

T.C.
HİTİT ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

NİKOTİNAMİT ADENİN DİNÜKLEOTİDİN
NANOELEKTROKİMYASAL DAVRANIŞLARININ
ARAŞTIRILMASI

Tuğba DEMİR

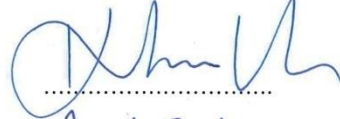
YÜKSEK LİSANS TEZİ
KİMYA ANABİLİM DALI

DANIŞMAN
Doç. Dr. Ebru GÖKMEŞE

OCAK 2016
ÇORUM

Tuğba DEMİR tarafından hazırlanan "Nikotinamid Adenin Dinükleotidin Naoelektrokimyasal Davranışlarının Araştırılması" adlı tez çalışması 07/01/2016 tarihinde aşağıdaki jüri üyeleri tarafından oy birliği ile Hitit Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Analitik Kimya Anabilim Dalı'nda Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

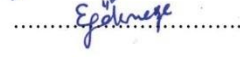
Prof. Dr. İbrahim USLU (Jüri başkanı)



Prof. Dr. Faruk GÖKMEŞE (Üye)



Doç. Dr. Ebru GÖKMEŞE (Danışman)



Hitit Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun 15.01.2016... tarih ve 2016/04... sayılı kararı ile Tuğba DEMİR' in Kimya Anabilim Dalı'nda Yüksek Lisans derecesi alması onanmıştır.



Prof. Dr. Ali KILIÇARSLAN
Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü Vekili

TEZ BEYANI

Tez içindeki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edilerek sunulduğunu, ayrıca tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiksiz atıf yaptığımı beyan ederim.

T. Demir

Tuğba DEMİR

NİKOTİNAMİT ADENİN DİNÜKLEOTİDİN NANOELEKTROKİMYASAL DAVRANIŞLARININ ARAŞTIRILMASI

Tuğba DEMİR

HİTİT ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
Ocak 2016

ÖZET

Lazerle çekme yöntemi ile altın nanoelektrotlar üretilmiştir. Altın nanoelektrotların yaklaşık yarıçap büyüklükleri ferrosen çözeltisi içinde dönüşümlü voltametri yardımıyla yaklaşık olarak hesaplanmıştır. Elde edilen voltamogramlar yardımıyla elektrot yüzeyinin düzgünlüğü hakkında da bilgi elde edilmiştir. Üretilen nanoelektrotlar kullanılarak, farklı derişimlerdeki destek elektrot çözeltisinde hazırlanan farklı derişimlerdeki nikotinamit adenin dinükleotitin çözeltilerinde nanoelektrokimyasal davranışlar incelenmiştir. Derişim akım değişimi kare dalga voltametri ile incelenerek kalibrasyon grafiği çizilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Nikotinamit adenin dinükleotit, nanoelektrot, dönüşümlü voltametri, altın, kare dalga voltametri

INVESTIGATING OF NANO-ELECTROCHEMICAL BEHAVIOR OF NICOTINAMIDE ADENINE DINUCLEOTIDE

Tuğba DEMİR

HİTİT UNIVERSITY
GRADUATE SCHOOL OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES

January 2016

ABSTRACT

Gold nanoelectrode were produced by laser puller method. Gold nanoelectrodes' approximate radius were calculated by cyclic voltammetry in the ferrocene solution. It was also obtained information about surface roughness of nanoelectrodes by means of getting voltammogram. Nanoelectrochemical behaviors in the support electrode solution of different concentrations prepared in different concentrations of nicotinamide adenine dinucleotide solutions by using produced nanoelectrodes were examined. The calibration graph was drawn by examining the concentration of current changes by means of square wave voltammetry.

Keywords: Nicotinamide adenine dinucleotide, nanoelectrode, cyclic voltammetry, gold, square wave voltammetry

TEŞEKKÜR

Tez çalışmalarım boyunca değerli yardım ve katkılarıyla beni yönlendiren Danışman Hocam Doç. Dr. Ebru GÖKMEŞE'ye, yine elektrokimya alanındaki bilgi birikimi ve kıymetli tecrübelerinden faydalandığım Hocam Prof. Dr. Faruk GÖKMEŞE'ye teşekkür ederim.

Maddi ve manevi destekleriyle bana güç veren ve her zaman yanımda olduklarını hissettiğim çok değerli annem Ayşe DEMİR, babam Murat DEMİR, kardeşlerim Şeyma DEMİR ve Fatih DEMİR'e teşekkürü bir borç bilirim.

Çalışmalarım boyunca sürekli yanımda olan desteğini ve yardımını hiç esirgemeyen canım arkadaşım Melda BOLAT'a, ayrıca tez çalışmamın başlangıcından sonuna kadar büyük yardımlarını gördüğüm laboratuarda ve laboratuvar dışında benimle sabırla çalışan, bilgi ve önerilerinden sıkça faydalandığım arkadaşım Hülya YILDIZ'a ve Hayriye ARSLAN'a teşekkür ederim.

Hayatımda desteğini ve hoşgörüsünü esirgemeyen hep yanımda olan nişanlım Adnan KIR'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Hitit Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (BAP) birimine FEF19004.15.003 numaralı projeye verdikleri destekten dolayı teşekkür ederim.

Bu tez çalışmasına, FEF19004.15.003 numaralı proje kapsamında vermiş oldukları destekten dolayı, Hitit Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü'ne teşekkür ederiz.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET.....	iv
ABSTRACT.....	v
TEŞEKKÜR.....	vi
İÇİNDEKİLER	viii
ÇİZELGELER DİZİNİ	xi
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xii
RESİMLER DİZİNİ.....	xvii
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	xviii
1. GİRİŞ	1
2. KURAMSAL TEMELLER VE KAYNAK ARAŞTIRMASI.....	3
2.1. β -Nikotinamid Adenin Dinükleotit, İndirgenmiş Disodyum Tuzu (β -NADH) ve Özellikleri	3
2.1.1. Canlı sistemlerdeki rolü	6
2.2. Elektroanalitik Metotlar	8
2.2.1. Dönüşümlü voltametri (CV)	8
2.2.2. Kare dalga voltametrisi (SWV).....	14
2.3. Ultramikroelektrotlar (UME)	15
2.3.1. Ultramikroelektrotlardaki difüzyon kontrollü akımlar.....	15
2.3.2. Ultramikroelektrotların türleri.....	16
2.3.3. Büyük genlikli potansiyel adım uygulamaları için akım cevapları.....	18
2.2.4. Ultramikroelektrotlardaki davranışın özeti	21
2.2.5. Kararlı hal voltametrisine çift tabakanın etkisi	22
2.4. Naoelektrokimya	24
2.4.1. Naoelektrotlar.....	24

Sayfa

2.4.2. Nanoelektrot üretimi	25
2.4.3. Nanoelektrotlarda elektrokimya.....	26
2.4.4. Nanoboyutlu elektrotların faydaları	29
2.5. Kaynak Araştırması	31
3. MATERYAL VE YÖNTEM	38
3.1. Kimyasal Maddeler ve Malzemeler	38
3.2. Sutter P-2000 Laser Esaslı Mikropipet Çekici	38
3.3. BV-10 Mikropipet Parlatma Cihazı	40
3.4. Elektrokimyasal Cihazlar	41
3.5. Optik Mikroskop	42
3.6. Yöntem	44
4. ARAŞTIRMA SONUÇLARI	46
4.1. Altın Nanoelektrotların Optik Mikroskop Sonuçları.....	46
4.2. Dönüşümlü Voltametri Sonuçları.....	48
4.2.1. Normal boyutlu altın elektrotta dönüşümlü voltametri sonuçları	48
4.2.2. Altın nanoelektrotların dönüşümlü voltametri ile karakterizasyonu.....	51
4.2.3. NADH'nin nanoelektrotlarda dönüşümlü voltametri sonuçları.....	56
4.3. NADH için Kare Dalga Voltametrisi Sonuçları.....	67
4.3.1. Kare dalga voltametrisi optimizasyon sonuçları	67
4.3.2. Çeşitli boyutlardaki nanoelektrotlarda kare dalga voltamogramları	68
4.3.3. Akım-derişim incelenmesi	72
5. TARTIŞMA	76
5.1. Altın Nanoelektrotların Ferrosen Medyatörü İle Karakterizasyonu.....	76
5.2. Üretilen Nanoelektrotların Yarıçap Hesaplamaları	76
5.3. NADH Sonuçlarının Tartışılması.....	77

Sayfa

5.3.1. Dönüşümlü voltametri yorumları.....	77
5.3.2. Kare dalga voltametri yorumları	77
6. SONUÇ ve ÖNERİLER.....	82
KAYNAKLAR	83



ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge	Sayfa
Çizelge 2.1. Nanoelektrotların kararlı hal voltametik karakterizasyonu (Arrigan, 2004)	28
Çizelge 4.1. Altın nanoelektrotların ortalama yarıçapları	56
Çizelge 4.2. NADH için kare dalga voltametrisi optimizasyon sonuçları	68
Çizelge 4.3. Akım-derişim incelenmesi	72
Çizelge 5.1. Altın nanoelektrotların %95 güven aralığında ortalama yarıçapları.....	76

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil	Sayfa
Şekil 2.1. β -Nikotinamid Adenin Dinükleotit, İndirgenmiş Disodyum Tuzu (β -NADH).....	3
Şekil 2.2. NAD^+ ve NADP^+ 'nin yapısı (Bayrak, 2010).....	4
Şekil 2.3. NAD^+/NADH dönüşümü (Bayrak, 2010).....	5
Şekil 2.4. NAD^+ ve NADH 'nin UV absorpsiyon spektrumu (Bayrak, 2010).....	6
Şekil 2.5. Dönüşümlü voltametri, (a) potansiyel-zaman, (b) akım-potansiyel eğrileri (Büyükkaya, 2011)	10
Şekil 2.6. Tersinir redoks reaksiyonu için tipik bir dönüşümlü voltamogram (Büyükkaya, 2011).....	11
Şekil 2.7. Yarı tersinir bir elektrot reaksiyonunda pik akımının potansiyel tarama hızının karekökü ile değişimi (Duman, 2014).....	13
Şekil 2.8. Kare dalga voltametri puls tipi uyarma sinyalinin dalga şekli (Öztürk, 2008; Büyükkaya, 2011)	14
Şekil 2.9. Yüzeyde aktif ve inaktif alanlar ile bir elektrotta kronoamperometri boyunca difüzyon alanının gelişimi. (a) kısa elektroliz süresi (b) orta süre (c) uzun süre (Ok işaretleri elektroda doğru akış çizgilerini gösterir) (Bard ve Faulkner, 2001).....	16
Şekil 2.10. Farklı destek elektrolit derişimleri için Nernst eşitliğine uyan kararlı hal voltametri sonuçları (Dickinson, 2011).....	23
Şekil 2.11. Yüksek destek elektrolit konsantrasyonu için, Nernst eşitliğine uyan simüle edilmiş kararlı hal voltamogramı (Dickinson, 2011).....	24
Şekil 2.12. Nanoelektrot geometrileri; yarı küresel elektrot, düzgünleştirilmiş disk elektrot ve aşındırılmış disk elektrot (Arrigan, 2004).....	27
Şekil 4.1. 1×10^{-3} M Ferrosen molekülünün 0,05 M TBATFB'de verdiği voltamogramı $v:0,01$ V/s (vs.Pt)	49
Şekil 4.2. $0,5 \times 10^{-3}$ M NADH 'nin 0,1 M KCl içeren pH=7 fosfat tamponunda ve normal boyut altın elektrotta alınan voltamogramı $v:0,05$ V/s (vs. Pt) ...	49

Şekil	Sayfa
Şekil 4.3. $1,5 \times 10^{-3}$ M NADH'nin 0,1 M KCl içeren pH=7 fosfat tamponunda ve normal boyut altın elektrotta alınan voltamogramı $v:0,05$ V/s (vs. Pt)...	50
Şekil 4.4. $0,05 \times 10^{-3}$ M NADH'nin 0,1 M KCl içeren pH=7 fosfat tamponunda alınan voltamogramı $v:0,1$ V/s (vs. Ag)	50
Şekil 4.5. 1×10^{-3} M Ferrosen molekülünün 0,05 M TBATFB'de verdiği voltamogramı $v:0,01$ V/s (vs.Ag) (101,58 nm)	51
Şekil 4.6. 1×10^{-3} M Ferrosen molekülünün 0,05 M TBATFB'de verdiği voltamogramı $v:0,01$ V/s (vs.Ag) (86,53 nm)	51
Şekil 4.7. 1×10^{-3} M Ferrosen molekülünün 0,05 M TBATFB'de verdiği voltamogramı $v:0,01$ V/s (vs.Ag) (86,53 nm)	52
Şekil 4.8. 1×10^{-3} M Ferrosen molekülünün 0,05 M TBATFB'de verdiği voltamogramı $v:0,01$ V/s (vs. Ag) (83,91 nm)	52
Şekil 4.9. 1×10^{-3} M Ferrosen molekülünün 0,05 M TBATFB'de verdiği voltamogramı $v:0,01$ V/s. (vs.Ag) (29,93 nm)	53
Şekil 4.10. 1×10^{-3} M Ferrosen molekülünün 0,05 M TBATFB'de verdiği voltamogramı $v:0,01$ V/s (vs.Ag) (64,68 nm)	53
Şekil 4.11. 1×10^{-3} M Ferrosen molekülünün 0,05 M TBATFB'de verdiği voltamogramı $v:0,01$ V/s (vs.Ag) (131,02 nm)	54
Şekil 4.12. 1×10^{-3} M Ferrosen molekülünün 0,05 M TBATFB'de verdiği voltamogramı $v:0,01$ V/s (vs.Ag) (190,07 nm)	54
Şekil 4.13. 78,51 nm'lik altın nanoelektrot ile 1×10^{-3} M Ferrosen molekülünün 0,05 M TBATFB'de verdiği voltamogramı $v:0,01$ V/s (vs.Ag)	55
Şekil 4.14. 75,57 nm'lik altın nanoelektrot ile 1×10^{-3} M Ferrosen molekülünün 0,05 M TBATFB'de verdiği voltamogramı $v:0,01$ V/s (vs.Ag). Bu sonuç elektrotun ikinci parlatması sonucu elde edilmiştir	55
Şekil 4.15. $0,5 \times 10^{-3}$ M NADH'nin 0,1 M KCl içeren pH=7 fosfat tamponunda ve 101,57 nm altın nanoelektrotta alınan voltamogramı $v:0,02$ V/s (vs. Ag).....	57
Şekil 4.16. $0,5 \times 10^{-3}$ M NADH'nin 0,1 M KCl içeren pH=7 fosfat tamponunda ve 131,023 nm altın nanoelektrotta alınan voltamogramı $v:0,02$ V/s (vs. Ag).....	57
Şekil 4.17. $0,5 \times 10^{-3}$ M NADH'nin 0,1 M KCl içeren pH=7 fosfat tamponunda ve 29,93 nm altın nanoelektrotta alınan ilk voltamogramı $v:0,02$ V/s (vs. Ag).....	58

Şekil	Sayfa
Şekil 4.18. $0,5 \times 10^{-3}$ M NADH'nin 0,1 M KCl içeren pH=7 fosfat tamponunda ve 29,93 nm altın nanoelektrotta ilk sonikasyon sonucu alınan voltamogramı $v:0,02$ V/s (vs. Ag).....	58
Şekil 4.19. $0,5 \times 10^{-3}$ M NADH'nin 0,1 M KCl içeren pH=7 fosfat tamponunda ve 29,93 nm altın nanoelektrotta ikinci sonikasyon sonucu alınan voltamogramı $v:0,02$ V/s (vs. Ag).....	59
Şekil 4.20. $0,5 \times 10^{-3}$ M NADH'nin 0,1 M KCl içeren pH=7 fosfat tamponunda ve 64,67 nm altın nanoelektrotta alınan ilk voltamogramı $v: 0,02$ V/s (vs. Ag).....	59
Şekil 4.21. $0,5 \times 10^{-3}$ M NADH'nin 0,1 M KCl içeren pH=7 fosfat tamponunda ve 64,67 nm altın nanoelektrotta sonikasyon sonucu alınan voltamogramı $v:0,02$ V/s (vs. Ag)	60
Şekil 4.22. $0,05 \times 10^{-3}$ M NADH'nin 0,1 M KCl içeren pH=7 fosfat tamponunda ve 101,58 nm elektrotta alınan voltamogramı $v: 0,2$ V/s (vs. Ag).....	60
Şekil 4.23. $0,25 \times 10^{-3}$ M NADH'nin 0,1 M KCl içeren pH=7 fosfat tamponunda ve 101,58 nm elektrotta alınan voltamogramı $v: 0,2$ V/s (vs. Ag).....	61
Şekil 4.24. $0,5 \times 10^{-3}$ M NADH'nin 0,1 M KCl içeren pH=7 fosfat tamponunda ve 101,58 nm elektrotta alınan voltamogramı $v:0,2$ V/s (vs. Ag).....	61
Şekil 4.25. 1×10^{-3} M NADH'nin 0,1 M KCl içeren pH=7 fosfat tamponunda ve 101,58 nm elektrotta alınan voltamogramı $v:0,2$ V/s (vs. Ag).....	62
Şekil 4.26. $0,5 \times 10^{-3}$ M NADH'nin 0,1 M KCl içeren pH=7 fosfat tamponunda ve 78,51 nm elektrotta alınan voltamogramı $v:0,2$ V/s (vs. Ag).....	62
Şekil 4.27. $0,05 \times 10^{-3}$ M NADH'nin 0,1 M KCl içeren pH=7 fosfat tamponunda ve 83,91 nm elektrotta alınan voltamogramı $v:0,1$ V/s (vs. Ag).....	63
Şekil 4.28. $0,25 \times 10^{-3}$ M NADH'nin 0,1 M KCl içeren pH=7 fosfat tamponunda ve 83,91 nm elektrotta alınan voltamogramı $v:0,1$ V/s (vs. Ag).....	63
Şekil 4.29. $0,5 \times 10^{-3}$ M NADH'nin 0,1 M KCl içeren pH=7 fosfat tamponunda ve 83,91 nm elektrotta alınan voltamogramı $v:0,1$ V/s (vs. Ag).....	64
Şekil 4.30. 1×10^{-3} M NADH'nin 0,1 M KCl içeren pH=7 fosfat tamponunda ve 83,91 nm elektrotta alınan voltamogramı $v:0,1$ V/s (vs. Ag).....	64
Şekil 4.31. $0,25 \times 10^{-3}$ M NADH'nin 0,5 M KCl içeren pH=7 fosfat tamponunda ve 101,58 nm elektrotta alınan voltamogramı $v:0,2$ V/s (vs. Ag).....	65
Şekil 4.32. $0,5 \times 10^{-3}$ M NADH'nin 0,5 M KCl içeren pH=7 fosfat tamponunda ve 101,58 nm elektrotta alınan voltamogramı $v:0,2$ V/s (vs. Ag).....	65

Şekil	Sayfa
Şekil 4.33. $2,5 \times 10^{-3}$ M NADH'nin 0,5 M KCl içeren pH=7 fosfat tamponunda ve 29,93 nm elektrotta alınan voltamogramı $v:0,2$ V/s (vs. Ag).....	66
Şekil 4.34. $0,05 \times 10^{-3}$ M NADH'nin 2 M KCl içeren pH=7 fosfat tamponunda ve 29,93 nm elektrotta alınan voltamogramı $v:0,2$ V/s (vs. Ag).....	66
Şekil 4.35. $0,5 \times 10^{-3}$ M NADH'nin 2 M KCl içeren pH=7 fosfat tamponunda ve 29,93 nm elektrotta alınan voltamogramı $v:0,2$ V/s (vs. Ag).....	67
Şekil 4.36. (a) $0,05 \times 10^{-3}$ M, (b) $0,25 \times 10^{-3}$ M, (c) $0,5 \times 10^{-3}$ M (d) 1×10^{-3} M NADH 'nin 0,1 M KCl içeren pH=7 fosfat tamponunda ve 101,58 nm elektrotta alınan kare dalga voltamogramı. Frekans(Hz):50 Hz, Genlik(V):0,05 V (vs. Ag)	69
Şekil 4.37. (a) $0,25 \times 10^{-3}$ M, (b) $0,5 \times 10^{-3}$ M NADH'nin 0,5 M KCl içeren pH=7 fosfat tamponunda ve 101,58 nm elektrotta alınan kare dalga voltamogramı Frekans(Hz):50 Hz, Genlik(V):0,05 V (vs. Ag)	70
Şekil 4.38. $2,5 \times 10^{-3}$ M NADH'nin 0,5 M KCl içeren pH=7 fosfat tamponunda ve 29,93 nm elektrotta alınan kare dalga voltamogramı. Frekans(Hz):50 Hz, Genlik(V):0,05 V (vs. Ag).....	71
Şekil 4.39. (a) $0,05 \times 10^{-3}$ M, (b) $0,5 \times 10^{-3}$ M NADH'nin 2 M KCl içeren pH=7 fosfat tamponunda ve 29,93 nm elektrotta alınan kare dalga voltamogramı Frekans(Hz):50 Hz, Genlik(V):0,05 V (vs. Ag)	72
Şekil 4.40. (a)1 mM, (b) 2 mM NADH 'nin 2,5 M KCl içeren pH=7 fosfat tamponunda ve 256,812 nm elektrotta alınan kare dalga voltamogramı Frekans(Hz):50 Hz, Genlik(V):0,05 V (vs. Ag).....	73
Şekil 4.41. 4 mM NADH 'nin 2,5 M KCl içeren pH=7 fosfat tamponunda ve 256,812 nm elektrotta alınan kare dalga voltamogramı Frekans(Hz):50 Hz, Genlik(V):0,05 V (vs. Ag).....	73
Şekil 4.42. 1 mM NADH 'nin 3 M KCl içeren pH=7 fosfat tamponunda ve 256,812 nm elektrotta alınan kare dalga voltamogramı Frekans(Hz):50 Hz, Genlik(V):0,05 V (vs. Ag).....	74
Şekil 4.43. 2 mM NADH 'nin 3 M KCl içeren pH=7 fosfat tamponunda ve 256,812 nm elektrotta alınan kare dalga voltamogramı. Frekans(Hz):50 Hz, Genlik(V):0,05 V (vs. Ag).....	74
Şekil 4.44. 3 mM NADH 'nin 3 M KCl içeren pH=7 fosfat tamponunda ve 256,812 nm elektrotta alınan kare dalga voltamogramı Frekans(Hz):50 Hz, Genlik(V):0,05 V (vs. Ag).....	75

Şekil	Sayfa
Şekil 4.45. 4 mM NADH 'nin 3 M KCl içeren pH=7 fosfat tamponunda ve 256,812 nm elektrotta alınan kare dalga voltamogramı Frekans(Hz):50 Hz, Genlik(V):0,05 V (vs. Ag).....	75
Şekil 5.1. (a) 1×10^{-3} M, (b) $0,5 \times 10^{-3}$ M NADH'nin 0,1 M KCl içeren pH=7 fosfat tamponunda ve 86,53 nm elektrotta alınan voltamogramı $v:0,1$ V/s (vs. Ag).....	77
Şekil 5.2. (a) 1×10^{-3} M, (b) $0,25 \times 10^{-3}$ M NADH'nin 0,1 M KCl içeren pH=7 fosfat tamponunda ve 101,58 nm elektrotta alınan kare dalga voltamogramı Frekans(Hz):50 H, Genlik(V):0,05 V (vs. Ag)	78
Şekil 5.3. 1 mM, 2 mM, 3 mM, 4 mM NADH 'nin 3 M KCl içeren pH=7 fosfat tamponunda ve 256,812 nm elektrotta alınan kare dalga voltamogramı Frekans(Hz):50 Hz, Genlik(V):0,05 V (vs. Ag).....	79
Şekil 5.4. 0,5 M KCl içeren pH=7 fosfat tamponunda ve 101,58 nm elektrotta akım-derişim değişimi.....	79
Şekil 5.5. 0,5 M KCl içeren pH=7 fosfat tamponunda ve 101,58 nm elektrotta akım-derişim değişimi.....	80
Şekil 5.6. 2,5 M KCl için içeren pH=7 fosfat tamponunda ve 256,812 nm elektrotta akım-derişim değişimi.....	80
Şekil 5.7. 3 M KCl içeren pH=7 fosfat tamponunda ve 256,812 nm elektrotta akım-derişim değişimi.....	81

RESİMLER DİZİNİ

Resim	Sayfa
Resim 3.1. P-2000 Lazer esaslı Mikropipet Çekici.....	39
Resim 3.2. BV-10 Mikropipet Parlatma Cihazı	40
Resim 3.3. Lazerli çekme yöntemiyle altın nanoelektrot üretim şeması (Zoski, 2007).....	45
Resim 4.1. (a) İnceltme, (b) Kaynaştırma, (c1,c2) Çekme işlemi sonucu elde edilen nanoelektrotlar.....	46
Resim 4.2. (a) İnceltme, (b) Kaynaştırma, (c1,c2) Çekme işlemi sonucu elde edilen nanoelektrotlar.....	47
Resim 4.3. (a) İnceltme, (b) Kaynaştırma, (c1,c2) Çekme işlemi sonucu elde edilen nanoelektrotlar.....	47
Resim 4.4. (a) İnceltme, (b) Kaynaştırma, (c1,c2) Çekme işlemi sonucu elde edilen nanoelektrotlar.....	48
Resim 4.5. (a) İnceltme, (b) Kaynaştırma, (c1,c2) Çekme işlemi sonucu elde edilen nanoelektrotlar.....	48

SİMGELER VE KISALTMALAR

Simgeler	Açıklama
A	Elektrot Yüzey Alanı (cm^2)
A	Amper
α	Transfer Katsayısı
AgCl	Gümüş Klorür
Au	Altın
C	Elektroaktif Türün Derişimi (mol/cm^3)
D	Difüzyon Katsayısı(cm^2/s)
e^-	Elektron
E^0	Formal Potansiyel
ΔE_p	Pik Potansiyelleri Farkı
ΔE_s	Basamaklı Adım Yüksekliği
E_{pa}	Anodik Pik Potansiyeli
E_{pk}	Katodik Pik Potansiyeli
E_{SW}	Kare Dalga Genliği
f	Kare Dalga Frekansı
F	Faraday Sabiti
Hg	Civa
H_3PO_4	Fosforik Asit
ΔI	SWV'de Net Akım
i_p	Pik akımı
i_{pk}	Katodik Pik Akımı
i_{pa}	Anodik Pik Akımı
i_{ss}	Kararlı Hal Akımı
KCl	Potasyum Klorür
M	Molar
m_O	Kütle Aktarım Katsayısı
mm	Milimetre
mM	Milimolar

Simgeler	Açıklama
mol/L	Mol/Litre
ms	Milisaniye
mV	Milivolt
mV/s	Milivolt/Saniye
μ A	Mikroamper
μ m	Mikrometre
μ M	Mikromolar
n	Aktarılan Elektron Sayısı
N ₂	Azot
nA	Nanoamper
n _{α}	Hız Belirleyen Basamakta Aktarılan Elektron Sayısı
NAD ⁺	Nikotinamit Adenin Dinükleotit
NADH	Nikotinamit Adenin Dinükleotidin İndirgenmiş Hali
β -NADH	β - Nikotinamit Adenin Dinükleotit, İndirgenmiş Disodyum Tuzu
NADP ⁺	Nikotinamit Adenin Dinükleotit Fosfat
NADPH	Nikotinamit Adenin Dinükleotit Fosfatın, İndirgenmiş Hali
NaH ₂ PO ₄ .2H ₂ O	Sodyum Dihidrojenfosfat
Na ₂ HPO ₄	Disodyum Hidrojenfosfat
nm	Nanometre
O ₂	Oksijen
pA	Pikoamper
pH	Hidrojen İyonu Derişiminin Eksi Logaritması
pm	Pikometre
Pt	Platin
r	Elektrot Boyutu
r ₀	Yarıçap

Simgeler	Açıklama
s	Saniye
S	Substratın Yükseltgenmiş Formu
SH ₂	Substratın İndirgenmiş Formu
t _p	Puls Genişliği
w	Kritik Boyut
V	Volt
v	Tarama Hızı

Kısaltmalar	Açıklama
ADP	Adenozin Difosfat
ATP	Adenozin Trifosfat
4-ATP SAMs	4-aminotiyofenolün (4-ATP) kendi kendine oluşturduğu tek tabakalar
CV	Dönüşümlü Voltametri
CYST	Sistamin
DCE	Damlayan Cıva Elektrot
DHN	N-benzil-1,4-dihidronikotinamit
DNA	Deoksiribonükleik Asit
ECE	Elektrokimyasal-Kimyasal-Elektrokimyasal
GC	Camsı Karbon
GrPE	Grafen Pasta Elektrot
IL-grafen	İyonik Sıvı İle Fonksiyonel Hale Getirilmiş Grafen
LSV	Doğrusal Taramalı Voltametri
ME	Merkaptoetanol
MPA	Merkaptopropionik Asit
OCNTs	Sıralı Karbon Nano Tüpler
OCNT/GC	Sıralı Karbon Nano Tüpler Modifiye Camsı Karbon Elektrot

Kısaltmalar	Açıklama
PBCB	Poli Brilliant Kresil Mavisi
ROS	Reaktif Oksijen Türleri
RNS	Reaktif Azot Türleri
SCE	Standart Hidrojen Elektrot
SECM	Taramalı Elektrokimyasal Mikroskopi
SWNT	Tek Duvarlı Karbon Nanotüp
SWV	Kare Dalga Voltametri
TBATFB	Tetrabütül Amonyum Tetrafloroborat
TCNQ	Tetrasiyanoquinodimetan
UME	Ultramikroelektrot
UV	Ultraviyole
XPS	X-Işını foto elektron spektroskopisi

1. GİRİŞ

Bu çalışmada, nikotinamid adenin dinükleotit (NADH) çözeltisinin nanoelektrokimyasal davranışları çeşitli elektroanalitik teknikler kullanılarak incelenmiştir. Metabolizmada NADH'nin indirgenmiş formu (NAD^+), redoks tepkimelerine katılarak elektronları bir tepkimeden diğerine taşımakta görev alan bir koenzimdir. Bu koenzim, insan hücrelerinin enerji üretiminde önemli rol oynar ve yakıt moleküllerinin yükseltgenmesinde en büyük elektron taşıyıcısıdır. Bu sebeple NADH hücrede iki formda bulunur. Birincisi yükseltgenme reaktifi olarak NAD^+ diğer moleküllerden elektron alır ve indirgenmiş formuna dönüşür. İkincisi ise tepkime sonucu oluşan NADH'nin, indirgenme reaktifi olarak elektron verici görev almasıdır. Bu elektron transfer tepkimeleri NAD^+/NADH 'nin esas özelliklerindedir (Wikipedia, 2014).

NADH biyoyakıt hücrelerinde kimyasal enerjinin elektrik enerjisine dönüşümünde de çok sık kullanılmaktadır. Ayrıca NAD^+ 'ya bağlı biyokatalizör kullanılarak biyosensörler geliştirilmiştir. Bu amaçla NAD^+/NADH çiftinin redoks dönüşümü kullanılmıştır. Bu önemli özelliklerinden dolayı, NADH'nin elektrokimyasal yükseltgenmesine yönelik çalışmalar büyük ilgi görmüştür. Son zamanlarda da NADH'nin elektrokimyasal yükseltgenmesi üzerine birçok çalışma yapılmıştır (Dilgin ve ark., 2010).

Mikrometre boyutlarda genellikle 1-25 mikron çapında çalışma elektrotlarının voltametrik kullanımı 1980'li yıllarda başlamış ve elektrokimyada önemli araştırma alanlarından biri haline gelmiştir (Murray, 2008). Ultramikroelektrotların ve daha küçük boyutlu elektrotların kullanılmasındaki esas sebep artırılmış kütle transferidir. Elektrot boyutu küçülürken, çok yönlü difüzyon baskın hale gelir ve böylece daha hızlı kütle transferi gerçekleşir (Arrigan, 2004). Elektrot boyutunun mikrometreden nanometre boyutlarına düşmesiyle daha hızlı elektrokimyasal ve kimyasal reaksiyonların incelenmesi mümkün hale gelir. Küçük elektrotlarda yükleme akımı önemlidir, elektrot küçülürken çift tabaka daha belirginleşir. Elektrot boyutu küçüldükçe difüzyon tabakası inceler. Böylece çok küçük elektrotlarda, çift tabaka

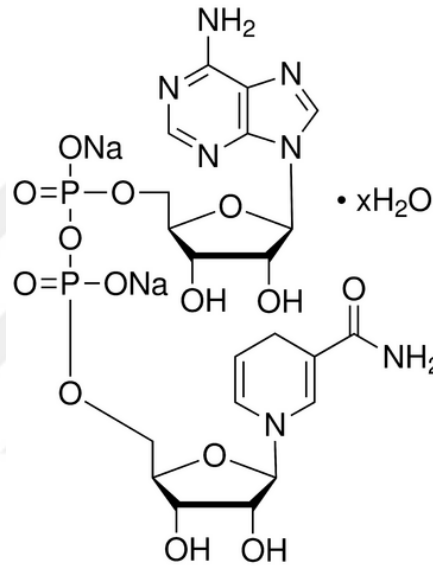
viskozitesinin etkileri deneysel olarak elde edilen difüzyon kontrollü akımlarda daha belirgin hale gelir (Arrigan, 2004). Nano boyutlu elektrokimya modern elektrokimyasal bilimin yanı sıra enerji dönüşüm ve depolama, kataliz, sensör gelişimi ve çevre bilimi gibi diğer birçok önemli araştırma alanları için çok önemlidir. Nano boyutlu elektrokimyasal araştırmalar geleneksel yöntem kullanılarak ulaşılamayan güvenilir bilgileri sağlamıştır (Oja ve ark., 2013).

