasında değişen sabit potansiyelerde de 0,2 mM NADH için akım-zaman eğrileri ışıklı ve ışıksız ortamda kaydedilmiştir.

Şekil 26A yalnız GCE kullanılarak farklı potansiyelerde 0,2 mM NADH için elde edilen amperometrik ve fotoamperometrik akım değerlerine karşılık uygulama potansiyeli grafiğini göstermektedir. Bu şekilde görüldüğü gibi hem ışıksız hem de ışıklı ortamda NADH yaklaşık 500-600 mV'da maksimum akım değerine ulaşmıştır. Işıklı ortamda elde edilen akım değerlerinin ışıksız ortamdan elde edilen akım değerlerinden yaklaşık 2 kat daha fazla olduğu görülmektedir.

Genelde modifiye elektrotların en uygun uygulama potansiyeli +150 mV olduğundan, yalnız GCE'nin de bu potansiyelde NADH derişimine karşı akım değişimi izlenmiş ve Şekil 26B'de verilmiştir. Bu grafiğe göre NADH'nin +150 mV'da yalnız

GCE'deki akım değerleri oldukça düşük bulunmuş ve ışıkla akım yine artmıştır. Bu olay, NADH'nin de ışıkla uyarılıp elektron transferinin kolaylaştığı şeklinde yorumlanabilir.



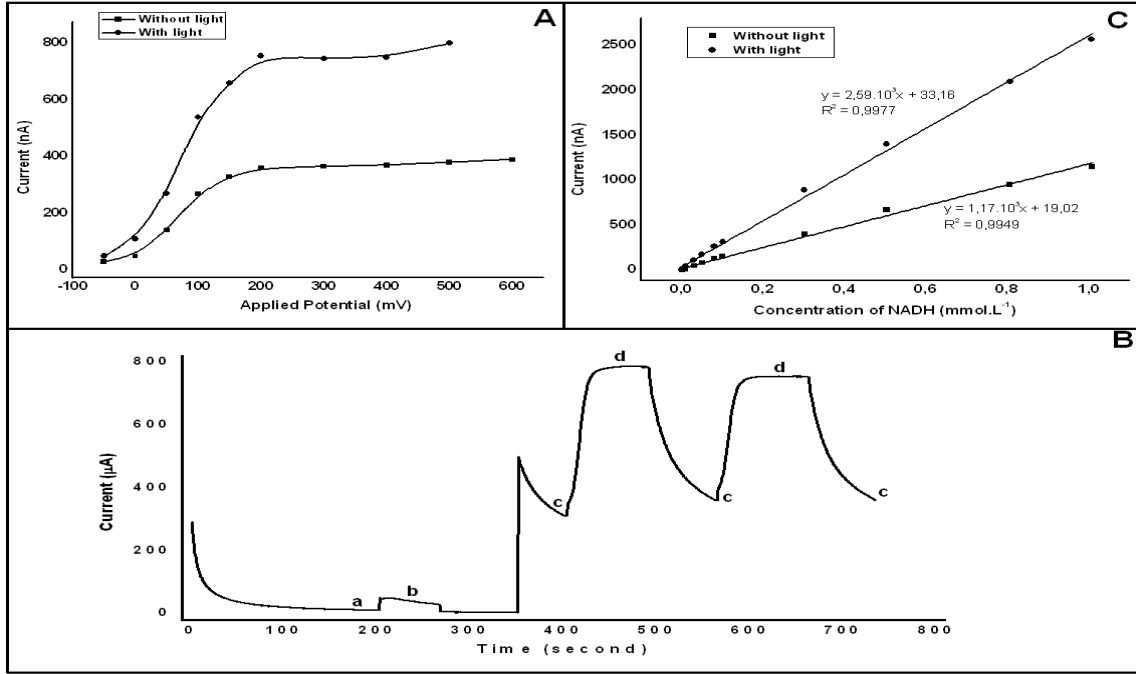
Şekil 26. Yalın elektrotla elde edilen A) uygulama potansiyeli-akım grafiği B) NADH derişimine karşı amperometrik ve fotoamperometrik akım grafiği, uygulama potansiyeli: +150 mV, destek elektrolit: 0,1 M pH 7,0 fosfat tamponu.

Modifiye elektrotlarla NADH'nin amperometrik ve fotoamperometrik yöntemle tayini için tüm modifiye elektrotlar için öncelikle en uygun uygulama potansiyeli optimize edildi. Şekil 27A Poli-BKM/GCE ile elde edilen akım-uygulama potansiyeli grafiğini göstermektedir. Şekilden görüldüğü gibi, en uygun potansiyelin yaklaşık +200 mV olduğu ve ışıklı ortamda elde edilen akım değerlerinin ışıksız ortamda elde edilenlerden yaklaşık 2-2,5 kat daha büyük olduğu sonucuna varılmıştır. +200 mV'da Poli-BKM/GCE kullanılarak 0,1 M pH 7,0 fosfat tamponu ortamındaki akım-zaman grafiği Şekil 27B'de verilmiştir. Zemin akımın (a) sabit bir değere ulaşması için bir süre beklendikten sonra, modifiye elektrodun yüzeyine (a) ışık düşürüldüğünde çok az bir değişimin gözlemlendiği (b), 0,2 mM NADH ilavesiyle akımın arttığı (c) ve ışıkla da NADH'nin akım değerinin yaklaşık 2 kat arttığı (d) ve ışık kapatıldığında fotoakım değerinin d konumundan tekrar c konumuna hızla döndüğü şekilden görülmektedir.

Şekil 27 C'de, Poli-BKM/GCE için elde edilen amperometrik ve fotoamperometrik akım değerlerinin derişime karşı değişim grafiğini göstermektedir.

