

ŞEKER HASTALIĞININ ERKEN DÖNEMDE TANISINA YÖNELİK YENİ NESİL  
SENSÖRLERİN SENTEZİ, KARAKTERİZASYONU VE UYGULAMALARI

Aysun ŞAVK

Kütahya Dumlupınar Üniversitesi  
Lisansüstü Eğitim Öğretim ve Sınav Yönetmeliği Uyarınca  
Fen Bilimleri Enstitüsü Malzeme Bilimi ve Mühendisliği Anabilim Dalında  
YÜKSEK LİSANS TEZİ  
Olarak Hazırlanmıştır.

Danışman: Dr. Öğr. Üye. Hediye AYDIN

Ortak Danışman: Doç. Dr. Fatih ŞEN

Haziran – 2019

## KABUL VE ONAY SAYFASI

Aysun ŞAVK'ın YÜKSEK LİSANS tezi olarak hazırladığı “ŞEKER HASTALIĞININ ERKEN DÖNEMDE TANISINA YÖNELİK YENİ NESİL SENSÖRLERİN SENTEZİ, KARAKTERİZASYONU VE UYGULAMALARI” başlıklı bu çalışma, jürimizce Kütahya Dumlupınar Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca değerlendirilerek kabul edilmiştir.

17/06/2019

Prof. Dr. Önder UYSAL  
Enstitüsü Müdürü, Fen Bilimleri Enstitüsü

Prof. Dr. İskender IŞIK  
Bölüm Başkanı, Metalurji ve Malzeme Mühendisliği Bölümü

Dr. Öğr. Üyesi Hediye AYDIN  
Danışman, Metalurji ve Malzeme Mühendisliği Bölümü

Doç.Dr. Fatih ŞEN  
Ortak Danışman, Biyokimya Bölümü

### Sınav Komitesi Üyeleri

Prof. Dr. Remzi GÖREN  
Metalurji ve Malzeme Mühendisliği Bölümü, Dumlupınar Üniversitesi

Doç. Dr. Onur GÜNEŞER  
Gıda Mühendisliği Bölümü, Uşak Üniversitesi

Doç. Dr. Yaser AÇIKBAŞ  
Malzeme Bilimi ve Nanoteknoloji Müh, Uşak Üniversitesi

Dr. Öğr. Üyesi Hediye AYDIN  
Malzeme Bilimi ve Mühendisliği Bölümü, Afyon Kocatepe Üniversitesi

Doç. Dr. Fatih ŞEN  
Biyokimya Bölümü, Dumlupınar Üniversitesi

## ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANI

Bu tezin hazırlanmasında Akademik kurallara riayet ettiğimizi, özgün bir çalışma olduğunu ve yapılan tez çalışmasının bilimsel etik ilke ve kurallara uygun olduğunu, çalışma kapsamında teze ait olmayan veriler için kaynak gösterildiğini ve kaynaklar dizininde belirtildiğini, Yüksek Öğretim Kurulu tarafından kullanılmak üzere önerilen ve Dumlupınar Üniversitesi tarafından kullanılan İntihal Programı ile tarandığını ve benzerlik oranının %17 çıktığını beyan ederiz. Aykırı bir durum ortaya çıktığı takdirde tüm hukuki sonuçlara razı olduğumuzu taahhüt ederiz.

Dr. Öğr. Üyesi Hediye AYDIN

Danışman

Doç. Dr. Fatih ŞEN

Ortak Danışman

Aysun ŞAVK

# ŞEKER HASTALIĞININ ERKEN DÖNEMDE TANISINA YÖNELİK YENİ NESİL SENSÖRLERİN SENTEZİ, KARAKTERİZASYONU VE UYGULAMALARI

Aysun ŞAVK

Malzeme Bilimi ve Mühendisliği, Yüksek Lisans Tezi, 2019

Tez Danışmanı: Dr. Öğr. Üyesi Hediye AYDIN

Ortak Danışman: Doç.Dr. Fatih ŞEN

## ÖZET

Bu tez çalışmasında şeker hastalığının erken dönemde tanısına yönelik aktif karbonla desteklenmiş platin-nikel metal nanoparçacıklarla modifiye edilmiş glikoz sensörü hazırlanmıştır. Hazırlanan glikoz sensörünün optimum çalışma koşulları belirlenerek Dönüşümlü Voltametri (DV) ve Kronoamperometri (KA) ölçümleri yardımıyla sensörün göstermiş olduğu elektrokimyasal aktivitesi, seçiciliği ve uygulanabilirliği test edilmiştir. Tasarlanan glikoz sensörünün karakterizasyon basamakları ise Geçirimli Elektron Mikroskopu (TEM), X-Işını Kırınımı (XRD), X-Işını Fotoelektron Spektroskopisi (XPS) ve Raman Spektroskopisi ile gerçekleştirilmiştir. Pt-Ni@AK nanosensörünün belirlenen tayin sınırı (0.01mM ile 1.2 mM) arasında sağladığı yüksek doğrusal aralık sonucunda 0.052 µM olarak hesaplanmıştır. Bunun yanı sıra, Pt-Ni@AK nanobiyosensörünün glikoza karşı duyarlılığının oldukça yüksek olması sonucunda 40.9 mA mM<sup>-1</sup> cm<sup>-2</sup> 'lik yüksek bir hassasiyet değeri elde edilmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** Glikoz Sensör, Kronoamperometri, Metal Nanoparçacık, Nanosensör.

# **SYNTHESIS, CHARACTERIZATION AND APPLICATIONS OF NEW GENERATION SENSORS FOR DIAGNOSIS OF DIABETES PATIENCE IN THE EARLY TIME**

Aysun ŞAVK

Material Science and Engineering, MSc. Thesis, 2019

Thesis Supervisor: Assist. Prof. Hediye AYDIN

Thesis Advisor: Assoc. Prof. Fatih ŞEN

## **SUMMARY**

In this study, a glucose sensor modified with platinum-nickel metal nanoparticles supported by activated carbon for early diagnosis of diabetes was designed. This prepared glucose sensor's optimum working conditions are determined, and the sensor's electrochemical activity, selectivity and applicability are tested thanks to the measurements of cyclic voltammetry and chronoamperometry. Characterization steps of the designed glucose sensor were performed by Transmission Electron Microscope (TEM), X-Ray Diffraction (XRD), X-ray Photoelectron Spectroscopy (XPS) and Raman Spectroscopy. The Pt-Ni @ AK nanosensor was calculated as 0.052  $\mu\text{M}$  as a result of the high linear range provided by the determined boundary limit (0.01mM to 12 mM). Besides, because Pt-Ni @ AK nanobiosensor has high sensitivity to glucose, a high sensitive value of 40.9 mA mM<sup>-1</sup> cm<sup>-2</sup> is obtained. Also, the designed glucose nanobiosensor is successfully used for the determination of the glucose inside human blood serum.

**Keywords:** Glucose Sensor, Chronoamperometry, Metal Nanoparticle, Nanosensor.

## TEŞEKKÜR

Yüksek lisans çalışmam süresince beni yönlendiren, tezimin gerçekleştirilmesinde, çalışmalarımın her anında bilgi birikimiyle beni destekleyen, tecrübe ve güler yüzüyle çalışmalarına ışık tutan yanında çalışmaktan gurur duyduğum çok değerli danışman hocalarım Sayın Dr. Öğr. Üye. Hediye AYDIN ve Sayın Doç. Dr. Fatih ŞEN'e katkılarından ve desteklerinden dolayı teşekkür ederim.

Çalışmalarına destek olan, sevgisini esirgemeyen Sen Research Group (SRG) üyesi olan yüksek lisans ve lisans öğrenci arkadaşlarıma her konuda yaptıkları yardımlar için teşekkür ederim.

Ayrıca tez çalışmamı bursla destekleyen Kütahya Ticaret ve Sanayi Odası'na (KÜTSO) ve Teknoloji Transfer Ofisine (TTO) teşekkür ederim.