Bu çalışmada nikotinamid adenin dinükleotidin elektrokimyasal davranışları ürettiğimiz farklı boyutlardaki altın nanoelektrotlarda medyatör olarak ferrosen çözeltisinde incelenmiştir. Medyatör olarak ferrosen tercih etmemizin nedeni; ferrosen suda çözünmez asetonitrilde çözünür, diğer medyatörlere göre daha ucuzdur, hızlı ve tersinir elektron transferi gerçekleştirir. Çeşitli elektroanalitik teknikler ile uygun bir destek elektrolit ortamında NADH'nin nanoelektrokimyasal davranışları araştırılmıştır. Aktarılan elektron sayısı ile difüzyon katsayısı mikroelektrotlar, ultramikroelektrotlar ve nanoelektrotlar kullanılarak dönüşümlü voltametri ve kare dalga voltametri teknikleriyle hesaplanmıştır. Derişim akım değişimi incelenerek kalibrasyon grafiği çizilmiştir.

2. KURAMSAL TEMELLER VE KAYNAK ARAŞTIRMASI

2.1. β -Nikotinamit Adenin Dinükleotit, İndirgenmiş Disodyum Tuzu (β -NADH) ve Özellikleri

Bu çalışmada nanoelektrokimyasal davranışı incelenen nikotinamit adenin dinükleotit (NAD^+)' in sodyum tuzunun açık formülü, tam ve kısaltılmış adı ile bazı özellikleri verilmiştir.



Şekil 2.1. β -Nikotinamit Adenin Dinükleotit, İndirgenmiş Disodyum Tuzu (β -NADH)

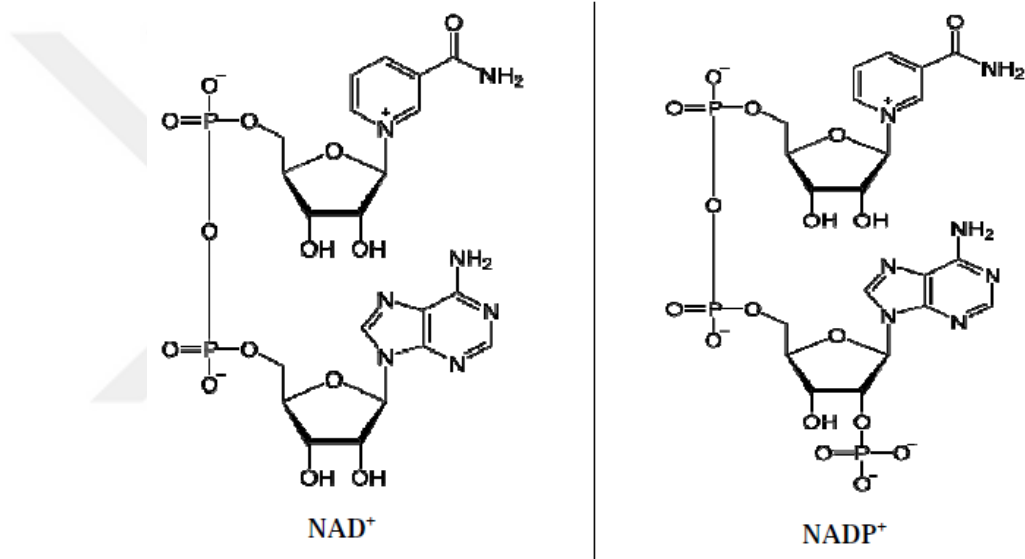
Formül : $\text{C}_{21}\text{H}_{27}\text{N}_7\text{Na}_2\text{O}_{14}\text{P}_2 \cdot \text{xH}_2\text{O}$

Molekül Ağırlığı : 709,40 g/mol

Nikotinamit adenin dinükleotit (NAD^+) hücrelerde bulunan önemli bir koenzimdir. Elektron taşıyarak indirgenme potansiyelinin moleküller arasında aktarılmasında rol oynar. NADH , NAD^+ 'nin indirgenmiş halidir, dolayısıyla NAD^+ de NADH 'nin yükseltgenmiş halidir (Anonim, 2015).

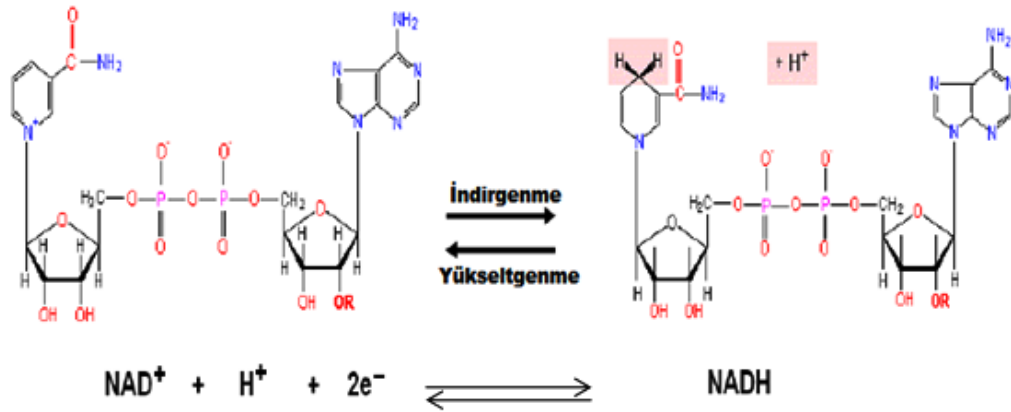
NAD^+ molekülünün bir ucunda adenin buna bağlı bir riboz şekeri, riboz şekere bağlı iki fosfat grubu, bunlara bağlı bir riboz şekeri daha ve bu riboz şekere bağlı

bir nikotinamid halkası bulunmaktadır (Şekil 2.1) (Bayrak, 2010). Yapıdaki riboz halkalarından birinin ilk karbon atomuna adenin nükleotidi bağlıken, 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, 2014).



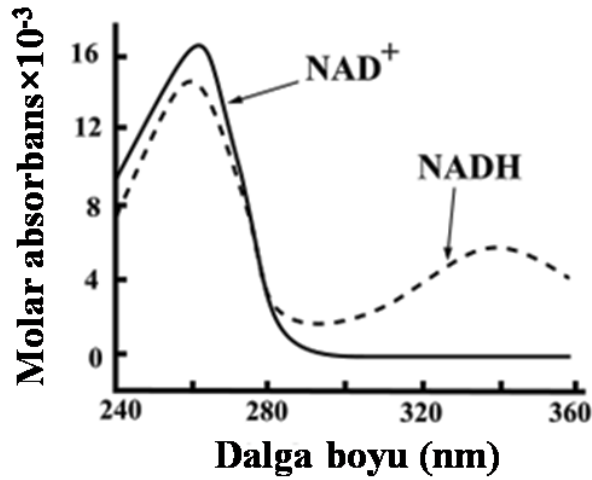
Şekil 2.2. NAD^{+} ve NADP^{+} 'nin yapısı (Bayrak, 2010)

NAD^{+} 2 elektron ve 1 H^{+} alarak indirgenir ve NADH oluşturur. 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. $\text{NAD}^{+}/\text{NADH}$ redoks çiftinin yarı dalga potansiyeli -0,32 V olup, bu potansiyel NADH 'nin çok güçlü bir reaktif olduğunu göstermektedir.



Şekil 2.3. NAD⁺/NADH dönüşümü (Bayrak, 2010)

Hem NAD⁺ hem de NADH yapılarındaki adenin bazından dolayı morötesi bölgedeki ışınları kuvvetli bir şekilde absorplarlar. NAD⁺ ve NADH'nin maksimum absorpsiyon yaptığı dalga boyu 259 nm olup molar absorplama katsayısı 16900 L/mol.cm iken NADH ayrıca 339 nm'de molar absorplama katsayısı 6222 L/mol.cm olan ikinci bir absorpsiyon piki vermektedir (Şekil 2.4). Yüksek dalga boyundaki koenzimin indirgenmiş ve yükseltgenmiş formlarının 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. İndirgenmiş nükleotitler 340 nm'de ışığı absorplarlar yükseltgenmiş formları bu absorpsiyonu gerçekleştirmez.



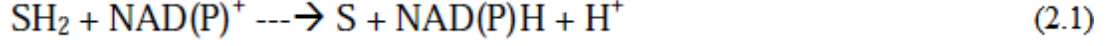
Şekil 2.4. NAD⁺ ve NADH'nin UV absorpsiyon spektrumu (Bayrak, 2010)

Ayrıca NAD⁺ ve NADH floresans özelliklerinde de farklılık gösterirler. NADH çözeltileri 460 nm dalga boyunda bir emisyon piki verirken, NAD⁺ floresans özellik göstermemektedir. NADH proteinlere bağlandığında floresans sinyalinde değişme gözlenir, bu özellik enzim kinetiği çalışmalarında oldukça yararlı olan ayrışma sabitlerinin ölçülmesinde kullanılabilir.

2.1.1. Canlı sistemlerdeki rolü

Enzimler çok güçlü katalizörlerdir ve çoğu canlı hücrede yükseltgenme-indirgenme tepkimeleri, basit elektron transfer tepkimeleri, yer değiştirme tepkimeleri gibi birçok tepkimenin gerçekleşmesinde rol oynar. Bazı redoks enzimleri aktivite gösterebilmek için koenzim olarak adlandırılan küçük bir moleküle ihtiyaç duyar. Koenzimler küçük gruplar, atomlar veya elektronlara karşı alıcı veya verici olarak görev yapan, substratın yükseltgenmesi veya indirgenmesinde yürütücü bir güç sağlayan maddelerdir (Simon ve Bartlett, 2003). Piridin nükleotidleri olarak bilinen nikotinamid adenin dinükleotit (NAD⁺) ve nikotinamid adenin dinükleotit fosfat (NADP) tüm canlı hücrelerde bulunur. Bunlar yükseltgenme indirgenme tepkimelerini katalizlemek için gerekli olan koenzimlerdir (Gorton ve Dominguez, 2002).

Özellikle substrattan bir elektron alıcısına hidrojen atomlarının ve elektronların transferinin gerçekleştiği dehidrogenaz enzimlerinin tepkimelerinde (Eş. 2.1), 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.

Organizmada, NAD^+ , triptofan ya da aspartik asitten sentezlenebilir. Alternatif olarak, koenzimlerin daha karmaşık grupları gıdalardan vitamin B3 (niyasin) olarak alınabilir. Bazı NAD^+ molekülleri NADP^+ 'ye dönüşebilir, bu iki enzimin kimyasal yapısı ve özellikleri birbirine çok yakın olmasına rağmen (Şekil 2.2), metabolizmadaki rolleri farklıdır (Wikipedia, 2014). NADPH , enerji bakımından zengin biyolojik molekülleri sentezlemek için gerekli elektronları vererek 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 sonucu açığa çıkan enerji ADP 'den birkaç molekül ATP ve inorganik fosfat sentezlemek için yeterli enerjiye karşılık gelir. (Simon ve Bartlett, 2003).

Bu önemli fonksiyonlarının yanında, NADH organizmada aşağıda özetlenen fonksiyonlara da sahiptir:

- NADH zarar görmüş hücre ve DNA'ları onarır.
- NADH oldukça güçlü bir antioksidandır.
- NADH adrenalini ve dopamini uyarma özelliğine sahiptir.

- NADH nöron taşıyıcı özellik gösteren ve kan damarlarının gevşemesinde en önemli etki gösteren, nitroksit üretimini arttırmaktadır.

2.2. Elektroanalitik Metotlar

Elektrokimya, elektrik ve kimya arasındaki etkileşim ile ilgilidir. Elektrokimya akım, potansiyel veya yük ile bunların kimyasal değişkenlerle ilişkisine bağlı elektriksel büyüklüklerin ölçümleriyle ilgilidir (Bard ve Faulkner, 2001).

Elektrokimya, çözücülerde homojen olarak ya da elektrot/çözücü ara yüzeyinde heterojen olarak meydana gelen yük ayrımı ve yük aktarımı ile ilgili olan olayları kapsar. Elektrokimyanın geçmişi 200 yıl kadar önce Volta'nın elektrik pilini keşfine dayanır ve son yıllarda hızlı ilerlemeler görülmüştür. Bilim ve teknolojinin yeni alanlarının geliştirilmesinde önemli rol oynar ve enerji ve çevre sorunlarının çözümüne gerekli katkı sağlar (Izutsu, 2002).

Kimyasal sistemlerle ilgili elektrokimyasal ölçümler çeşitli amaçlar için yapılır. Bunlar; bir reaksiyona ait termodinamik veri elde etmek, radikal iyon gibi kararsız bir ara ürün oluşturmak, bir çözeltideki eser miktarda bulunan metal iyonlarını veya organik türlerin analizini yapmaktır. Yeni bir güç kaynağının tasarlanması veya bazı ürünlerin elektrosentezi gibi konuları kapsayan araştırmalarda ilk hedef, sistemin elektrokimyasal özelliklerinin araştırılmasıdır (Bard ve Faulkner, 2001).

Bu nedenle, elektrot reaksiyonlarının temel prensiplerinin ve elektrot-çözelti ara yüzeyindeki elektriksel özelliklerin anlaşılması için pek çok elektrokimyasal yöntem geliştirilmiştir.

2.2.1. Dönüşümlü voltametri (CV)

Voltametri, 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, voltametri de çalışma elektrotları yüzey alanı pek çok uygulamada birkaç milimetre kare ve bazılarında ise birkaç mikrometre kare olan mikroelektrotlardır. Voltametri, tam derişim polarizasyonu şartlarında bir elektrokimyasal hücrede oluşan akımın ölçülmesine dayanır.

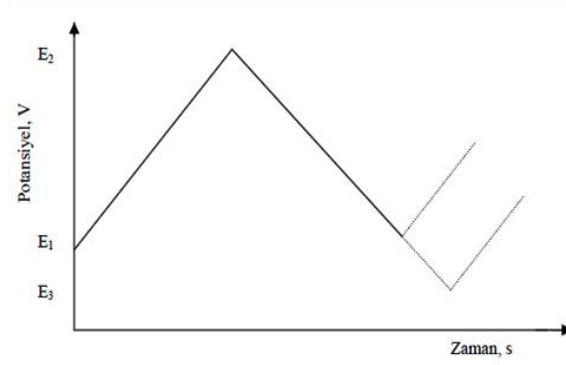
Voltametri, Çekoslovak kimyacı Jaroslav Heyrovsky tarafından 1920'lerin başında geliştirilen ve voltametrimin özel bir tipi olan polarografi tekniğine dayanarak geliştirilmiştir. Voltametrimin hala önemli bir kolu olan polarografinin diğer voltametrik tekniklerden en büyük farkı, çalışma mikroelektrodu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

Voltametri, anorganik, fiziko 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 (Skoog, 2004).

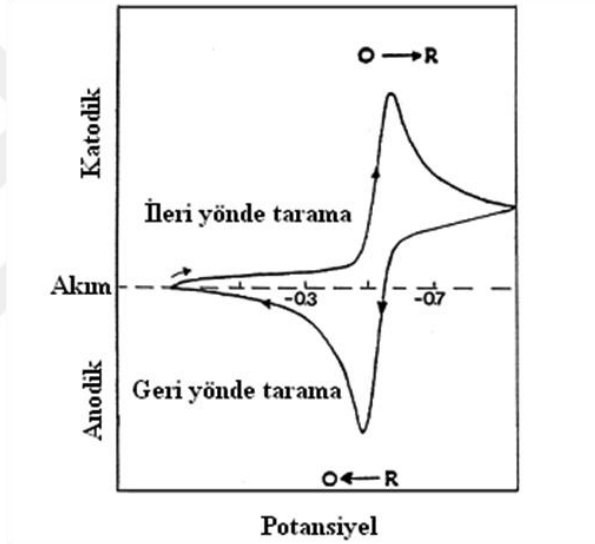
Dönüşümlü voltametri tekniği, elektroaktif türlerin elektrokimyasal yöntemler ile çalışılmasında en çok tercih edilen metotlardan biridir. Redoks reaksiyonlarının incelenmesinde, reaksiyon mekanizmalarının aydınlatılmasında ve modifiye yüzeylerin elde edilmesinde kullanılır.

Dönüşümlü voltametri tekniği ile akımın potansiyel değişimi incelenir. Geniş bir potansiyel aralığında indirgenme-yükseltgenme olaylarının hızlı bir şekilde gözlenebilmesi esas alınır. Potansiyel taraması E_1 ve E_2 potansiyel değerleri arasında yapılırsa metodun adı *doğrusal taramalı voltametri (LSV)*; E_2 potansiyeline ulaşıldıktan sonra, aynı tarama hızıyla, ilk tarama yönüne göre ters yönde tarama yapılırsa *dönüşümlü voltametri (CV)* olur. Ters taramada E_1 potansiyeline dönülebileceği gibi farklı bir E_3 potansiyeline de dönülebilir. İleri tarama sırasında oluşan ürün, ters taramada başlangıç maddesine dönüştürülebilir. İleri tarama indirgenme reaksiyonuna karşılık geliyor ise, ters tarama yükseltgenme reaksiyonuna

karşılık gelir. Dönüşümlü voltametri de akım potansiyele karşı grafiğe geçirilerek voltamogram elde edilir (Wang, 2000).



(a)



(b)

Şekil 2.5. Dönüşümlü voltametri de, (a) potansiyel-zaman, (b) akım-potansiyel eğrileri (Büyükkaya, 2011)

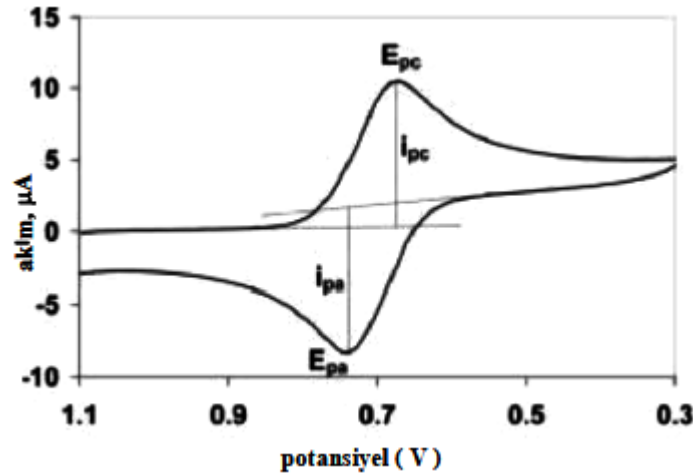
Katodik ve anodik pik potansiyelleri (E_{pk} , E_{pa}) ve pik akımları (i_{pk} , i_{pa}) bir dönüşümlü voltamogramda önemli parametrelerdir.

2.2.1.1. Tersinir sistemler

Tersinir bir sistemde ileri taramada indirgenme gerçekleşirse, ters taramada yükseltgenme meydana gelir. Tersinir bir reaksiyon için, pik akımı (25°C 'de), Randles-Sevcik eşitliği ile verilir.

$$i_p = 2,69 \times 10^5 n^3 A C D^{1/2} v^{1/2} \quad (2.2)$$

Bu eşitlikte i_p : pik akımı, n : aktarılan elektron sayısı, A : elektrot yüzey alanı (cm^2), C : elektroaktif türün derişimi (mol/cm^3), D : difüzyon katsayısı (cm^2/s) ve v : tarama hızı (V/s)'dır. Buna göre, pik akımı elektroaktif türün derişimi ve tarama hızının kareköküyle doğru orantılıdır (Bard ve Faulkner, 2001).



Şekil 2.6. Tersinir redoks reaksiyonu için tipik bir dönüşümlü voltamogram (Büyükkaya, 2011)

Tersinir bir sistemde, pik potansiyelleri arasındaki fark (ΔE_p) aşağıdaki eşitlik ile verilir.

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

Dönüşümlü voltametri verileri ile reaksiyonun tersinirlik testi yapılabilir. $i_p - v^{1/2}$ grafiği doğrusal ve orijinden geçiyor ise sistem tersinirdir. Bir sistemin tersinir olması için başka özelliklerin de bulunması gerekir. Tersinir sistemler için tersinirlik kriterleri şunlardır:

- $\Delta E_p = |E_p^a - E_p^k| = 59/n$ mV ya da $E_p - E_{p/2} = 59/n$ mV olmalıdır.
- E_p tarama hızı ile değişmemelidir.
- $i_p^a / i_p^k = 1$ olmalıdır ve bu oran tarama hızı ile sabit kalmalıdır.

- $i_p/C v^{1/2}$ oranı tarama hızı ile değişmemelidir.
- Tarama hızı ile dalga şekli değişmemelidir.

Bir sistem yukarıdaki kriterlerin hepsini sağladığı takdirde tersinirdir.

2.2.1.2. Tersinmez sistemler

Tersinmez sistemlerde ise elektron aktarım hızı yeteri kadar büyük olmadığından elektrot yüzeyinde Nernst eşitliği geçerli değildir. Bu durumda voltamogramın şekli, tersinir durumdan farklıdır. Tersinmez durumlarda potansiyel tarama hızı çok düşük ise, elektron aktarım hızı kütle aktarım hızından daha yüksektir ve sistem tersinir gibi gözlenebilir. Tarama hızı arttıkça kütle aktarım hızı elektron aktarım hızı ile aynı seviyeye gelir. Bu durum tarama hızı arttıkça anodik ve katodik pik potansiyellerinin birbirinden uzaklaşması ile kendini belli eder.

Tersinmez bir reaksiyon için pik akımı (25°C 'de) aşağıdaki eşitlikte görüldüğü gibidir.

$$i_p = 2,99 \times 10^5 n(an_\alpha)^{1/2} ACD^{1/2} v^{1/2} \quad (2.4)$$

Burada, α : transfer katsayısı, n_α : hız belirleyen basamakta aktarılan elektron sayısıdır. Tersinir durumda olduğu gibi pik akımı konsantrasyon ve tarama hızının karekökü ile doğru orantılıdır. Ayrıca transfer katsayısının karekökü ile de doğru orantılıdır.

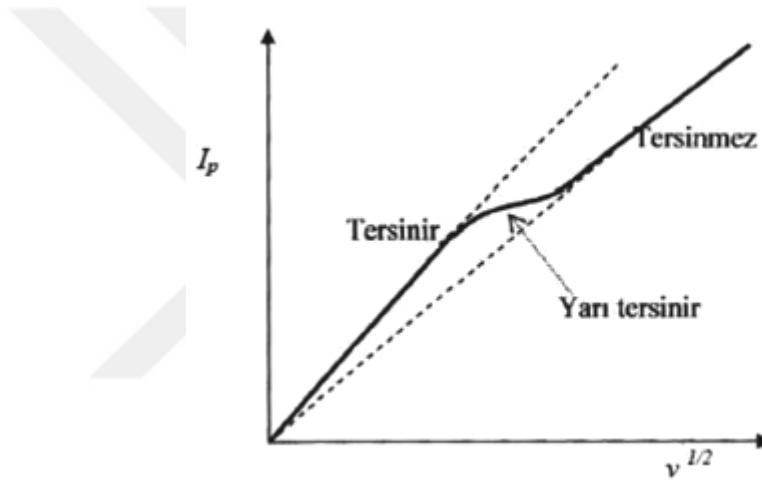
Bir sistemin tersinmez olabilmesi için aşağıdaki kriterleri sağlaması gerekir:

- Voltamogramda anodik pik gözlenmez.
- $i_p/C v^{1/2}$, tarama hızı ile değişmez.
- E_p^k kayması 25°C 'de, tarama hızının her 10 kat artmasında $30/\alpha n_\alpha$ kadardır.
- $|E_p - E_{p/2}| = 48/\alpha n_\alpha$ mV'dur (25°C 'de).

CV'de tarama hızı değiştirilerek adsorpsiyon, difüzyon ve elektron aktarım reaksiyonuna eşlik eden kimyasal reaksiyon olaylarının varlığı ve mekanizmaları belirlenebilir. Ayrıca kinetik parametreler de hesaplanabilir.

2.2.1.3. Yarı tersinir sistemler

Sistem yarı tersinir ise, yani akım, hem elektron hem de kütle transferinin katkısıyla oluşuyor ise k_s değeri: $0,3 v^{1/2} \geq k_s \geq 2 \times 10^{-5} v^{1/2}$ cm/s aralığındadır. Bu durumda i_p 'nin $v^{1/2}$ ile grafiği şekildeki gibidir.



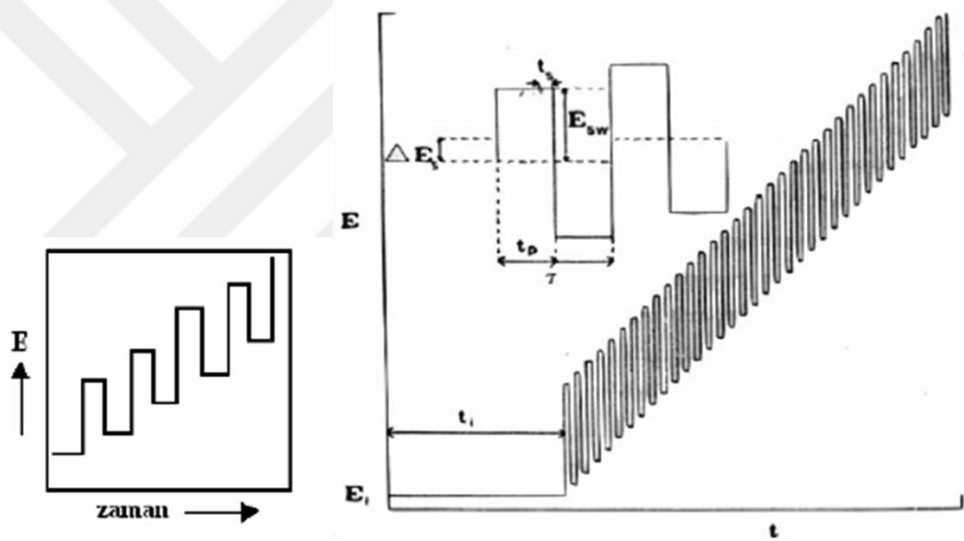
Şekil 2.7. Yarı tersinir bir elektrot reaksiyonunda pik akımının potansiyel tarama hızının karekökü ile değişimi (Duman, 2014)

Bir reaksiyon aşağıdaki kriterleri sağlarsa yarı tersinirdir (Nicholson ve Shain, 1964, Greef ve ark., 1990, Bard ve Faulkner, 2001).

- i_p , $v^{1/2}$ ile artar ancak doğrusal değildir.
- i_p , $v^{1/2}$ tarama hızına bağlı değildir.
- $i_p^a/i_p^k=1$ 'dir (Eğer $\alpha_k = \alpha_a = 0,5$ ise).
- $E_p^k - E_p^a$ farkı düşük tarama hızlarında $59/n$ 'e yaklaşır. Yüksek tarama hızlarında bu değerden daha büyüktür ve tarama hızı ile artar.
- E_p^k , tarama hızı ile değişir. Bu değişim, genellikle, tarama hızının artması ile negatif değerlere kayma yönündedir.
- Tarama hızı arttıkça pik genişlemesi olur.

2.2.2. Kare dalga voltametrisi (SWV)

Kare dalga voltametrisi son derece hızlı ve duyarlı olma üstünlüğü olan bir puls polarografi tekniğidir. Voltamogram 10 ms'den daha az sürede elde edilir. Çalışma elektroduna uygulanan potansiyel, büyük genlikli bir diferansiyel teknik olmasını sağlayan simetrik kare dalgalar şeklindedir. Her bir kare dalga döngüsü boyunca, akım iki kez ölçülür. Birincisi, ileri yöndeki pulsun sonunda (t_1) ikincisi ise geri yöndeki pulsun sonundadır (t_2). Bu iki akım arasındaki fark, uygulanan potansiyelin bir fonksiyonu olarak grafiğe geçirildiğinde kare dalga voltamogramı elde edilir (Şekil 2.8). Kare dalga voltametrisi tekniğinde uygulanan dalga şekli, birbirine simetrik kare dalgalardan oluşan merdiven görünümündedir.



Şekil 2.8. Kare dalga voltametriye puls tipi uyarma sinyalinin dalga şekli (Öztürk, 2008; Büyükkaya, 2011)

Bir kare dalganın tamamlanma süresi periyod ile gösterilir. Birbirini takip eden kare dalgalar arasındaki yükseklik farkına *basamaklı adım yüksekliği* adı verilir ve ΔE_s ile gösterilir. *Kare dalga genliği* (E_{sw}), her bir dalganın alt ve üst noktaları arasındaki farkın yarısına eşittir. Puls genişliği (t_p), $\tau/2$ 'ye eşittir. Genellikle periyod yerine $1/\tau$ 'a eşit olan frekans (f) kullanılır. Frekansın artması ve buna bağlı olarak periyodun azalması ile kare dalga pik akımı ve hassasiyet artar. Kare dalga voltametrisinde deneysel parametreler belirli aralıklarda seçilir. Basamaklı adım yüksekliği ise aktarılan elektron sayısına (n) bağlı olarak $\Delta E_s = 10/n$ mV eşitliğinden bulunur.

SWV'nin en büyük üstünlüğü oldukça hızlı bir teknik olmasıdır. Etkin tarama hızı, kare dalgaının frekansı (f) ve basamak yüksekliği (ΔE_s) değiştirilerek belirlenir.

SWV yönteminin ikinci büyük üstünlüğü de, kare dalga yoluyla toplam akıma kapasitif katkısının minimuma indirilmiş olmasıdır. Böylece, tarama hızı 1 V/s'ye kadar artırılabilir.

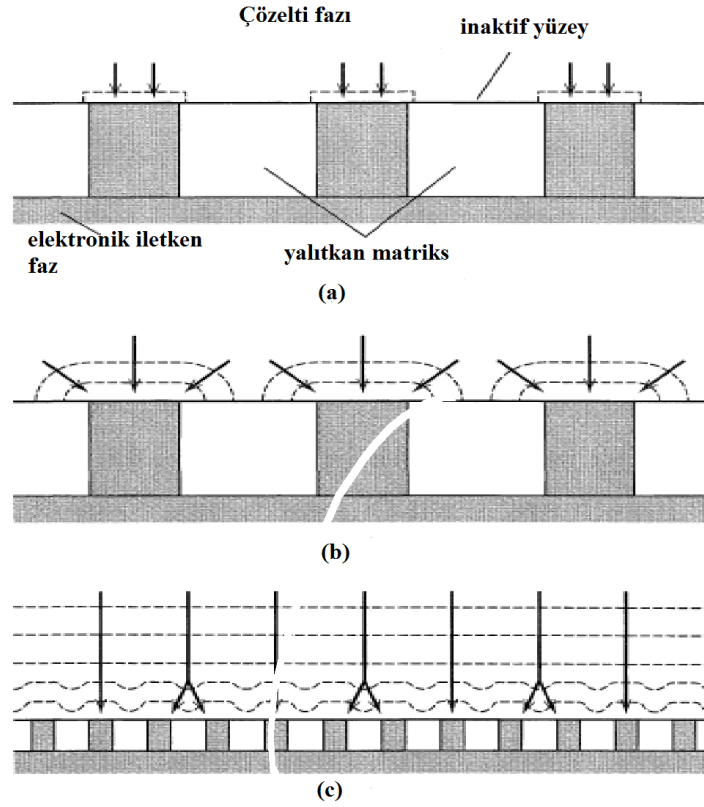
SWV'de net akım (ΔI) hem ileri hem de geri puls akımlarından daha büyük olduğu için voltametrik pik genellikle oldukça kolay okunur. Böylece, yöntemin doğruluğu artar ve diferansiyel puls voltametriden daha yüksek duyarlılığın elde edilmesi sağlanır (Monk, 2001). Böylece, $1,0 \times 10^{-8}$ M'a yakın çok düşük tayin sınırlarına inilebilmektedir.

Kare dalga voltametri hızı hızlı olması ve tayin sınırının 10^{-7} - 10^{-8} M civarında olmasından dolayı, analitik tayinlerde çok kullanılan bir yöntemdir. Bu yöntemde tersinir sistemler için duyarlılık diğer yöntemlere nazaran daha yüksektir. Özellikle elektrot yüzeyinde çok küçük miktarda elektroaktif madde biriktirildiğinde, yüzeyin karakterizasyonu için veya yüzeydeki aktif türün nicel tayini için bu yöntem oldukça kullanışlıdır.

2.3. Ultramikroelektrotlar (UME)

2.3.1. Ultramikroelektrotlardaki difüzyon kontrollü akımlar

Ultramikroelektrotlar mikroelektrotlardan daha küçüktür, bunlar uygulamaya bağlı olarak metre, santimetre ya da milimetre boyutlarında olabilir. Bu elektrotlar, elektrokimyasal işlem sonucunda oluşan difüzyon tabakasının boyutlarından daha küçüktür. Bu elektrotları anlamak için bu tür sistemlerin kendine özgü özelliklerini ve teorik olarak işleyişini bilmek gerekir.



Şekil 2.9. Yüzeyde aktif ve inaktif alanlar ile bir elektrotta kronoamperometri boyunca difüzyon alanının gelişimi. (a) kısa elektroliz süresi (b) orta süre (c) uzun süre (Ok işaretleri elektroda doğru akış çizgilerini gösterir) (Bard ve Faulkner, 2001)

UME'lerin diğer uygulamaları çok küçük elektrotların karakteristiği olan ohmik düşmeye dayanmaktadır. UME için kritik boyut $25 \mu\text{m}$ 'den küçük olarak bilinir. $0,1 \mu\text{m}$ kadar küçük kritik boyuta sahip elektrot yapılabilir. Hatta birkaç nm'den daha küçük kritik boyutlarla çalışılmıştır. Elektrodun kritik boyutu çift tabakanın kalınlığı veya molekülün boyutu ile karşılaştırılabilir düzeye geldiğinde, yeni teorik parametreler ve deneysel davranışlarla karşılaştırılması beklenmektedir. Bu yaklaşımlar, UME'nin kritik boyutunun yaklaşık 10 nm olduğu alt sınıra kadar uygulanabilir (Arrigan, 2004).