Amperometrik yöntemle elde edilen kalibrasyon grafiğinin $1,0 \times 10^{-6}$ ile $1,0 \times 10^{-3}$ M NADH aralığında ($I(\text{nA}) = 1,17 \times 10^6 C (\text{mol/L}) + 19,02$ $r = 0,997$) fotoamperometrik yöntemle elde edilen kalibrasyon grafiğinin ise yine aynı derişim aralığında ($I(\text{nA}) = 2,59 \times 10^6 C (\text{mol/L}) + 33,16$ $r = 0,999$), doğrusal olduğu bulunmuştur. Ancak

grafikten görüldüğü gibi fotoamperometrik yöntemle elde edilen kalibrasyon grafiğinin eğiminin, amperometrik yöntemle elde edilen grafiğin eğiminden yaklaşık 2 kat daha büyük olduğu tespit edilmiştir, başka bir deyişle duyarlılığın arttığı saptanmıştır.

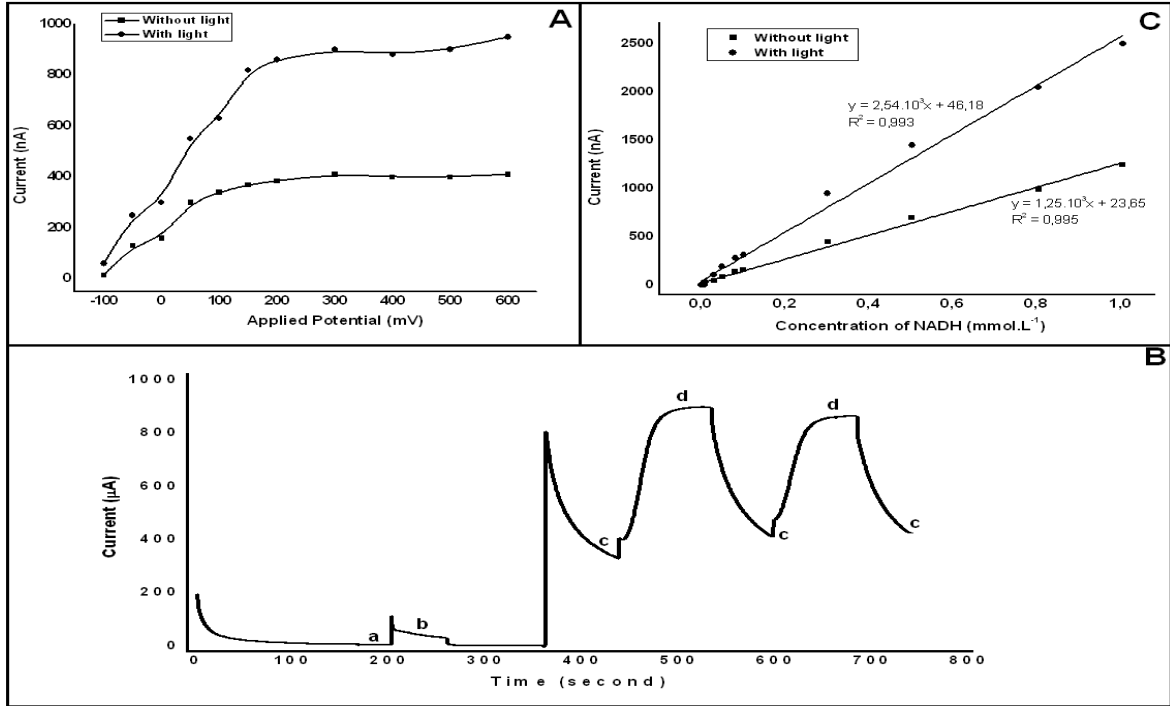


Şekil 27. Poli-BKM/GCE ile elde edilen ışıklı ve ışısız konumlarda **A)** uygulanan sabit potansiyele karşı akımların değişimi, **B)** NADH yokluğunda (a, b) ve 0,2 mM NADH varlığında (c, d) elektrot yüzeyi ışıklandırılmadan (a, c) ve ışıklandırılarak (b, d) elde edilen akım-zaman eğrileri. **C)** NADH derişimine karşı amperometrik ve fotoamperometrik akımların değişimi (B ve C için uygulama potansiyeli +200 mV, destek elektrolit: 0,1 M pH 7,0 olan fosfat tamponu).

Şekil 28A Poli-NM/GCE ile elde edilen akım-uygulama potansiyeli grafiğini göstermektedir. Şekilden görüldüğü gibi, en uygun potansiyelin yaklaşık +150 mV olduğu ve ışıklı ortamda elde edilen akım değerlerinin ışısız ortamda elde edilenlerden yaklaşık 2 kat daha büyük olduğu sonucuna varılmıştır. +150 mV'da Poli-NM/GCE kullanılarak 0,1 M pH 7,0 fosfat tamponu ortamındaki akım-zaman grafiği Şekil 28B'de verilmiştir.

Şekil 28C'de, Poli-NM/GCE için elde edilen amperometrik ve fotoamperometrik akım değerlerinin derişime karşı değişim grafiğini göstermektedir. Amperometrik yöntemle elde edilen kalibrasyon grafiğinin $1,0 \times 10^{-6}$ ile $1,0 \times 10^{-3}$ M NADH aralığında $(I(nA) = 1,25 \times 10^6 C (\text{mol/L}) + 23,65 \text{ r} = 0,997)$ fotoamperometrik yöntemle elde edilen

kalibrasyon grafiğinin ise yine aynı derişim aralığında ($I(nA) = 2,54 \times 10^6 C \text{ (mol/L)} + 46,18$ $r = 0,996$), doğrusal olduğu bulunmuştur.