Malzeme karakterizasyonlarının gerçekleştirilmesinde destek olan Dumlupınar Üniversitesi Merkez Laboratuvarına (İLTEM) ve Orta Doğu ve Teknik Üniversitesi Merkez Laboratuvarına teşekkür ederim.

Bu günlere gelmemde şüphesiz en büyük katkı ve emeği olan, Lisans ve Yüksek lisans öğrenimim boyunca bana maddi, manevi destek olan ve sevgilerini hiçbir zaman eksik etmeyen değerli dedem İsmail ŞAVK, annem Fatma ŞAVK, babam Mehmet ŞAVK, kardeşim Mustafa ŞAVK'a ve nişanlım Yunus YILDIZ'a teşekkür ederim.

## İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
ÖZET .....	iv
SUMMARY .....	v
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	ix
ÇİZELGELER DİZİNİ .....	xi
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ .....	xii
1. GİRİŞ .....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	4
2.1. Glikoz .....	4
2.2. Glikoz Tayininin Önemi .....	4
2.3. Glikoz Tayin Yöntemleri .....	5
2.3.1. Gıdalarda glikoz tayini.....	5
2.3.2. Kanda glikoz tayini .....	6
2.4. Biyosensörler.....	6
2.4.1. Biyosensörlerin tarihçesi.....	6
2.4.2. Biyosensörlerin yapısı ve fonksiyonları.....	7
2.4.3. Biyosensör çeşitleri.....	8
2.4.4. Biyosensörün uygulama alanları.....	15
2.4.5. Hazırlanan biyosensörün performans faktörleri.....	16
2.5. Nanoteknoloji .....	18
2.6. Nanomateryal .....	20
2.6.1. Nanobiyosensör destek malzemeleri.....	20
3. MATERYAL – METOT .....	22
3.1. Materyal.....	22
3.1.1. Cihaz ve Ekipmanlar.....	22
3.1.2. Kimyasallar .....	22
3.2. Metod.....	23
3.2.1. AK, Pt@AK, Ni@AK, PtNi@AK nanobiyosensörlerin hazırlanması .....	23
3.2.2. Elektrot solüsyonlarının ve çalışma elektrotlarının hazırlanması .....	24
3.2.3. Elektrokimyasal hücrenin hazırlanması .....	24
3.2.4. Hazırlanan nanosensörün karakterizasyonunda kullanılan teknikler .....	25
3.2.5. Hazırlanan nanosensörlerin elektrokimyasal analiz teknikleri .....	30

## İÇİNDEKİLER (devam)

### Sayfa

4.BULGULAR VE TARTIŞMA .....	32
4.1. Sentezlenen AK, Pt@AK, Ni@AK ve PtNi@AK Nanosensörlerinin Karakterizasyonu	32
4.1.1. Nanosensörlerin XRD (X-ışını kırınımı) analizi.....	32
4.1.2. PtNi@AK nanosensörünün TEM (Geçirimli elektron mikroskobu) analizi.....	33
4.1.3. PtNi@AK nanosensörünün XPS (X-ışını fotoelektron spektroskopisi) analizi.....	34
4.1.4. PtNi@AK nanosensörünün RAMAN (Raman spektroskopisi) analizi .....	35
4.2. Sentezlenen AK, Pt@AK, Ni@AK ve PtNi@AK Nanosensörlerinin Elektrokimyasal Aktivitelerinin Belirlenmesi .....	36
4.2.1. PtNi@AK nanosensörü ile kaplanan elektrodun karşılaştırma çalışmasına dair bulgular.....	36
4.2.2. PtNi@AK nanosensörü ile modifiye edilmiş elektrodun glikoz derişimin etkisi ...	37
4.2.3. PtNi@AK nanosensörü ile modifiye edilmiş elektrodun glikoza olan duyarlılığına tarama hızının etkisi .....	38
4.2.4. PtNi@AK nanosensörü ile modifiye edilmiş elektrodun glikoza olan duyarlılığının amperometrik olarak tespiti .....	39
4.2.5. PtNi@AK nanosensörü ile modifiye edilmiş elektroda girişim etkisinde bulunan maddelerin incelenmesi .....	40
4.2.6. PtNi@AK nanosensörü ile modifiye edilmiş elektrodunun kararlılığının ve tekrarlanabilirliğinin incelenmesi .....	41
4.3. PtNi@AK Nanosensörünün Kan Serumunda Glikoz Tayini.....	42
5. SONUÇLAR .....	44
KAYNAKLAR DİZİNİ.....	46



## ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Sekil</u>	<u>Sayfa</u>
2.1. Glikozun yapısı .....	4
2.1. Biyosensörlerin genel yapısı ve fonksiyonları .....	8
2.2. Biyosensör çeşitleri .....	9
2.3. Biyoalgılama materyeli malzemeleri .....	9
2.4. Biyomalzemeler temek alınarak yapılan sensör örnekleri .....	10
2.5. Kütle hassas sensörün şematik gösterimi .....	11
2.6. Optik sensörün şematik gösterimi .....	12
2.7. Elektrokimyasal biyosensörün şematik gösterimi .....	13
2.8. Potansiyometrik biyosensörün şematik gösterimi .....	14
2.9. Amperometrik biyosensörün şematik gösterimi .....	15
2.10. Biyosensörün uygulama alanları .....	16
2.11. Hazırlanan biyosensörün performans faktörleri .....	17
2.12. Nanoteknolojinin uygulama alanları .....	19
2.13. Grafen, tek duvarlı KNT, çok duvarlı KNT ve aktif karbonun şematik gösterimi .....	21
3.1. Pt-Ni nanoparçacıkların oluşumu .....	24
3.2. Elektrokimyasal hücre düzeneği .....	25
3.3. Tipik bir TEM (Transmisyon Elektron Mikroskobu) cihazının görüntüsü .....	26
3.4. Bir kristalde X-ışını kırınımı .....	27
3.5. X-ışını fotoelektron spektroskopisinde çekirdek düzeylerinden saçılan elektronların enerjileri .....	28
3.6. Raman saçılım şeması ve iki atomlu bir molekülün olası titreşimleri .....	29
3.7. Potansiyelin zamanla değişimini gösteren dönüşümü .....	30
3.8. Dönüşümlü voltametri potansiyel-akım grafiği .....	31
3.9. Dönüşümlü Voltametri Potansiyel-Akım Grafiği .....	31
4.1. Ni@AK, Pt@AK, PtNi@AK X-ışını kırınım analiz sonucu .....	33
4.2. PtNi@AK Nanosensörünün (a) TEM-HRTEM görüntüsü (b) parçacık boyutu histogramı (c)EELS çizgi histogramı .....	34
4.3. PtNi@AK nanosensörünün (a) Pt 4f XPS spektrumu (b) Pt 4f'nin 3D görünümünün XPS spektrumları (c) Ni 2p XPS spektrumu (b) Ni 2p'nin 3D görünümünün XPS spektrumları .....	35
4.4. PtNi@AK nanosensörünün Raman spektroskopisi analizi sonucu .....	36
4.5. AK, Pt@AK, Ni@AK ve PtNi@AK nanosensör elektrotlarının 0,1 M NaOH içerisinde 50 mV/s tarama hızında 0,3 mM glikoz ilavesinde DV sonuçları .....	37

**ŞEKİLLER DİZİNİ (devam)**

<b><u>Sekil</u></b>	<b><u>Sayfa</u></b>
4.6. 0.1 M NaOH'da PtNi@AK nanosensörüyle modifiye edilmiş elektrot için artan glikoz konsantrasyonlarındaki dönüşümlü voltamogramları aşağıdan yukarıya doğru: (a) 0,1; (b) 0,2; (c) 0,3; (d) 0,4; (e) 0,5; (f) 0,6 ve (g) 0,7; (h)0,8; (ı)0,9; (j)1,0; Ek olarak kalibrasyon grafiği .....	38
4.7. 0.1 M NaOH'da PtNi@AK nanosensörüyle modifiye edilmiş elektrot için 0.5 mM glikoz varlığında artan tarama hızlarındaki (20 ile 140 mVs-1.) dönüşümlü voltamogramları. Ek olarak kalibrasyon grafiği.....	39
4.8. (a) PtNi@AK nanosensörü ile modifiye edilmiş elektrodun 0,1 mM glikoz ilavesi sonucu elektrodunun amperometrik yanıtları. (b). PtNi@AK nanosensörü ile modifiye edilmiş elektrodun 25 µM glikoz ilavesi sonucu elektrodunun amperometrik yanıtları .....	40
4.9. 0.1 M NaOH'da PtNi@AK nanosensörüyle modifiye edilmiş elektroduna girişim yapan maddelerin amperometrik yanıtı (0,1 M NaOH çözeltisi +0.5 V'de.).....	41
4.10. +0.50 V'da 0,1 M NaOH tamponu içinde 1 mM glikoz varlığında 30 günlük uzun dönem kararlılık ve çoklu döngü voltamogramı.....	42