2.3.2. Ultramikroelektrotların türleri

Bir elektrodun UME özelliği göstermesi için boyutunun küçük olması yeterlidir. Buna bağlı olarak çok çeşitli ve kullanışlı şekilde UME'ler bulunmaktadır. En yaygın

olarak görülen tür disk şeklindeki UME'dir. Bunlar düzgün bir telin bir yalıtkan içine yerleştirilmesiyle ve daha sonra uç kısmının parlatılarak açığa çıkarılmasıyla üretilir. Kritik boyut $25 \mu\text{m}$ 'den daha küçük olan yarıçap boyutudur. $5 \mu\text{m}$ yarıçapında Pt telden yapılmış elektrotlar ticari olarak mevcuttur. Bir diskin geometrik alanı kritik yarıçapın karesiyle orantılıdır. $1 \mu\text{m}$ yarıçap için, alan (A), sadece $3 \times 10^{-8} \text{ cm}^2$ 'dir ve bu 1 mm çapındaki mikroelektrodun geometrik alanından 10^6 merteye daha küçüktür. Bu elektrotlardan geçen akım genellikle nanoamper veya pikoamper hatta bazen de femtoamper seviyesindedir.

Küresel veya yarı küresel UME'lerde çalışmak disk şeklindeki elektrotlarda çalışmaya göre daha kolaydır. Ancak birçok önemli davranışları birbirine benzerdir.

Bant şeklindeki UME'ler diğerlerinden oldukça farklıdır, kritik boyutu $25 \mu\text{m}$ altında olup, bu boyut w ile gösterilir. Bu elektrotların uzunluğu ise cm mertebesinde olabilir. Bant şeklindeki UME'ler metalik bir folyonun veya buharlaştırılabilir bir filmin cam tabakaları arasında ya da plastik reçine içinde gömülerek üretilir ve daha sonra uç kısımları parlatılarak açığa çıkartılır. Ayrıca mikroelektronik yöntemler kullanılarak yalıtkan bir substrat üzerinde mikro metalik çizgiler oluşturularak da üretilir. Bu yollarla yaklaşık $0,1 \mu\text{m}$ ve $25 \mu\text{m}$ arasında değişen genişliklere sahip elektrotlar elde edilebilir. Bir bant geometrik alanın kritik boyutla doğrusal olarak değişmesi bakımından diskten farklıdır. Disk şeklindeki UME'de olduğu gibi kritik boyutun karesi ile değişimi esas almak daha doğrudur. Böylece w 'nin oldukça küçük değerlerine sahip elektrotlar büyük geometrik alanlara sahip olabilirler ve oldukça büyük akımlar üretebilirler. Silindir şeklinde bir UME basit olarak r_0 yarıçapındaki düzgün bir telin L kadarlık kısmının açıkta bırakılmasıyla üretilir. Bant UME'deki gibi uzunluk makroskopik (mm) boyutta olabilir. Burada kritik boyut r_0 'dır. Genel olarak bir silindirik UME için kütle transfer sorunu bant UME'ye göre daha basittir, fakat işlevsel olarak bir silindir UME ve bir bant UME arasında birçok benzerlik vardır.

2.3.3. Büyük genlikli potansiyel adım uygulamaları için akım cevapları

O türünün bulunduğu bir çözeltideki ultramikroelektrot ile başlangıçta O türünün difüzyon kontrollü olarak R'ye indirgenmesi için $t = 0$ anında bir adım uygulanır.

(a) Küresel veya yarı küresel UME

$$i = \frac{nFAD_0^{1/2}C_0^*}{\pi^{1/2}t^{1/2}} + \frac{nFAD_0C_0^*}{r_0} \quad (2.5)$$

Yukarıdaki eşitlikte difüzyon tabakasının r_0 ile karşılaştırılabilir kalınlıkta olması halinde, ilk terim kısa bir sürede daha baskındır ve difüzyon tabakası r_0 'dan oldukça büyük ise ikinci terim daha uzun sürede baskın olur. Birinci terim aynı alana sahip düzlemsel bir elektrotta gözlemlenebilecek Cottrell akımıyla özdeştir ve ikinci terim ise deneyin sonlarına doğru elde edilen kararlı hal akımını tanımlamaktadır. Kararlı hal şartı UME'de rahatlıkla başlangıçta sağlanır. Burada difüzyon tabakasının 100 μm veya daha küçük bir kalınlığa ulaşması gerekir. UME'lerin birçok uygulaması kararlı hal akımlarına dayanmaktadır.

Küresel durumda, kararlı hal akım i_{ss} aşağıdaki gibi verilmektedir.

$$i_{ss} = \frac{nFAD_0C_0^*}{r_0} \quad (2.6a)$$

veya

$$i_{ss} = 4\pi nFD_0C_0^*r_0 \quad (2.6b)$$

Düzlemsel bir tabaka ile sınırlandırılan bir yarı küresel UME'deki difüzyon akımı, aynı r_0 'a sahip küresel bir UME'de gözlenen difüzyon akımının yarısıdır. Eşitlik 2.6a küresel durumda olduğu gibi yarı küresel durum için de geçerlidir. Eşitlik 2.6b ise sadece küresel durumda uygulanır.

(b) Disk UME

Disk UME'ler çok önemli uygulama alanlarına sahiptir, ancak difüzyonun iki boyutta (Bard, 2001) oluşması teorik olarak durumu karmaşık hale getirmiştir. Bu boyutlar açısallık ve düzlemsel olarak elektrot ile ilişkilidir. Bu geometrinin önemli bir sonucu olarak akım yoğunluğu diskin yüzeyinde tekdüze değildir, ancak elektroaktif türün diskin yüzeyinin en yakın noktasına ulaştığı kenar bölgelerde daha büyüktür. O türlerine ait difüzyon eşitliği bu geometri için aşağıdaki gibi yazılır:

$$\frac{\partial C_0(r, z, t)}{\partial t} = D \frac{\partial^2 C_0(r, z, t)}{\partial r^2} + \frac{1}{r} \frac{\partial C_0(r, z, t)}{\partial r} + \frac{\partial^2 C_0(r, z, t)}{\partial z^2} \quad (2.7)$$

Burada r ; $r = 0$ simetri eksenine dik açısallık konumu tanımlar ve z ; $z = 0$ elektrot düzlemine dik düzlemsel yer değiştirmeyi tanımlar.

Çözüm için beş farklı sınır durumuna ihtiyaç vardır. Üçü, başlangıç koşulu ve ikisi yarı-sonsuz koşullarından gelir.

Bir UME'nin ayırt edici özelliği farklı kütle aktarımlarını gerçekleştirebilme yeteneğidir. Aslında bir UME'nin operasyonel tanımı yapılırken temel olarak kararlı hal durumu dikkate alınır.

Bir disk UME'de kararlı hal akımı (i_{ss}) aynı yarıçaplı bir yarım küreden daha küçüktür. Bundan dolayı, elektrot yüzeyinin yakınındaki derişim değişimleri de farklı olur.

Bir UME diskinde akım yoğunluğu aslında homojen değildir çünkü elektrodun kenarları elektroaktif türün difüzyonu için geometrik olarak daha uygundur (Bard, 2001). Bu durum heterojen elektron transfer kinetiklerini veya difüzyon tabakası içinde elektro aktif türleri içeren ikinci dereceden reaksiyonların kinetiği gibi bölgesel akım yoğunluğuna bağlı yaklaşımların yorumlanmasını etkiler.

(c) Silindirik UME

Silindirik elektrotu dikkate alarak basit bir geometri oluşturulduğunda difüzyonun yalnızca tek bir boyutu söz konusu olur.

$$\frac{\partial C_O(r, t)}{\partial t} = D \frac{\partial^2 C_O(r, t)}{\partial r^2} + \frac{1}{r} \cdot \frac{\partial C_O(r, t)}{\partial r} + \frac{\partial^2 C_O(r, t)}{\partial z^2} \quad (2.8)$$

Yukarıdaki eşitlik Fick'in ikinci yasasına karşılık gelen bir ifadedir. Bu ifadede r simetri eksenine dik açısal konuma ve z uzunluk boyunca konuma karşılık gelir.

Szabo ve arkadaşları (Bard, 2001) tarafından rapor edilen pratik bir yaklaşıma ait eşitlik aşağıda verilmiştir.

$$i = \frac{nFAD_0C_0^*}{r_0} \frac{2 \exp(-0,05\pi^{1/2}\tau^{1/2})}{\pi^{1/2}\tau^{1/2}} + \frac{1}{\ln(5,2945 + 0,7493\tau^{1/2})} \quad (2.9)$$

Burada $\tau = 4D_0t/r_0^2$ dir. Çalışma kısa süre ile sınırlandığında, τ küçük olduğunda sadece Eşitlik 2.9'un ilk terimi önemlidir ve üstel yaklaşımlar birdir. Bundan dolayı Eşitlik 2.9 Cottrell eşitliğine indirgenir. Elektrota bağlı olarak difüzyon tabakasının uzunluğunda bir değişim olması beklenir. Aslında, silindirik difüzyon tabakasından dolayı Cottrell akımında oluşan sapma τ değerinin yaklaşık 0,01'e ulaşması halinde % 4 kadar büyük değildir.

Çalışma uzun süre ile sınırlandığında τ biraz daha büyür. Eşitlik 2.9'daki ilk terim tamamen ortadan kalkar ve ikinci terimin paydasındaki logaritmik fonksiyon $\ln \tau^{1/2}$ değerine yaklaşır.

Böylece akım aşağıdaki eşitlikle verilir.

$$i_{qss} = \frac{2nFAD_0C_0^*}{r_0 \ln \tau} \quad (2.10)$$

Bu eşitlikten anlaşıldığı gibi, eşitlikte yer alan τ teriminden dolayı akım zamana bağlıdır. Bu nedenle küresel ve disk durumları için kararlı hal sınırı yoktur. Buna rağmen, zaman sadece ters logaritmik fonksiyon olarak görünür, böylece uzun zaman sınırında oldukça yavaş akım düşüşleri olur. Bu durum kararlı hal durumu olarak isimlendirilir.

(d) Bant UME

Bir disk elektrotta olduğu gibi bant şeklindeki UME’de tek boyutlu yarı küresel durumdakine benzer olarak iki boyutlu difüzyon sistemine sahiptir. Bir bant elektrot daha basit yarı küresel sistemdekine benzeyen iki boyutlu bir sistemdir. Çoğunlukla akım-zaman ilişkisi sınır durumuna yaklaşır ve aşağıdaki eşitlikle verilir.

$$i_{qss} = \frac{2\pi n F A D_0 C_0^*}{w \ln(64 D_0 t / w^2)} \quad (2.11)$$

Bu nedenle, bant UME uzun süre, gerçek kararlı hal akımı sağlamaz.

2.2.4. Ultramikroelektrotlardaki davranışın özeti

Farklı şekillere sahip UME’lerin davranışlarında bazı önemli farklılıklar olmasına rağmen, burada büyük genlikli potansiyel uygulaması sonucunda elde edilen bazı ortak özellikleri hatırlamak yararlı olacaktır.

Öncelikle, kısa sürede difüzyon tabaka kalınlığı kritik boyuta göre küçük olmasına rağmen herhangi bir UME’deki akım Cottrell eşitliğine uyar ve yarı sonsuz doğrusal difüzyon geçerlidir.

İkinci olarak, uzun sürede difüzyon tabaka kalınlığı kritik boyuta göre büyük olmasına rağmen, herhangi bir UME’deki akım kararlı duruma veya yarı-kararlı duruma yaklaşır. Bu durumda sınır akımı aşağıdaki gibi yazılabilir.

$$i_{ss} = nF A m_0 C_0^* \quad (2.12)$$

Bu eşitlikte m_0 kütle aktarım katsayısı olup işlevsel biçimi elektrot geometrisine bağlıdır.

Pratik olarak UME'ler ile yapılan deneylerde, elektrot kısa süre veya uzun sürede sınır akımına ulaşabildiği için deney şartlarını kontrol etmek gerekir.

2.2.5. Kararlı hal voltametrisine çift tabakanın etkisi

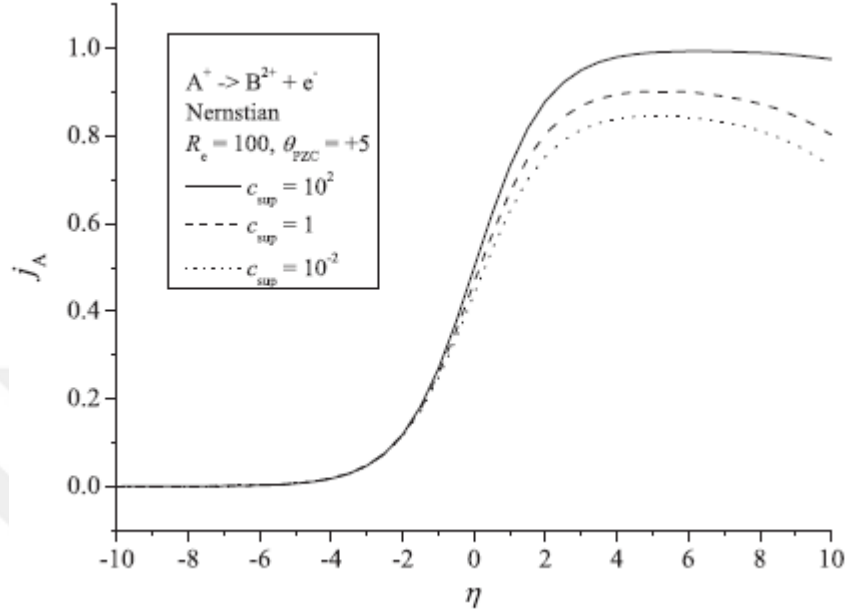
Nanoelektrotlarda yapısal olarak değişen çift tabaka, engellenmiş elektrik alandan dolayı elektrot yüküne bağlı olarak tahmin edilen akımın artması veya azalması şeklinde göstererek açıklanmıştır (Dickinson, 2011). Bir elektronlu yükseltgenme yönünde bir reaksiyonun oluştuğu varsayılarak kararlı hal akımına klasik çift tabakanın etkileri dikkate alınıp üç muhtemel elektron transferi kinetiği tanımlanmıştır. Dış Helmholtz düzleminde Butler-Volmer eşitliği ve uzaklığa bağlı elektron transferi (tünelleme) uygulanmıştır. Çift tabakaya hem kütle transferi etkileri hem de elektrot transferinin kinetik etkileri tartışılmıştır. Çift tabakanın karşısındaki iyonik kuvvetteki değişimden kaynaklanan aktiflik etkileri ayrıca düşünülmüştür.

Elektrokimyasal sistemler için sıfır yük potansiyelinin muhtemel aralıkları ve reaktant yüklerinin aralığı özellikle düşünülmüştür.

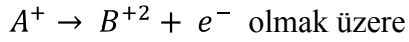
Destek elektrolitin düşük konsantrasyonlarında voltametrik ve nano boyutta voltametrik sonuçlar karşılaştırılmıştır. Beklenmeyen voltametrik davranışların çift tabakaya etkisi açıklanmıştır.

Yüklü çift tabakanın varlığında Nernst voltametri simülasyonu ile elektrot yüzeyine kararlı hal kütle transferinin çift tabaka tarafından nasıl etkilendiği tartışılmıştır.

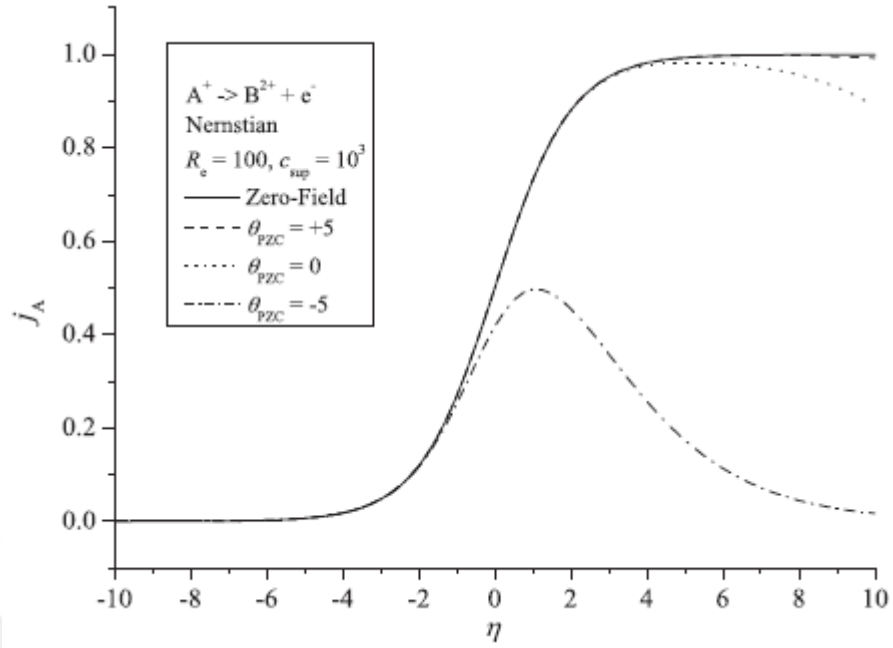
+1 yüklü elektroaktif türlerin yükseltgenmesine ait kararlı hal voltamogram simülasyonu



Şekil 2.10. Farklı destek elektrolit derişimleri için Nernst eşitliğine uyan kararlı hal voltametri sonuçları (Dickinson, 2011)



+1 yüklü A türünün tek elektronlu yükseltgenmesi sonucunda destek elektrolitin konsantrasyonunun azalması ile akım azalmıştır.



Şekil 2.11. Yüksek destek elektrolit konsantrasyonu için, Nernst eşitliğine uyan simüle edilmiş kararlı hal voltamogramı (Dickinson, 2011)

$z_A=+1$ olduğunda yükseltgenme olayı çift tabakaya aşırı olarak bağlıdır. Özellikle akımlar büyük oranda baskılanmıştır. Elektrotun yüzeyindeki yük oldukça pozitif iken bu durum gözlenir.

$A^{+1} \rightarrow B^{+2} + e^{-}$ durumunda

Şekil 2.11.'de θ_{pzc} değerlerinin +5,0 ve -5 olduğu durumlar görülmektedir. Sıfır nokta potansiyeli ile $\theta_{pzc}=+5$ olduğu durum üst üste çakışmıştır. $\theta_{pzc}=0$ iken kararlı hal durumundan hafif sapma gözlenmiştir. $\theta_{pzc}=-5$ iken ise pik şeklinde voltamogram oluşmuştur (Dickinson, 2011).

2.4. Nanoelektrokimya

2.4.1. Nanoelektrotlar

Nanoelektrotlar, nanometre mertebesinde kritik boyuttaki elektrotlar olarak tanımlanabilir. Buradaki kritik boyut elektrokimyasal cevabı kontrol eden boyut

anlamındadır. Böylece mikrometreden küçük herhangi bir elektrot nanoelektrot olarak görülebilir. Bununla birlikte bir mikroelektrot veya ultramikroelektrot, 25 µm civarında kritik boyuta (yani yarıçapa) sahip bir elektrotun verdiği akım değerinin elde edildiği bir deneyde oluşan difüzyon tabakasının büyüklüğünden daha küçük boyuttaki herhangi bir elektrot olarak da görülebilir. Genellikle, nano bilim ve nano teknolojinin diğer özellikleri yanında, ilgilenilen boyut aralığı 1-100 nm arasında olup, nanoelektrotların kritik boyutunun da bu aralıkta olması gerektiği düşünülebilir.

Elektrodun kritik boyutu elektriksel çift tabakanın kalınlığına eşit düzeyde olacak kadar veya moleküler boyuta düştüğünde, deneysel davranış büyük elektrotlardaki davranışın ekstrapolasyonundan sapmaya başlar. Bu nokta nanoelektrotlar (veya nanodlar) ve mikroelektrotlar arasında ayırma noktası olarak görülebilir (Arrigan, 2004). Nanoelektrotların gelişimi için esas itici kuvvetlerden biri, kritik boyutları (disk veya yarı küresel olanlar için yarıçap, band şeklinde olanlar için ise genişlik) moleküler boyut düzeyinde olan elektrotlar elde etmek olmuştur. Nanoelektrotların gelişimindeki mevcut durumda nanoelektrotlar ile karşı karşıya gelen temel konular, cihazların hazırlanması ve bunların elektrokimyasal performanslarının anlaşılmasıdır.

2.4.2. Nanoelektrot üretimi

Nanoelektrot araştırmacılarının karşı karşıya kaldığı en büyük zorluklardan biri, yukarıda sözü edilen faydaların bazılarını anlamak ve çalışmak için cihazların üretimi ve hazırlanmasıdır. Bu durum son 15 yıldır veya daha fazla zamandır bu alanda en çok çalışılan konudur ve üç ana yaklaşım mevcuttur:

1. Düzlemsel yüzeyinden çok kenarı ile çözeltiye maruz kalan püskürtülmüş veya buharlaştırılmış metal filmlerin kullanımı ile nano bant elektrot üretimi;
2. Koni şekli alıncaya kadar ince tellerin elektrokimyasal aşınma ile ve takiben bir yalıtkanla tamamen izole edilip sadece koninin tam uç kısmının açık bırakılması ile nanoelektrot üretimi;

3. Nano boşluklu polimerik membranların metalik tabakalara biriktirilmesi ile nanoelektrot dizilerinin üretimi;

İlk iki yaklaşım tek başına nano boyutta elektrotlar elde etmeye olanak sağlarken, üçüncü ise nanoelektrotların dizilerini veya gruplarını elde etmeyi sağlar.

Nano bantlar, nanoelektrot üretiminin ilk türleridir (Arrigan, 2004). Prensipte olarak bunların üretilmesi nano disk aletleri üretmekten daha kolaydır ve ileriki araştırmalarda beklenmeyen davranışların ortaya çıkmasına sebep olur. White ve arkadaşları nano bant elektrotları 1980'li yıllarda hazırlamışlardır. Birçok çalışmalar için nano bant elektrotlar uygundur. Araştırmacılar, hassas uygulamalar için nano bant elektrot dizilerinin geliştirilmesini teklif etmişlerdir. Ancak, sayısız nano boyuttaki elektrokimyasal uygulamalar voltametri ve elektrokimyasal görüntüleme disk veya yarı küresel elektrotların kullanılmasını gerektirir.

Mirkin ve arkadaşları, ticari bir lazer pipet çekici ile hem cam hem de teldeki daralmayla sonuçlanan kaynaşmış mikroteller içeren ısıtılmış cam kapileri çekerek nanoelektrotlar hazırlamışlardır. Hem oluşan telin kalınlığı hem de onun camla etrafının kaplanması, çekme yöntemi boyunca kontrol edilen şartlarda değiştirilebilir. Pipet çekici, camın ve onun içindeki mikro telin kısmi ısınmasının kontrol edilmesi için lazer ile çalışır. Cam-tel bileşimi ısıtıldığında, hem camın hem de telin yarıçapını büyük ölçüde azaltmak için cam ve metal tel arasında kaynaştırma yapılır ve sonra çekilir. Bu metot kullanılarak, her bir kapiler- mikrotel bölümü iki tane nanodisk elektrot üretir. Parlatma sonrası, 10 nm'ye kadar disk çaplarına ulaşılmıştır (Arrigan, 2004). Bu yaklaşım, yukarıda tartışılan aşındırma/yalıtım yaklaşımından farklı, nanoelektrot yüzeylerin parlatılabilmesinin yanı sıra daha sistematik bir metot önermek için ortaya çıkar.

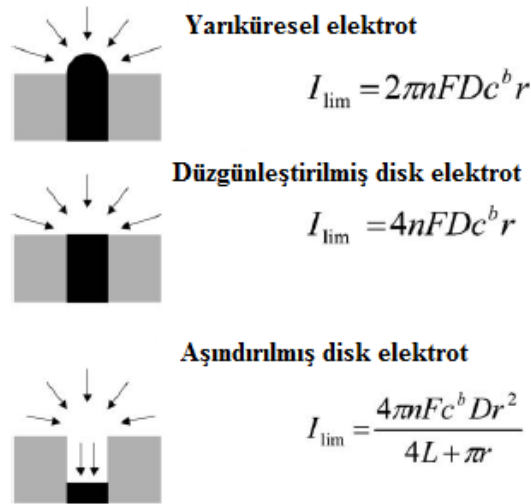
2.4.3. Nanoelektrotlarda elektrokimya

Mikrometre boyutlarında, genellikle 1-25 mikron çapındaki çalışma elektrotlarının voltametrik yöntemlerle kullanımı 1980'li yıllarda başlamış ve elektrokimyada

önemli araştırma alanlarından biri haline gelmiştir (Murray, 2008). Nanoelektrot ve nanoelektrot grupları ile yapılan elektrokimyasal çalışmalar, karakterizasyon ve uygulama alanı bakımından önemlidir.

Üretilen nanoelektrotların uçlarını yani boyutlarını değerlendirmek için elektrokimyasal ölçüm yapılır. Ölçüm sonucu elde edilen sinyal elektrodun boyutları, genellikle de çapı hakkında bilgi verir.

Nanoelektrotların küçük boyutundan dolayı, üç boyutlu difüzyon gözlenir ve sigmoidal şekilde kararlı-hal voltamogramları elde edilir. Voltamogramın şekli nanoelektrotun geometrisinden bağımsızdır. Genellikle disk çapı gibi kritik bir parametre, kararlı-hal akımına uygun bir model sağlar. Şekil 2.12, mümkün olan difüzyon şekillerini ve bunlara karşılık gelen kararlı-hal akım (sınır akım) denklemlerini gösterir . Bu denklemler yarı küresel, düzgünleştirilmiş disk ve aşındırılmış disk elektrotlar için verilmiştir (Arrigan, 2004).



Şekil 2.12. Nanoelektrot geometrileri; yarı küresel elektrot, düzgünleştirilmiş disk elektrot ve aşındırılmış disk elektrot (Arrigan, 2004)

Nanoelektrotların ayrı ayrı hazırlanması için yukarıda tartışılan üretim işlemlerine dayanarak, aşındırma/kısmen izolasyon yaklaşımı ile hazırlanan nanoelektrotlar ile nanokoniler üretilir ve yarı küresel modele benzer. Aşındırılmış disk model,

aşındırılmış nanoelektrot yüzeyinin elektrot boyunca uzanan ve onu çevreleyen bir koruyucu tabaka ile hazırlanarak nanoelektrotları karakterize etmesinde kullanılmıştır.

Elektrot parametreleri ve nanoelektrotların kararlı hal voltametrik karakterizasyonuna ait bazı durumlar Çizelge 2.1’de özetlenmiştir. Görüleceği üzere, birçok elektrot, yarı küresel elektrot modeli ile karakterize edilebilir. Yaklaşık bir yarıküreye uygun koni elektrotlar üretmek için aşındırma/kaplama işlemlerinin temeline dayalı bir yöntem uygulanır.

Nanoelektrotların etkin yarıçapları 10 nm’den büyük ise klasik difüzyon teorisine uyan voltametrik özellikler dikkat çeker. 10 nm’nin altında ise bu teoriden sapma olur. Buna rağmen, mikro boyuttaki modeller, 10 nm’den daha az küçük elektrotlar gibi çok küçük yarıçapa sahip elektrotların değerlendirilmesi için de kullanılmaktadır (Arrigan, 2004).

Çizelge 2.1. Nanoelektrotların kararlı hal voltametrik karakterizasyonu (Arrigan, 2004)

Elektrot Malzemesi	Model	Kullanılan Redoks Türleri	Etkin Çap
Pt	Yarı küresel Elektrot	Fe^{2+} , Ferrosen, $Ru(NH_3)_6^{3+}$	≥ 1.6 nm
Pt	Yarı küresel Elektrot	$Fe(CN)_6^{4-}$	13 nm-1.2 μ m
Pt	Düzgünleştirilmiş disk elektrot	$Ru(NH_3)_6^{3+}$	10-900 nm
Pt	Aşındırılmış disk elektrot	[(Trimetilamonyum)metil]ferrosen	10-20 nm
Ag	Yarı küresel Elektrot	$Ru(NH_3)_6^{3+}$	50 nm-2.6 μ m
Au	Düzgünleştirilmiş disk elektrot	$Fe(CN)_6^{4-}$	50-250 nm
C	Yarı küresel Elektrot	$Fe(CN)_6^{4-}$	0.3 nm-160 nm
C	Yarı küresel Elektrot	Dopamin	320 nm

Nanoelektrotların kararlı-hal voltametrik karakterizasyonu hızlı elektrot kinetiğine sahip bilinen redoks aktif türlere uygulanır. Örneğin, susuz ortamda Ferrosen, sulu ortamda hekzasiyanoferrat (III/II) veya hekzaaminorutenyum (III) destek elektrolitin fazla olduğu şartlarda kullanılır.

2.4.4. Nanoboyutlu elektrotların faydaları

Ultramikroelektrotların ve daha küçük boyutlu elektrotların kullanılmasındaki birinci sebep, meydana gelen artırılmış kütle transferinden kaynaklanan faydadır. Elektrot boyutu küçülürken, çok yönlü difüzyon baskın hale gelir ve böylece daha hızlı kütle transferi gerçekleşir. Küçük elektrotlardaki yüksek hızlı kütle transferi (ya da difüzyon), kinetik parametrelerin kısa süreli tekniklerle ölçülmesi yerine durgun-hal deneyleriyle ölçülmesine olanak sağlar. Prensip olarak elektrot boyutunun mikrometreden nanometre boyutlarına inmesiyle daha hızlı elektrokimyasal ve kimyasal reaksiyonların incelenmesi mümkün hale gelir. Çünkü elektron aktarım işlemleri, çok yüksek hızlı kütle transferinin olduğu şartlarda, reaktantın elektron yüzeyine kütle transferi ile sınırlandırılacaktır.

Bununla birlikte, küçük elektrotlardaki çift tabaka etkileri için yapılacak düzeltmeler de dikkate alınmalıdır. Küçük elektrotlarda yükleme akımı önemlidir, elektrot küçülürken çift tabaka daha belirginleşir. Geniş bir bakış açısıyla elektrotlardaki difüzyon kontrollü akımlara molekül boyutu, elektriksel çift tabakanın kalınlığı ve difüzyon tabakasının uzaklığının etkisi eşit değerde düşünülmelidir. Moleküler difüzyon bir elektrodun yüzeyindeki elektriksel çift tabaka meydana gelirken, bulk çözeltisinin özelliklerinden farklı olan moleküllerin deney çözeltisi özellikleri artar. Buna benzer fikirler nano boyutlu elektrotlar kullanılarak incelenebilir. Elektrot boyutu küçüldükçe difüzyon tabakası incalir. Böylece çok küçük elektrotlarda, çift tabaka viskozitesinin etkileri deneysel olarak elde edilen difüzyon kontrollü akımlarda daha belirgin hale gelmelidir.

Nano boyutlu elektrotların geliştirilmesi için başka bir gerekçe ise, bunların yüzey ve ara yüzeylerin elektrokimyasal olarak görüntülenmesi işlemi için çok boyutlu tarama

modunda kullanılmasıdır. Bu teknik, taramalı elektrokimyasal mikroskopi (SECM) tekniğidir ve çözünürlüğü taramada kullanılan elektrodun boyutuna bağlıdır. Mikroelektrotlar kesin bir performans derecesi sağlar ve iyi bir şekilde tanımlanmıştır ancak, nanoelektrotların kullanımı daha yüksek çözünürlük elde edilmesine olanak sağlamaktadır. Görüntüleme işlemi için, incelenen yüzey boyunca ve yüzeye doğru hareket eden elektrot, görüntülenecek olan yüzeyin bütün noktalarıyla benzer boyuta sahip olmalıdır. Sonuç olarak, bir membran veya aşındırılmış yüzey gibi nano boyuttaki yüzey birimlerinin görüntülenebilmesi için, nano boyutlu bir elektroda (proba) ihtiyaç duyulur. Bu da nano biyoteknoloji ve moleküler biyoloji gibi alanlarda yeni gelişmelere öncülük yapabilir (Arrigan, 2004).

Analitik ölçme sistemleri, potansiyel olarak çözeltideki serbest difüzlener maddelerin daha kısa sürede cevap vermesine yardımcı olan, nanoelektrotların artırılmış kütle transferinden yararlanabilirler. Sabit potansiyelli amperometride maksimum sinyale daha kısa sürede ulaşmak veya sıyırma voltametri deneylerinde daha kısa sürede biriktirme yapmak gibi avantajlar örnek verilebilir. Başka bir analitik fayda faradaik akım / yükleme akım oranı artırılarak sağlanabilir. Bu da yine difüzyon kontrollü faraday akımları için hızlandırılmış kütle transferinin bir sonucudur.

Faradaik akım yoluna difüzyon ile oluşan çift tabakanın etkisi kararlı hal voltametri ile araştırılmıştır. Hem matematiksel analizler hem de Nernst-Planck-Poisson eşitlikleri ile sayısal çözümler yapılmıştır. Reaktant yükü, elektrot yükü, elektrot büyüklüğü ve destek elektrolitin miktarından kaynaklanan etkilerin bulunduğu bir çalışma hazırlanmıştır. Uzaklığa bağlı elektron transferi (tünelleme) ve aktiflik etkileri dikkate alınarak sınırlı ve sınırsız elektrot kinetikleri araştırılmıştır.

Elektron transferinin düzlemsel hareketinden dolayı Levich ve Frumkin etkilerinin üstesinden tünelleme ile gelmesine rağmen, reaktant ve elektrot yükünün kesin bulunma şartları açık bir şekilde gösterilmiştir. Bu gösterimde reaktantın ayrılması (Levich etkisi) veya bilinen kinetiğin azalması (Frumkin etkisi) ile tahmin edilen akım etkili olmuştur (Dickinson, 2011).