Şekil 28. Poli-NM/GCE ile elde edilen ışıklı ve ışıksız konumlarda **A)** uygulanan sabit potansiyele karşı akımların değışimi, **B)** NADH yokluğunda (a, b) ve 0,2 mM NADH varlığında (c, d) elektrot yüzeyi ışıklandırılmadan (a, c) ve ışıklandırılarak (b, d) elde edilen akım-zaman eğrileri. **C)** NADH derişimine karşı amperometrik ve fotoamperometrik akımların değışimi (B ve C için uygulama potansiyeli +150 mV, destek elektrolit: 0,1 M pH 7,0 olan fosfat tamponu).

Farklı monomerlerin elektropolimerizasyonu yoluyla hazırlanan modifiye elektrotların NADH'ye verdiği amperometrik ve fotoamperometrik yanıtların analitik karakteristiklerine ilişkin veriler Çizelge 5'de verilmiştir.

Çizelge 5. Farklı monomerlerin elektropolimerizasyonu yoluyla hazırlanan modifiye elektrotların NADH'ye verdiği amperometrik ve fotoamperometrik yanıtların analitik karakteristikleri

Modifiye elektrot	Uygulama Pot. (mV)	Derişim aralığı	Kalibrasyon Doğrusunun Denklemi*	m_{II}/m_I **
Poli-BKM /GCE	+200 mV	$1 \times 10^{-3} - 1 \times 10^{-6}$	I: $i(\mu A) = 1,17 \times 10^3 C(mM) + 19,02$ II: $i(\mu A) = 2,59 \times 10^3 C(mM) + 33,16$	2,21
Poli-NM/GCE	+150 mV	$1 \times 10^{-3} - 1 \times 10^{-6}$	I: $i(\mu A) = 1,25 \times 10^3 C(mM) + 23,65$ II: $i(\mu A) = 2,54 \times 10^3 C(mM) + 46,18$	2,03

*I: Amperometrik, II: Fotoamperometrik yöntemle elde edilen kalibrasyon doğrusunun denklemi.

** m_{II} : Fotoamperometrik, m_I : Amperometrik yöntemin eğimi.

BÖLÜM 5 SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Fenoksazin türü boyar maddeler olan BKM ve NM kullanılarak modifiye GCE hazırlanmıştır. Elektrot yüzeyinin modifikasyonunda daha kararlı olan ve tekrarlanabilir sonuçların elde edildiği elektropolimerizasyon yöntemi seçilmiştir. Her bir redoks mediyatörün elektropolimerizasyonunda destek elektrolit türü veya pH'ı, monomer derişimi, döngü sayısı ve potansiyel aralığı gibi parametreler, modifiye elektrot hazırlandıktan sonra NADH'ye en iyi yanıtın alındığı konum dikkate alınarak, optimize edilmiştir.

Tüm modifiye elektrotların 0,1 M pH 7,0 fosfat tamponu ortamında tarama hızına bağlı olarak döngüsel voltammogramları kaydedilmiş ve tarama hızıyla modifiye elektrotların polimerik türüne ait anodik ve katodik pik akımlarının doğrusal olarak arttığı ve olayın adsorpsiyona bağlı olduğu sonucuna varılmıştır. Ayrıca tüm modifiye elektrotların farklı pH'larda kaydedilen döngüsel voltammogramlarından elde edilen formal potansiyel değerlerinin pH ile doğrusal azaldığı ve eğimlerin -59 mV'a yakın değerlerde çıktığı sonucuna varılmış ve böylece bu modifiye elektrotların redoks olayında 2 elektron ve $2H^+$ 'nin katıldığı saptanmıştır. Son olarak her bir modifiye elektrodun 200-300 döngülü voltammogramları kaydedilmiş ve yaklaşık 150-200 döngüden sonra kararlı kaldığı sonucuna varılmıştır.

Her bir modifiye elektrodun 0,1 M pH 7,0 fosfat tamponunda döngüsel voltammogramları hem ışıksız hem de ışıklı yöntemde kaydedilmiş, elektrot yüzeyinin ışıklandırılmasıyla modifiye elektrotlara ait piklerin çok az değiştiği gözlenmiştir. Aynı şekilde bu modifiye elektrotların NADH ortamında döngüsel voltammogramları kaydedilmiş ve yalın elektrotta yaklaşık 500 mV'da yükseltgenen NADH'nin daha negatif potansiyellere kaydığı tespit edilmiş ve elektrot yüzeyinin ışıklandırılmasıyla da NADH'ye ait elektrokatalitik akımın belirgin bir şekilde arttığı sonucuna varılmıştır. Bu sonuçlar bu tür modifiye elektrotların NADH'ye iyi bir elektrokatalitik ve fotoelektrokatalitik etki gösterdiğini ortaya koymaktadır.

Bu amaçla her bir modifiye elektrot için optimum uygulama potansiyeli elde edilmiş ve bu potansiyelde ve 0,1 M pH 7,0 fosfat tamponunda farklı NADH derişimlerine karşı akım yükseklikleri için akım zaman eğrileri kaydedilmiştir. NADH'nin destek elektrolite

ilavesiyle akım artmış, elektrot yüzeyi ışıklandırıldığında ise akımda yaklaşık 2 kat artış olduğu gözlenmiştir. Hem amperometrik hem de fotoamperometrik yöntem için akım değerlerinin 1×10^{-6} - 1×10^{-3} M NADH derişimi aralığında doğrusal değiştiği saptanmıştır.

Elektrokatalitik ve fotoelektrokatalitik çalışmalar esnasında elektrot yüzeyi her defasında optimum koşullarda yeniden modifiye edildi. Böylece fotoelektrokatalitik çalışmalar esnasında, ışığın elektrot yüzeyindeki polimere zarar vermesinden, yine hem elektrokatalitik hem de fotoelektrokatalitik çalışmalarda elektrot yüzeyinin kirlenmesinden kaynaklanan ve yanılığlı sonuç alınmasına sebep olan etmenler ortadan kaldırılmış oldu.