## ÇİZELGELER DİZİNİ

<b><u>Cizelge</u></b>	<b><u>Sayfa</u></b>
2.1. 1970–1992 dönemleri arasında biyosensörlerin tarihsel ilerleyişi.....	7
2.2. Sensör tasarımında önemli parametreler.....	20
4.1. Literatürde bulunan Pt ve Ni ile hazırlanmış bazı sensörler ve PtNi@AK'nin kıyaslanması .....	42
4.2. PtNi@AK camsı karbon elektrot kullanılarak insan kan serum numunesinden tayin edilen glikoz miktarları.....	43



## SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

<b><u>Simgeler</u></b>	<b><u>Açıklama</u></b>
$\alpha$	Alfa
Å	Angstrom
$\beta$	Beta
$\lambda$	Dalga boyu
$^{\circ}\text{C}$	Santigrat derece
$\theta$	Theta
%	Yüzde
<b><u>Kısaltmalar</u></b>	<b><u>Açıklama</u></b>
$\mu\text{A}$	Mikroamper
$\mu\text{l}$	Mikrolitre
$\mu\text{M}$	Mikromolar
$\mu\text{mol}$	Mikromol
AK	Aktif Karbon
BSS	Bağıl standart sapma
$\text{cm}^2$	Santimetre kare
ÇDKNT	Çok duvarlı karbon nanotüp
DMAB	Dimetilaminboran
DMF	Dimetilformamit
g	Gram
GO	Grafen oksit
mg	Miligram
ml	Mililitre
nM	Nanomolar
nm	Nanometre
NP	Nanoparçacık
Rad	Radyan
RS	Raman spektroskopisi

**SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ (devam)**

<b><u>Kısaltma</u></b>	<b><u>Açıklama</u></b>
TEM	Geçirimli elektron mikroskobu
THF	Tetrahidrofur
V	Volt
XPS	ışını fotoelektron spektroskopisi
XRD	ışını kırınımı
DV	Döngüsel voltametri
KA	Kronoamperometri
HRTEM	Yüksek çözünürlüklü geçirimli elektron mikroskobu

## 1. GİRİŞ

Şeker hastalığı ya da diyabet, vücudun insülin üretme ve/veya kullanma yeteneğindeki kusurlardan kaynaklanan kandaki glikoz seviyeleri ile karakterize edilen bir kronik hastalıktır (Yang vd., 2013). Yapılan çalışmalar sonucunda dünya çapında yaklaşık 300 milyon insanın şeker hastası olduğu tespit edilmiş ve ilerleyen yıllarda bu sayının neredeyse iki katına çıkacağı tahmin edilmektedir (King vd., 1998; Zhang vd., 2010). Kandaki glikozun varlığı “glisemi” olarak adlandırılır. Sağlıklı bir bireyde kandaki glikoz seviyesi 4,4-6,6 mM aralığında ölçülmüştür (Wang, 2008). Kandaki glikoz seviyesi normal değer altına düşmesi halinde “hipoglisemi”; normal değer üstüne çıkması durumu ise “hiperglisemi” olarak tanımlanır. Kandaki glikoz özellikle insülin hormonunu etkisiyle baskılanmaktadır. İnsülin hormonunun etkisiyle diyabet Tip 1 ve Tip 2 olmak üzere iki farklı tipte tanımlanmıştır. Burada insülin hormonunun yeterli olmaması durumunda kandaki glikoz seviyesi artarak hiperglisemiye neden olmakta ve sonuç olarak kişi şeker hastası olmakta ve aynı zamanda kişinin şeker hastalığının tipi Tip 2 olarak tanımlanmaktadır. Eğer kişi doğuştan insülin hormonu üretmiyorsa sonradan bir tedavi olmaksızın daima insülin takviyesi almak zorundadır. Bunun sonucunda kişiye şeker hastalığı tanısı koyularak tip 1 olarak sınıflandırılması yapılmıştır. (Nichols vd., 2013) İnsan kanındaki glikoz seviyesinin anormalliği sonucunda da kişilerde körlük, sinir yapılarında değişim ve böbrek yetmezliği gibi çeşitli rahatsızlıklara rastlanmaktadır. Ayrıca şeker hastalarının organlarında kalıcı hasarlar gözlenirken ölüme sebebiyet olması nedeniyle de kandaki glikozun sürekli takibi oldukça hayati önem taşımaktadır. Bu nedenle şeker hastalarının günlük olarak kanda bulunan glikoz düzeyleri ölçülmektedir. Bu durum glikozu klinik teşhislerde yaygın olarak testi gerçekleştirilen analit haline getirmiştir. Bu sebeple insanın her anını etkileyen şeker hastalığının erken dönemde teşhisi ve tedavisi için kandaki glikozun kantitatif tayini ilgi çeken araştırma konularından biri haline gelmiştir. Glikoz tayini aynı zamanda gıda endüstrisinde de dikkat çeken bir konudur (Shabnam vd., 2017).

Geçmişten günümüze kadar glikoz miktarının tespitinde yüksek maliyetleriyle göze çarpan kemilüminesans, kolorimetrik, optik, floresan, yüzey plazmon rezonansı ve elektrokimyasal yöntemler gibi birçok yöntem kullanılmıştır (Yamakoshi vd., 2006). Bunlar arasında var olan elektrokimyasal yöntemler mükemmel seçicilik ve duyarlılık, kolay kullanım süreci, güvenilirlik, basitlik ve sürekli izleme gibi avantajları nedeniyle en dikkat çekici yöntem kabul edilmiştir. Bir diğer neden ise kan serum ve idrar serumlarında bulunan bileşiklerin elektrokimyasal özellikte olmalarından dolayı elektrokimyasal yöntemlerle analiz daha doğru kabul edilmektedir (Wang, 2008). Örneğin glikoz tayininde kullanılan floresan spektroskopisi

oldukça hassas olmasına rağmen glikozun birkaç floresan tabanlı in vivo takibi ile mümkündür, ancak bunların hiçbiri şeker hastalarında pratik olarak uygulanabilir değildir (Louro vd., 2013). Bu yüzden, elektrokimyasal glikoz sensörler, son 40 yıldaki hassaslığı ve seçiciliği nedeniyle en fazla ilgiyi üzerine çeken yöntem olmuştur. Ek olarak, elektrokimyasal glikoz sensörler daha düşük tespit limiti, daha hızlı tepki süresi, daha uzun süreli stabilite ve ucuzluk göstermektedir. Elektrokimyasal biyosensörler göstermiş olduğu bu özelliklerden dolayı diğer yöntemlere büyük bir alternatif oluşturmuştur (Wang, 2008; Castillo, vd., 2003). Halen kullanılmakta olan ticari sensörlerin sonuçlarının yetersiz kalması sonucu araştırmacılar enzimatik ve enzimatik olmayan sensörler üzerine çalışmalarını yoğunlaştırmışlardır. Enzim kullanılarak gerçekleştirilen enzimatik sensörlerin kullanılan enzimlerin çabuk bozunmasından dolayı sensörlerin tekrar kullanılabilirliğini engelleyip kararlılığını koruyamadığı için şeker hastalığının erken dönemde tanısına yönelik enzimatik olmayan glikoz sensörleri daha çok tercih edilmektedir (Castillo vd. 2003).