2.5. Kaynak Araştırması

Raj ve Ohsaka (2001), uç kısımlarında süstitüe edilmiş elektroaktif kendi kendine oluşturduğu tek tabakasıyla modifiye altın elektrotta NADH'nin ve onun model bileşiğinin kolaylaştırılmış elektrokimyasal yükseltgenmesini araştırmışlardır. NADH ve onun model bileşiği, N-benzil-1,4-dihidronikotinamit (DHN)'in elektrokimyasal yükseltgenmesi, uç kısmına bağlanmış olan süstitüe edilmiş tiyoller / disülfid, sistamin (CYST), merkaptopropionik asit (MPA) ve merkaptoetanol (ME) gibi grupların kendi kendine oluşturduğu tek tabaka ile modifiye edilmiş altın elektrotta çalışılmıştır. Çıplak elektrot ile karşılaştırıldığında aşırı gerilimdeki önemli bir azalma (~250 mV) redoks medyatörü olmayan bir ortamda tek tabakalı elektrotlarda NADH'nin yükseltgenmesi için gözlenmiştir. Çıplak elektrot DHN yükseltgenmesi için düzgün olmayan bir voltametrik pik gösterir, oysa tek tabaka ile modifiye edilmiş elektrotlar iyi tanımlanmış voltametrik pikler verir. Altın elektrot üzerinde tek tabakalı düzenleme daha az pozitif potansiyelde yükseltgenme yönünde yükseltgenme ürünleri ile elektrot yüzeyinin kirlenmesini önler. Kare-dalga voltamogramlar tüm tek tabaka modifiye elektrotlarda NADH'nin yükseltgenmesi için keskin bir voltametrik pik verir. Hidrodinamik voltamogramlar döner CYST-Au elektrotta NADH ve DHN'nin yükseltgenmesi için elde edilmiştir. DHN'nin difüzyon katsayısı ve NADH'nin yükseltgenme işleminde yer alan elektronların sayısı hesaplanmıştır.

Gorton ve Dominguez (2002), medyatör modifiye elektrotlarda NAD(P)H'nin elektrokatalitik yükseltgenmesi ile ilgili konunun tarihçesini de özetleyen bir derleme yapmışlardır. NADH'nin yükseltgenmesi ile ilgili kimyasal olarak modifiye edilmiş elektrotların ilk çalışması ile (Tse ve Kuwana, 1978), siyanür klorür ile aktive edilmiş GC elektrotların yüzeyinde bir tek tabaka oluşturulmuş ve pH=7'de doymuş kalomel elektrotta karşı anodik pik potansiyeli ~ 0,2 V olarak bulunmuştur. Dönüşümlü voltametri tekniği uygulandığında elektrokatalitik reaksiyon için ECE mekanizması gösterilmiştir. NADH ve NADPH'nin katalitik yükseltgenmesi için kimyasal olarak modifiye edilmiş GC elektrotlarla ilgili birçok çalışma mevcuttur. NADH için bir redüktaz enzimi olan diaforaz çeşitli şekillerde yaygın olarak

kullanılmıştır. Bu enzim ve elektrotlar arasında direkt elektron transferi olduğu gözlenmiştir (Kobayashi ve ark., 1992; Larsson ve ark., 2001).

Chen ve arkadaşları (2004), sıralı karbon nano tüpler ile modifiye edilmiş camsı karbon elektrotta NADH'nin elektrokatalitik yükseltgenmesini incelemişlerdir. Bir alümina kalıp membranın oldukça düzenli gözenekleri içinde sentezlenen sıralı karbon nano tüpler (OCNTs), camsı karbon elektrotu (OCNT/GC) modifiye etmek için kullanılmıştır. OCNT/GC elektrot 645 mV aşırı gerilimin azalması ile birlikte fosfat tampon çözeltisi içinde (pH 6,8) NADH'nin elektrokimyasal yükseltgenmesi yönünde etkili bir elektrokatalitik aktivite göstermiştir. Anodik pik akımları 5×10^{-7} M tayin sınırı ile 2×10^{-5} - 1×10^{-3} M NADH derişim aralığında doğrusal olarak artar.

Radoi ve Compagnone (2009), NADH'nin elektrokimyasal sensör tasarımında son gelişmeleri araştırmışlardır. NADH elektrokimyasal sensör gelişimi, doğada NAD(P)H esaslı enzimatik reaksiyonların her yerde bulunmasından dolayı biyoelektroanalizin en çok çalışılan alanlarından biri olmuştur. Önerilen farklı çözümler "ideal" NADH sensörünün gerçekleştirilmesinden hala uzak ve araştırma alanı hala zordur. Seçilen örnekler ve NADH'nin elektrokatalizi için yeni sensör malzemeler hakkında araştırmalar yapılarak gelişmiş performanslar elde etmek için uygun tasarımlar vurgulanmıştır. Elde edilen veriler; NADH duyarlı yüzey modifiye elektrotlar, yüzey redoks aracılı NADH probalar ve NADH'nin elektrokatalitik yükseltgenmesi için bulk modifiye elektrotlar olmak üzere gruplandırılmıştır.

Yang ve Liu (2009), etanol dehidrojenaz bazlı biyosensörlerin üretimi ve NADH tayini için poli(brilliant kresil mavisi)-karbonnanotüp modifiye elektrotlarla çalışmışlardır. Poli brilliant kresil mavisi (PBCB) ile modifiye edilmiş tek duvarlı karbon nanotüp (SWNT) camsı karbon elektrot NADH'nin elektrokatalitik tayinini kolaylaştırmak için, basit bir yöntemle üretilmiştir. Kimyasal olarak modifiye edilmiş bu elektrotta NADH, nötral fosfat tamponu içinde 0 V'da (SCE karşı) tayin edilmiştir. Dopamin veya ürik asitin 100 kat fazlası ile herhangi bir girişim gözlenmemiştir. Bir etanol biyosensörü karajenan ile immobilize edilmiş etanol dehidrojenaz tarafından modifiye edilen nanokompozit elektrot kullanılarak

geliştirilmiştir. Doğrusal etanol derişim cevabı 0,4 ile 2,4 mM aralığında elde edilmiştir ve tayin sınırı 0,1 mM olarak hesaplanmıştır.

Shan ve arkadaşları (2010), grafenin etanol esaslı iyonik sıvı ile fonksiyonel hale getirilmesi (IL-grafen) NADH'nin elektrokimyasal tayinini çalışmışlardır. NADH yükseltgenmesinin aşırı potansiyelindeki önemli bir azalma (440 V) IL-grafen / çitosan kaplama kullanılarak gözlenmiştir, yükseltgenme yaklaşık 0 V'da başlamıştır (Ag/AgCl karşı). Bu tür modifiye bir elektrotta NADH'nin amperometrik cevabı çıplak elektrotta göre daha kararlıdır. Ayrıca, grafen-çitosan-modifiye elektrot 0,25 ila 2 mM arasında iyi bir doğrusallık ve $37,43 \mu\text{A mM}^{-1}\text{cm}^{-2}$ yüksek hassasiyet göstermiştir. NADH ve elektrot arasındaki elektron transferini desteklemek için IL-grafenin yeteneği dehidrojenaz bazlı amperometrik biyosensör geliştirilmesi için yeni ve gelecek vaat eden biyo-uyumlu bir platform sergilemiştir.

Guo ve arkadaşları (2011), kimyasal olarak modifiye edilmiş nanometre boyutlu elektrotların elektrokimyasını çalışmışlardır. 4-aminotiyofenolün (4-ATP) kendi kendine oluşturduğu tek tabakaları (SAMs) altın (Au) nanoelektrotlar üzerine başarılı bir şekilde biriktirmişlerdir. 4-ATP SAMs modifiye elektrottan elde edilen dönüşümlü voltamogramlar pikleri ve pik yüksekliğinin tarama hızı ile orantılı olduğunu gösterir. Bu davranış elektroaktif SAMs modifiye makro elektrotlarındaki ile benzerdir. Elektrokimyasal davranış ve dış küresel elektron transfer reaksiyonunun mekanizması 4-ATP SAMs ile modifiye edilmiş nanometre boyutlu elektrotta incelenmiştir. 4-ATP SAMs modifiye elektrot ayrıca Pt nanopartiküller ile modifiye edilmiştir. Elektrokimyasal davranışları Pt nanopartiküller ve Pt nanopartikül/4-ATP SAMs/Au elektrotta, Au metal arasında elektriksel iletişim olduğunu gösterir. Ancak, taramalı elektron mikroskopik görüntüleri Pt nanopartiküllerin elektrot yüzeyini eşit olarak kaplamadığını göstermiştir.

Dickinson ve Compton (2011), kararlı hal voltametrisine difüze çift tabakanın etkisini incelemişlerdir. Faradaik akım geçişine difüzyon ile oluşan çift tabakanın etkisini kararlı hal voltametrisi ile araştırılmıştır. Hem matematiksel analiz ve hem de

Nernst-Planck-Poisson eşitlikleri ile sayısal çözümler yapılmıştır. Reaktant yükü, elektrot yükü, elektrot büyüklüğü ve destek elektrolitin miktarından kaynaklanan etkilerin bulunduğu bir çalışma hazırlanmıştır. Uzaklığa bağlı elektron transferi (tünelleme) ve aktiflik etkileri dikkate alınarak sınırlı ve sınırsız elektrot kinetikleri araştırılmıştır.

Nagamine ve arkadaşları (2011), taramalı elektrokimyasal mikroskopu kullanarak tek mantar hücre görüntüleme üzerinde uç boyutunun etkisini araştırmışlardır. Tek bir mantar hücrenin substrat üretim/uç toplama modu SECM görüntülemesinde uç reaksiyonunun etkisi μm - nm boyutlarda prob elektrotların çeşitli boyutları kullanılarak araştırılmıştır. Tek bir mantar hücrenin substrat oluşturma/uç toplama (GC) mod ölçümleri lipofilik menadion ve hidrofilik ferrisiyanid ile bir çift medyatör sistem kullanılarak yapılmıştır. Uç reaksiyon ile hücrenin etrafında oluşan medyatörün derişim profilini bozmadan GC modunda tek bir hücrenin uç boyutu etkinleştirilmiş kantitatif SECM görüntülemesini daha küçük boyutta elde etmişlerdir.

Lakub ve arkadaşları (2011), çeşitli boyutlarda altın nanoelektrotları alkantiollerin oluşturduğu bir tek tabaka ile modifiye etmişlerdir. Bu oluşan tek tabakada bulunan pinholler çok küçük elektrot olarak kullanılabilir. Bu çalışma tek tabaka kaplanmış elektrot üzerinde sadece bir iğne deliği olma ihtimalini göstermiştir. Tek bir iğne deliği olan elektrot hızlı ve yavaş reaksiyonların elektrokimyasal davranışlarını incelemek için kullanılmıştır. Elektrot yeterince küçük ise yavaş bir reaksiyonunun elektrokimyasal cevabının Butler-Volmer cevabına uygun olmadığını göstermişlerdir.

Noël ve arkadaşları (2013), Ag nanoelektrotların fabrikasyonu, karakterizasyonu ve kimyasal aşındırmasını incelemişlerdir. Düz ve parlatılmış nanoelektrotların üretimi için daha önce geliştirilmiş yöntemler mikrometreden 50 nm yarıçapına kadar gümüş elektrotların üretimi için genişletilmiştir. Hazırlanan elektrotlar kararlı hal voltametri, taramalı elektrokimyasal mikroskopi (SECM) ve atomik kuvvet mikroskopisi (AFM) tarafından karakterize edilmiştir. Bu çalışma girintili nanoelektrot üretimi için amonyak çözeltilerindeki gümüşün kontrollü kimyasal

aşındırması için geliştirilmiştir. Voltamogramlar ve SECM yaklaşım eğrileri aşınmış elektrodun girinti derinliği ve diğer geometrik parametrelerini değerlendirmek için elde edilmiştir.

Li ve arkadaşları (2013), çekme yöntemi ile elde edilen nanometre boyutlu elektrotun voltametrik cevabını araştırmışlardır. Elektrotların üretim yöntemi, bir lazer çekme cihazı kullanılarak küçük elektrotlar üretmek üzere planlanmıştır. Özellikle elektrot küçük bir RG (elektrot yarıçapı ile izolasyon tabaka yarıçapının oranı) değerine sahip olduğunda çekilerek elde edilen elektrotun konik şekilli yalıtım tabakasını gösteren simülasyon voltametrik cevaba benzer etkiye sahiptir. Çok küçük çekilmiş elektrodun voltametrik cevabı üzerine düşük geçişli filtrelemenin de etkisi araştırılmıştır.

Hu ve arkadaşları (2013), potansiyometrik ve amperometrik SECM problemleri olarak platinlenmiş karbon elektrotlar üzerine çalışmışlardır. Mikrometre boyutlu platinlenmiş karbon elektrotlar daha önce biyolojik sistemlerde reaktif oksijen ve azot türlerinin (ROS ve RNS) tayini için kullanılmıştır. Burada, kuvarla kaynaştırılmış platinlenmiş karbon nanoelektrotların hazırlanması ve karakterizasyonu açıklanmıştır. Bu tür elektrotlar, taramalı elektrokimyasal mikroskopide uç olarak kullanılabilir. Hazırlanan elektrotlar kararlı hal voltametrisi, taramalı elektron mikroskobu ve SECM ile karakterize edilmiştir. ROS/RNS tayinine ilave olarak platinlenmiş nanoelektrotların büyük yüzey alanı onları yararlı potansiyometrik prob haline getirir. Önceden üretilmiş olan platinlenmiş elektrotların aksine karbon elektrotlar çok ince yalıtkan tabakaya sahiptir. Bu tabaka yüksek çözünürlüklü SECM görüntülemesi ve biyolojik hücrelerdeki deneyler için elzemdir.

Zhang ve arkadaşları (2013), destek elektrolit bulunmadığı ortamlarda nanoelektrotlarda yüksüz türlerin iki elektronlu indirgenmesinin engellenmesini çalışmışlardır. 1,4 benzokinon ve tetrasiyanokinodimetan (TCNQ) geleneksel voltametrik şartlarda mono anyonlar ve di anyonlara indirgenir, asetonitril çözeltilisinde destek elektrolit çözeltilisi bulunmadığında di anyonlara kadar

indirgenme gözlenmez. Destek elektrolitin düşük konsantrasyonlarında IR düşüşünün ve elektrostatik kuvvetinin etkileri birinci indirgenme dalgalarının kullanılmasıyla incelenmiştir. Bu etkiler ikinci dalgaların analizi için de geçerlidir. 0,4 μm 'den daha az yarıçaplara sahip mikroelektrotlarda destek elektrolitsiz ortamlarda alınan voltamogramlar dikkat çekici bir IR düşüşü göstermez. Anyonlar için büyük aşırı gerilim Nernst-Planck eşitliği ve Laplace eşitliğinin çözümlerinde hesaplanan elektrot göçü terimleri ile açıklanamaz. Elektrolit ilavesi ile çözeltinin iletkenliği artar, ikinci indirgenme dalgası potansiyel kayması ile birlikte görülür. Elektrolit birinci indirgenme dalgasını etkilemez fakat ikinciyi değiştirir. İkinci dalga için spesifik olan tuz etkisi tuz katyonu ile redoks anyonunun stokiyometrik olmayan birleşmesine atfedilir.

Gasnier ve arkadaşları (2013), NADH'nin miktarını belirtmesi için elektrokimyasal davranışlarını ve analitik uygulamalarını grafit, mineral yağ ve grafenin karıştırılması ile elde edilen grafen pasta elektrotta (GrPE) araştırmışlardır. Bu çalışma grafen pasta elektrodun elektrokimyasal davranışlarının incelenmesini kapsar. Grafen pasta elektrot taramalı elektron mikroskobu, dönüşümlü voltametri ve amperometri teknikleri ile karakterize edilmiştir. Farklı redoks problemleri kullanılarak elde edilen elektrotların elektrokimyasal cevabına grafen pasta elektrotun bileşiminin etkisi incelenmiştir. Askorbik asit, dopamin ve NADH gibi farklı biyoanalitlerin elektroyükseltgenmesi GrPE ile seçici olarak katalizlenmiştir. Askorbik asit varlığında NADH'nin eşzamanlı, seçici ve hassas kantitatif tayini için GrPE'nin avantajları belirtilmiştir.

Danis ve arkadaşları (2015), nanoelektrotlarda anodik sıyırma voltametri çalışmışlardır. Bu çalışmada taç eterler ile Mn^{2+} iyonu bir arada bulunmaktadır. Mangan katyonlarının kantitatif tayini için platin-civa yarıküresel nanoelektrotların geliştirilmesi ve karakterizasyonunu çalışmışlardır. Elektrokimyasal problemler civa iyon çözeltisinden metalik civanın elektrokimyasal biriktirilmesi ile elde edilmiştir. Bu biriktirme lazer çekme yöntemi ile hazırlanan Pt/kuvars disk şeklindeki nanoelektrotların yüzeyine yapılmıştır. Üretilen nanoelektrotlar kararlı hal voltametri, SECM, SEM, X ışınları spektroskopisi ile karakterize edilmiştir.

Anodik sıyırma voltametrisi kullanılarak Mn^{2+} derişime karşı kalibrasyon yapılmıştır. Bu teknik Li-iyon pillerdeki çözünmüş manganın tayini için yeni bir yaklaşım oluşturmuştur.



3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Kimyasal Maddeler ve Malzemeler

0,05 M Tetrabütülamonyum tetrafloroborat (TBATFB) (Aldrich, % 99,9) asetonitril (Merck, % 99,9) ortamında hazırlanmıştır ve 1×10^{-3} M Ferrosen (Aldrich, % 98) çözeltisi için destek elektrolit olarak kullanılmıştır.

Nikotinamid adenin dinükleotid disodyum tuzu Sigma'dan temin edilmiştir. 0,005 M stok NADH çözeltisi için sırasıyla 0,1 M, 0,5 M, 2 M, 2,5 M ve 3 M KCl içeren fosfat tamponu pH 7'de destek elektrolit olarak hazırlanmıştır. Hazırlanan çözelti günlük kullanılmak şartıyla +4 °C' de muhafaza edilmiştir.

0,1 M, 0,5 M, 2 M, 2,5 M ve 3 M KCl içeren fosfat tamponu Na_2HPO_4 ve $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 'ın belirli miktarlarının çözülüp litreye tamamlanıp ortamda 0,1 M, 0,5 M, 2 M, 2,5 M ve 3 M KCl olacak şekilde belli miktar KCl'nin tartılmasıyla hazırlanmıştır. 0,1 M NaOH çözeltisi ile pH istenilen değere ayarlanmıştır.

Nanoelektrot üretmek için 0,025 mm çapında altın tel, borosilikat (1 mm O.D, 0,58 mm I.D) ve kuvars cam kullanılmıştır. Normal boyutlu altın elektrotu parlatmak için 0,05 mikron, 0,3 mikron ve 0,1 mikron temizleme kitleri (Alpha Alümina Powder) kullanılmıştır.

3.2. Sutter P-2000 Laser Esaslı Mikropipet Çekici

P-2000 mikropipet çekiciler mikropipet üretimi, optik fiber prob ve nanosprey uç teknolojisindeki önemli gelişmeleri temsil eder. P-2000 geleneksel çekme cihazları, lazer tabanlı CO_2 ısı kaynağıyla bütünleşir. Bu sistem diğer çekme cihazları tarafından karşılanmayan özellikler sunar. P-2000 çoğu geleneksel camlar ile çalışmak için müsait iken öncelikli avantajı kuvars camla (kaynaşık silika) çalışılmasıdır.



Resim 3.1. P-2000 Lazer esaslı Mikropipet Çekici

Kuvars çeşitli araştırma uygulamaları için üstün malzeme özellikleri sağlar. Kuvars diğer camlardan daha güçlüdür ve sert dokuların içinden penetrasyonu kolaylaştırabilir (Munoz ve Coles, 1987). Bu normalde geleneksel pipetleri kırar. Kullanıcılar düşük gürültülü cam isteyen uygulamalar için kuvarsın mevcut olan en düşük gürültülü cam olduğunu fark ederler (Rae ve Levis, 1992,1993). Kuvars camlar, geleneksel camlarda kullanılan hiçbir metali içermez (Zuazaga ve Steinacker, 1990).

CO₂ lazer P-2000 için ısıtıcı kaynağı olarak birkaç sebeple seçilmiştir. İlk olarak, lazerin nominal emisyonun dalga boyu camın içindeki SiO₂ kafesin rezonans frekansına yakındır. Böylece uygun lazer gücü sağlandığında kuvars ve diğer geleneksel camlar eritilebilir. İkincisi lazer ısısı temizdir ve geleneksel ısıtma filamentleri gibi pipet üzerinde kalıntı bırakmaz. Üçüncü olarak, lazer ısı hiç artık filament ısısı bırakmadan anında kapatılabilir. Son olarak, kullanıcı cama verilen ısı miktarını ve dağılımını programlayabilir.

P-2000 en fazla 8 ayrı komut satırından oluşan 100 farklı programı depolayabilir. Programlanabilir parametreler şunlardır; sıcaklık, filament, hız, gecikme ve çekme. P-2000 kullanımı için önemli bir faktör kullanılan camın çapıdır. P-2000/G dış çapı 1,2 mm'ye kadar olan camların bile ısıtılması amacıyla tasarlanmıştır. Daha geniş

çaplı camlar (1,5 mm kuvarsa kadar ya da 1,8 mm geleneksel camlar) kullanılabilir. Ama en iyi performans 1,2 mm çaplı ya da daha az çaplı olanlardır.

P-2000/F fiber optik gibi küçük çaplı camlarla iyi çalışır. Küçük çaplı kaynaşmış silika kapiler nanosprey uçların üretilmesinde yaygın olarak kullanılır. Küçük çaplı camlar (dış çapı 1,25-0,6 mm aralığında olanlar) küçük çaplı materyallere özel çekici çubuklarının yanı sıra optik uyum gerektirir. Uç boyutları ve konik geometrileri kapsamı geniş olan büyük çaplı camlar P-2000/F ve daha küçük çaplı camlarla üretilir. 5 μm ve 10 nm arası değişen fiber optik uçlar çizilmiştir (Anonim, 2012a).

3.3. BV-10 Mikropipet Parlatma Cihazı



Resim 3.2. BV-10 Mikropipet Parlatma Cihazı

Seçkin ve kullanımı kolay, BV-10 0,1-100 μM arasında mikropipet uçlarının hassas eğimli yapılmasını sunan bir parlatma cihazıdır. Özgün zımpara levhası sürüş sistemi parlatma sürecinin daha fazla kontrolü için serbest titreşim yapar. Parlatma çok hızlı gerçekleştirilebilir ve Brown ve Flaming, Bilim, Ağustos 1974, Cilt 185.'de tarif edildiği gibi teknikler kullanılarak istikrarlı uç çapları üretir.

Hücre içi kayıt elektrotları aşağıdaki sebeplerden parlatmadan yararlanabilir:

- Elektrot üzerinde keskin bir nokta oluşturulmasıyla uç çapında bir azalma

- Lümenin daha geniş bir enine kesit alanı nedeniyle elektrotun düşürülmüş elektriksel direnci

Bu büyük ölçüde çok küçük ya da zor hücreleri nüfuz ederek ve tutarak kolaylaştırır.

Temel parlatma sistemi, ağır kaide üzerine monte edilmiş yüzey yarım dalga (250 nm) oluşturmak üzere optik olarak düz sabit bir kaideden oluşur. Bu yarım dalga düz bir aşındırıcı kaplanmış cam zımpara levha için bir rulman olarak görev yapar. Düz zımpara levhası bir yalpalama içermeyen düz zımpara yüzeyi sağlamak için manyetik alanların yardımıyla düşük titreşim, düşük hızlı bir motora bağlanır. Aşındırıcı plakalar istikrarlı bir aşındırıcı kaplamayı garanti eden özel bir işlem ile üretilmektedir.

İki eksenli bir mikromanipülatör pipetin eğimli olması ve aşındırıcı yüzeyi üzerine ilerlemeye izin veren kontrolünü sağlar. Konik açı ve ilerleme hızı ayarlanabilir. Bir kaz boynuna sahip LED lamba aşındırıcı plaka ve pipetin keskin aydınlatmasını sağlayarak parlatma işlemini iyileştirir (Anonim, 2012b).

3.4. Elektrokimyasal Cihazlar

NADH'nin nanoelektrokimyasal davranışlarının incelenmesi için Sutter P-2000 lazer esaslı mikropipet çekici ile borosilikat kapillerlerin (1 mm O.D, 0,58 mm I.D) içine 0,025 mm çapında altın tel yerleştirilerek üretilen nanoelektrotlar kullanılmıştır. Nanoelektrotlar BV-10 mikropipet parlatma cihazında parlatılmıştır. Elektrotların mikroskopta görüntüleri alınmıştır. Tavlama için kül fırını kullanılmıştır.

Elektrokimyasal çalışmalar CH Instruments Model 660C Electrochemical Analiz cihazında dönüşümlü voltametri (CV) tekniği kullanılarak yapılmıştır. Çalışma elektrodu olarak üretilen altın nanoelektrot, yarı referans elektrot olarak ise Ag tel kullanılmıştır.

Çalışma elektrodu, üzerinde analitin yükseltgendiği veya indirgendiği elektrottur. Burada çalışma elektrodu olarak kullanılan altın nanoelektrotlar farklı çaplara sahiptir. Normal boyutlu altın elektrotu ve altın nanoelektrotu temizlemek ve bazı maddeleri çözmek amacıyla Wise Clean marka sonikatör kullanılmıştır.

25 °C'de pH=4,40, pH=7 ve pH=10,01'de standart elektrot çözeltileriyle kalibre edilmiş Mettler Toledo marka pH metre ile gerekli pH ölçümleri yapılmıştır.

Referans elektrot, potansiyeli deney süresince sabit kalan elektrottur. Burada susuz ortam için hazırlanmış Ag/Ag⁺ referans elektrodu kullanılmıştır.

3.5. Optik Mikroskop

Optik mikroskop, temelde iki mercek sisteminden oluşur. Bir tek sistemin (objektif) verdiği görüntü, ikinci bir sistemle (oküler) daha da büyütülür. Böylece, bir büyüteç ile elde edilebilenden çok daha yüksek bir büyütme gücü sağlanır. Mikroskop, bilim ve teknolojiye geniş kullanım alanı bulur. Birleşik mikroskop, Hans ve Zacharias Janssen tarafından 1600 yıllarında, Hollanda'da bulunmuştur. XVIII. yüzyılda mikroskop, bir oyuncak olmaktan öteye geçemezken, 1830'lardan sonra mikroskop objektifleri, yalın bir mercek yerine, nitelikli, renksemez ve sapmasız sistemlerden yapılmaya başlanmıştır. Böylece görüntü çevresinde oluşan renkli halkalar ve bazı optik kusurlar giderilmiştir. Daha sonraki 50 yıl içinde pek çok araştırmacı, aygıtın geliştirilmesine katkıda bulunmuştur. 1880'de Ernst Abbe, 302 000 kez büyütme sağlayacak mikroskopun kuramsal yapısını ortaya koymayı başardı.

Söz konusu büyütme sınırı, ışığın bir elektro magnetik ışınım biçimi olmasının getirdiği özelliklerden dolayı, aşılamaz. Işık, bir dalga hareketi olduğundan, çok küçük cisimler çevresinde hiç etkilenmeden bükülebilir. Bu durum, çok küçük cisimlerin görülmesini engeller. Bu yüzden, 2 000'den daha fazla büyütme sağlayan mikroskopların yapılabilmesine karşılık, ışığın yapısından ötürü, ayrıntılı bir görüntü elde etmek olanaksızdır. Elektron dalgalarının dalga boyları, ışığınkine oranla çok

daha kısa olduğundan, 2 500 angströmden küçük cisimleri büyütmede, elektron mikroskopu kullanılır.

Mikroskop ile inceleme için gerekli aydınlatma, iki yoldan sağlanabilir: Nesnenin içinden doğrudan ışık geçirilir; nesneden yansıyan ışık mikroskopa gönderilir. Nesne içinden geçen ışığın kullanılması daha yaygın bir yöntemdir. Çalışmaların çoğunda ışık kaynağı olarak bir tür ampul kullanılır. Gün ışığı, gerek nitelik, gerekse şiddet açısından, her zaman güvenilir değildir. Bazı aygıtlarda ışık kaynağı mikroskopun tabanına yerleştirilerek, kullanım kolaylığı sağlanır. Ayrı bir lamba kullanılacaksa, ışığın bir aynadan yansıtılarak, nesnenin içinden geçirilmesi gerekir. Gelişmiş mikroskoplarda, lambanın yapısı biraz karmaşıktır. Genellikle düşük gerilimle çalışan bu lambalar, ampulün flamanından çıkan ışık şiddetini denetleyen bir irisle ve bir toplayıcıyla donatılmıştır, istenen dalga boylarında aydınlatma veren değişik tür lambalar da vardır.

En iyi sonuçlar, mikroskop tablasındaki örneğe, bir alt toplayıcıdan geçen odaklanmış ışık gönderilerek elde edilir. Düşük büyütme gerektiren çalışmalarda bunun büyük bir önemi yoktur. Büyütmenin yüksek tutulduğu durumlarda ise, ışık şiddeti, toplayıcısız denetlenemez. Toplayıcıyla birlikte bulunan iris diyaframı, ışığın nesne üstüne geliş açısını denetler. Nesne kesitinden geçen ışık, objektife girer. Objektif sistemi çok karmaşık ve pahalıdır. Bazılarının çapı 1 mm kadar olan yaklaşık 14 merceğin, birbirine göre dikkatle yerleştirilmesiyle yapılır. Objektifin büyütmesi ne kadar yüksekse, yapısı da o kadar karmaşık olur. Ayrıca, fotomikrografi, için düz alanlı objektif gibi, özel türler de kullanılır. Döner bir kafaya değişik objektif sistemlerinin yerleştirilmesi, kullanım sırasında kolaylık sağlar. Böylece nesnenin karşısına istenen objektif getirilebilir. Modern bir araştırma mikroskopunun objektif büyütmesi 3, 6, 10, 20, 40 ve 100 düzeyindedir. En yüksek büyütmeli objektifler yağ daldırmalı türdendir. Bunlarda, lam ile objektif ön merceği arasında bir yağ damlacığı bulunur. Mikroskop gövde silindirinin üst kesiminde oküler yer alır. Okülerin büyütme gücü çeşitli değerlerde olabilir (genellikle 6, 10 ve 15 kez). Mikroskopun toplam büyütmesi, objektif büyütmesi ile oküler büyütmesinin çarpımıyla elde edilir. Mikroskopun yapımında, ışık kaynağından okülere kadar

bütün bileşenlerin düzgün bir konum içinde bulunmasına özen gösterilir. Çağdaş mikroskoplarda bu konumlar, en iyi sonucu verecek biçimde düzenlenmiştir.

3.6. Yöntem

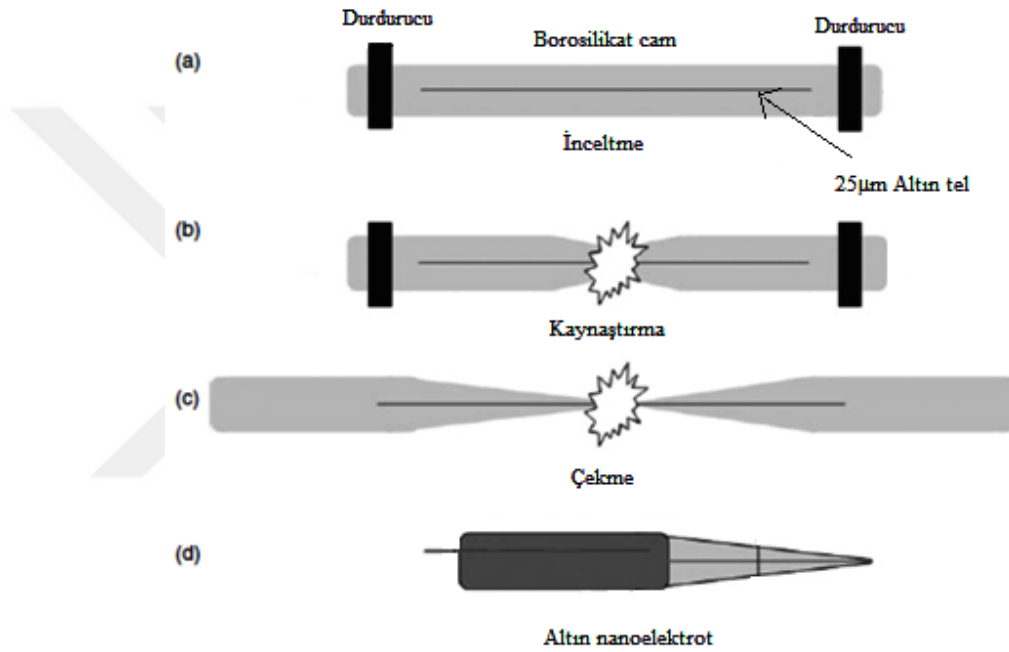
Öncelikle ticari olarak temin edilen 25 µm çapında altın tel 0,58 mm iç çapa sahip borosilikat cam kılcal boru içerisine yerleştirilmiştir.

Kılcal borunun içerisine mikrometre boyutundaki altın tel yerleştirilerek lazerli çekme cihazında inceltilmiştir. Cihazın parametreleri olan Sıcaklık (Heat), Filament (Filament), Hız (Velocity), Gecikme (Delay), Çekme (Pull) terimlerinin karşılığı olarak optimizasyon yapıldıktan sonra elde edilen sırasıyla 550, 4, 30, 150, 0 değerleri ile çalışmalar yapılmıştır. Daha sonra mikroskop altında yapılacak kontrol ile inceltilmiş kesitin bileşimi doğrulanacak ve eğer bir kayma veya benzeri bir düzensizlik görülürse, iç kısımda bulunan altın tel mekanik olarak hareket ettirilerek tam orta kısımda konumlanması sağlanmıştır.

Düzgün bir şekilde inceltilmiş ve içinde altın tel bulunan kılcal boru, lazerli çekme cihazına yerleştirilerek kaynaştırma yapılmıştır. Sıcaklık (Heat), Filament (Filament), Hız (Velocity), Gecikme (Delay), Çekme (Pull) terimlerinin karşılığı olarak optimizasyon yapıldıktan sonra elde edilen sırasıyla 300, 4, 15, 120, 0 parametre değerleri kullanılarak çalışmalar yapılmıştır ve altın tel ile cam arasında boşluk kalmayacak şekilde kavraması sağlanmıştır. Kaynaştırma işleminden sonra kılcal tekrar mikroskop altında kontrol edilmiştir.