Tüm modifiye elektrotlar için elde edilen analitik karakteristikler Çizelge 5’de özetlenmiştir.

KAYNAKLAR

- Advances in Heterocyclic Chemistry*. (n. d.). Retrieved May 10, 2010, from <http://books.google.com.tr/books?id=nhC2WFPm8oC&printsec=frontcover#v=onepage&q&f=false>.
- Arvinte, A., Rotariu, L., Bala, C. ve Gurban, A. M., 2009. Synergistic Effect of Mediator–Carbon Nanotube Composites for Dehydrogenases and Peroxidases Based Biosensors. *Bioelectrochemistry*, 76: 107-114.
- Cai, C-X. ve Xue, K-H., 1997. Electrocatalysis of NADH Oxidation With Electropolymerized Films of Nile Blue A. *Anal. Chim. Acta*, 343: 69-77.
- Chakraborty, S. ve Raj, C. R., 2007. Amperometric Biosensing of Glutamate Using Carbon Nanotube Based Electrode. *Electrochem. Commun.*, 9: 1323-1330.
- Chen, X., Wang, F. ve Chen, Z., 2008. An Electropolymerized Nile Blue Sensing Film-Based Nitrite Sensor and Application in Food Analysis. *Anal. Chim. Acta*, 623: 213-220.
- Cooper, J. A., Wu, M. ve Compton, R. G., 1998. Photoelectrochemical Analysis of Ascorbic Acid. *Anal. Chem.*, 70: 2922-2927.
- Cooper, J. A., Woodhouse, K. E., Chippindale, A. M. ve Compton, R. G., 1999. Photoelectrochemical Determination of Ascorbic Acid Using Methylene Blue Immobilized in Alpha-Zirconium Phosphate. *Electroanalysis*, 11: 1259-1265.
- Dilgin, Y., 2004. The Uses of Modified Muscovite at Photoelectrochemical Reactions and The Application to New Techniques, (PhD Thesis) *Ege University, Science Faculty*.
- Du, P., Liu, S., Wu, P. ve Cai, C., 2007. Single-Walled Carbon Nanotubes Functionalized With Poly (nile blue A) and Their Application to Dehydrogenase-Based Biosensors. *Electrochim. Acta*, 53: 1811-1823.

- Ghica, M. E. ve Brett, C. M. A., 2009. Poly (brilliant cresyl blue) Modified Glassy Carbon Electrodes: Electrosynthesis, Characterisation and Application in Biosensors. *J. Electroanal. Chem.*, 629: 35-42.
- Gorton, L., Torstensson, A., Jaegfeldt, H. ve Johansson, G., 1984. Electrocatalytic Oxidation of Reduced Nicotinamide Coenzymes by Graphite Electrodes Modified With an Adsorbed Phenoxazinium Salt, Meldola Blue. *J. Electroanal. Chem.*, 161: 103-120.
- Gorton, L. ve Dominguez, E., 2002. Encyclopedia of Electrochemistry Edited by Allen J. Bard and Martin Stratmann, Volume 9, Bioelectrochemistry edited by George S. Wilson, Wiley WCH Verlag.
- Gözükara, E., 2001. *Biyokimya*, cilt 2, dördüncü baskı, 680-682.
- IUPAC Recommendations, 1997. Chemically Modified Electrodes: Recommended Terminology and Definitions, *Pure and Applied Chemistry*, 69: 1317-1323.
- Katakis, I. ve Dominguez, E., 1997. Catalytic Electrooxidation of NADH for Dehydrogenase Amperometric Biosensors. *Microchim. Acta*, 126: 11-32.
- Kubota, L. T., Gouvea, F., Andrade, A. N., Milagres, B. G. ve Neto, G. O., 1996. Electrochemical Sensor for NADH Based on Meldola's Blue Immobilized on Silica Gel Modified with Titanium Phosphate. *Electrochim. Acta*, 41: 1465-1469.
- Kumar, S. A. ve Chen, S-M., 2007. Fabrication and Characterization of Meldola's Blue/Zinc Oxide Hybrid Electrodes for Efficient Detection of the Reduced Form of Nicotinamide Adenine Dinucleotide at Low Potential. *Anal. Chim. Acta*, 592: 36-44.
- Lobo, M. J., Miranda, A. J. ve Tunon, P., 1997. Amperometric Biosensor Based on NAD(P)-Dependent Dehydrogenase Enzymes. *Electroanalysis*, 9: 191-202.

- Maroneze, C. M., Arenas, L. T., Luz, R. C. S., Benvenuti, E. V., Landers, R. ve Gushikem, Y., 2008. Meldola Blue Immobilized on a New SiO₂/TiO₂/Graphite Composite for Electrocatalytic Oxidation of NADH. *Electrochim. Acta*, 53: 4167-4175.
- Maroneze, C. M., Luz, R. C. S., Landers, R. ve Gushikem, Y., 2010. SiO₂/TiO₂/Sb₂O₅/Graphite Carbon Ceramic Conducting Material: Preparation, Characterization, and Its Use as an Electrochemical Sensor. *J. Solid State Electrochem.*, 14: 115-121.
- Murray, R. W., Ewing, A. G. ve Durst, R. A., 1987. Chemically Modified Electrodes, Molecular Design for Electroanalysis. *Anal. Chem.*, 59: 379-390.
- Nişli, G., 2001. Kimyasal Modifiye Elektrotlar, Eser Analiz Yaz Okulu, Ed: Henden, E., Gökçel, H. İ., Ertaş, N., Bornova-İzmir, Sayfa:199-211.
- Okafor C. O., 1986. Synthesis, Properties and Uses of Angular Phenoxazines, Retrieved May 12, 2010, from http://www.sciencedirect.com/science?_ob=ArticleURL&_udi=B6TFY-43PRYHC1T&_user=10&_coverDate=12%2F31%2F1986&_rdoc=1&_fmt=high&_orig=search&_sort=d&_docanchor=&view=c&_searchStrId=1336096863&_runOrigin=google&_acct=C000050221&_version=1&_urlVersion=0&_userid=10&md5=73af0c421de45994078dcf84e41041cf.
- Pessoa, C. A., Gushikem, Y., Kubota, L. T. ve Gorton, L., 1997. Preliminary Electrochemical Study of Phenothiazines and Phenoxazines Immobilized on Zirconium Phosphate. *J. Electroanal. Chem.*, 431: 23-27.
- Ramesh, P., Sivakumar, P. ve Sampath, S., 2003. Phenoxazine Functionalized, Exfoliated Graphite Based Electrodes for NADH Oxidation and Ethanol Biosensing. *Electroanalysis*, 15: 1850-1858.