Elektrokimyasal sensörlerin içinde yer alan glikoz sensörleri glikozu makro ve nano düzeyde tespit edebilme imkânı sağlamaktadır. Sensörün algılama düzeyini arttırmak için daha aktif yüzey alanı oluşturmak amacıyla karbon desteklerden yararlanılmaktadır. Karbon destek malzemelerinden biri olan aktif karbon sahip olduğu mükemmel mekaniksel özelliği, iyi derecede elektrik iletkenliği, geniş aktif yüzey alanı ve gösterdiği yüksek kimyasal kararlılık açısından son derece dikkat çekici destek malzemelerindedir. Bu sebeple aktif karbon elektrokimyasal sensör çalışmalarında sıkça kullanılan destek malzemesi haline gelmiştir. Aynı zamanda destek malzemesi olan aktif karbon üzerinde glikozun “glikoz oksidasyon” reaksiyonlarını tamamlanabilmesi için geçiş metalleri, metal oksitler ve çeşitli metal kombinasyonları kullanılmaktadır (Matsumoto vd., 2003; Wang vd., 1996).

Gerçekleştirilen tez çalışmasında amacımız olabildiğince hassas, geniş ölçüm aralığına sahip, ekonomik, kararlı, tekrarlanabilir ve enzimsiz bir glikoz sensör geliştirmektir. Bu tez çalışmasında amacımız doğrultusunda klinik açıdan tayini oldukça önemli olan glikozun erken dönemde tanı ve tedavisi için literatürde daha önce yer almayan uygun maliyetli, basit, güvenilir, kolay taşınabilir, hızlı yanıt veren, oldukça aktif olan aktif karbon destekli platin ve nikel geçiş metalleriyle oluşturulmuş nanokompozitler sentezlenmiştir. Sentezi gerçekleştirilen nanokompozitlerin geniş yüzey alana sahip olmasından dolayı glikozun glikonolaktone dönüşümünü net bir şekilde algılaması sonucu glikoz tespitinde elde edilen yüksek akım değerleri sonucunda oldukça büyük dikkat çekmiştir. Bu da tezin özgünlüğünü desteklemektedir. Hazırladığımız sensörün (PtNi@AK) çok düşük konsantrasyonlarda (mikromolar seviyesi) glikozu algılama seviyesi de tez çalışmaları kapsamında araştırılmıştır. PtNi@AK sensörünün

insan kan serum örneğindeki glikozu saptayıp saptayamayacağı da incelerek sonuçlar standart yöntemle kıyaslanmıştır.

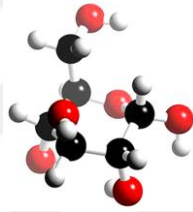




## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Glikoz

Glikoz ( $C_6H_{12}O_6$ ), üzüm şekeri, olarak bilinen basit bir hidrokarbondur. Aynı zamanda  $146\text{ }^{\circ}C$ 'de ergime noktasına sahip bir monosakkarittir. Bu monosakkarit, kan numunelerinde ölçülen tıbbi bir analittir. Kandaki glikoz konsantrasyonu insülin ve diğer mekanizmalar tarafından düzenlenmektedir. Yüksek kan şekeri seviyesi, diyabetik ve diyabetik durumların bir belirtisidir. Glikoz, iki farklı konformasyonda (L ve D) bulunabilmektedir. Fakat insan vücudu sadece D-glikozu tanımaktadır (Olsan, 1991).



Şekil 2.1. Glikozun yapısı.

### 2.2. Glikoz Tayininin Önemi

İnsan vücudunun birincil enerji kaynağı karbonhidratlardır. Vücuda alınan karbonhidratlar kan dolaşımında glikoza dönüşmek için parçalanırlar. Parçalanmış glikozun hücrelerde kullanılmak üzere kandan geçişinden sorumlu en önemli hormon insülinidir. Kişilerde insülinin üretilmemesi ya da yeterli etkiyi göstermemesi durumunda kandaki glikoz seviyesi artarak şeker hastalığına sebep olmaktadır. Uzun süre devam eden şeker hastalığının görüldüğü kişilerde göz hastalıkları, damarda tıkanıklıklar, böbrek hastalıkları, el ve ayaklarda yaralanmalar, kalp krizi, kalp yetmezliği ve yüksek tansiyon gibi ciddi hastalıklarının oluşmasını tetiklemektedir. Dahası tedavi edilemeyen şeker hastalığı ölüme neden olabilen bir hastalıktır. Bu tip ciddi rahatsızlıkların görülmemesi için kandaki glikoz seviyesinin oldukça normal seviyelerde ( $4.4\text{-}6.6\text{ mM}$ ) tutulması hayati önem taşımaktadır (Wang, 2001). Bu nedenle şeker hastalığı kandaki glikoz seviyesinin sürekli olarak takibini gerektirmektedir.

## 2.3. Glikoz Tayin Yöntemleri

### 2.3.1. Gıdalarda glikoz tayini

Bitkiler tarafından üretilen temel besin öğelerinden bir tanesi karbonhidratlardır. Karbonhidratlar, vücudun en önemli ve en kolay bulunabilen enerji kaynağıdır. Karbonhidratlar iki ana formda bulunurlar. Bunlar besleyici bütün meyvelerde bulunan fruktoz, glikoz ve laktoz gibi basit şekerler (basit karbonhidratlar), nişastalı sebzeler, tahıllar, pirinç ve ekmekler ve tahıllar gibi gıdalarda bulunan nişastalar (kompleks karbonhidratlar) olmak üzere iki grupta sınıflandırılırlar. Ayrıca bu sınıfta yer alan glikoz ve fruktoz monosakkarit basamağında yer alırken sakkaroz ise disakkarit grubunda yer almaktadır.

Fazla karbonhidrat yüklenmesi kişilerde fazla kilo oluşumuyla beraber şeker hastalığının ortaya çıkmasında etken rol oynar. Bu yüzden kişiler yedikleri paketli gıdaların içeriklerini ve oranlarını kontrol etmelidirler. Gereğinden fazla miktarlarda alınan karbonhidrat ve şeker içeren hazır paketli gıdalar gereksiz kilo alımına sebep olur. Özellikle tatlılar, çikolatalar ve şeker oranı yüksek içecekler gibi içinde direkt şeker barındıran yiyecek ve içecekler vücuda alındığında vücutta aşırı insülin salgılanması başlayacaktır. Vücutta hızla salgılanan insülin hızlıca düşüşe geçecektir. Ortaya çıkan insülinin göstermiş olduğu ani yükselme ve alçalışıyla kişide bitkinlik, aşırı yorgunluk ve kısa sürede acıkma reaksiyonlarıyla sonuçlanır. Pankreasta yer alan insülin depoları böylelikle kısa sürede tükenecektir. Sıkça görülen bu durum göbük çevresinde yağlanmayla kendini gösterip belli bir yaştan sonra TİP II diyabet hastalığının habercisi olur. Bu sebepten dolayı tüm hazır paketli gıdaların ve doğal gıdaların laboratuvarlar ortamlarında toplam şeker oranı ve invert şeker tespiti gerçekleştirilir. Yapılan analizde asıl amaç gereksizce vücuda alınan şeker alımının önüne geçmektir.

Gıdalara yapılan şeker tayini uygulamalarının, başlıca nedenlerini şöyle sıralayabiliriz:

1. Paketli gıdaların yapısında bulunan invert ve toplam şeker oranını tespit etmek
2. Üretim esnasında prosesin işleyişine yol çizmek
3. Doğal ve hazır paketli gıdaların içerisinde barındırdıkları bileşenlere göre toplam kalori miktarını hesaplamak
4. Gıdaların belirlenen standartlara ne derecede uygun hazırlanıp hazırlanmadığını tespit etmek.

Gıdalarda yapılan şeker tayinininde başlıca Volumetrik, Gravimetrik, Enstürümantal yöntemler kullanılmaktadır.