Son olarak yapılacak olan çekme işleminde daha önce hazırlanmış kaynaşmış haldeki kılcal boru ve altın tel lazerli çekme cihazına yerleştirilerek; Sıcaklık (Heat), Filament (Filament), Hız (Velocity), Gecikme (Delay), Çekme (Pull) terimlerinin karşılığı olarak optimizasyon yapıldıktan sonra elde edilen sırasıyla 400, 3, 10, 120,

100 parametre değerleri kullanılarak çalışmalar yapılmıştır. Bu kılcal borudan iki adet altın nanoelektrot elde edilmiştir. Mikroskop altında kontrol edilen nanoelektrotlar, video- mikroskopik parlatma düzeneğinde 0,05 μm 'lik alümina parlatma kâğıdı 15 dakika süreyle sabit bir dönme hızında yaklaşık parlatılmıştır. Hazırlanan nanoelektrotlar en az 24 saat süreyle yaklaşık 150 $^{\circ}\text{C}$ sıcaklıktaki bir kül fırınında tavlama işlemine tabi tutulmuştur. Altın nanoelektrotların lazerli çekme cihazı ile üretim yönteminin şematik gösterimi aşağıda verilmiştir.



Resim 3.3. Lazerli çekme yöntemiyle altın nanoelektrot üretim şeması (Zoski, 2007)

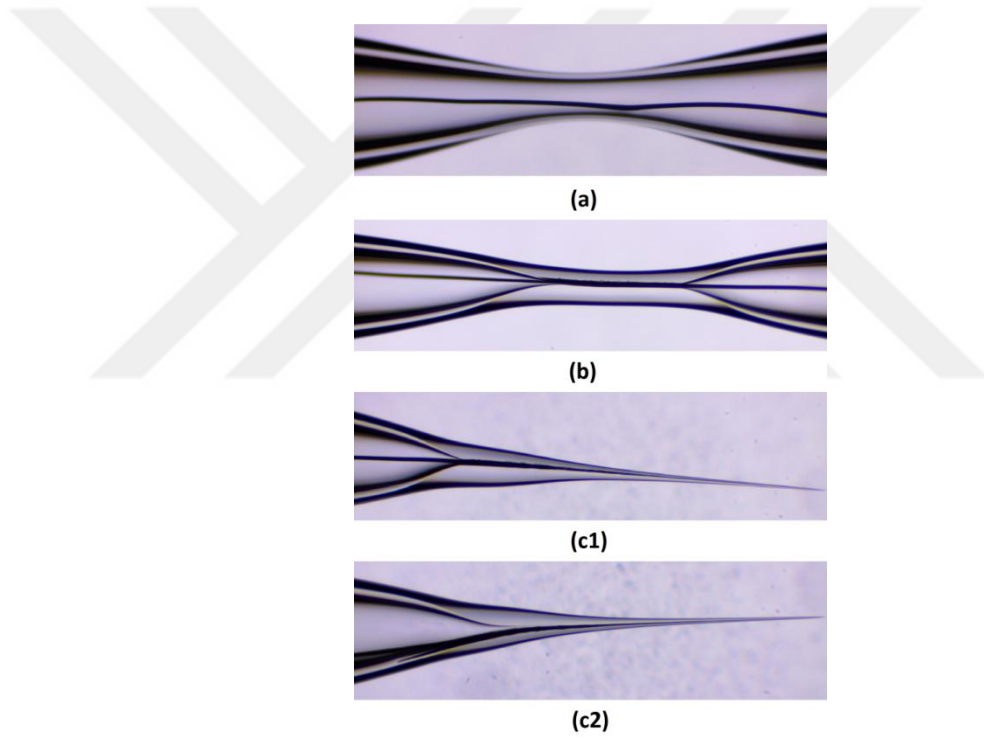
Üretilen ve yüzeyleri parlatılan altın nanoelektrotların yaklaşık yarıçap büyüklüklerini ve hesaplamak için dönüşümlü voltametri tekniği kullanılmıştır. Bu çalışmada medyatör olarak asetonitrilde hazırlanmış $1 \times 10^{-3}\text{M}$ ferrosen çözeltisi kullanılmıştır. Ferrosen ve altın nanoelektrotlar kullanılarak elde edilen voltamogramların şekli ve akım değerleri yardımıyla, elektrotun yüzeyinin düzgünlüğü ile yarıçapı hakkında bilgi edinilmiştir.

4. ARAŞTIRMA SONUÇLARI

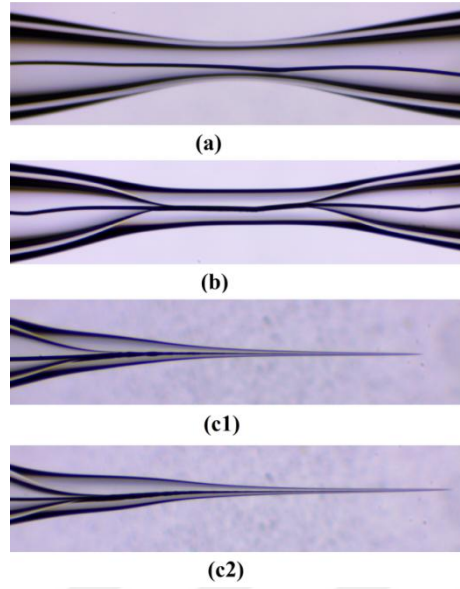
4.1. Altın Nanoelektrotların Optik Mikroskop Sonuçları

Ticari olarak temin edilen 25 μm çapında altın tel 0,58 mm iç çapa sahip borosilikat cam kılcal boru içerisine yerleştirilmiştir. İnceltme, kaynaştırma ve çekme işlemlerine tabi tutulan bu kılcal borudan iki adet altın nanoelektrot elde edilmiştir.

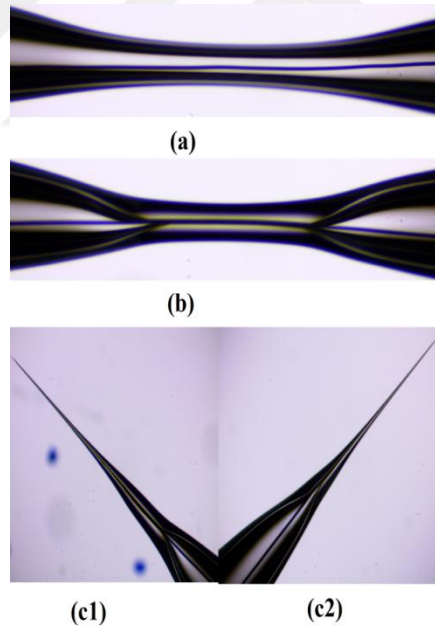
Mikroskop altında alınan görüntüler aşağıda verilmiştir.



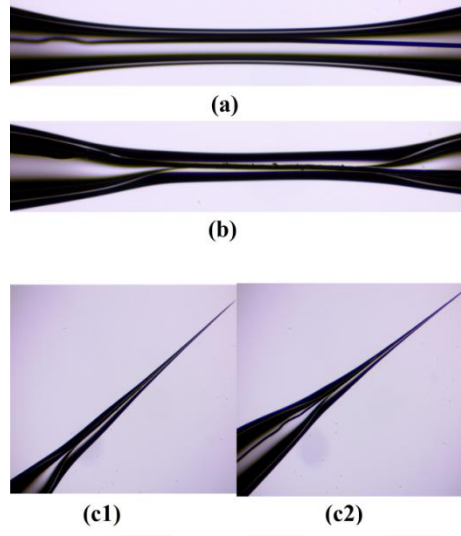
Resim 4.1. (a) İnceltme, (b) Kaynaştırma, (c1,c2) Çekme işlemi sonucu elde edilen nanoelektrotlar



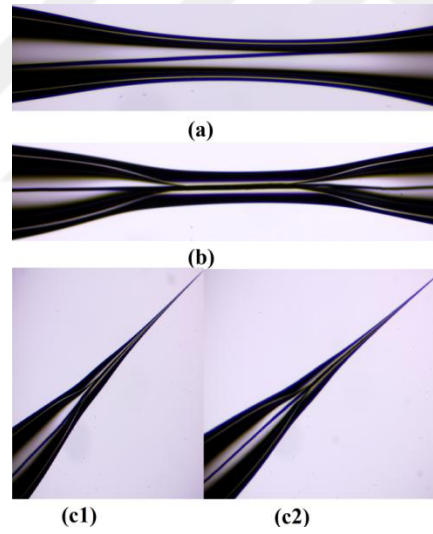
Resim 4.2. (a) İnceltme, (b) Kaynaştırma, (c1,c2) Çekme işlemi sonucu elde edilen nanoelektrotlar



Resim 4.3. (a) İnceltme, (b) Kaynaştırma, (c1,c2) Çekme işlemi sonucu elde edilen nanoelektrotlar



Resim 4.4. (a) İnceltme, (b) Kaynaştırma, (c1,c2) Çekme işlemi sonucu elde edilen nanoelektrotlar



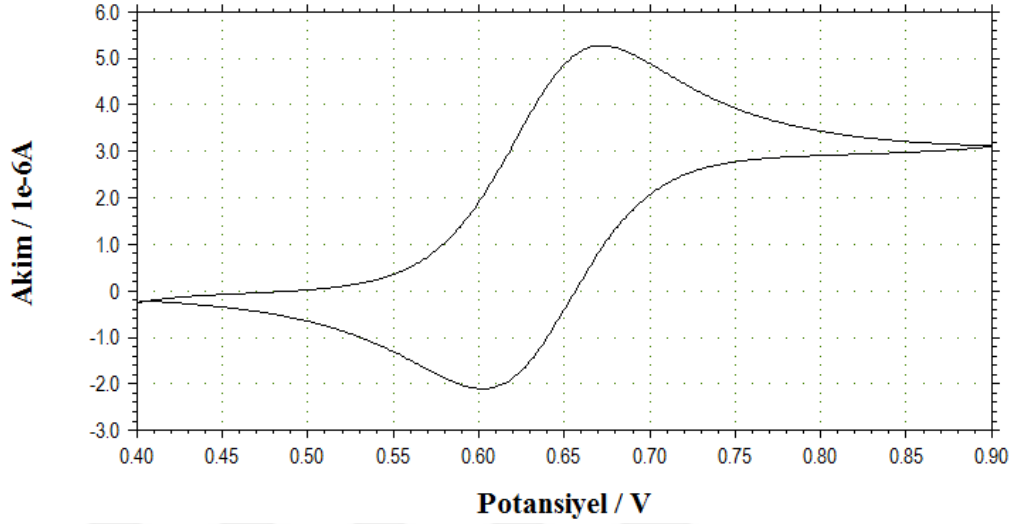
Resim 4.5. (a) İnceltme, (b) Kaynaştırma, (c1,c2) Çekme işlemi sonucu elde edilen nanoelektrotlar

4.2. Dönüşümlü Voltametri Sonuçları

4.2.1. Normal boyutlu altın elektrotta dönüşümlü voltametri sonuçları

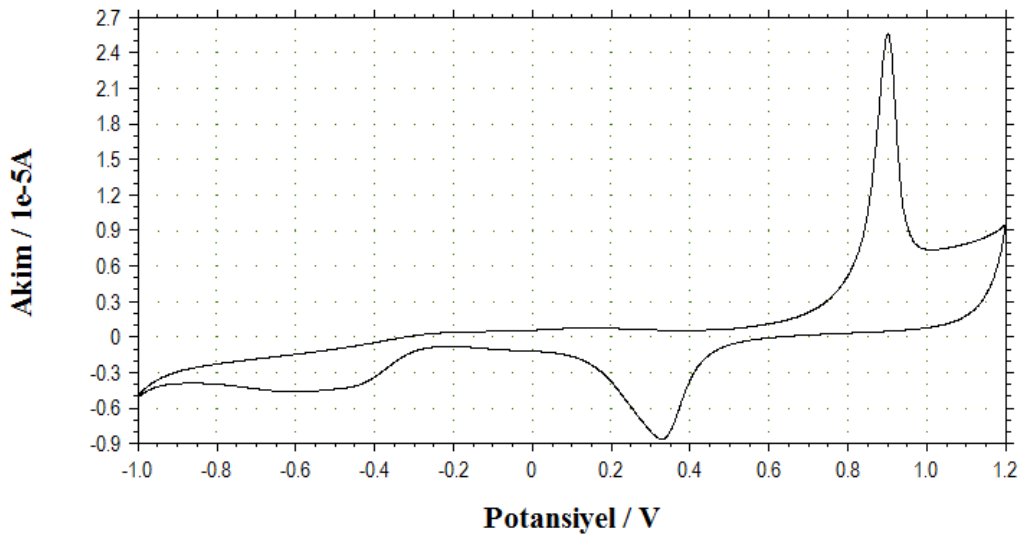
Bu kısımda normal boyutta altın elektrotta ferrosen ve NADH için dönüşümlü voltametri (CV) sonuçları verilmektedir. Dönüşümlü voltametri çalışmalarında, standart referans olarak 1×10^{-3} M Ferrosen molekülünün 0,05 M TBATFB destek

elektrolitinin asetonitrildeki çözeltisinde sabit tarama hızında pik akımları normal altın elektrotta kaydedilmiştir.

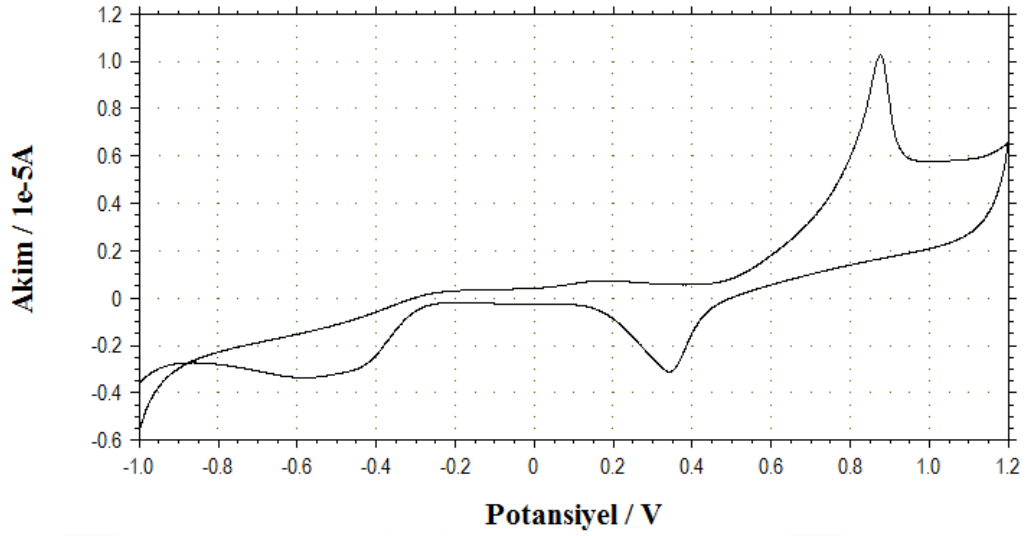


Şekil 4.1. 1×10^{-3} M Ferrosen molekülünün 0,05 M TBATFB’de verdiği voltamogramı $v:0,01$ V/s (vs.Pt)

NADH’nin destek elektrolit olarak 0,1 M KCl içeren fosfat tamponunda (pH=7), altın elektrot yüzeyinde $0,5 \times 10^{-3}$ M ve $1,5 \times 10^{-3}$ M’lık çözeltisinde yükseltgenmesi incelenmiştir. Tarama hızı 0,05 V/s’dir.

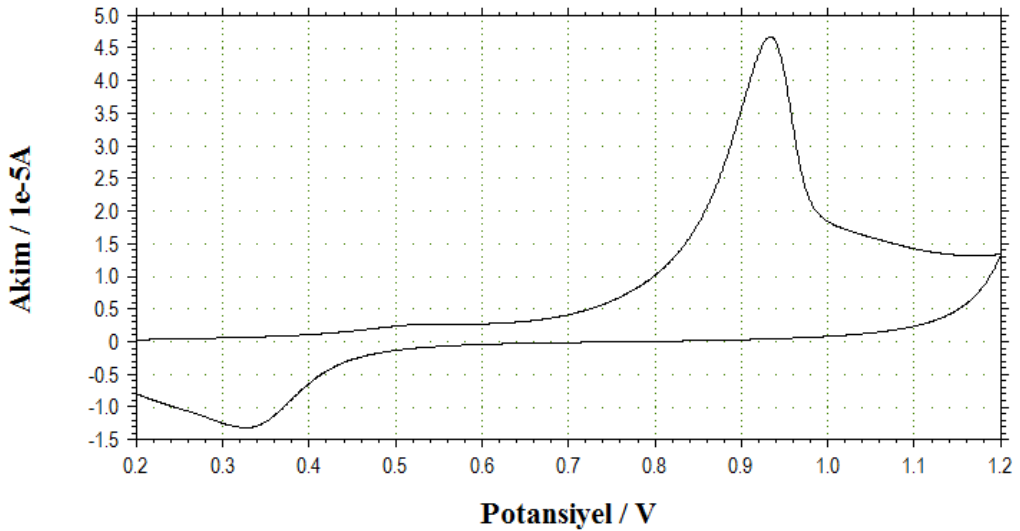


Şekil 4.2. $0,5 \times 10^{-3}$ M NADH’nin 0,1 M KCl içeren pH=7 fosfat tamponunda ve normal boyut altın elektrotta alınan voltamogramı $v:0,05$ V/s (vs. Pt)



Şekil 4.3. $1,5 \times 10^{-3}$ M NADH'nin 0,1 M KCl içeren pH=7 fosfat tamponunda ve normal boyut altın elektrotta alınan voltamogramı $v:0,05$ V/s (vs. Pt)

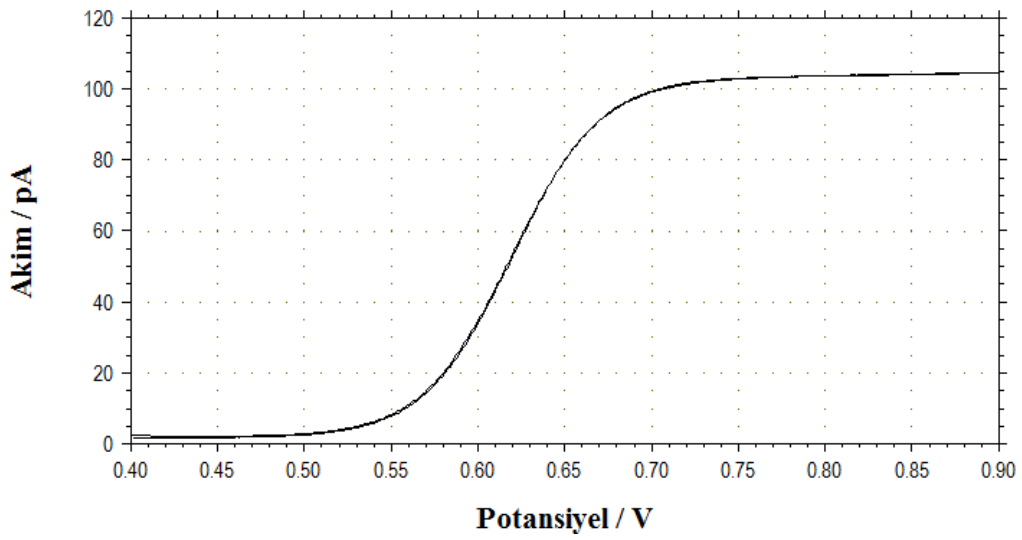
NADH'nin destek elektrolit olarak 0,1 M KCl içeren fosfat tamponunda (pH=7), altın elektrot yüzeyinde $0,05 \times 10^{-3}$ M'lık çözeltisinde yükseltgenmesi incelenmiştir. Tarama hızı 0,1 V/s'dir.



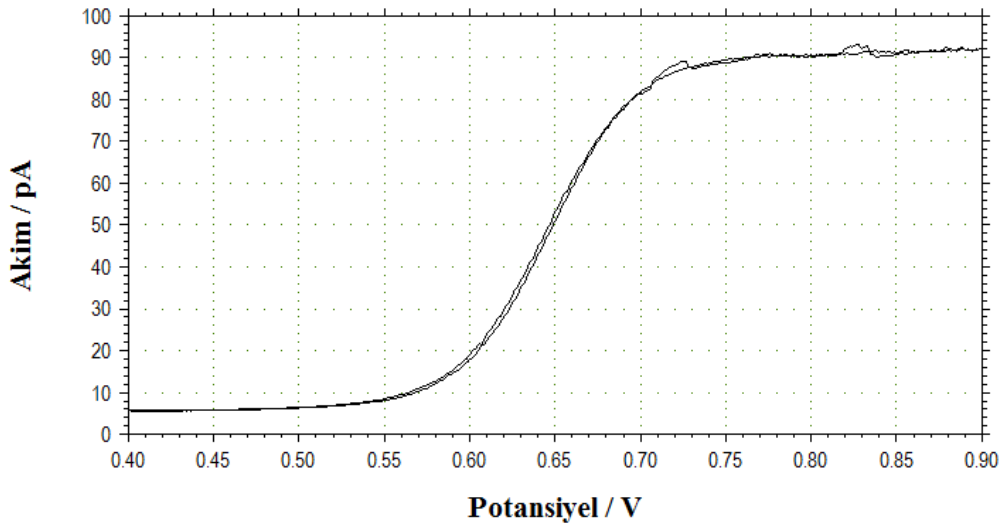
Şekil 4.4. $0,05 \times 10^{-3}$ M NADH'nin 0,1 M KCl içeren pH=7 fosfat tamponunda alınan voltamogramı $v:0,1$ V/s (vs. Ag)

4.2.2. Altın nanoelektrotların dönüşümlü voltametri ile karakterizasyonu

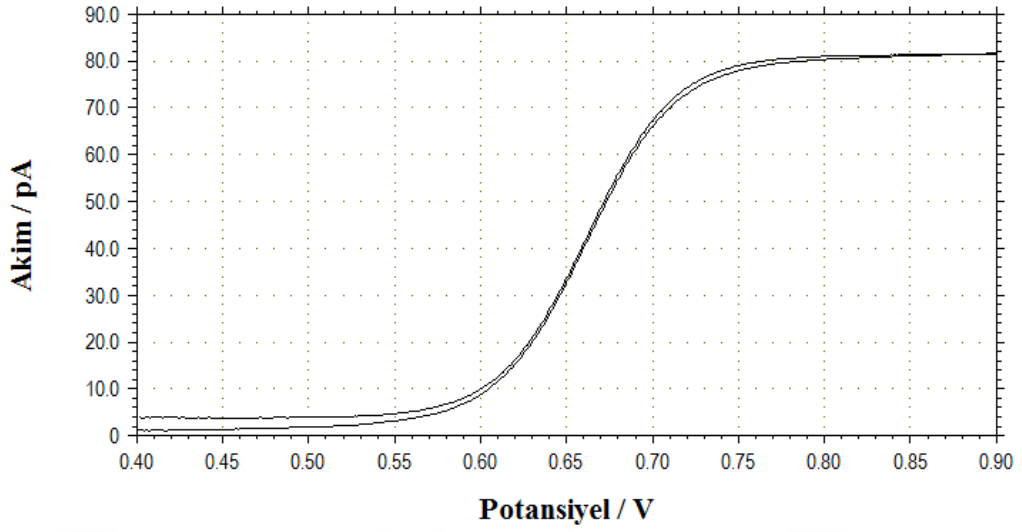
Üretilen altın nanoelektrotlar ile ilgili yüzey ve yarıçap bilgilerini elde etmek için ferrosen kullanılmıştır. Dönüşümlü voltametri çalışmalarında, standart referans olarak kullanılan 1×10^{-3} M Ferrosenin asetonitrilde hazırlanmış 0,05 M TBATFB destek elektrolitteki çözeltisinde sabit tarama hızında farklı boyutlara sahip altın nanoelektrotlarda pik akımları kaydedilmiştir.



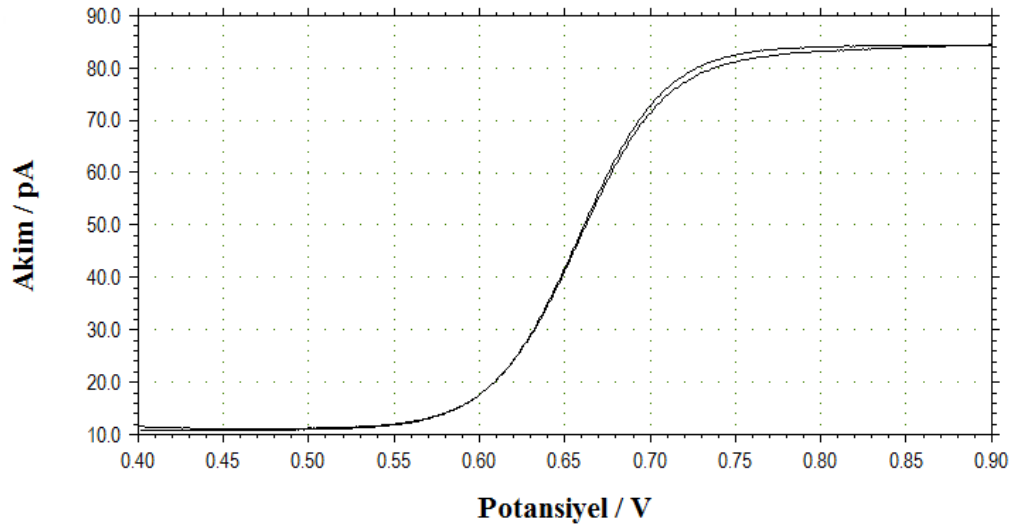
Şekil 4.5. 1×10^{-3} M Ferrosen molekülünün 0,05 M TBATFB’de verdiği voltamogramı $v:0,01V/s$ (vs.Ag) (101,58 nm)



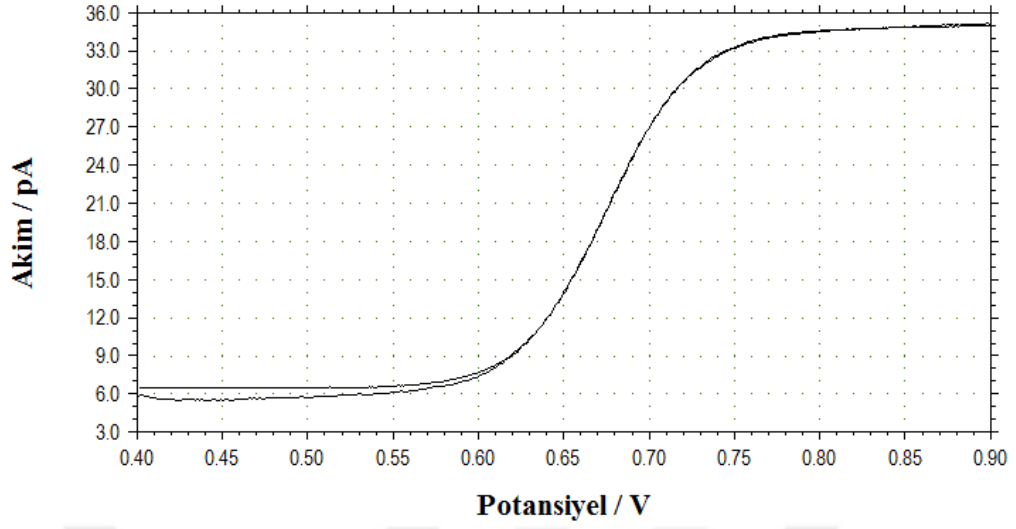
Şekil 4.6. 1×10^{-3} M Ferrosen molekülünün 0,05 M TBATFB’de verdiği voltamogramı $v:0,01V/s$ (vs.Ag) (86,53 nm)



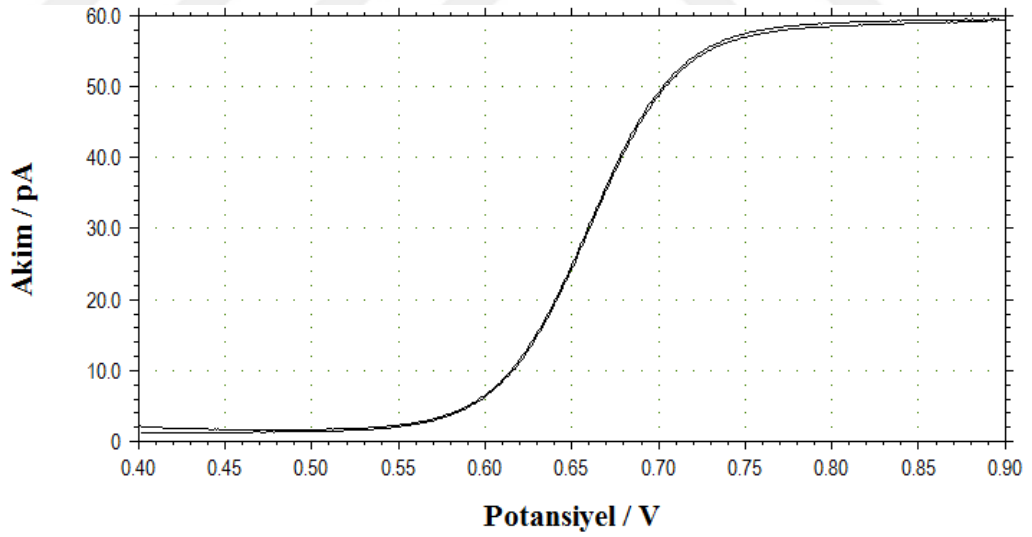
Şekil 4.7. 1×10^{-3} M Ferrosen molekülünün 0,05 M TBATFB'de verdiği voltamogramı $v:0,01\text{V/s}$ (vs.Ag) (86,53 nm)



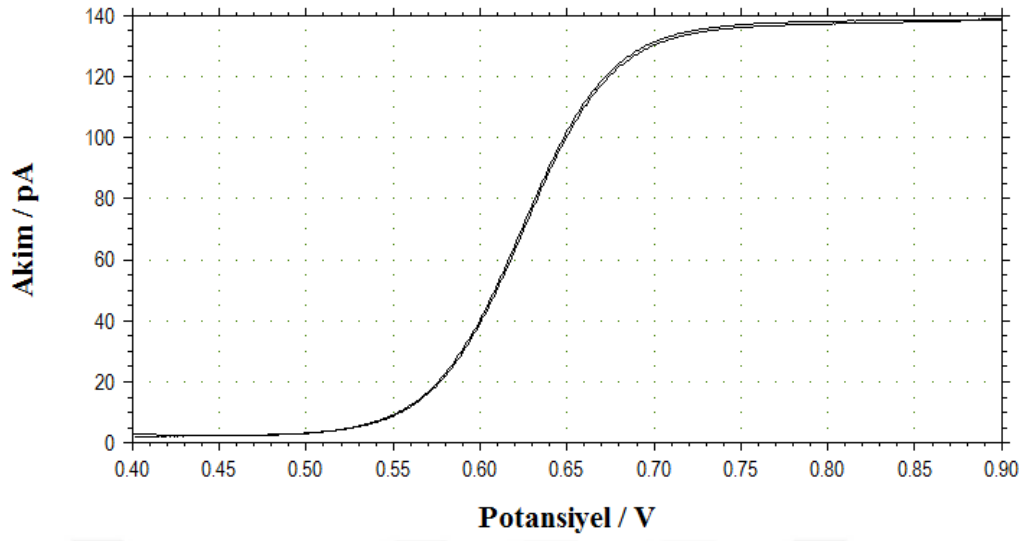
Şekil 4.8. 1×10^{-3} M Ferrosen molekülünün 0,05 M TBATFB'de verdiği voltamogramı $v:0,01\text{V/s}$ (vs. Ag) (83,91 nm)



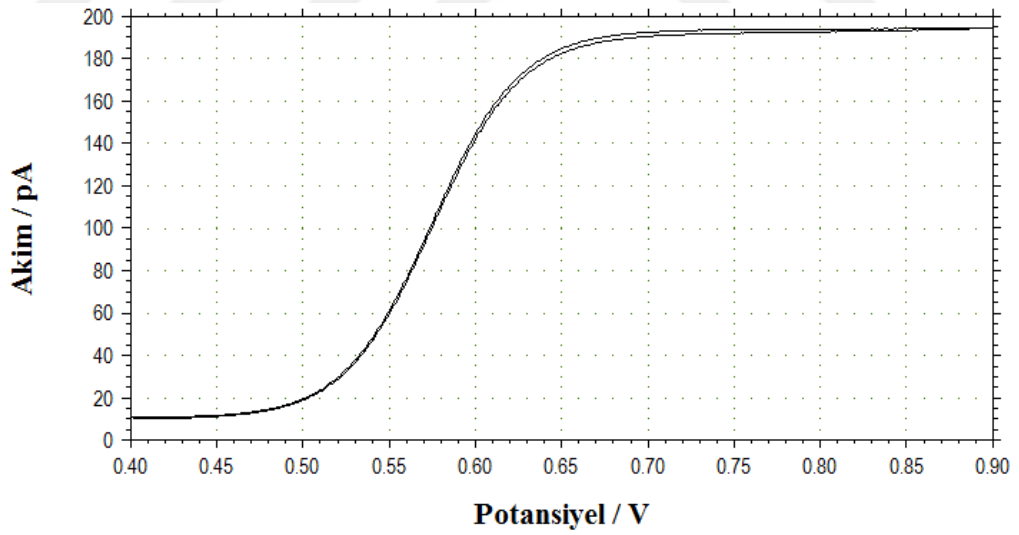
Şekil 4.9. 1×10^{-3} M Ferrosen molekülünün 0,05 M TBATFB’de verdiği voltamogramı $v:0,01$ V/s. (vs.Ag) (29,93 nm)