- Santos, A. S., Gorton, L. ve Kubota, L. T., 2002. Nile Blue Adsorbed onto Silica Gel Modified With Niobium Oxide for Electrocatalytic Oxidation of NADH. *Electrochim. Acta*, 47: 3351-3360.
- Santos, A. S., Pereira, A. C., Duran, N. ve Kubota, L. T., 2006. Amperometric Biosensor for Ethanol Based on Co-Immobilization of Alcohol Dehydrogenase and Meldola's Blue on Multi-Wall Carbon Nanotube. *Electrochim. Acta*, 52: 215-220.
- Simon, E. ve Bartlett, P. N., 2003. Biomolecular Films, Design, Function and Applications. In: Rusling, J.F., Ed. Marcel Dekker, New York.
- Skoog, D. A., West, D. M., Holler, F. J. ve Crouch, R. S., 2004. Fundamentals of Analytical Chemistry. *Bilim Yayınları*, 694-697.
- Smyth, M. R. ve Vos, J. G., 1992. Analytical Voltammetry, Comprehensive Analytical Chemistry Volume XXVII, Elsevier, Amsterdam-London-New York-Tokyo, 93-96 and 465-530.
- Thevenot, D. R., Toth, K., Durst R. A. ve Wilson, G. S., 2001. Electrochemical Biosensors: Recommended Definitions and Classification. *Anal. Lett.*, 34: 635-659.
- Tse, D. C.-S. ve Kuwana, T., 1978. Electrocatalysis of Dihyronicotinamid Adenosine Diphosphate With Quinones and Modified Quinone Electrode. *Anal. Chem.*, 50: 1315-1318.
- Tural H., Gökçel H. I. ve Ertaş N., 2006. Enstrumental Analiz I Elektroanalitik Yöntemler. *Ege Uni. Fen Fakültesi Yayınları*, Bornova-İzmir. 1 (2): 131-196.
- ^aVasilescu, A., Andreescu, S., Bala, C., Litescu, S. C., Noguier, T. ve Marty, J-L., 2003. Screen-Printed Electrodes With Electropolymerized Meldola Blue as Versatile Detectors in Biosensors. *Biosens. Bioelectron.*, 18: 781-790.

^bVasilescu, A., Noguer, T., Andreescu, S., Calas-Blanchard, C., Bala, C. ve Marty, J-L., 2003. Strategies for Developing NADH Detectors Based on Meldola Blue and Screen-Printed Electrodes: a Comparative Study. *Talanta*, 59: 751-765.

^aWang, G. L., Xu, J. J. ve Chen, H. Y., 2009. Progress in the Studies on Photoelectrochemical Sensors. *Sci. China Ser. B-Chem.*, 52: 1789-1800.

^bWang, G. L., Xu, J. J. ve Chen, H. Y., 2009. Dopamine Sensitized Nanoporous TiO₂ Film on Electrodes: Photoelectrochemical Sensing of NADH Under Visible Irradiation. *Biosens. Bioelectron.*, 24: 2494-2498.

Wikipedia, 2010. http://en.wikipedia.org/wiki/Nicotinamide_adenine_dinucleotide

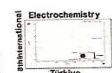
Yang, D. W. ve Liu, H. H., 2009. Poly (Brilliant Cresyl Blue)-Carbon Nanotube Modified Electrodes for Determination of NADH and Fabrication of Ethanol Dehydrogenase-Based Biosensor. *Biosens. Bioelectron.* 25: 733-738.

Zen, J. M., Kumar, A. S. ve Tsai, D. M., 2003. Recent Updates of Chemically Modified Electrodes in Analytical Chemistry. *Electroanalysis*, 15: 1073-1087.

Zhu, L., Zhai, J., Yang, R., Tian, C. ve Guo, L., 2007. Electrocatalytic Oxidation of NADH with Meldola's Blue Functionalized Carbon Nanotubes Electrodes. *Biosens. Bioelectronic.*, 22: 2768-2773.

EKLER LİSTESİ

EK 1. 8 th International Electrochemistry Meeting October 8-11,2009	II
--	----



The effect of light on the electrocatalytic oxidation of NADH using a poly brilliant cresyl blue modified glassy carbon electrode

Bensu ERTEK, Çağrı Ceylan BAKIR Burcu BAYRAK, Zekerya DURSUN, Yusuf DILGIN

¹Çanakkale Onsekiz Mart University, Faculty of Art and Science, Çanakkale, Türkiye

hiaxi17@hotmail.com

Since the direct electrochemical oxidation of NADH is highly irreversible with a great overpotential at a bare electrode and is followed by passivation of the electrode surface, chemically modified electrodes (CMEs) have been widely used for its electrocatalytic oxidation [1-4]. Recently, our research group have been interested in photoelectrocatalysis of NADH using modified electrodes [4]

In this study, photoelectrocatalytic oxidation of NADH has been described using poly-brilliant cresyl blue modified glassy carbon electrode (P-BCB/GCE). The effect of supporting electrolyte with different pH, monomer concentration, cycle numbers and potential window (especially upper potential) during the electropolymerization process of BCB on the electrocatalytic oxidation of NADH was investigated using cyclic voltammetric technique. The optimum conditions for electropolymerization process were determined as 0.1 M H₃PO₄ containing 0.1 M NaNO₃ for supporting electrolyte, 0.01 mM BCB for monomer concentration, range from -0.7 to +1.2 V (vs. Ag/AgCl) for potential window and 8 cycles for cycle numbers. After preparation of modified electrode in the optimum conditions, the effect of scan rate and pH on the electrochemical behavior of P-BCB/GCE was investigated.