### 2.3.2. Kanda glikoz tayini

Kanda var olan glikozun analizi normal değer aralığı içinde bulunup bulunmadığını tespit etmek, hiperglisemi, hipoglisemi, diyabet ve prediyabet gibi hastalıkların araştırmasını yapmak, tanı ve takibi için bu test gerçekleştirilir. Kanda glikoz tayini iki farklı yöntemle gerçekleştirilir. Bunlar; kolorimetrik ve enzimatik yöntemlerdir. Burada kolorimetrik yöntemler altında Oksidasyon redüksiyon metodları, Ortotoluidin Metodu olmak üzere iki farklı yöntem mevcuttur. Oksidasyon redüksiyon metodu sekerlerin indirgenme özelliğinden yararlanarak geliştirilmiştir, Ortotoluidin Metodu ise renkli bir karışım oluşturulur ve rengin şiddetine bağlı olarak oluşturulmuş bir yöntemdir. Enzimatik yöntemlerin altında ise Glukoz Oksinaz Metodu, Hekzokinaz Metodu (Enzimatik Ultraviyole) yer almaktadır. Bu yöntemlerden yola çıkılarak geliştirilen son yıllarda oldukça popülerlik kazanan bir diğer analiz yöntemi ise biyosensörlerdir (Castillo vd. 2003).

### 2.4. Biyosensörler

Biyosensörler, bir biyomolekül, bir biyolojik yapı veya bir mikroorganizma gibi bir biyolojik analitin varlığını veya konsantrasyonunu tespit etmek için kullanılan cihaz olarak tanımlanmaktadır (Gerard vd., 2002).

#### 2.4.1. Biyosensörlerin tarihçesi

Biyosensörlerin tarihi, 1906 yılında M. Cremer'in (Cremer 1906), sıvı içindeki bir asit konsantrasyonunun, bir cam zarın karşıt taraflarında bulunan akışkan bölümleri arasında ortaya çıkan elektrik potansiyeli ile orantılı olduğunu görmesine dayanır. Bununla birlikte, 1909'da pH (hidrojen iyonu konsantrasyonu) kavramı, Søren Peder Lauritz Sørensen tarafından sunulmuş ve pH ölçümleri için bir elektrot 1922 yılında W. S. Hughes tarafından gerçekleştirilmiştir (Hughes 1922). 1909 ve 1922 yılları arasında, Griffin ve Nelson (Griffin vd., 1916, Nelson vd., 1916) ilk olarak invertaz enziminin alüminyum hidroksit ve odun kömürü üzerindeki hareketsizliğini göstermiştir. İlk biyosensör 1956'da oksijen algılama için Leland C. Clark, Jr tarafından geliştirilmiştir. Biyosensörlerin babası olarak bilinir ve oksijen elektrodunun icadı onun ismini taşımaktadır (Clark elektrot) (Heineman vd., 2006). 1962'de Leland Clark tarafından glikozun saptanması için bir amperometrik enzim elektrodunun gösterimi, 1969'da Guilbault ve Montalvo, Jr (Guilbault vd., 1969) tarafından üre tespit etmek için ilk potansiyometrik biyosensörün keşfiyle takip edilmiştir. Sonunda 1975 yılında ilk ticari biyosensör, Yellow Spring Instruments (YSI) tarafından geliştirilmiştir. Çizelge 2.1' de 1970–1992 dönemleri arasında biyosensörlerin tarihsel ilerleyişi gösterilmektedir.

**Çizelge 2.1.** 1970–1992 dönemleri arasında biyosensörlerin tarihsel ilerleyişi.

1970	Bergveld tarafından iyona duyarlı alan etkili transistörün (ISFET) keşfi (Bergveld, 1970)
1975	Lubbers ve Opitz tarafından karbon dioksit ve oksijen tespiti için fiber optik biyosensör (Vestergaard vd., 2015)
1975	YSI tarafından glikoz tespiti için ilk ticari biyosensör (Yoo vd., 2010)
1975	Suzuki vd. Tarafından 1975 İlk mikrobe tabanlı immünosensör. (Suzuki vd.,1975)
1982	Schultz tarafından glikoz tespiti için fiber-optik biyosensör (Schultz, 1982)
1983	Liedberg vd. Tarafından 1983 Yüze plazmon rezonansı (SPR) immünosensörü. (Liedberg vd., 1983)
1984	1984 İlk aracı amperometrik biyosensör: glikoz oksidazında glikoz tespiti için kullanılan ferrosen (Cass vd.,1983)
1990	Pharmacia Biacore tarafından 1990 SPR tabanlı biyosensör (Vestergaard vd., 2015)
1992	i-STAT tarafından elde edilen el kan biyosensörü (Vestergaard vd., 2015)

İ-STAT sensörünün geliştirilmesinden beri biyosensörler alanında ciddi ilerlemeler kaydedilmiştir. Bu alanda, temel bilimlerin (fizik, kimya ve biyoloji) prensiplerini mikro/nano teknoloji, elektronik ve uygulamalı medikal temelleri ile birleştiren çok disiplinli bir araştırma alanı haline gelmiştir. Ayrıca "Web of Science" veritabanında, 2005'ten günümüze kadar "biyosensörler" konusundaki 84000'den fazla araştırma metni bulunmaktadır (Bhalla vd., 2016).

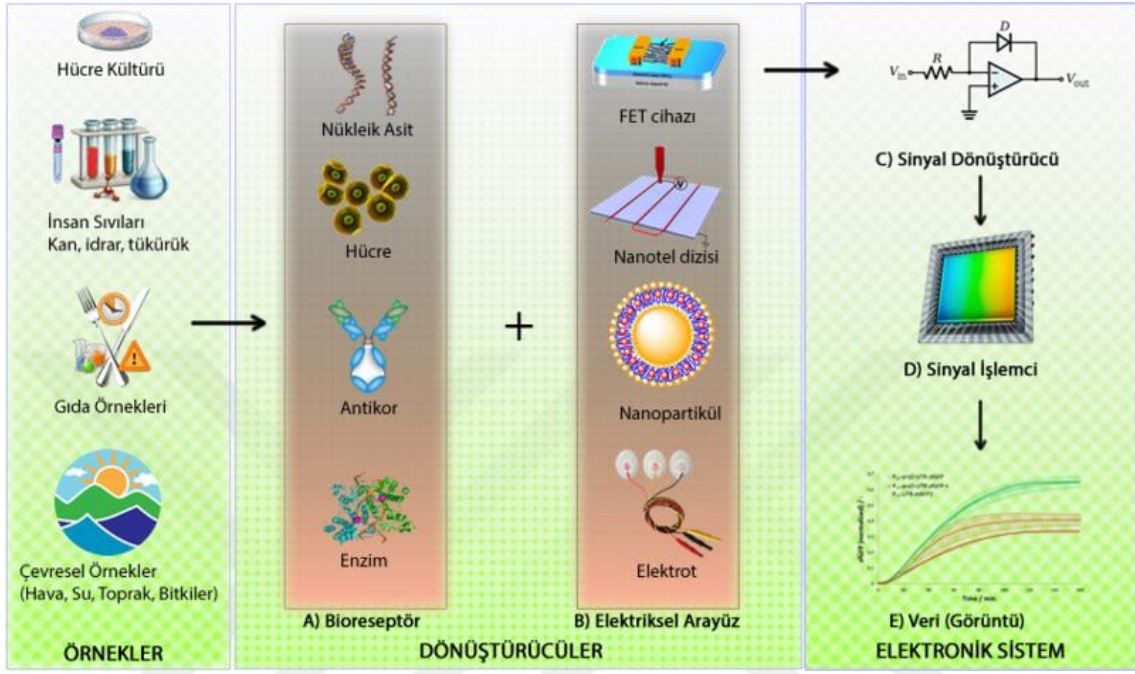
#### 2.4.2. Biyosensörlerin yapısı ve fonksiyonları

Biyosensörlerin ana işlevi biyolojik olarak gerçekleşen bir olayın ölçülebilir anlamlı bir sinyale dönüştürmesine dayanmaktadır. Biyosensörler Şekil 2.1’de de gösterildiği üzere iki farklı kısımdan oluşmaktadır.