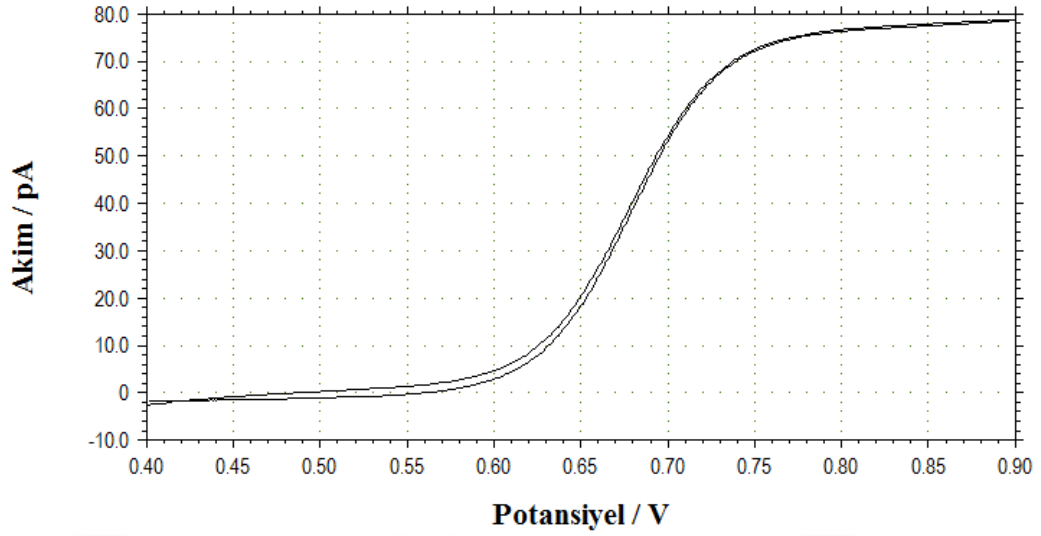
Şekil 4.10. 1×10^{-3} M Ferrosen molekülünün 0,05 M TBATFB’de verdiği voltamogramı $v:0,01$ V/s (vs.Ag) (64,68 nm)



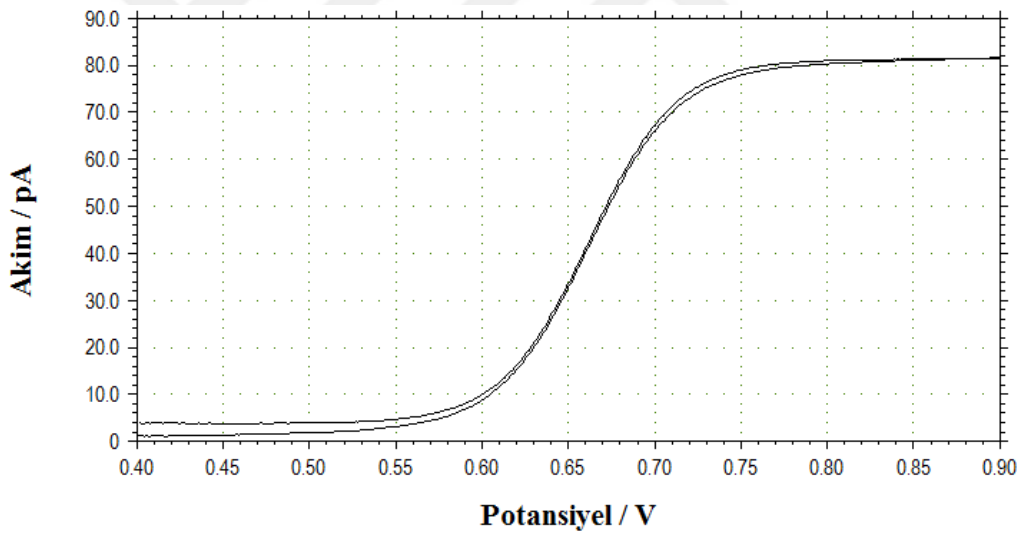
Şekil 4.11. 1×10^{-3} M Ferrosen molekülünün 0,05 M TBATFB'de verdiği voltamogramı $v:0,01\text{V/s}$ (vs.Ag) (131,02 nm)



Şekil 4.12. 1×10^{-3} M Ferrosen molekülünün 0,05 M TBATFB'de verdiği voltamogramı $v:0,01\text{V/s}$ (vs.Ag) (190,07 nm)



Şekil 4.13. 78,51 nm'lik altın nanoelektrot ile 1×10^{-3} M Ferrosen molekülünün 0,05 M TBATFB'de verdiği voltamogramı $v:0,01$ V/s (vs.Ag)



Şekil 4.14. 75,57 nm'lik altın nanoelektrot ile 1×10^{-3} M Ferrosen molekülünün 0,05 M TBATFB'de verdiği voltamogramı $v:0,01$ V/s (vs.Ag). Bu sonuç elektrotun ikinci parlatması sonucu elde edilmiştir

4.2.2.1. Altın nanoelektrotların yarıçap hesaplamaları

Nanoelektrot yarıçaplarının hesaplanmasında UME'ler için kullanılan kararlı hal akımını veren eşitlikten yararlanılmıştır.

$$i = 4nFDCr \quad (4.1)$$

Bu eşitlikte, i (A) akım, n (mole⁻/mol) aktarılan elektrot sayısı, F (C/mole⁻) faraday sabiti, D (cm²/s) difüzyon katsayısı, C (mol/cm³) derişim, r (cm) elektrot boyutudur. Kararlı hal akım ölçümleri 1×10^{-3} M ferrosen çözeltisinde 0,05 M TBATFB destek elektrolit ortamında alınmıştır. Elde edilen kararlı hal akımları Eşitlik 4.1'de yerine konularak elektrotun yarıçap değeri hesaplanmıştır. Aktarılan elektron sayısı $n=1$ difüzyon katsayısı, $D=2,64 \times 10^{-5}$ cm²/s ve Faraday sabiti 96500 C/mole⁻ alınarak hesaplanan elektrot yarıçapı nanometreye çevrilmiştir.

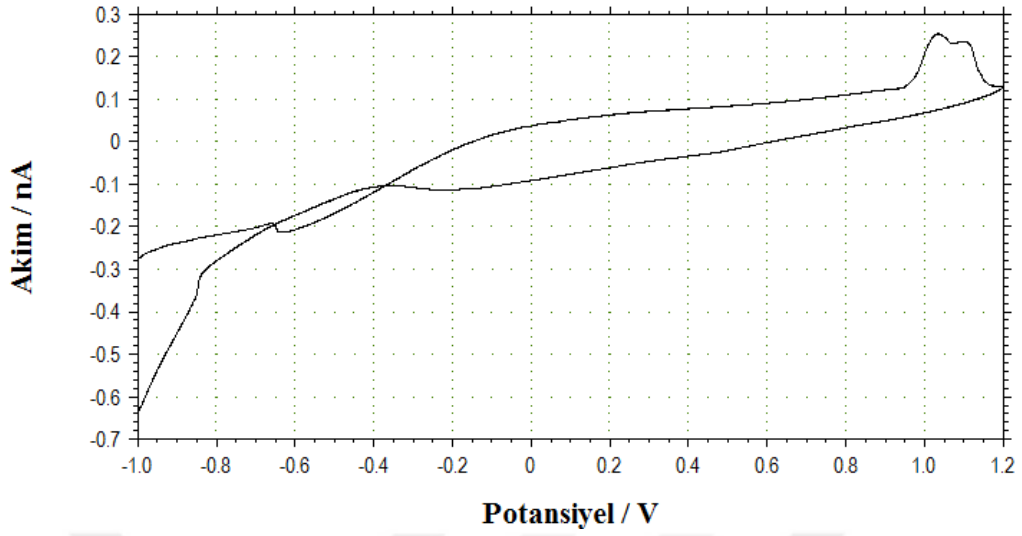
Sekiz farklı nano elektrot için elde edilen ortalama akımlar ve ortalama yarıçaplar Çizelge 4.1'de verilmiştir.

Çizelge 4.1. Altın nanoelektrotların ortalama yarıçapları

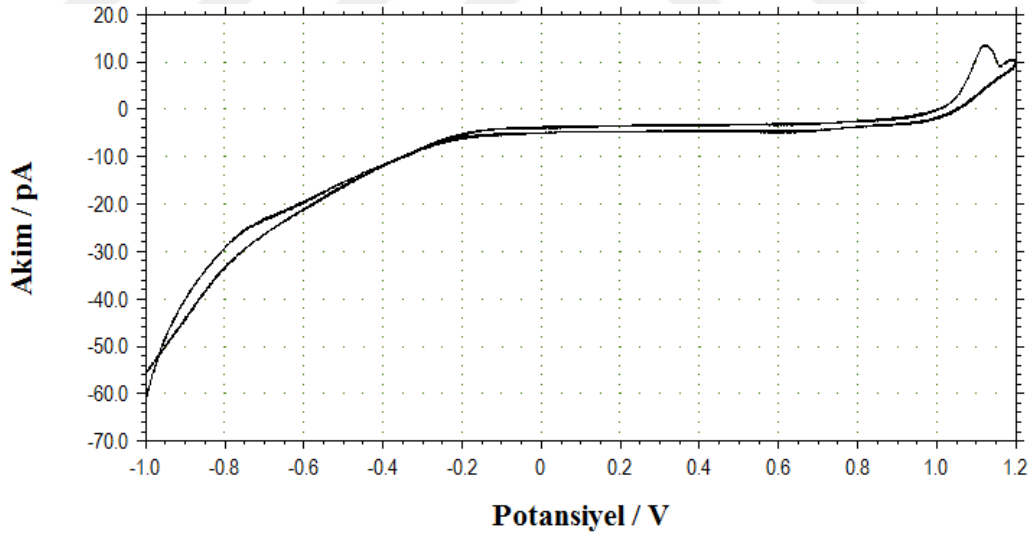
Elektrot numarası	Ortalama Pik Akımı(pA)	Ortalama Yarıçap(nm)
1	103,5	101,58
2	88,16	86,53
3	85,5	83,91
4	30,5	29,93
5	133,5	131,02
6	65,9	64,68
7	193,67	190,07
8	265,33	260,57

4.2.3. NADH'nin nanoelektrotlarda dönüşümlü voltametri sonuçları

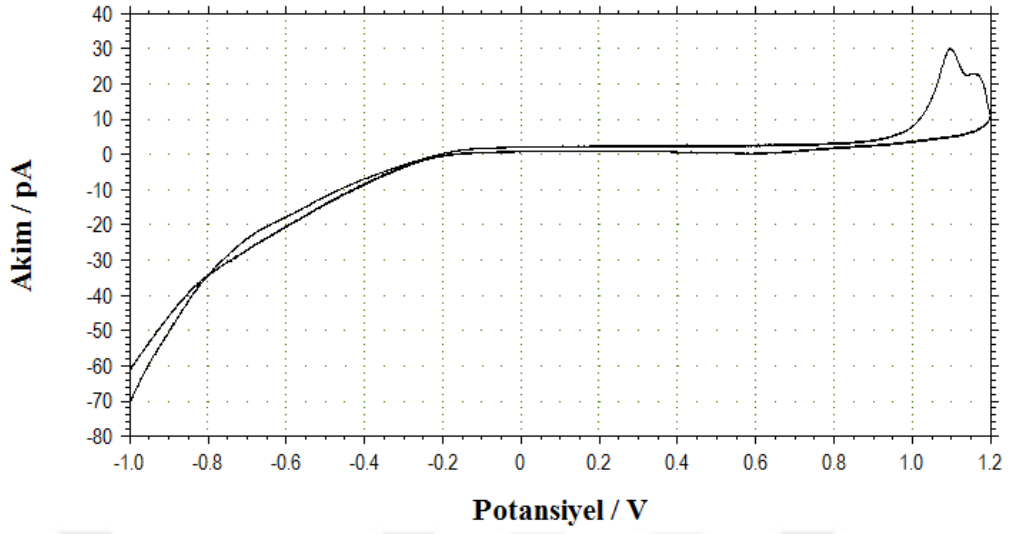
Dönüşümlü voltametri çalışmalarında Au nanoelektrotlar ile 0,1 M KCl ortamında ve pH=7'ye ayarlanan fosfat tamponunda elde edilen sonuçlar aşağıda verilmiştir.



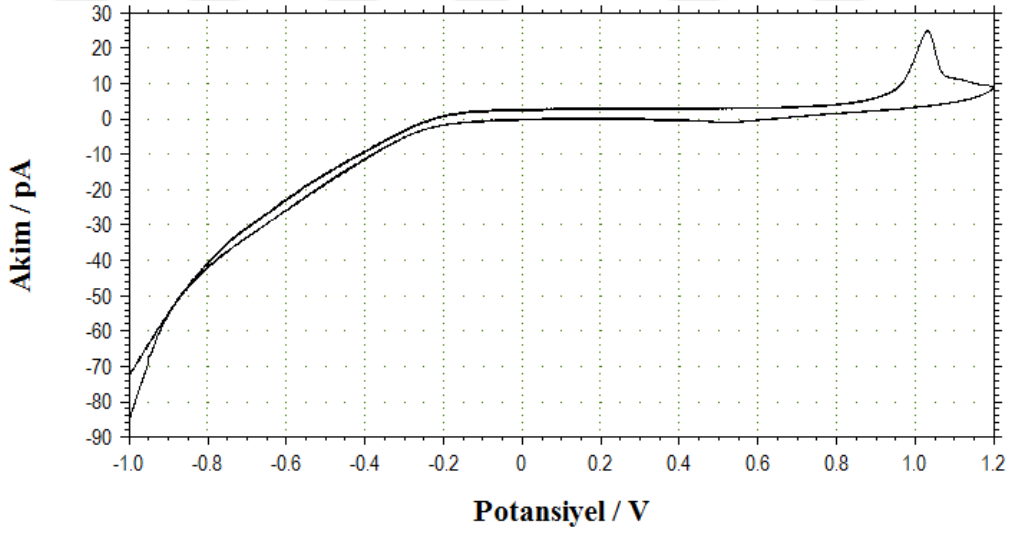
Şekil 4.15. $0,5 \times 10^{-3}$ M NADH'nin 0,1 M KCl içeren pH=7 fosfat tamponunda ve 101,57 nm altın nanoelektrotta alınan voltamogramı $v:0,02$ V/s (vs. Ag)



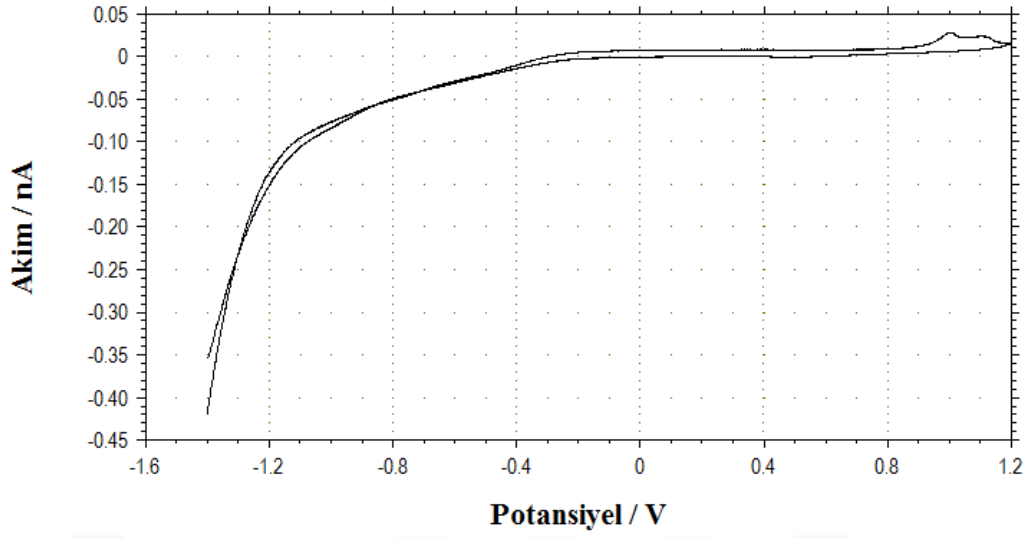
Şekil 4.16. $0,5 \times 10^{-3}$ M NADH'nin 0,1 M KCl içeren pH=7 fosfat tamponunda ve 131,023 nm altın nanoelektrotta alınan voltamogramı $v:0,02$ V/s (vs. Ag)



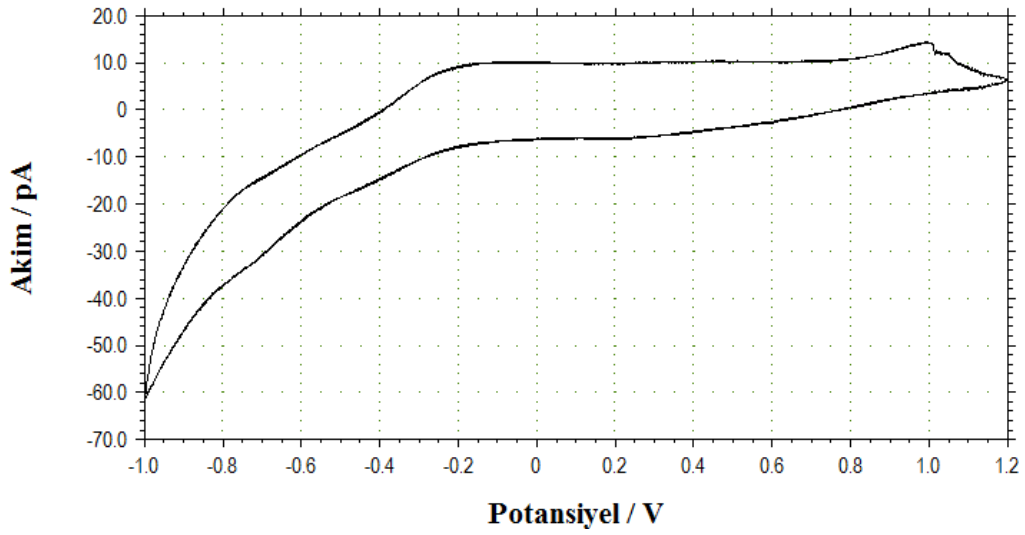
Şekil 4.17. $0,5 \times 10^{-3}$ M NADH'nin 0,1 M KCl içeren pH=7 fosfat tamponunda ve 29,93 nm altın nanoelektrotta alınan ilk voltamogramı $v:0,02$ V/s (vs. Ag)



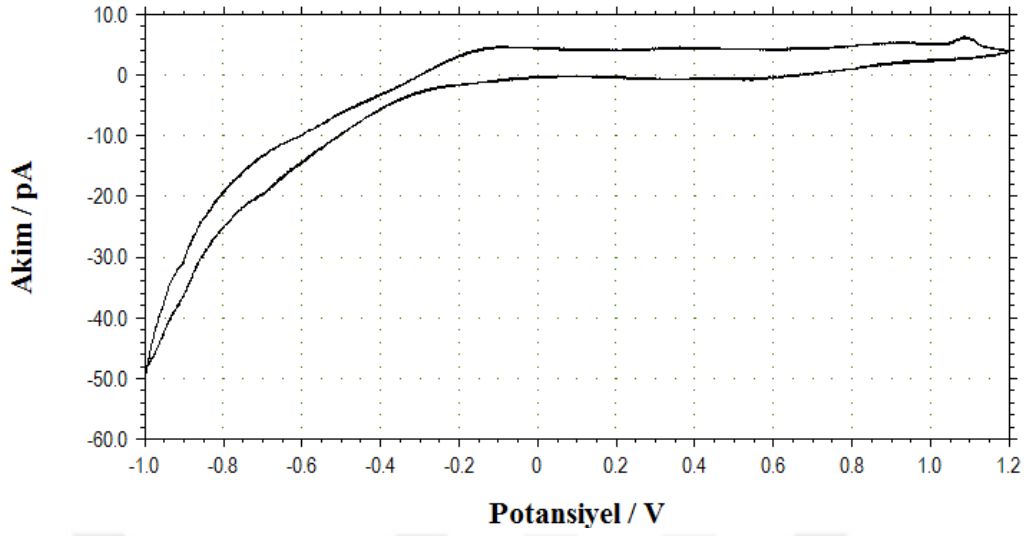
Şekil 4.18. $0,5 \times 10^{-3}$ M NADH'nin 0,1 M KCl içeren pH=7 fosfat tamponunda ve 29,93 nm altın nanoelektrotta ilk sonikasyon sonucu alınan voltamogramı $v:0,02$ V/s (vs. Ag)



Şekil 4.19. $0,5 \times 10^{-3}$ M NADH'nin 0,1 M KCl içeren pH=7 fosfat tamponunda ve 29,93 nm altın nanoelektrotta ikinci sonikasyon sonucu alınan voltamogramı $v:0,02$ V/s (vs. Ag)

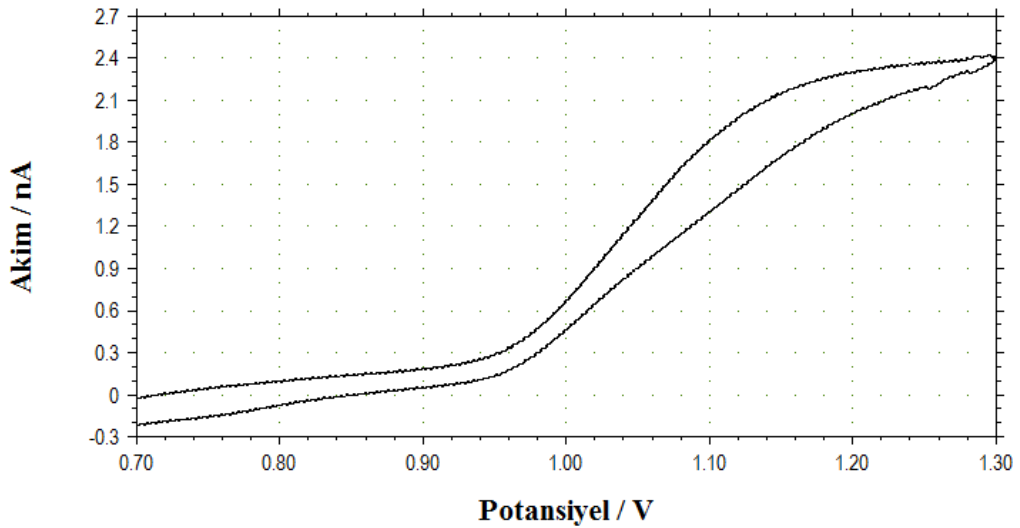


Şekil 4.20. $0,5 \times 10^{-3}$ M NADH'nin 0,1 M KCl içeren pH=7 fosfat tamponunda ve 64,67 nm altın nanoelektrotta alınan ilk voltamogramı $v: 0,02$ V/s (vs. Ag)

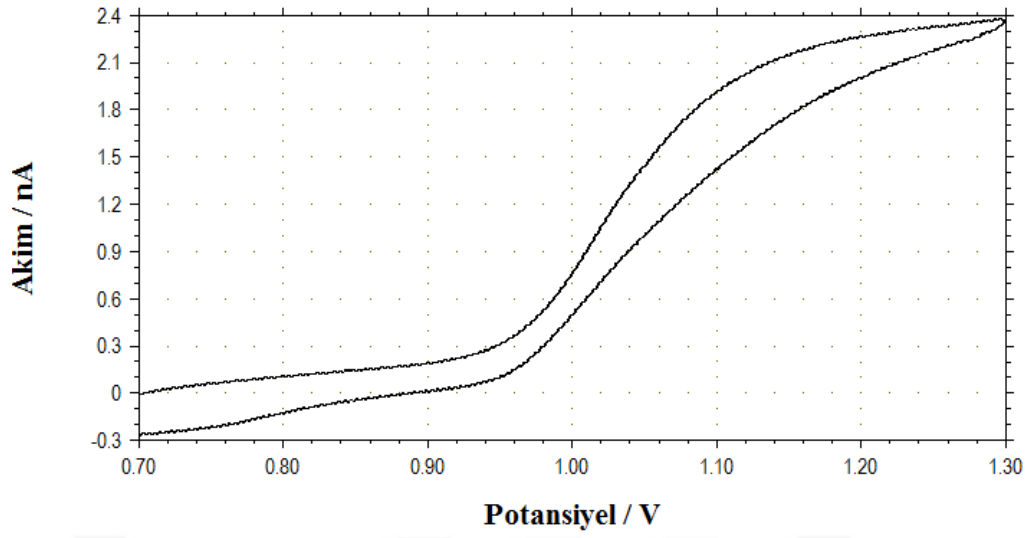


Şekil 4.21. $0,5 \times 10^{-3}$ M NADH'nin 0,1 M KCl içeren pH=7 fosfat tamponunda ve 64,67 nm altın nanoelektrotta sonikasyon sonucu alınan voltamogramı $v:0,02$ V/s (vs. Ag)

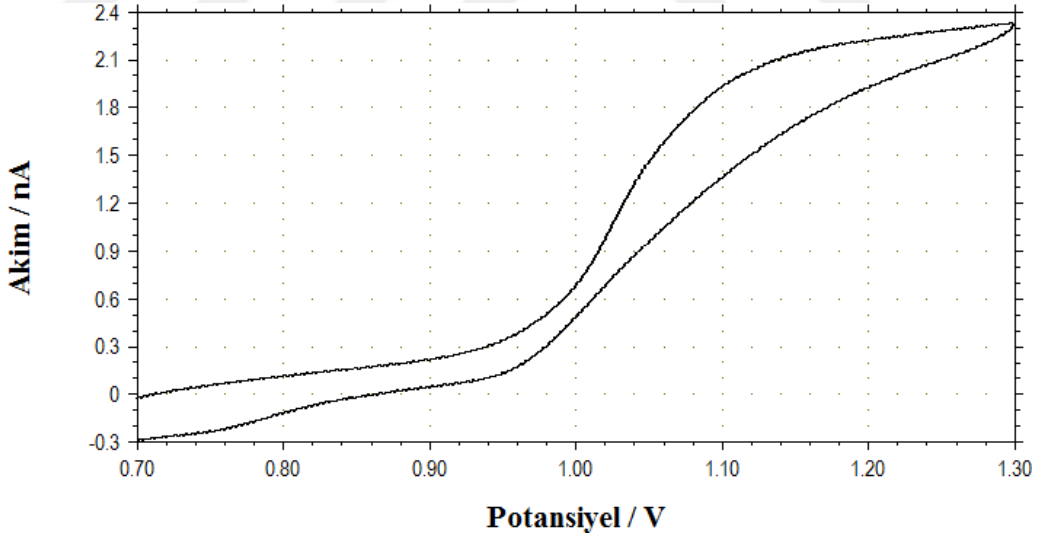
Destek elektrolit derişimi artırılarak fosfat tamponunda Au nanoelektrotlar ile gözlenen CV voltamogramlar Şekil 4.22-Şekil 4.35'de verilmiştir.



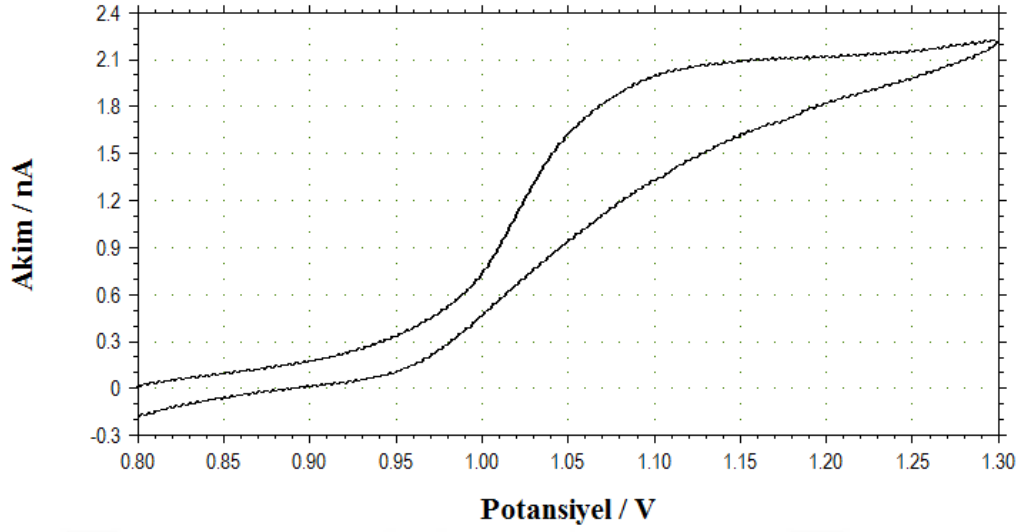
Şekil 4.22. $0,05 \times 10^{-3}$ M NADH'nin 0,1 M KCl içeren pH=7 fosfat tamponunda ve 101,58 nm elektrotta alınan voltamogramı $v: 0,2$ V/s (vs. Ag)



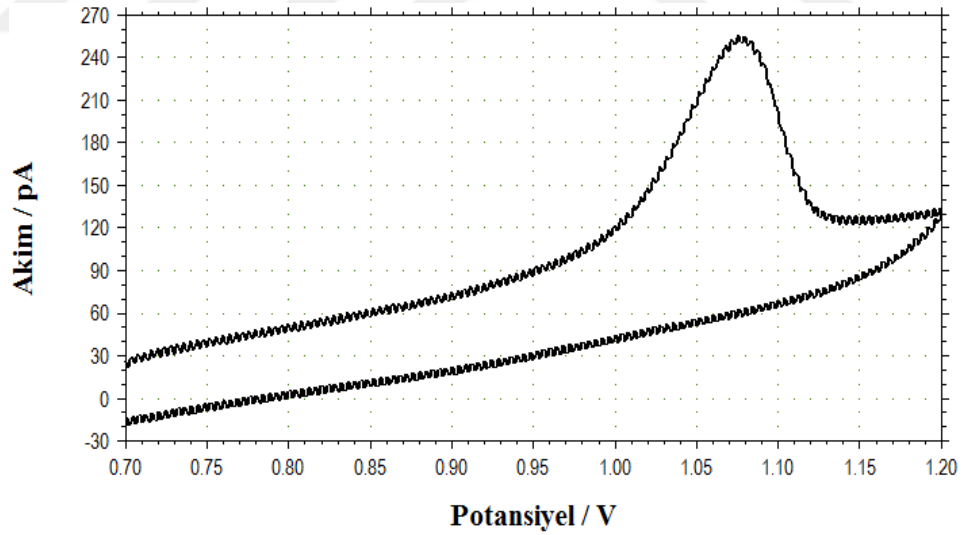
Şekil 4.23. $0,25 \times 10^{-3}$ M NADH'nin 0,1 M KCl içeren pH=7 fosfat tamponunda ve 101,58 nm elektrotta alınan voltamogramı $v: 0,2$ V/s (vs. Ag)



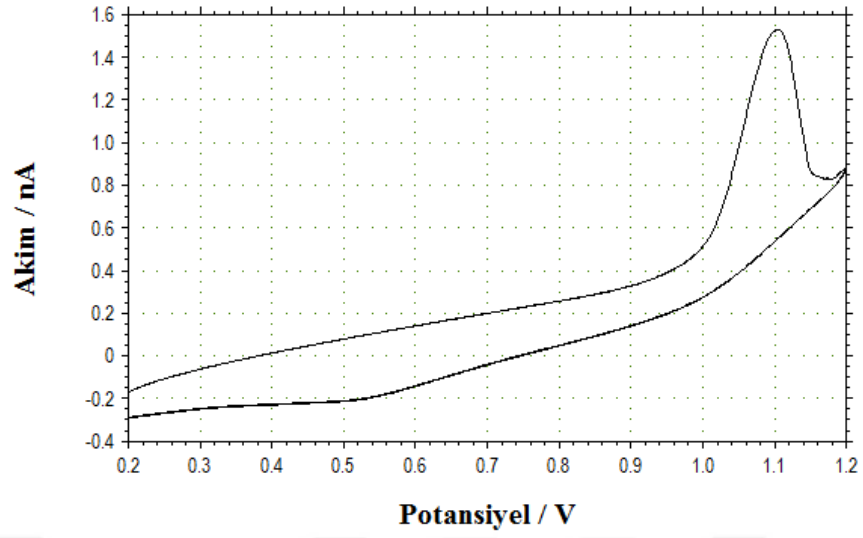
Şekil 4.24. $0,5 \times 10^{-3}$ M NADH'nin 0,1 M KCl içeren pH=7 fosfat tamponunda ve 101,58 nm elektrotta alınan voltamogramı $v: 0,2$ V/s (vs. Ag)



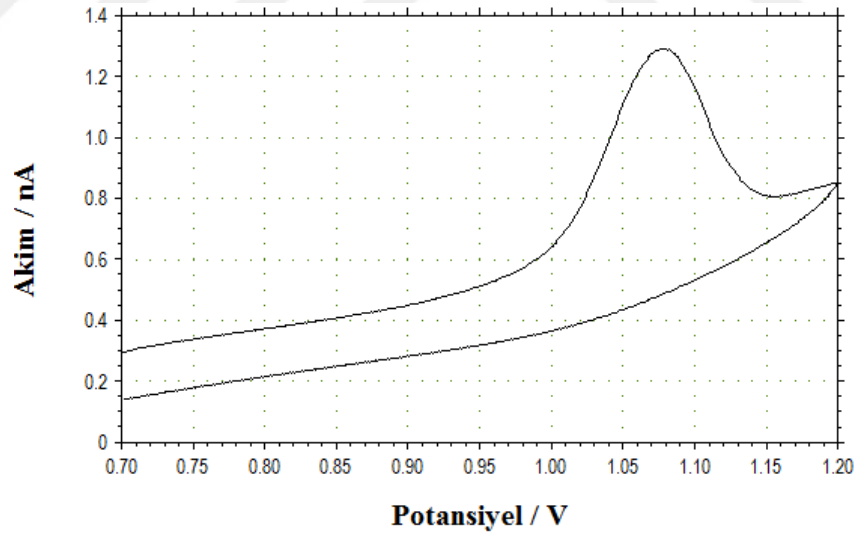
Şekil 4.25. 1×10^{-3} M NADH'nin 0,1 M KCl içeren pH=7 fosfat tamponunda ve 101,58 nm elektrotta alınan voltamogramı $v:0,2$ V/s (vs. Ag)