Figure 1A shows the cyclic voltammogram of P-BCB/GCE in the phosphate buffer solution at pH 7.0. Two pairs of well defined redox peaks were observed in this voltammogram. As can be seen from figure 1B, the current and potential of peaks were not changed, when the electrode surface was irradiated with 250 watt halogen lamp. In the oxidation of NADH at the bare GCE, the irreversible anodic peak was observed at about 500 mV. When the cyclic voltammogram of P-BCB/GCE was recorded in the presence of NADH, the anodic peak potential of NADH shifted to 120 mV (Fig. 1C). As a result, P-BCB/GCE shows electrocatalytic activity toward NADH oxidation with an overpotential of ca. 380 mV lower than that at the bare electrode. The photoelectrocatalytic oxidation of NADH at this electrode was also successfully investigated by using cyclic voltammetry and amperometry at a constant potential. When the modified electrode surface was irradiated with a 250 W halogen lamp, a photoelectrocatalytic effect was observed for NADH oxidation and the current was increased about 1.5 times (Figure 1D).

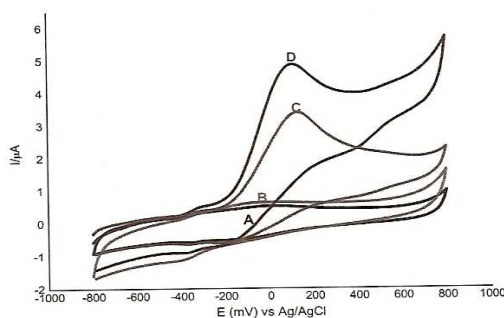


Figure 1. Cyclic voltammograms of a P-BCB/GCE in the absence (A, B) and in the presence (C, D) of 0.4 mM NADH without (A, C) and with (B, D) irradiation of the electrode surface. Experimental conditions: 0.1 M phosphate buffer solution at pH 7.0; scan rate: 50 mV/s).

References

1. L. Gorton, E. Dominguez, Encyclopedia of Electrochemistry 9. Bioelectrochemistry. (2002).
2. Q. Chi, S. Dong, Analyst. 119 (1994) 1063.
3. A. Silber, N. Hampp, W. Schuhmann, Biosensor&Bioelectronics. 11 (1996) 215.
4. D. Gligor, Y. Dilgin, I.C. Popescu, L. Gorton, Electroanalysis. 21 (2009) 360.

ÇİZELGELER LİSTESİ

	Sayfa No
Çizelge 1. Voltammetrik tekniklerin sınıflandırılması (Tural ve ark., 2006)	3
Çizelge 2. Elektrot modifikasyon yöntemleri (Murray ve ark., 1987)	8
Çizelge 3. Fenoksazin türü boyar maddelerle hazırlanmış kimyasal modifiye elektrotlar kullanarak NADH'nin elektrokatalitik yükseltgenmesi üzerine yapılan bazı çalışmalar	24
Çizelge 4. Fenoksazin grubu redoks mediyatörler ile NADH'ye bağlı biyosensörler üzerine yapılan bazı çalışmalar	29
Çizelge 5. Farklı monomerlerin elektropolimerizasyonu yoluyla hazırlanan modifiye elektrotların NADH'ye verdiği amperometrik ve fotoamperometrik yanıtların analitik karakteristikleri	56

ŞEKİLLER LİSTESİ

	Sayfa No
Şekil 1. Nil Mavisi, Meldola Mavisi ve Brilliant Kresil Mavisinin molekül yapısı	1
Şekil 2. Voltammetride kullanılan çalışma elektrotları (Tural ve ark., 2006)	6
Şekil 3. Farklı yollarla hazırlanan CME'lerin şematik gösterimi (Zen ve ark., 2003)	9
Şekil 4. NAD ⁺ ve NADP ⁺ nın yapısı	14
Şekil 5. NAD ⁺ 'nın redoks tepkimesi	14
Şekil 6. NAD ⁺ ve NADH'nin UV absorpsiyon spektrumu	15
Şekil 7. Malik asitin enzimatik tepkimesi	16
Şekil 8. Destek elektrolit ortamında bir redoks mediyatörle NADH'nin yükseltgenme mekanizması	19
Şekil 9. Redoks mediyatörle modifiye edilmiş elektrotlarda NADH'nin yükseltgenme mekanizması	20
Şekil 10. a) MdM ile modifiye grafit elektrodun, b) 3,1 mM NADPH'nin modifiye elektrottaki, c) 3,1 mM NADPH'nin yalın grafit elektrottaki döngüsel voltammogramı. Tarama hızı: 50 mV/s, destek elektrolit: 0,25 M fosfat tamponu (pH 7,0)	22
Şekil 11. (A) ve (B) 100 mV/s tarama hızında pH 6,8 0,1 mol/L B-R fosfat tamponunda 5 x 10 ⁻⁴ mol/L NM içeren ortamda GCE'de alınmış döngüsel voltammogramlar. (C): (B)'de modifiye edilmiş elektrotla 50 mV/s tarama hızında 0,1 mol/L fosfat tampon çözeltide (pH 6,8) alınmış voltammogram. (A) ve (C) için potansiyel aralığı (-0,6) - (+0,4) V (B) için (-0,6) - (+1,2) V	23
Şekil 12. 0,1 mol/L fosfat tampon çözeltisinde (pH 6,8) 5 x 10 ⁻⁴ mol/L NADH'nin Poli-NM modifiye elektrotta (b) ve yalın (c) GCE'de yükseltgenmesine ait döngüsel voltammogramlar. (a) ve (d) tarama hızı 50 mV/s'de NADH yokluğunda sırasıyla Poli-NM modifiye elektrot ve yalın elektrotla alınmış voltammogramlar.....	24