1. **Biyalgılayıcı:** Biyoreseptör (ligand) olarak da bilinen biyalgılayıcılar analitik seçebilen biyomoleküler bir yapıya sahiptirler. Biyoreseptörler hedef molekülün yakalandığı biyolojik bağlanma bölgesi olarak tanımlanırlar. Biyalgılayıcılara örnek olarak mikroorganizmalar, organeller, enzimler, antikorlar, nükleik asitler verilebilir. Biyalgılayıcı olarak verilen örneklerden en çok antikorlar ve enzimler kullanılmaktadır (Wang, 1999).

2. **Dönüştürücü:** Genelde transduser olarak adlandırılan dönüştürücüler aynı zamanda çevirici olarak bilinmektedir. Dönüştürücü kısım gerçekleşen bağlanma sonucunda ortaya çıkan her türlü biyokimyasal/fizikokimyasal etkileşimleri ölçülebilir anlamlı elektriksel sinyallere çeviren veya dönüştüren kısımdır. Dönüştürücü sinyallere örnek olarak; fizikokimyasal, optik,

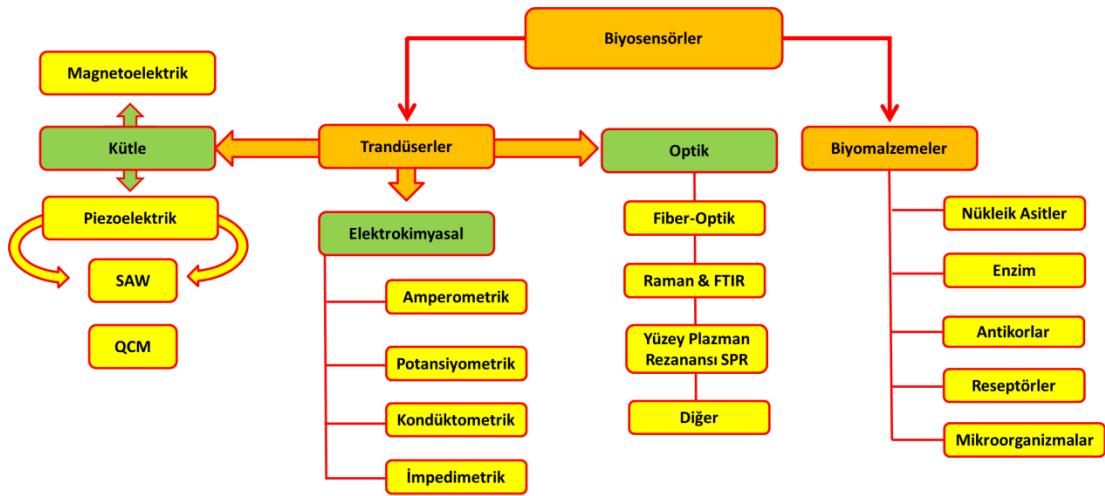
piezoelektrik, elektrokimyasal, vb. olarak verilebilir (Sassolas 2011; Sarkar vd., 1999; Zhang vd., 1999).



**Şekil 2.1.** Biyosensörlerin genel yapısı ve fonksiyonları, ([https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Biocens%C3%B6r\\_bile%C5%9Fenleri.png](https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Biocens%C3%B6r_bile%C5%9Fenleri.png)).

### 2.4.3. Biyosensör çeşitleri

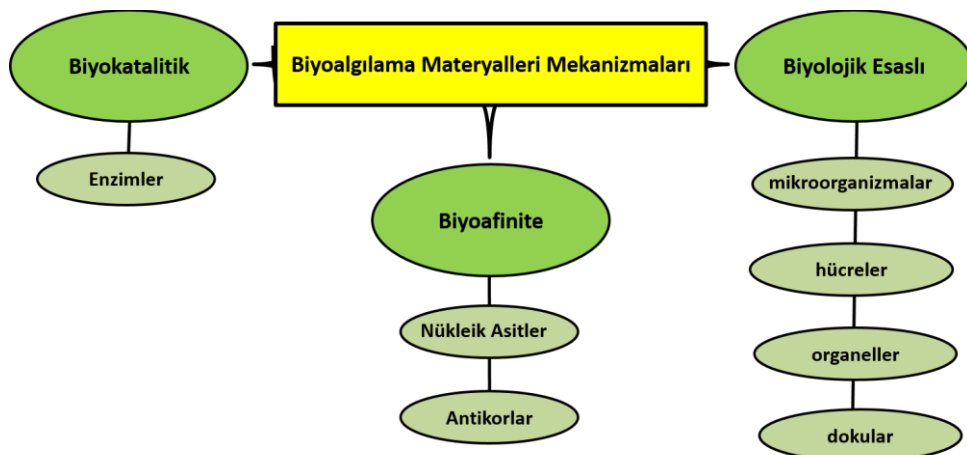
Biyosensörler, biyolojik elementlerine veya transdüksiyon elemanlarına göre gruplandırılabilirler. Biyolojik elementler enzimleri, antikorları, mikroorganizmaları, biyolojik dokuyu ve organelleri içerir. Transdüksiyon yöntemi, algılama olayından kaynaklanan fizikokimyasal değişime bağlıdır. Başlıca Transdüser biyosensörler kütle bazlı, elektrokimyasal biyosensörler ve optik biyosensörlerdir. Biyosensörlerin transduser ve biyolojik elementlerine göre gruplandırılması Şekil.2.2’de gösterilmiştir (Vo-Dinh ve Cullum, 2000).



Şekil 2.2. Biyosensör çeşitleri (Vo-Dinh ve Cullum, 2000).

### Biyoreseptör materyalleri esas alınarak yapılan sınıflandırma

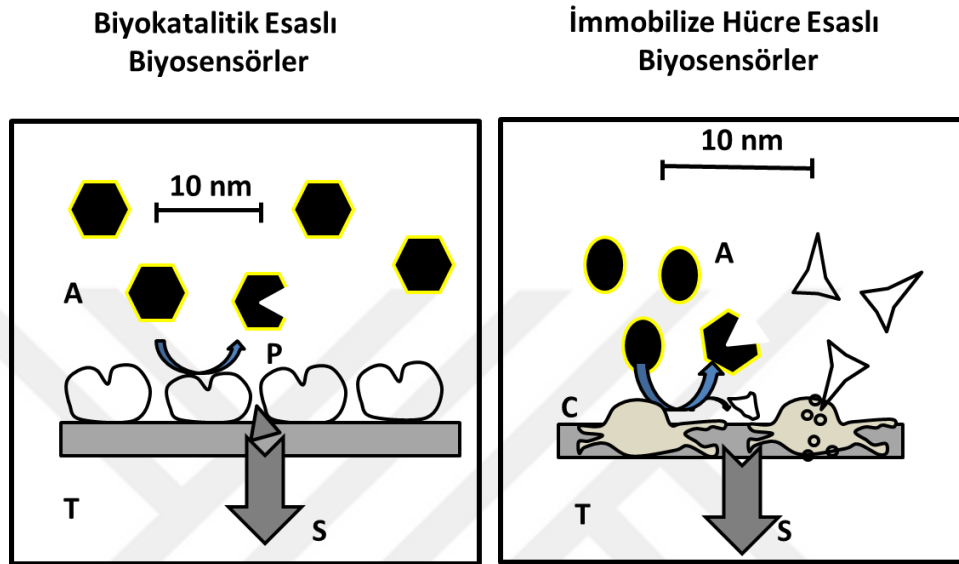
Bir hedef bulmak için bir reseptör kullanılır. Biyosensörlerde, hedef bir analittir ve reseptör, yüzeye yapışmış ve tespit edilmesine izin vermek için hedefe bağlanan bir maddedir. Bir hedef substratı (bir analit) tanıyabilme kabiliyetine sahip olan herhangi bir biyomolekül veya moleküler düzenek, bir biyoreseptör olarak kullanılabilir. Genel anlamda kullanılan biyoreseptörlerin mekanizmalarına göre şekil 2.3' de görüldüğü gibi üç temel gruba ayrılırlar.



Şekil 2.3. Biyoalgılama materyeli malzemeleri.