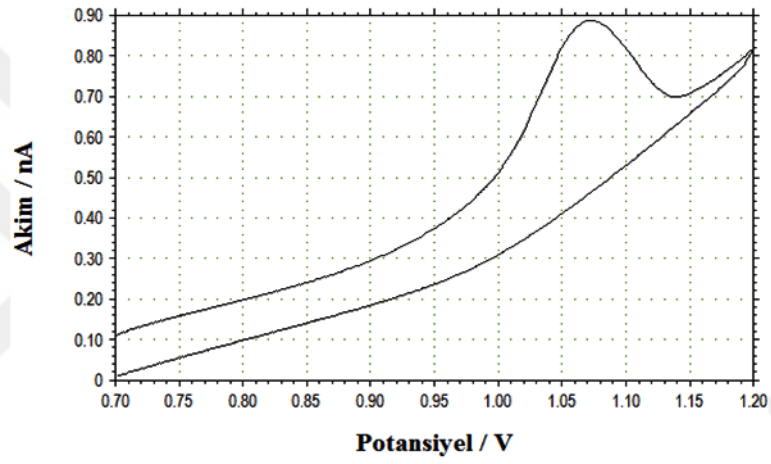
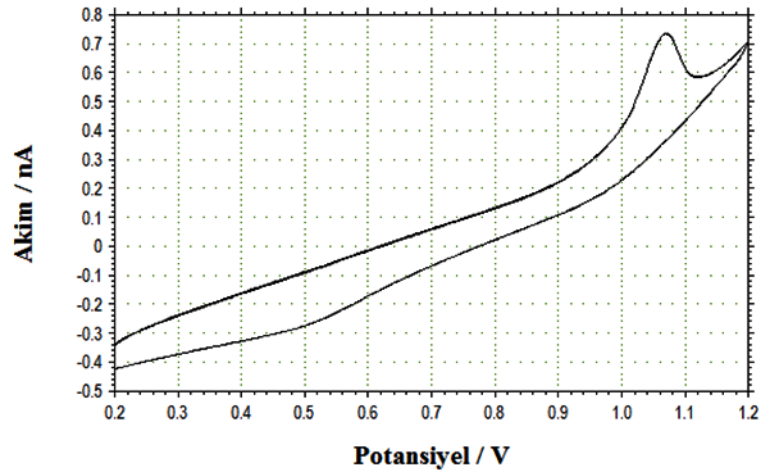
Şekil 4.26. $0,5 \times 10^{-3}$ M NADH'nin 0,1 M KCl içeren pH=7 fosfat tamponunda ve 78,51 nm elektrotta alınan voltamogramı $v:0,2$ V/s (vs. Ag)



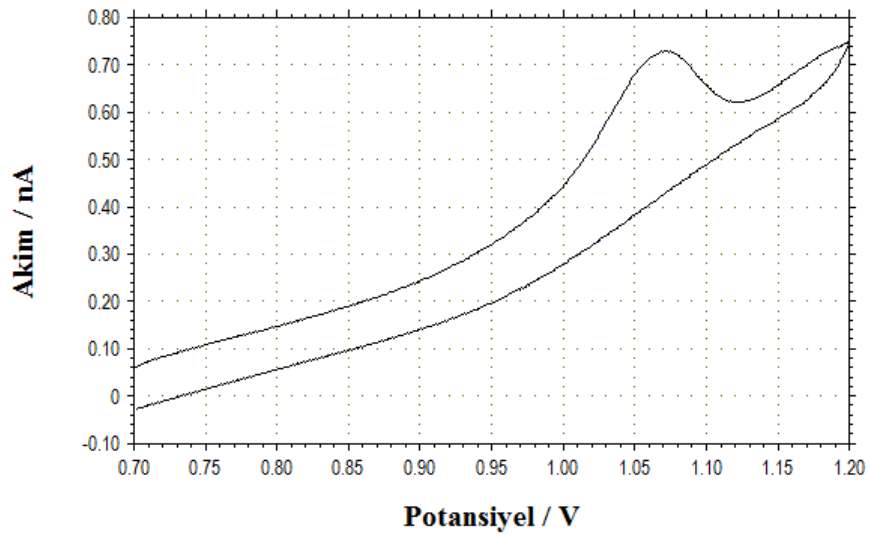
Şekil 4.27. $0,05 \times 10^{-3}$ M NADH'nin 0,1 M KCl içeren pH=7 fosfat tamponunda ve 83,91 nm elektrotta alınan voltamogramı $v:0,1$ V/s (vs. Ag)



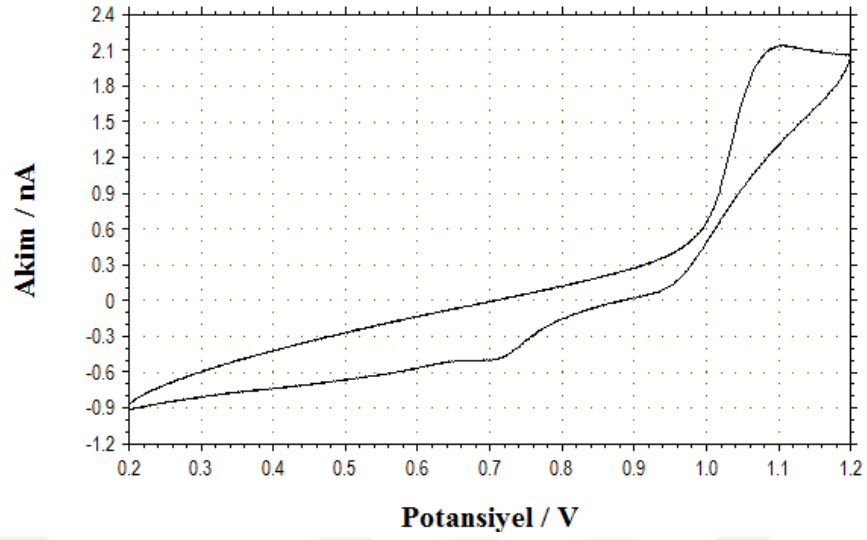
Şekil 4.28. $0,25 \times 10^{-3}$ M NADH'nin 0,1 M KCl içeren pH=7 fosfat tamponunda ve 83,91 nm elektrotta alınan voltamogramı $v:0,1$ V/s (vs. Ag)



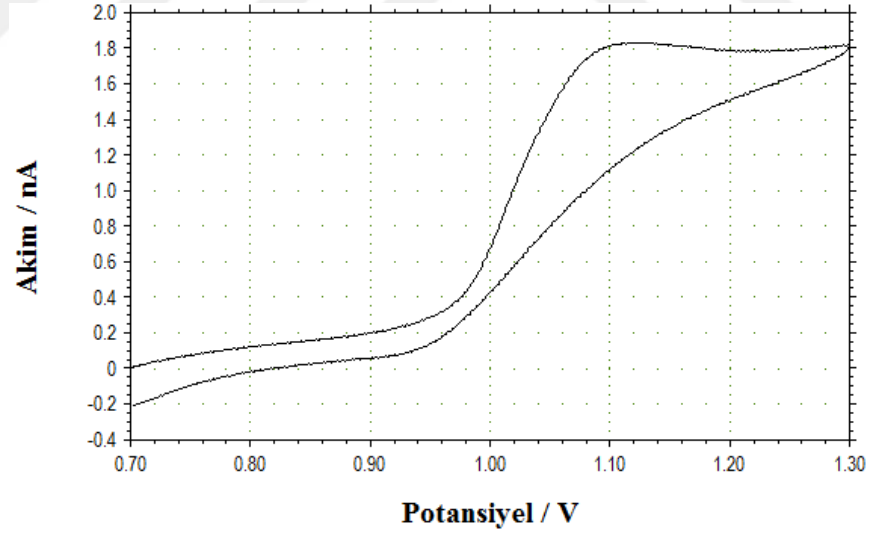
Şekil 4.29. $0,5 \times 10^{-3}$ M NADH'nin 0,1 M KCl içeren pH=7 fosfat tamponunda ve 83,91 nm elektrotta alınan voltamogramı $v:0,1$ V/s (vs. Ag)



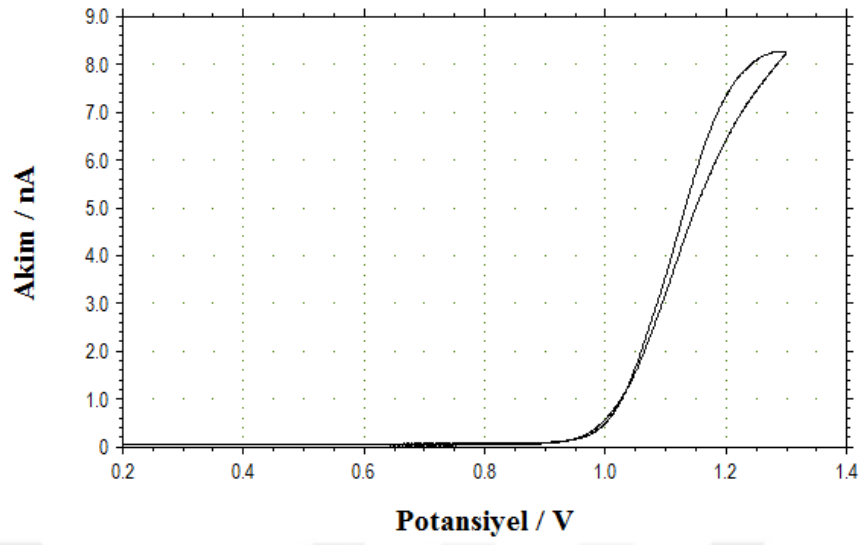
Şekil 4.30. 1×10^{-3} M NADH'nin 0,1 M KCl içeren pH=7 fosfat tamponunda ve 83,91 nm elektrotta alınan voltamogramı $v:0,1$ V/s (vs. Ag)



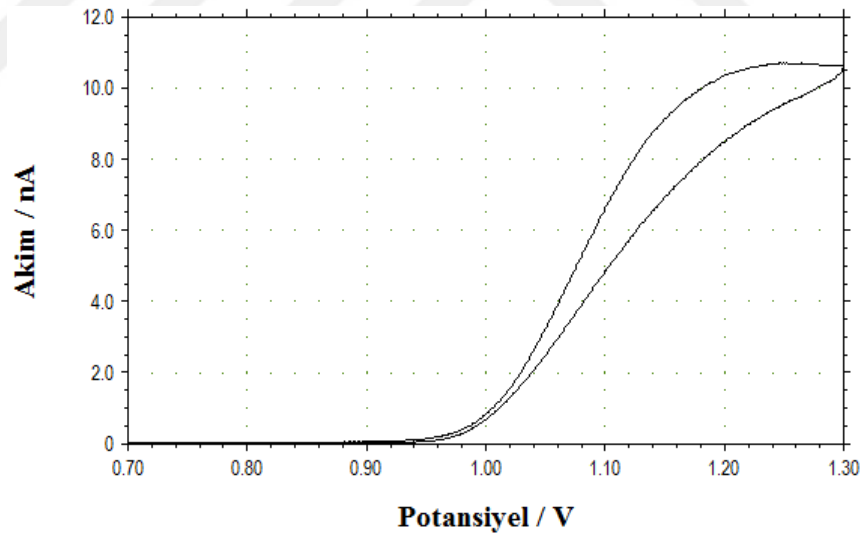
Şekil 4.31. $0,25 \times 10^{-3}$ M NADH'nin 0,5 M KCl içeren pH=7 fosfat tamponunda ve 101,58 nm elektrotta alınan voltamogramı $v:0,2$ V/s (vs. Ag)



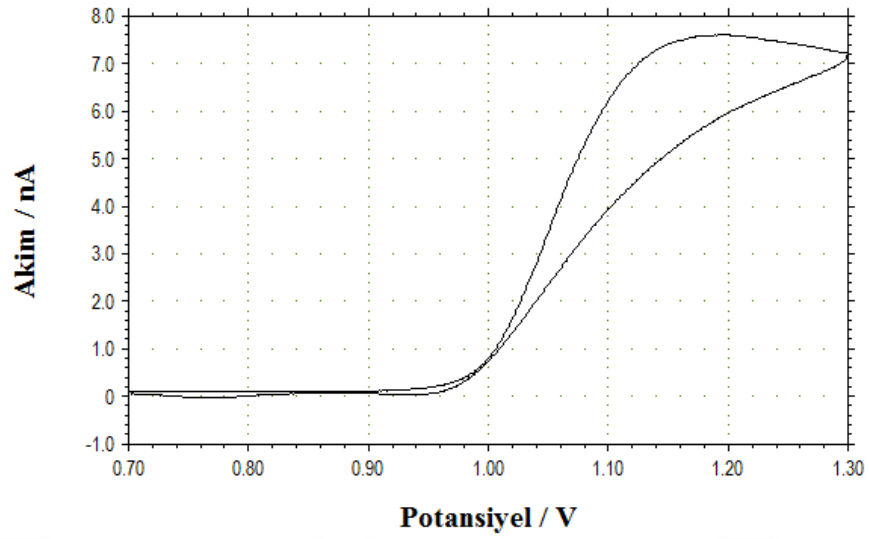
Şekil 4.32. $0,5 \times 10^{-3}$ M NADH'nin 0,5 M KCl içeren pH=7 fosfat tamponunda ve 101,58 nm elektrotta alınan voltamogramı $v:0,2$ V/s (vs. Ag)



Şekil 4.33. $2,5 \times 10^{-3}$ M NADH'nin 0,5 M KCl içeren pH=7 fosfat tamponunda ve 29,93 nm elektrotta alınan voltamogramı $v:0,2$ V/s (vs. Ag)



Şekil 4.34. $0,05 \times 10^{-3}$ M NADH'nin 2 M KCl içeren pH=7 fosfat tamponunda ve 29,93 nm elektrotta alınan voltamogramı $v:0,2$ V/s (vs. Ag)



Şekil 4.35. $0,5 \times 10^{-3}$ M NADH'nin 2 M KCl içeren pH=7 fosfat tamponunda ve 29,93 nm elektrotta alınan voltamogramı $v:0,2$ V/s (vs. Ag)

4.3. NADH için Kare Dalga Voltametriği Sonuçları

NADH için kare dalga voltametriği ile Au nanoelektrotta çalışırken öncelikle optimizasyon çalışmaları yapılmıştır.

4.3.1. Kare dalga voltametriği optimizasyon sonuçları

1 mM NADH çözeltisi için dört farklı frekansta ve üç farklı genlik değerinde pik akımları 131,02 nm yarıçapa sahip nanoelektrotta ölçülerek parametreler optimize edilmiştir. Frekans; 50 Hz, genlik; 0,05 V olacak şekilde 1 mM NADH derişimi için akımlar kaydedilmiştir.

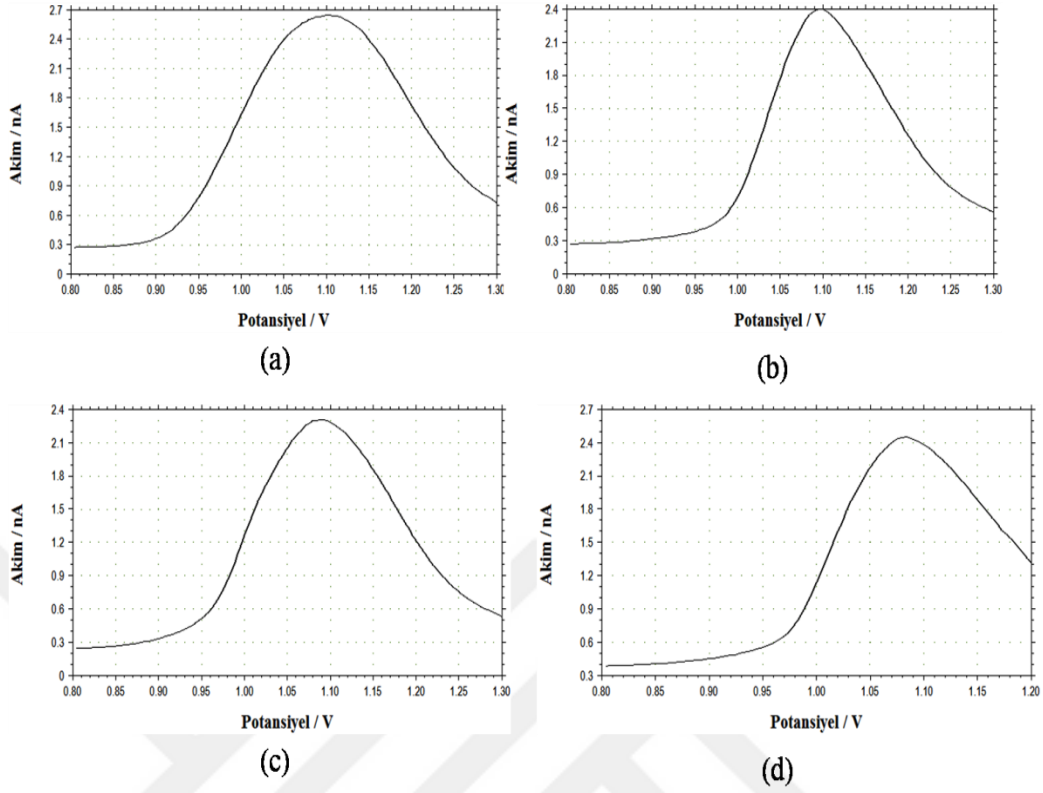
Çizelge 4.2. NADH için kare dalga voltametri optimizasyon sonuçları

1 mM NADH		
Frekans(Hz)	Genlik(V)	Pik Akımı(A)
15	0.03	1.31×10^{-10}
25	0.03	1.48×10^{-10}
50	0.03	1.30×10^{-10}
75	0.03	1.64×10^{-10}
15	0.04	1.09×10^{-10}
25	0.04	1.07×10^{-10}
50	0.04	1.39×10^{-10}
75	0.04	1.60×10^{-10}
15	0.05	1.81×10^{-10}
25	0.05	1.89×10^{-10}
50	0.05	1.81×10^{-10}
75	0.05	1.95×10^{-10}

Bu sonuçlara dayanarak alınan kare dalga voltamogramları aşağıda verilmiştir.

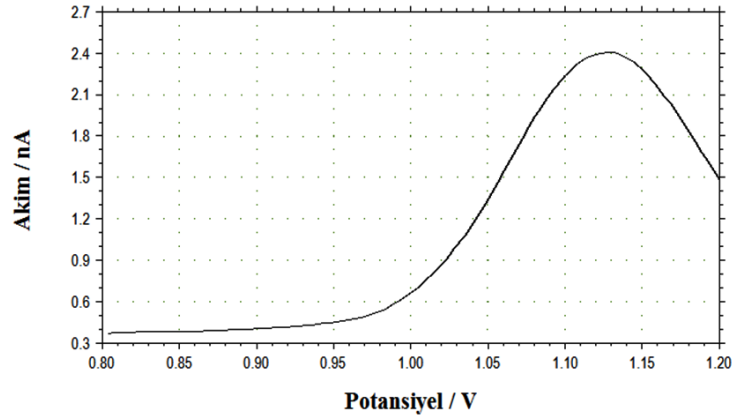
4.3.2. Çeşitli boyutlardaki nanoelektrotlarda kare dalga voltamogramları

101,58 nm elektrotta, $0,05 \times 10^{-3}$ M, $0,25 \times 10^{-3}$ M, $0,5 \times 10^{-3}$ M ve 1×10^{-3} M NADH'nin 0,1 M KCl içeren pH=7 fosfat tamponunda alınan kare dalga voltamogramları aşağıda verilmiştir.

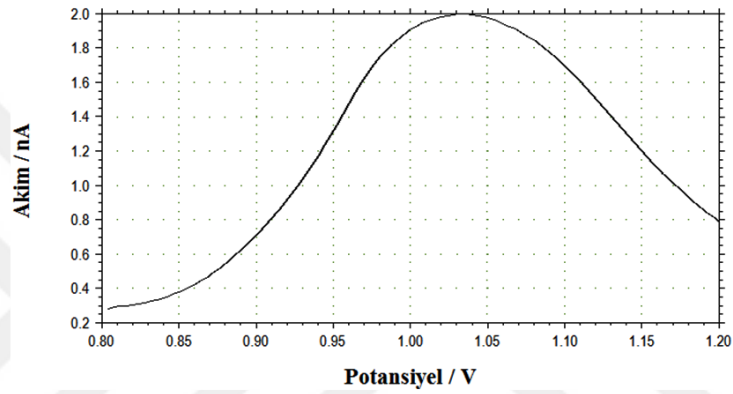


Şekil 4.36. (a) $0,05 \times 10^{-3}$ M, (b) $0,25 \times 10^{-3}$ M, (c) $0,5 \times 10^{-3}$ M (d) 1×10^{-3} M NADH 'nin 0,1 M KCl içeren pH=7 fosfat tamponunda ve 101,58 nm elektrotta alınan kare dalga voltamogramı. Frekans(Hz):50 Hz, Genlik(V):0,05 V (vs. Ag)

$0,25 \times 10^{-3}$ M ve $0,5 \times 10^{-3}$ M NADH'nin 0,5 M KCl içeren pH=7 fosfat tamponunda ve 101,58 nm elektrotta optimum koşullarda alınan kare dalga voltamogramları aşağıda görülmektedir.



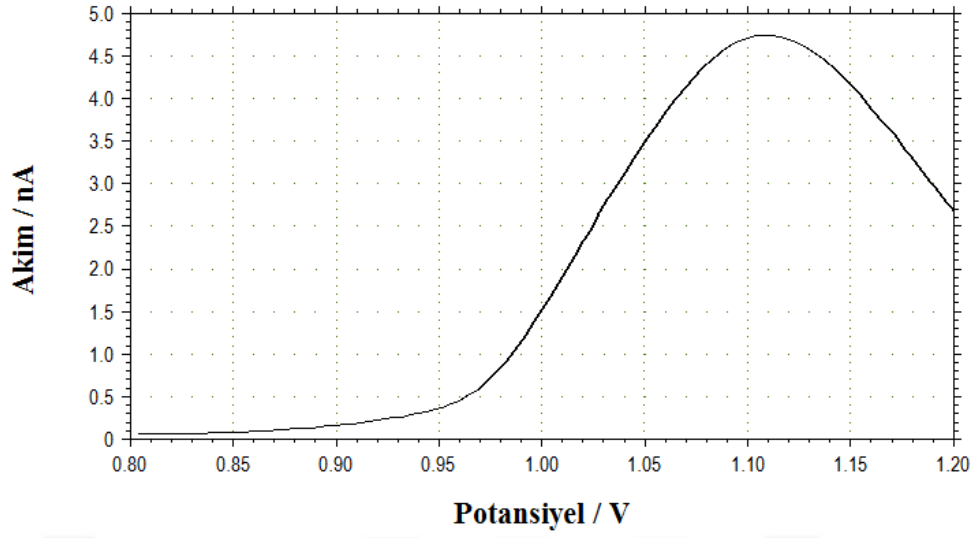
(a)



(b)

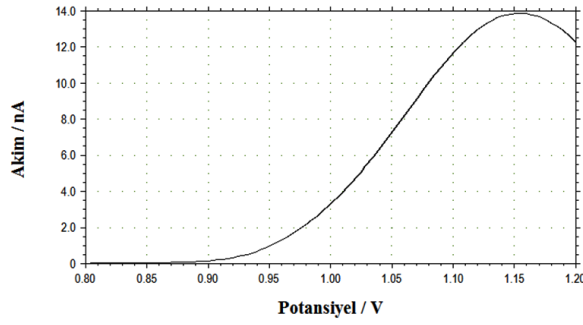
Şekil 4.37. (a) $0,25 \times 10^{-3}$ M, (b) $0,5 \times 10^{-3}$ M NADH'nin 0,5 M KCl içeren pH=7 fosfat tamponunda ve 101,58 nm elektrotta alınan kare dalga voltamogramı Frekans(Hz):50 Hz, Genlik(V):0,05 V (vs. Ag)

$2,5 \times 10^{-3}$ M NADH'nin 0,5 M KCl içeren pH=7 fosfat tamponunda ve 29,93 nm elektrotta kare dalga voltamogramı aşağıda verilmiştir.

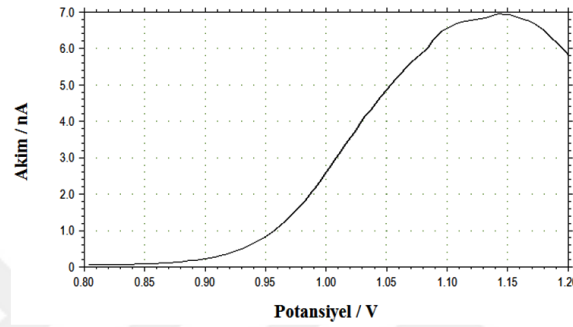


Şekil 4.38. $2,5 \times 10^{-3}$ M NADH'nin 0,5 M KCl içeren pH=7 fosfat tamponunda ve 29,93 nm elektrotta alınan kare dalga voltamogramı. Frekans(Hz):50 Hz, Genlik(V):0,05 V (vs. Ag)

29,93 nm yarıçapa sahip elektrotta 2 M KCl içeren pH=7 fosfat tamponunda, $0,05 \times 10^{-3}$ M ve $0,5 \times 10^{-3}$ M NADH'nin ve kare dalga voltamogramı aşağıda görülmektedir.



(a)



(b)

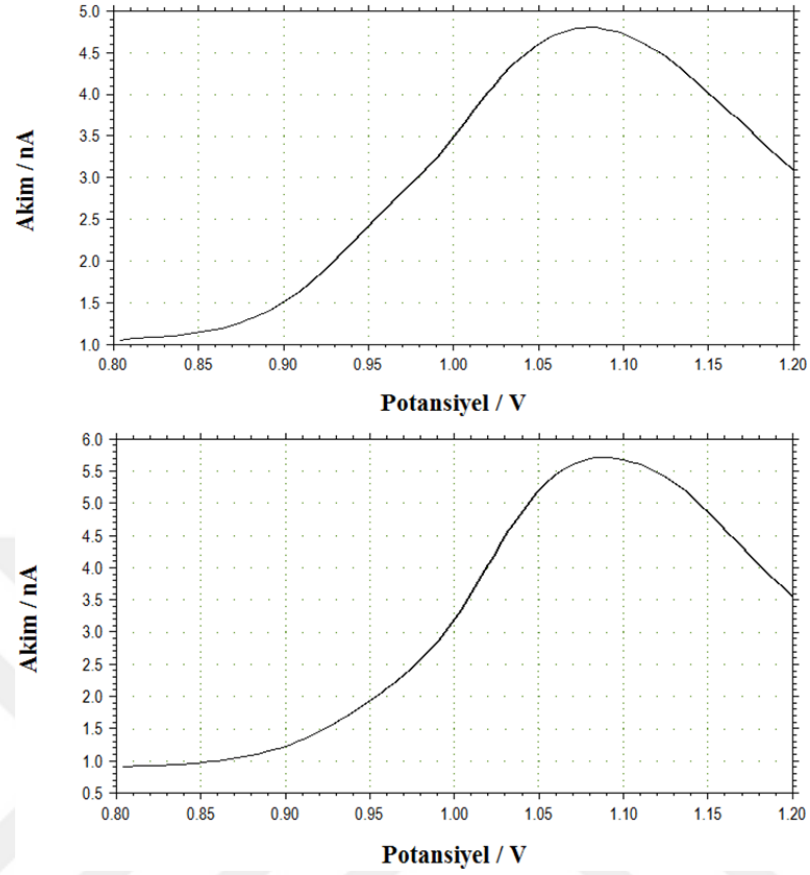
Şekil 4.39. (a) $0,05 \times 10^{-3}$ M, (b) $0,5 \times 10^{-3}$ M NADH'nin 2 M KCl içeren pH=7 fosfat tamponunda ve 29,93 nm elektrotta alınan kare dalga voltamogramı Frekans(Hz):50 Hz, Genlik(V):0,05 V (vs. Ag)

4.3.3. Akım-derişim incelenmesi

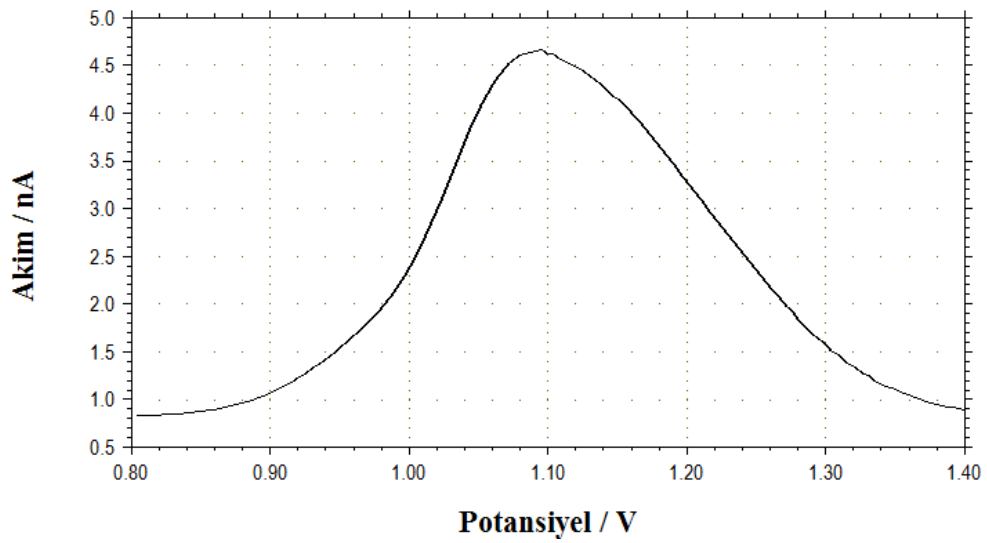
KCl'nin 2,5 M ve 3 M'lık iki farklı derişiminde pH=7 fosfat tamponunda hazırlanan dört farklı NADH derişiminde alınan kare dalga voltamogramlar aşağıda verilmiştir.