Şekil 13. Poli-Brilliant Kresil Mavisini modifiye elektrot kullanılarak NADH'ye bağlı geliştirilen etanol biyosensörün şematik gösterimi	27
Şekil 14. A) Grafit, B) MWCNT ve C) MWCNT-MdM ile elde edilen döngüsel voltammogramlar. (pH 7,0) 0,5 mol/L KCl çözeltisi. 14B . Etanol için A) ADH/grafit, B) ADH/MWCNT, C) ADH/MWCNT-MdM biyosensörler ile alınmış amperometrik yanıt. Uygulanan potansiyel 0,0 mV, 0,1 mol/L fosfat tamponu (pH 7,5) 14C . ADH/MWCNT-MdM biyosensör ile elde edilmiş analitik eğri. Uygulama potansiyeli 0,0 mV, 0,1 mol/L fosfat tamponu (pH 7,5) ..	28
Şekil 15. 0,01 mM BKM'nin, 0,1 M NaNO ₃ içeren A) 0,1 M H ₃ PO ₄ C) pH 7,0 ve E) pH 10,0 fosfat tamponu/fosfat çözeltileri destek elektrolitlerinde ardışık olarak alınan döngüsel voltammogramları (tarama hızı: 100 mV/s). B , D ve F) Sırasıyla A, C ve E' den elde edilen Poli-BKM/GCE'nin (a) NADH yokluğunda ve (b) 0,4 mM NADH varlığındaki (c) yalın GCE'nin 0,4 mM NADH varlığındaki döngüsel voltammogramları. (destek elektrolit: 0,1 M pH'ı 7,0 fosfat tamponu; tarama hızı: 50 mV/s).....	40
Şekil 16. Poli-BKM/GCE'nin hazırlanması esnasındaki A) destek elektrolitin, B) anodik potansiyel sınırının, C) monomer derişiminin, D) döngü sayısının 0,4 mM NADH'nin elektrokatalitik pik akımına etkisi	41
Şekil 17. 0,01 mM BKM'nin, 0,1 M NaNO ₃ içeren 0,1 M H ₃ PO ₄ destek elektrolitinde A) (-0,7) – (+0,6) V C) (-0,7) – (+1,6) V potansiyel aralığında ardışık olarak alınan döngüsel voltammogramları (tarama hızı: 100 mV/s). B ve D) Sırasıyla A ve C' den elde edilen Poli-BKM/GCE'nin (a) NADH yokluğunda ve (b) 0,4 mM NADH varlığındaki, (c) yalın GCE'nin 0,4 mM NADH varlığındaki döngüsel voltammogramları (destek elektrolit: 0,1 M pH'ı 7,0 fosfat tamponu; tarama hızı: 50 mV/s)	43
Şekil 18. BKM'ye ait monomerik ve trimerik yapı (Ghica ve Brett, 2009)	44
Şekil 19. 0,08 mM NM'nin, 0,1 M NaNO ₃ ve %30 etanol içeren A) pH 4,0 C) pH 7,0 ve E) pH 10,0 fosfat tamponu/fosfat çözeltileri destek elektrolitlerinde ardışık olarak alınan döngüsel voltammogramları (tarama hızı: 100 mV/s). B , D ve F) Sırasıyla A, C ve E' den elde edilen Poli-NM/GCE'nin (a) NADH yokluğunda ve (b) 0,4 mM NADH varlığındaki (c) yalın GCE'nin 0,4 mM NADH varlığındaki döngüsel voltammogramları. (destek elektrolit: 0,1 M pH'ı 7,0 fosfat tamponu; tarama hızı:50 mV/s)	45