Enzimler en çok kullanılan biyoreseptör molekülleri olmuştur. Son zamanlarda, biyosensörlerde antikorlar ve proteinler biyoreseptör molekülleri olarak da kullanılmaktadır. Bir

biyosensörün özgülüğü, kullanılan biyoreseptör molekülünün özgülüğünden gelir. Örneğin, biyomateryal enzim seçilerek oluşturulan biyosensör enzim elektrodu, DNA olarak belirlendiyse DNA biyosensörü gibi adlandırmalar yapılmaktadır (Wang, 2008).



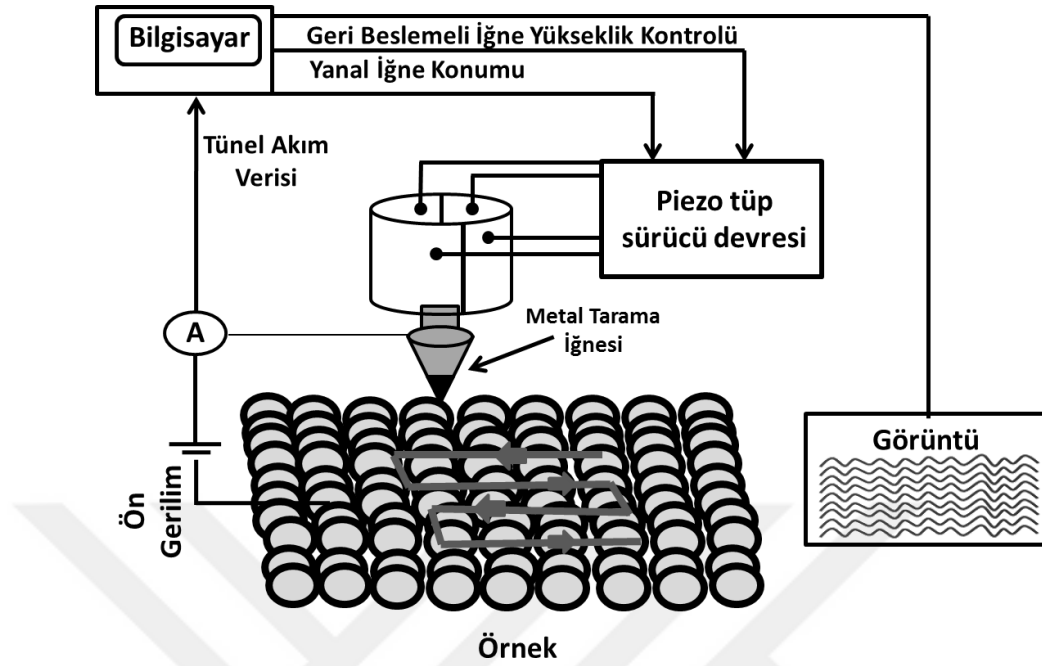
Şekil 2.4. Biyomalzemeler temel alınarak yapılan sensör örnekleri (Dinçkaya, 1999).

### **Dönüştürücüler (Transduserler)**

Dönüştürücü, biyokimyasal etkileşimleri ölçülebilir elektronik sinyallere dönüştürür. Biyosensör sinyalinin iletimi, aynı anda ve biyoalgılama elemanının özel ortamında bulunan bir süreçtir. Biyokimyasal olarak gerçekleşen reaksiyona göre uygun transduserler seçilir. Elektrokimyasal, optik ve kütle değişimini temel alan transduserler biyosensörlerde kullanılan birçok çeşittir. Dönüştürücü doğrudan veya dolaylı olarak çalışır. Transduserlerin verimliliği, sinyal stabilitesi, biyosensörlerin tekrar kullanılabilirliği, tespit limiti ve çoğu durumda reaksiyon stabilitesi ve seçiciliği gibi analitik özelliklerinin çoğunu etkilediği için önemlidir.

### **Kütle hassas sensörler**

Kütle hassas sönörlerde piezoelektrik kristallerin çevirici olarak kullanıldığı dönüştürülerdir. Bir santimetre karede nanogram seviyesinde kütle değişimini rezonans frekanstaki değişime dayanarak ölçümlerin gerçekleştirildiği bu sistem, antikor-antijen etkileşimlerinde oldukça fazla kullanılan dönüştürücülerdendir. Burada kütle hassas dönüştürücülerin çalışma prensibi piezoelektrik etkiye dayanmaktadır. Şekil 2.4.'de bir kütle hassas sensörün çalışma prensibi şematik olarak gösterilmiştir (Masoud, 2016),



Şekil 2.5. Kütle hassas sensörün şematik gösterimi (Paddle, 1996).

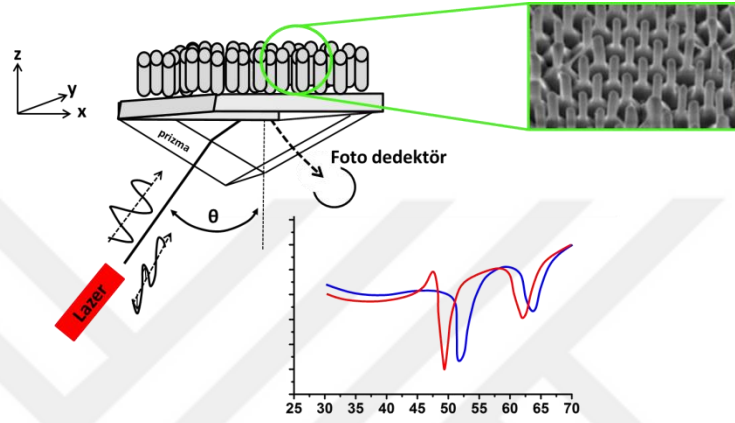
### Optik esaslı sensörler

Optik biyosensörler, enzimatik reaksiyonlarda bazı maddelerin optik özelliklerinden yararlanarak, reaksiyona giren maddelerin ve ortaya çıkan reaksiyon ürünleri arasındaki ışık adsorpsiyonundaki farklılığın sonucunda ışık verimini bir lüminesan (Lüminesans elektronik seviyelere uyarılmış fotonların emisyonudur) işlemle ölçümlerin gerçekleşmesine izin vermek amacıyla kullanılır. (Şekil 2.6) Bu sensörler sayesinde çok çeşitli moleküler etkileşimlerin afinite ve kinetiğinin belirlenmesi sağlanmıştır. (Fan vd., 2008). Optik biyosensörler herhangi bir farklı elektromanyetik etkiden etkilenmezler, uzak mesafeden algılama sağlayabilirler ve tek cihazda çoklu algılamayı gerçekleştirebilirler. Optik biyosensörler, son on yılda biyomoleküler etkileşimleri analiz etmek için yaygın olarak kullanılmaktadır.

Genel olarak optik biyosensörler biyomoleküler etkileşimlerde ortaya çıkan kemilüminesans, ışık saçılımı, floresan ve absorbans değişikliklerini belirleyebilmektedirler (Garcia, 2009). Biyomoleküllerin etkileşimler sonucu ortaya çıkan değişiklikleri belirlemek için Floresan temelli ve etiketsiz belirleme olmak üzere iki farklı protokol uygulanmaktadır. Floresan temelli olarak gerçekleştirilen belirlemede, hem hedef olarak seçilen moleküllerde hemde biyolojik tanımlayıcı olarak seçilen moleküller boyalara benzer floresan etiketleriyle etiketlenirler. Ortaya çıkan floresan yoğunluğu hem moleküllerin varlığıyla beraber hedefle



biyoalgılayıcı arasında meydana gelen etkileşimin kuvvetini belirtmektedir. Etiketsiz belirlemede ise, hedef olarak tanımlanan moleküller değiştirilemez yani etiketlenmezler. Bu belirlemede hedef moleküller doğal formlarında belirlenme işlemi yapılmaktadır. Bu tip belirleme de moleküler arası etkileşimin kinetik ve kantitatif ölçümüne izin verirken oldukça kolay ve ucuz bir belirleme yöntemidir (Fan vd., 2008; Garcia, 2009).