Çizelge 4.3. Akım-derişim incelenmesi

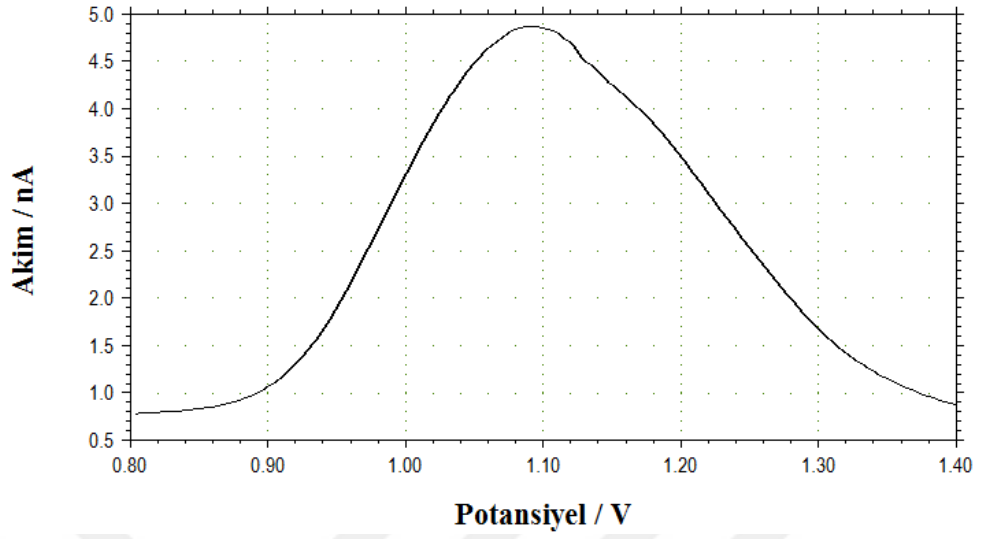
Derişim (mM)	2,5 M KCl	3 M KCl
	Akım (A)	
1 Mm	$2,353 \times 10^{-9}$	$3,82 \times 10^{-9}$
2 mM	$2,93 \times 10^{-9}$	$4,643 \times 10^{-9}$
3 mM	$2,09 \times 10^{-9}$	$4,978 \times 10^{-9}$
4 mM	$3,623 \times 10^{-9}$	$5,495 \times 10^{-9}$



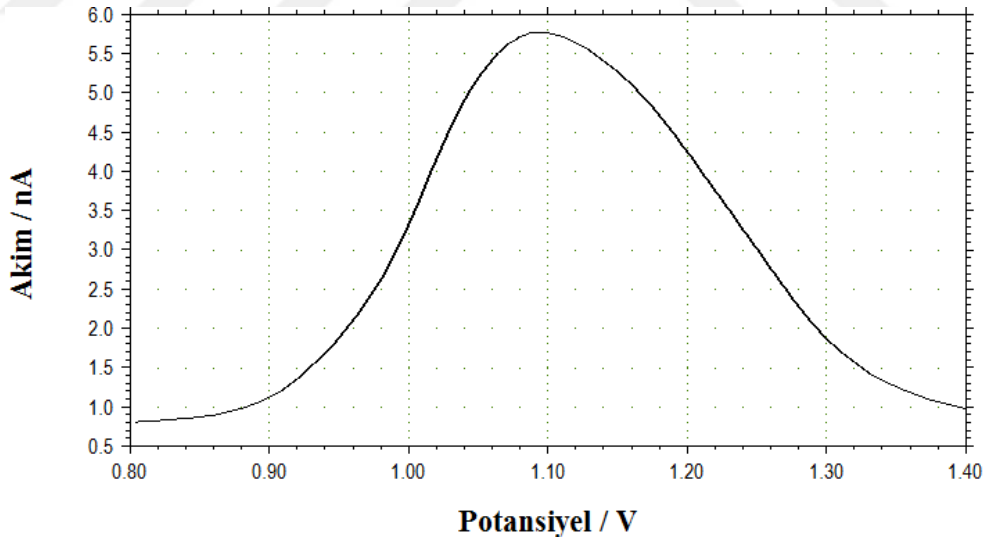
Şekil 4.40. (a)1 mM, (b) 2 mM NADH 'nin 2,5 M KCl içeren pH=7 fosfat tamponunda ve 256,812 nm elektrotta alınan kare dalga voltamogramı Frekans(Hz):50 Hz, Genlik(V):0,05 V (vs. Ag)



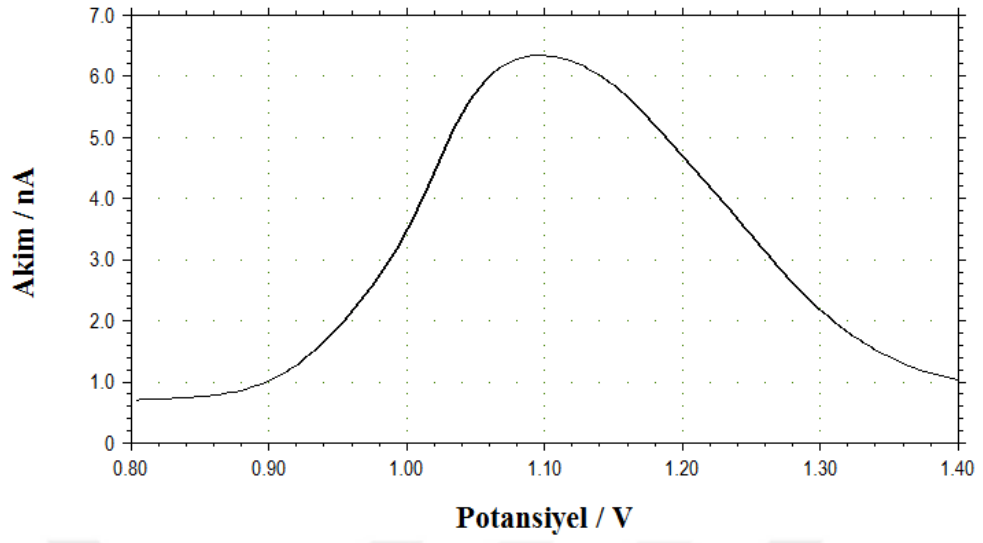
Şekil 4.41. 4 mM NADH 'nin 2,5 M KCl içeren pH=7 fosfat tamponunda ve 256,812 nm elektrotta alınan kare dalga voltamogramı Frekans(Hz):50 Hz, Genlik(V):0,05 V (vs. Ag)



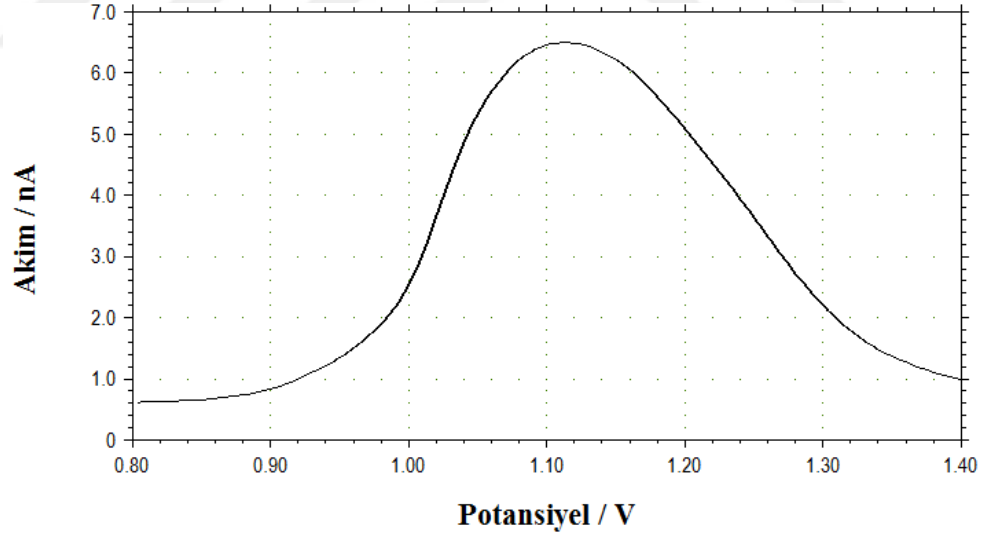
Şekil 4.42. 1 mM NADH 'nin 3 M KCl içeren pH=7 fosfat tamponunda ve 256,812 nm elektrotta alınan kare dalga voltamogramı. Frekans(Hz):50 Hz, Genlik(V):0,05 V (vs. Ag)



Şekil 4.43. 2 mM NADH 'nin 3 M KCl içeren pH=7 fosfat tamponunda ve 256,812 nm elektrotta alınan kare dalga voltamogramı. Frekans(Hz):50 Hz, Genlik(V):0,05 V (vs. Ag)



Şekil 4.44. 3 mM NADH 'nin 3 M KCl içeren pH=7 fosfat tamponunda ve 256,812 nm elektrotta alınan kare dalga voltamogramı
Frekans(Hz):50 Hz, Genlik(V):0,05 V (vs. Ag)



Şekil 4.45. 4 mM NADH 'nin 3 M KCl içeren pH=7 fosfat tamponunda ve 256,812 nm elektrotta alınan kare dalga voltamogramı
Frekans(Hz):50 Hz, Genlik(V):0,05 V (vs. Ag)

5. TARTIŞMA

Bu tez çalışmasında altın nanoelektrotlar lazerli çekme yöntemiyle üretilmiştir. Lazer cihazının optimize edilen parametreleri elektrotun büyüklüğünü etkilerken parlatma aşaması ise hem büyüklüğünü hem de düzgünlüğünü etkilemektedir.

Boyutları 30 nm ile 260 nm arasında değişen altın nanoelektrotlar elde edilmiştir.

5.1. Altın Nanoelektrotların Ferrosen Medyatörü İle Karakterizasyonu

0,05 M TBATFB destek elektrolit çözeltisinde, 1×10^{-3} M Ferrosen çözeltisinde altın nanoelektrotlar ile oldukça düzgün dönüşümlü voltamogramlar elde edilmiştir. Bu voltamogramlar sonuçlar bölümünün 4.2.2. kısmında Şekil 4.2.5 ile Şekil 4.2.14 arasında verilmiştir.

5.2. Üretilen Nanoelektrotların Yarıçap Hesaplamaları

Çizelge 5.1. Altın nanoelektrotların %95 güven aralığında ortalama yarıçapları

Elektrot No	Ortalama Akım /pA	Ortalama Yarıçap / nm	Sapma
1	30,5	29,93	88,60625
2	88,16	86,53	32,00625
3	265,33	260,57	142,03375
4	193,67	190,07	71,53375
5	85,5	83,91	34,62625
6	65,9	64,68	53,85625
7	133,5	131,02	12,48375
8	103,5	101,58	16,95625
Toplam	966,06	948,29	
N	8	8	
Ortalama	120,7575	118,53625	56,5128125
Standart Sapma	75,72420159	74,36297311	
Güven Aralığı (%95)	120,7575±52,4742	118,53625±51,5309	

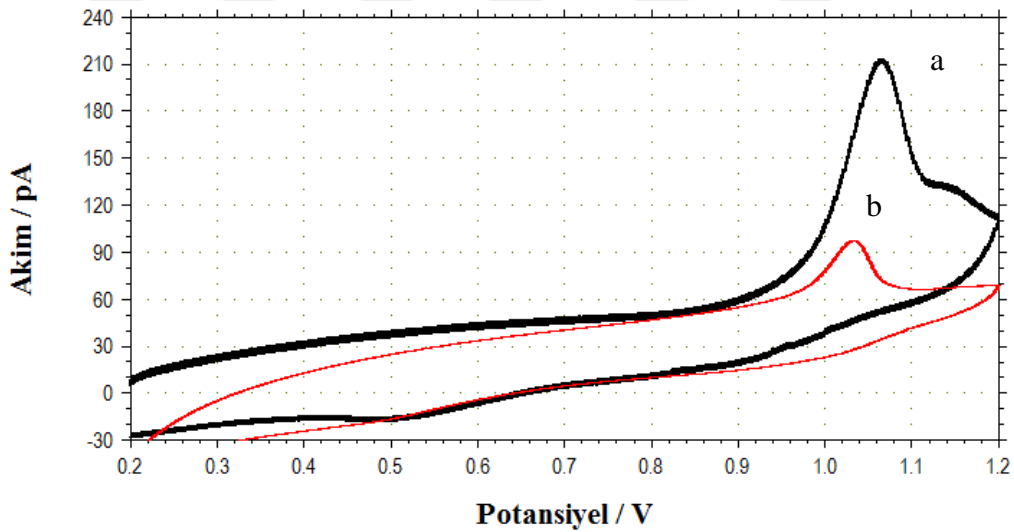
Yukarıdaki çizelgeden görüldüğü gibi %95 güven aralığında ortalama yarıçap 118,53625±51,5309 nm bulunmuştur.

5.3. NADH Sonuçlarının Tartışılması

5.3.1. Dönüşümlü voltametri yorumları

Normal boyutlu elektrotta NADH için alınan dönüşümlü voltamogramlar ile yükseltgenme ve indirgenme piklerinin yeri tespit edilmiştir. Bu potansiyeller literatür ile uyum içerisindedir.

NADH'nin altın nanoelektrot davranışı pH=7'de fosfat tamponunda incelendiğinde yaklaşık aynı potansiyelde yükseltgendiği görülmüştür. 0,1 M KCl ortamında çalışıldığında nanoelektrotlar ile kararlı hal voltamogramı görülmesi beklenirken normal boyutta elektrot ile gözlenen piklere rastlanmıştır. Destek elektrolit derişimi artırılarak bu sorun giderilmiş ve kararlı hal voltamogramları elde edilmiştir (Dickinson, 2011).



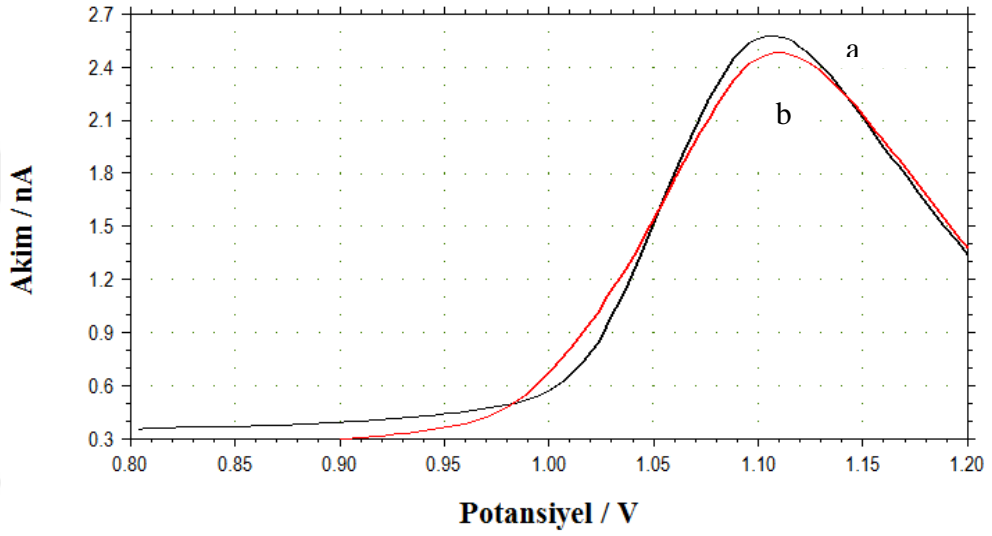
Şekil 5.1. (a) 1×10^{-3} M, (b) $0,5 \times 10^{-3}$ M NADH'nin 0,1 M KCl içeren pH=7 fosfat tamponunda ve 86,53 nm elektrotta alınan voltamogramı $v:0,1$ V/s (vs. Ag)

5.3.2. Kare dalga voltametri yorumları

Farklı derişimlerdeki NADH çözeltileri için frekans ve genlik değiştirilerek pik akımları kaydedilmiştir. Altın nanoelektrotta NADH için ilk defa bu akımların

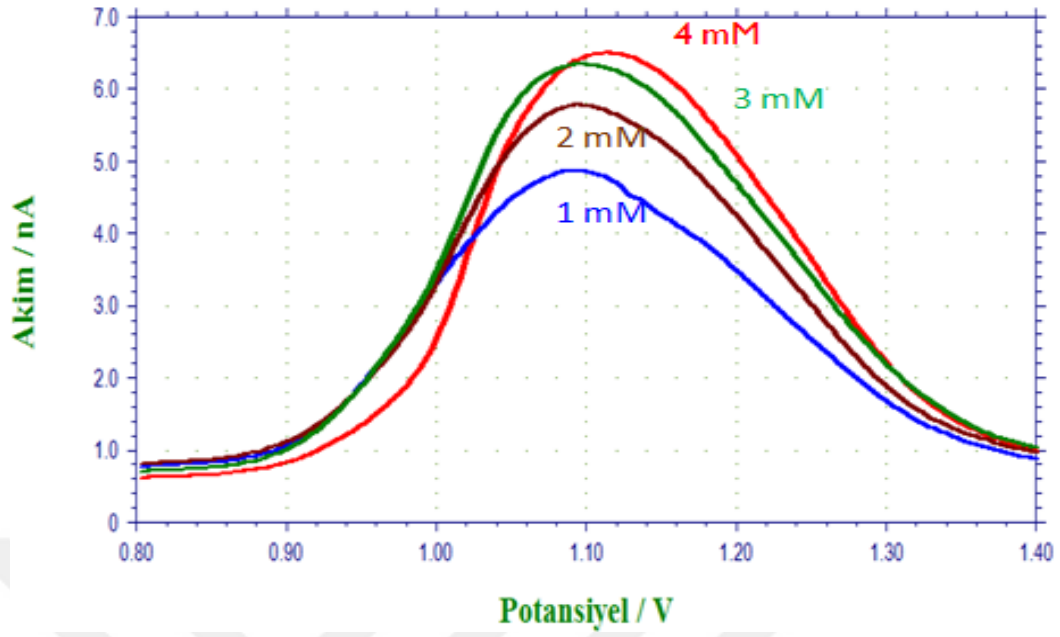
kaydedildiği kare dalga voltamogramları düzgün ve simetrik bir şekildedir (Şekil 4.36)

NADH'nin yüksek derişimlerinde kare dalga voltamogramlarının şekli daha düzgün ve pik akımları daha büyüktür. Hem kare dalga voltametri hem de dönüşümlü voltametri ile altın nanoelektrota iki farklı derişimde yapılan çakıştırmalar aşağıda görülmektedir.

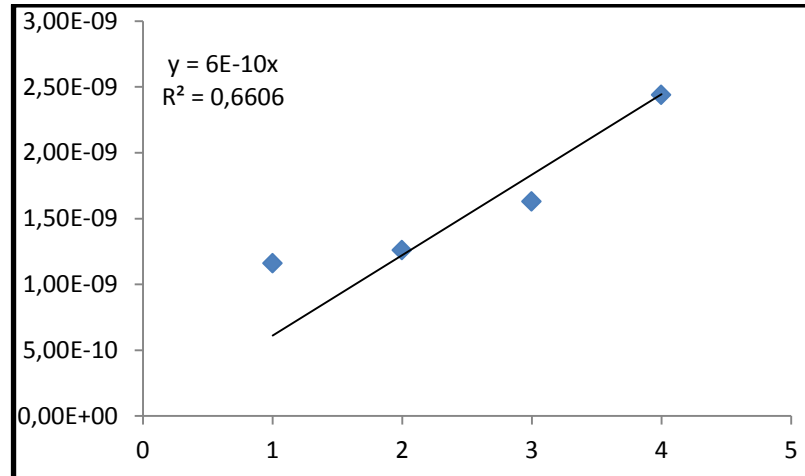


Şekil 5.2. (a) 1×10^{-3} M, (b) $0,25 \times 10^{-3}$ M NADH'nin 0,1 M KCl içeren pH=7 fosfat tamponunda ve 101,58 nm elektrotta alınan kare dalga voltamogramı Frekans(Hz):50 H, Genlik(V):0,05 V (vs. Ag)

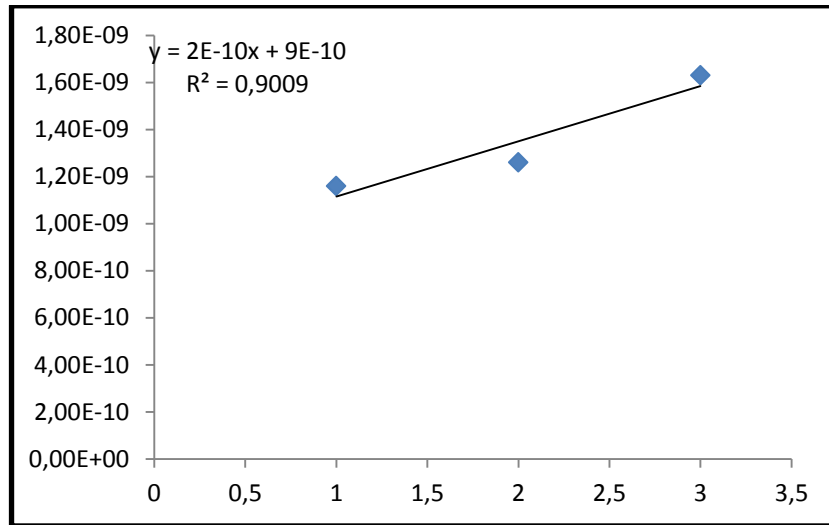
2,5 M KCl ve 3 M KCl ortamında 1 mM, 2 mM, 3 mM ve 4 mM NADH için kare dalga voltametri ile ölçülen akımlar grafiğe geçirildiğinde doğrusal bir ilişki tespit edilmiştir. Dört farklı derişim için kare dalga voltametri ile alınan piklerin çakıştırılmış durumu Şekil 5.3'de görülmektedir.



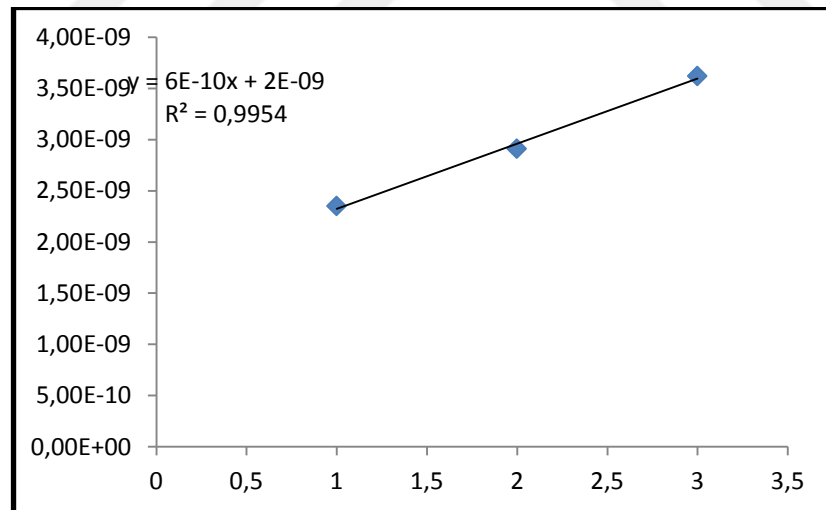
Şekil 5.3. 1 mM, 2 mM, 3 mM, 4 mM NADH 'nin 3 M KCl içeren pH=7 fosfat tamponunda ve 256,812 nm elektrotta alınan kare dalga voltamogramı Frekans(Hz):50 Hz, Genlik(V):0,05 V (vs. Ag)



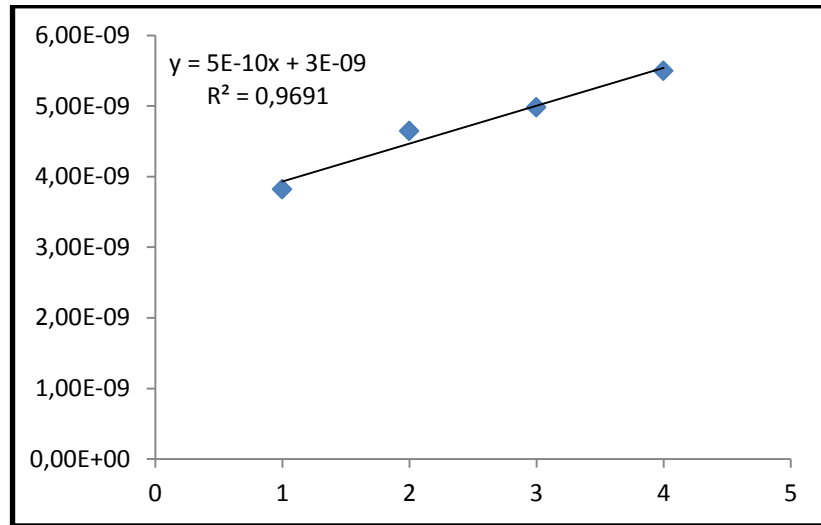
Şekil 5.4. 0,5 M KCl içeren pH=7 fosfat tamponunda ve 101,58 nm elektrotta akım-derişim değişimi



Şekil 5.5. 0,5 M KCl içeren pH=7 fosfat tamponunda ve 101,58 nm elektrotta akım-derişim değişimi



Şekil 5.6. 2,5 M KCl için içeren pH=7 fosfat tamponunda ve 256,812 nm elektrotta akım-derişim değişimi



Şekil 5.7. 3 M KCl içeren pH=7 fosfat tamponunda ve 256,812 nm elektrotta akım-derişim değişimi

6. SONUÇ ve ÖNERİLER

Altın nanoelektrotları üretirken borosilikat ve kuvars camla denemeler yapılmıştır. Kuvars cam inceltme aşamasında iken cam da inceltme işlemi gerçekleşmeden altın tel erimiştir. Borosilikat camla ise düzgün bir inceltme işlemi gerçekleştirilebilmiştir. Bu nedenle yapılan çalışmalarda borosilikat cam tercih edilmiştir.

Yapılan deneysel çalışmalar sonucunda başarılı bir şekilde üretilen altın nanoelektrotların boyutları hakkındaki bilgiler medyatör olarak ferrosen çözeltisi kullanılarak dönüşümlü voltametri tekniği ile elde edilmiştir. Ferrosen daha ucuz ve susuz ortamda çalışıldığı için tercih edilmiştir.

NADH'nin altın nanoelektrot davranışı pH=7'de fosfat tamponunda incelendiğinde normal boyutta elektrot ile yaklaşık aynı potansiyelde yükseltgendiği görülmüştür. Düşük destek elektrolit derişiminde çalışıldığında nanoelektrotlar ile kararlı hal voltamogramı görülmesi beklenirken normal boyutta elektrot ile gözlenen piklere rastlanmıştır. Destek elektrolit derişimi artırılarak bu sorun giderilmiş ve kararlı hal voltamogramları elde edilmiştir (Dickinson, 2011).

Kare dalga voltametrisi ile farklı derişimlerdeki NADH çözeltileri için frekans ve genlik değiştirilerek optimizasyon yapılmıştır. Bu koşullarda akım-derişim incelemesi yapılmıştır. NADH'nin yüksek derişimlerinde kare dalga voltamogramlarının şeklinin daha düzgün ve pik akımlarının daha büyük olduğu gözlenmiştir.

KAYNAKLAR

- Anonim, 2012a. P-2000 Laser-Based Micropipette Puller.
<http://www.sutter.com/MICROPIPETTE/p-2000.html>. (10.07.2015)
- Anonim, 2012b. BV-10 Microelectrode Beveler.
<http://www.sutter.com/MICROPIPETTE/bv-10.html>. (10.07.2015)
- Anonim, 2015. β -NADH, indirgenmiş disodyum tuzu.
<http://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/sigma/n8129?lang=en®ion=TR>. (25.01.2015)
- Anson, F., 1966. Innovations in the study of adsorbed reactions by chronocoulometry. *Analytical Sciences*, 38(1), 54–57.
- Arrigan, D.W.M., 2004. Nanoelectrodes, nanoelectrode arrays and their applications. *Analyst*, 129, 1157-1165.
- Bard, A.J., Faulkner, L.R. 2001. *Electrochemical Methods: Fundamentals and Applications*. John Wiley and Sons. Inc. New York, 833 p.
- Bard, A.J., Faulkner, L.R., 2001. *Diffusion-controlled Currents at Ultramicroelectrodes*. *Electrochemical Methods, 2nd edition. Fundamentals and Applications*. John Wiley and Sons. Inc. New York, 168-176.
- Bard., A. J., Stratmann, M., 2002. *Encyclopedia of Electrochemistry* Ed: George S. Wilson, Wiley WCH Verlag., Volume 9.
- Bayrak, B., 2010. Fenotiyazin Türü Boyar Maddelerle Modifiye Camı Karbon Elektrot Kullanılarak NADH'nin Fotoelektrokatalitik Yükseltgenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Çanakkale.
- Borman, S.A., Osteryoung, R.A., Osteryoung J.G., O'Dea, J.J., 1982. *Analytical Chemistry, Pulse Voltammetry - Today and Tomorrow*, Pittsburgh Conference, 54, 698A.
- Büyükkaya, F., 2011. Ferrosenli Fosfazen Bileşiklerinin Elektrokimyasal Davranışları. Yüksek Lisans Tezi, Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- Chen, J., Bao, J., Cai, C., Lu, T., 2004. Electrocatalytic oxidation of NADH at an ordered carbonnanotubes modified glassy carbon electrode. *Analytica Chimica Acta*, 516, 29-34.
- Danis, L., Gateman, S.M., Snowden, M.E., Halalay, I.C., Howe, J.Y., Mauzeroll, J., 2015. Anodic stripping voltammetry at nanoelectrodes: trapping of Mn^{2+} by crown ethers. *Electrochimica Acta*, 162, 169–175.

- Dickinson, E.J.F., Compton, R.G., 2011. Influence of the diffuse double layer on steady-state voltammetry. *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 661, 198–212.
- Dilgin, D.G., Gökçel, H.İ., Ertek, E., Dilgin, Y., 2010. Azin türü boyar maddelerle modifiye edilmiş elektrotlar kullanılarak NADH'ye bağlı biyosensör yapımı. Ulusal Kimya Öğrenci Kongresi, Uludağ Üniversitesi, 7-10 Nisan 2010, Bursa.
- Duman, E., 2014. Sodyum Siklamat Yokluğunda ve Varlığında Okzasilinin Cu(II) ve Co(II) İyonları İle Etkileşiminin Voltametrik İncelenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Ondokuzmayıs Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Samsun.
- Ertek, B., 2010. Fenoksazin Türü Boyar Madde Modifiye Elektrot Kullanılarak NADH'nin Elektrokatalitik Yükseltgenmesine Işığın Etkisi. Yüksek Lisans Tezi, Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Çanakkale.
- Gasnier, A., Pedano, M.L., Rubianes, M.D., Rivas, G.A., 2013. Graphene paste electrode: Electrochemical behavior and analytical applications for the quantification of NADH. *Sensors and Actuators B*, 176, 921-926.
- Gorton, L., Dominguez E., 2002. Electrocatalytic oxidation of NAD(P)H at mediator-modified electrodes. *Reviews in Molecular Biotechnology*, 82, 371-392.
- Greif, R., Peat, R., Peter, L.M., Pletcher, D., Robinson, J., 1990. *Instrumental Methods in Electrochemistry*. Ellis Horwood Ltd., New York.
- Guo, J., Ho, C.-N., Sun P., 2011. Electrochemical studies of chemically modified nanometer-sized electrodes. *Electroanalysis*, 23, 481 – 486.
- Hu, K., Gao, Y., Wang, Y., Yu, Y., Zhao, X., Rotenberg, S.A., Gökmeşe, E., Mirkin, M.V., Friedman, G., Gogotsi, Y., 2013. Platinized carbon nanoelectrodes as potentiometric and amperometric SECM probes. *Journal of Solid State Electrochemistry*, 17, 2971–2977.
- Izutsu, K., 2002. *Electrochemistry in Nonaqueous Solutions*. Wiley-VCH Verlag GmbH, Weinheim.
- Kobayashi, D., Ozawa, S., Mihara, T., Ikeda, T., 1992. Flavoenzyme-catalyzed electrochemical oxidation of NADH and NADPH in the absence of external mediators. *Denki Kagaku*, 60, 1056-1062.
- Lakub, J., Kady, I., Sun, P., 2011. Formation of a single pinhole on self-assembled monolayer modified nanometer-sized gold electrode and its electrochemical Behaviors. *Electroanalysis*, 23, 2205 – 2211.

- Larsson, T., Lindgren, A., Ruzgas, T., 2001. Spectroelectrochemical study of cellobiose dehydrogenase and diaphorase in a thiol-modified gold capillary in the absence of mediators. *Bioelectrochemistry*, 53, 243-249.
- Levis, R.A., Rae, J.L., 1993. The use of quartz patch pipettes for low noise single channel recording. *Biophysical Journal*, 65, 1666-1677.
- Li, F., Hunt, B., Sun P., 2013. Voltammetric response on a puller-made nanometer-sized electrode. *Electroanalysis*. 25, 787 – 792.
- Munoz, J.L., Coles, J., 1987. Quartz micropipettes for intracellular voltage micro-electrodes and ion selective microelectrodes. *Journal of Neuroscience Methods*, 22, 57-64.
- Murray, R.W., 2008. Nanoelectrochemistry: Metal nanoparticles, nanoelectrodes, and nanopores, *Chemical Reviews*, 108, 2688-2720.
- Nagamine, K., Takahashi, Y., Ino, K., Shiku, H., Matsue, T., 2011. Influence of tip size on single yeast cell imaging using scanning electrochemical microscopy. *Electroanalysis*, 23, 1168 – 1174.
- Nicholson, R.S., Shain, I., 1964. Theory of stationary electrode polarography: Single scan and cyclic methods applied to reversible, irreversible, and kinetic systems. *Analytical Chemistry*, 36(4), 706-724.
- Noël, J., Velmurugan, J., Gökmeşe, E., Mirkin, M.V., 2013. Fabrication, characterization, and chemical etching of Ag nanoelectrodes, *Journal of Solid State Electrochemistry*, 17, 385–389.
- Oja, S.M., Wood, M., Zhang, B., 2013. Nanoscale electrochemistry. *Analytical Chemistry*, 85, 473-486.
- Öztürk, F.Ö., 2008. Bazı Benzo[c]Sinnolin Türevlerinin Spektroskopik ve Elektrokimyasal Özelliklerinin İncelenmesi. Doktora Tezi, Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- Radoi, A., Compagnone, D., 2009. Recent advances in NADH electrochemical sensing design. *Bioelectrochemistry*, 76, 126-134.
- Rae, J.L., Levis, R.A., 1992. A method for exceptionally low noise single channel recordings. *European Journal of Physiology - Pflügers Archiv*, 420, 618-620.
- Raj, C.R., Ohsaka, T., 2001. Facilitated electrochemical oxidation of NADH and its model compound at gold electrode modified with terminally substituted electroinactive self-assembled monolayers. *Bioelectrochemistry*, 53, 251–256.
- Shan, C., Yang, H., Han, D., Zhang, Q., Ivaska, A., Niu, L., 2010. Electrochemical determination of NADH and ethanol based on ionic liquid-functionalized graphene. *Biosensors and Bioelectronics*, 25, 1504-1508.

- Simon, E., 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., Crouch, S.R., 2004. Voltametri. Analitik Kimya Temel İlkeler, Editörler: Kılıç, E., Yılmaz, H., Bilim Yayınları, Ankara, 655-703.
- Tse, D.C.-S., Kuwana, T., 1978. Electrocatalysis of dihydronicotinamide adenosine diphosphate with quinones and modified quinone electrodes. Analytical Chemistry, 50, 1315-1318.
- Tural, H., Gökçel H.İ., Ertaş N., 2006. Enstrumental Analiz I Elektroanalitik Yöntemler. Ege Üniversitesi Fen Fakültesi Yayınları, Bornova-İzmir. 1 (2), 131-196.
- Wang, J., 2000. Analytical Electrochemistry. Second Edition. John Wiley and Sons. Inc. New York, 203 p.
- Wightman, R.M., Wipf, D.O., 1989. Electroanalytical Chemistry Ed: A. J. Bard, Marcel Dekker, New York, 15, 267.
- Wikipedia, 2014. Nikotinamid adenin dinükleotid yapısı ve özellikleri. [https://tr.wikipedia.org/wiki/Nikotinamid adenin din%C3%BCkleotit](https://tr.wikipedia.org/wiki/Nikotinamid_adenin_din%C3%BCkleotit). (25.01.2015)
- Yang., D.-W., Liu., H.-H., 2009. Poly(brilliant cresyl blue)-carbonnanotube modified electrodes for determination of NADH and fabrication of ethanol dehydrogenase-based biosensor. Biosensors and Bioelectronics, 25, 733-738.
- Zhang, C., Aoki , K.J., Chen, J., Nishiumi, T., 2013. Blocking of two-electron reduction of non-charged species in the absence of supporting electrolyte at nanoelectrodes. Journal of Electroanalytical Chemistry 708, 101–107.
- Zoski, C.G., 2007. Handbook of Electrochemistry. New Mexico State University Department of Chemistry and Biochemistry Las Cruces, New Mexico, USA, 202 p.
- Zuazaga, C., Steinacker, A. 1990. Patch-clamp recording of ion channels: Interfering effects of patch pipette glass. News in Physiological Science, 5, 155-159.

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Soyadı, Adı : DEMİR, Tuğba

Uyruğu : T.C.

Doğum tarihi ve yeri : 23.07.1990 - Bolu

Medeni hali : Bekâr

Telefon : 0 534 233 90 63

e-mail : tugbaf19@gmail.com

Eğitim

Derece	Eğitim Birimi	Mezuniyet tarihi
Lisans	Hitit Üniversitesi/ Kimya Bölümü	2012
Lise	Gerede Yabancı Dil Ağırlıklı Lisesi	2008

Yabancı Dil

İngilizce