Şekil 20. Poli-NM/GCE'nin hazırlanması esnasındaki A) destek elektrolitin B) anodik potansiyel limitinin C) monomer derişimin D) döngü sayısının, 0,4 mM NADH'nin elektrokatalitik pik akımına etkisi.....	46
Şekil 21. 0,08 mM NM'nin, 0,1 M NaNO ₃ ve %30 etanol içeren pH 4,0 fosfat çözeltisi destek elektrolitinde A) (-0,7) – (+0,6) V C) (-0,7) – (+1,6) V potansiyel aralığında ardışık olarak alınan döngüsel voltammogramları (tarama hızı: 100 mV/s). B ve D) Sırasıyla A ve C' den elde edilen Poli-NM/GCE'nin (a) NADH yokluğunda ve (b) 0,4 mM NADH varlığındaki (c) yalın GCE'nin 0,4 mM NADH varlığındaki döngüsel voltammogramları. (destek elektrolit: 0,1 M pH'ı 7,0 fosfat tamponu; tarama hızı: 50 mV/s)	47
Şekil 22. Poli-BKM/GCE'nin A) 0,1 M pH 7,0 fosfat tamponunda ve farklı tarama hızlarındaki (I: 20, 50, 100, 160, 200, 400, 640 II: 800, 1280, 1600, 2560, 3200, 5120, 6400 mV/s) döngüsel voltammogramları B) pik akımlarının tarama hızı ile değişim grafiği C) E ⁰ değeri ile pH değişim grafiği D) 50 mV/s tarama hızındaki 300 döngü sayılı voltammogramı	48
Şekil 23. Poli-NM/GCE'nin A) 0,1 M pH 7,0 fosfat tamponunda ve farklı tarama hızlarındaki (I: 20, 50, 100, 160, 200, 400, 640 II: 800, 1280, 1600, 2560, 3200, 5120, 6400 mV/s) döngüsel voltammogramları B) pik akımlarının tarama hızı ile değişim grafiği C) E ⁰ değeri ile pH değişim grafiği D) 50 mV/s tarama hızındaki 250 döngü sayılı voltammogramı	49
Şekil 24. Poli-BKM/GCE'nin a) ışksız ve b) ışıklı ortamdaki döngüsel voltammogramı; 0,4 mM NADH'nin Poli-BKM/GCE kullanılarak c) ışksız ve d) ışıklı ortamdaki döngüsel voltammogramı. Tarama Hızı: 50 mV/s, destek elektrolit: 0,1 M pH: 7,0 fosfat tamponu	50
Şekil 25. Poli-NM/GCE'nin a) ışksız ve b) ışıklı ortamdaki döngüsel voltammogramı; 0,4 mM NADH'nin Poli-NM/GCE kullanılarak c) ışksız ve d) ışıklı ortamdaki döngüsel voltammogramı. Tarama Hızı: 50 mV/s, destek elektrolit: 0,1 M pH: 7,0 fosfat tamponu	51
Şekil 26. Yalın elektrotla elde edilen A) uygulama potansiyeli-akım grafiği B) NADH derişimine karşı amperometrik ve fotoamperometrik akım grafiği, uygulama potansiyeli: +150 mV, destek elektrolit: 0,1 M pH 7,0 fosfat tamponu .	53

Şekil 27. Poli-BKM/GCE ile elde edilen ışıklı ve ışıksız konumlarda **A)** uygulanan sabit potansiyele karşı akımların değişimi, **B)** NADH yokluğunda (a, b) ve 0,2 mM NADH varlığında (c, d) elektrot yüzeyi ışıklandırılmadan (a, c) ve ışıklandırılarak (b, d) elde edilen akım-zaman eğrileri. **C)** NADH derişimine karşı amperometrik ve fotoamperometrik akımların değişimi (B ve C için uygulama potansiyeli +200 mV, destek elektrolit: 0,1 M pH 7,0 olan fosfat tamponu) 54

Şekil 28. Poli-NM/GCE ile elde edilen ışıklı ve ışıksız konumlarda **A)** uygulanan sabit potansiyele karşı akımların değişimi, **B)** NADH yokluğunda (a, b) ve 0,2 mM NADH varlığında (c, d) elektrot yüzeyi ışıklandırılmadan (a, c) ve ışıklandırılarak (b, d) elde edilen akım-zaman eğrileri. **C)** NADH derişimine karşı amperometrik ve fotoamperometrik akımların değişimi (B ve C için uygulama potansiyeli +150 mV, destek elektrolit: 0,1 M pH 7,0 olan fosfat tamponu) 55

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı : Bensu ERTEK
Doğum Yeri : Edremit
Doğum Tarihi : 01.01.1985

EĞİTİM DURUMU

Lisans Öğrenimi : Mersin Üniversitesi
Fen – Edebiyat Fakültesi, Kimya Bölümü
2003-2008
Yüksek Lisans Öğrenimi : Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Anabilim
Dalı 2008 - 2010
Bildiği Yabancı Diller : İngilizce

BİLİMSEL FAALİYETLERİ

a) Yayınlar - SCI – Diğer

b) Bildiriler – Uluslararası – Ulusal

1- Dilgin, D. G., Gökçel, H. İ., **Ertek, B.**, Dilgin, Y., “Azin türü boyar maddelerle modifiye edilmiş elektrotlar kullanılarak NADH’ye bağlı biyosensör yapımı” 1. Ulusal Kimya Öğrenci Kongresi, 7-10 Nisan 2010, BURSA (Sözlü).

2- Dilgin, D. G., **Ertek, B.**, Dönmez, E., Bayrak, B., Gökçel, H. İ., Dursun, Z., Dilgin, Y., “Metilen Yeşili-Modifiye Camımsı Karbon Elektrot Kullanılarak NADH’nin Fotoelektrokatalitik Yükseltgenmesi” 1. Ulusal Kimya Öğrenci Kongresi, 7-10 Nisan 2010, BURSA (Poster)

3- Bayrak, B., **Ertek, B.**, Dilgin, D. G., Gökçel, H. İ., Dursun, Z., Kızılkaya, B., Dilgin, Y., “Photoelectrocatalytic Oxidation of NADH Using a Brilliant Cresyl Blue Modified Glassy Carbon Electrode” 8th International Electrochemistry Meeting, 8-11 October 2009, ANTALYA (Poster).

4- Bayrak, B., **Ertek, B.**, Dilgin, G. D., Gökçel, H. İ., Kızılkaya, B., Dilgin, Y., “Photoelectrocatalytic Oxidation of NADH Using a Methylene Blue Modified Glassy Carbon Electrode” 8th International Electrochemistry Meeting, 8-11 October 2009, ANTALYA (Poster).

c) Katıldığı Projeler:

1- 107 T 572 nolu TUBİTAK Projesi Modifiye Elektrotlarla NADH'nin Elektrokatalitik ve Fotoelektrokatalitik Yükseltgenmesi, 2010-ÇANAKKALE (Yardımcı Araştırmacı).

2- 2009/15 nolu ÇOMÜ BAP Projesi (Yardımcı Araştırmacı).

İŞ DENEYİMİ

Çalıştığı Kurumlar ve Yıl:

İLETİŞİM

E-posta Adresi: bensuertek@hotmail.com