Şekil 2.6. Optik sensörün şematik gösterimi (Paddle, 1996).

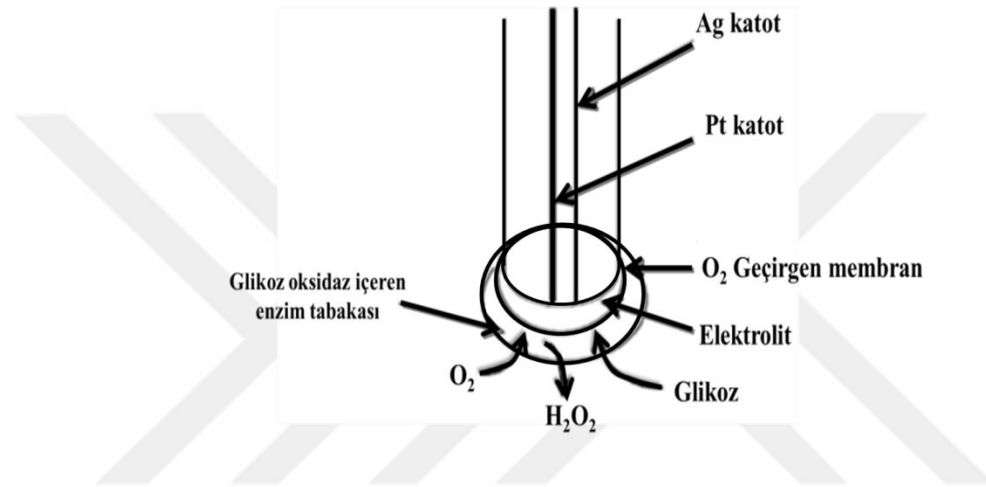
### **Elektrokimyasal sensörler**

Elektrokimyasal sensörler sensör grubu içerisinde yer alan en eski ve en gelişmiş kimyasal sensörlerdir. Elektrokimyasal sensörler analit konsantrasyonuyla değişen elektrik sinyalini üretmek için kullanılan analit ile reaksiyona girerek sonuç vermektedir. Yani elektrokimyasal sensörler, bir analitin konsantrasyonuna bağlı olarak ortaya çıkardığı redoks reaksiyonları kullanmaktadır. (Şekil 2.7) (Telefoncu, 1999). Genel olarak bir elektrokimyasal sensör çalışma elektrodu, referans elektrot ve karşıt elektrottan oluşmaktadır. Birçok uygulama için oluşturulan bu üçlü elektrot sistemi yüksek girdi sağlayan bir potansiyostata bağlı referansla kullanılmaktadır. Karşıt elektrot ise hem akımın hem devrenin tamamlanabilmesi için sistemde yer almaktadır. Özellikle glikoz takibinde elektrokimyasal biyosensörlerin yüksek pazar payı bulunmaktadır.

Elektrokimyasal sensörlerin üzerine yapılan son çalışmalar da nanomalzemeler kullanarak daha fazla etkin elektron geçişini sağlamak ve boyut olarak küçültmeye dayalı tasarım ve geliştirme çalışmaları görülmektedir.

Elektrokimyasal sensörlerin çalışma prensiplerine bağlı olarak, kimyasal bilgileri ölçülebilir bir amperometrik sinyale dönüştüren potansiyometrik, amperometrik ve impedimetrik olmak üzere üç temel dönüştürücü kullanılabilir.

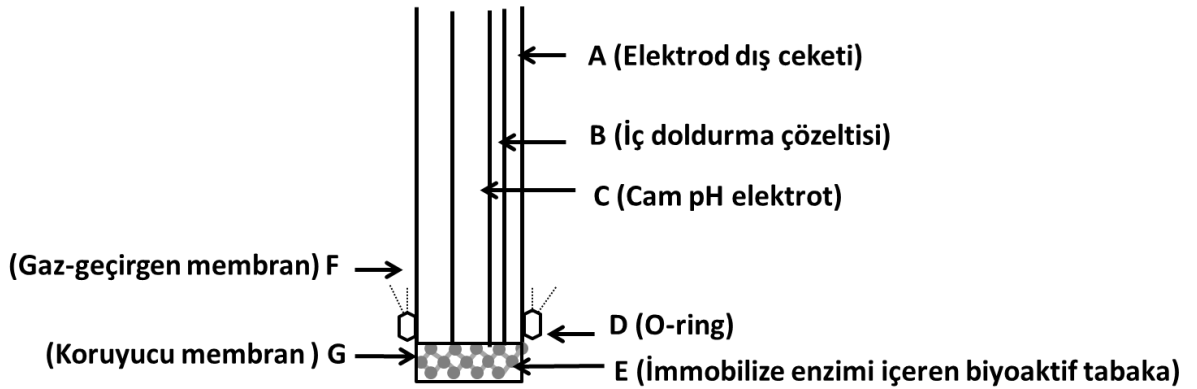
- Potansiyometrik Biyosensörler
- Amperometrik Biyosensörler
- İmpedimetrik Biyosensörler



Şekil 2.7. Elektrokimyasal biyosensörün şematik gösterimi (Telefoncu, 1999).

### **Potansiyometrik biyosensörler**

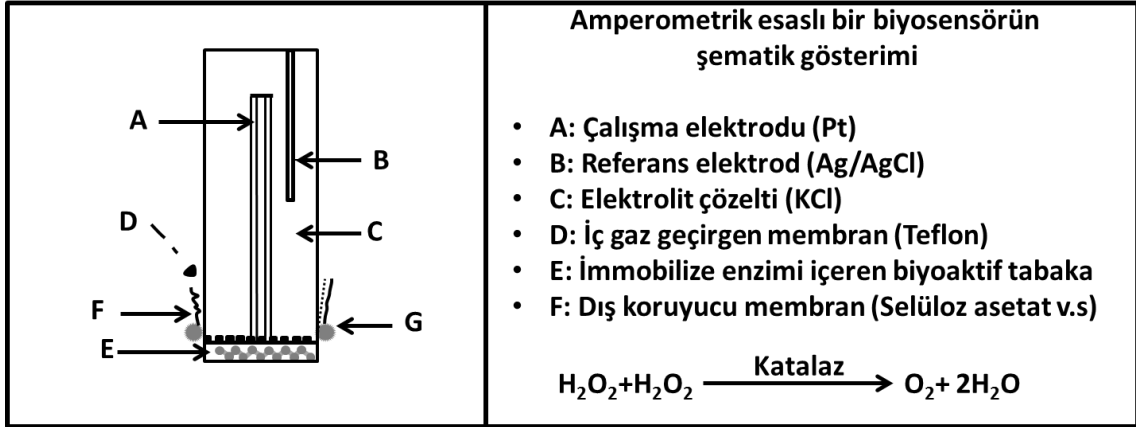
Potansiyometrik biyosensörler, bir elektrokimyasal hücrenin elektrot-elektrolit arayüzünde meydana gelen redoks reaksiyonlarının dengesi üzerindeki konsantrasyonun etkisini kullanarak ölçümü sonuca çevirmektedir. (Şekil 2.8) Genel anlamda potansiyometrik biyosensörlerin çalışma prensibi bir referans elektrot ile bir çalışma elektrodu arasında ortaya çıkan potansiyel farkının ölçülmesine dayanmaktadır. Potansiyometrik biyosensörlerde kullanılan referans elektrot, tüm ölçüm süresi boyunca potansiyeli değişmeyen elektrottur. Çalışma elektrodu ise analit konsantrasyonundaki küçük değişiklikler için bile potansiyelinde büyük değişiklikler göstermektedir. Elektrot yüzeyinde analitin iyon seçici elektroda bağlanmasıyla oluşturulan akımda yük birikimini izlemek için potansiyometrik ölçümler gerçekleştirilir. Çalışma elektrodu, belirli iyonlar veya gazlar için seçici olabilir. Örneğin  $F^-$ ,  $I^-$ ,  $CN^-$ ,  $Na^+$ ,  $K^+$ ,  $Ca^{2+}$ ,  $H^+$ ,  $NH_4^+$ ,  $CO_2$ ,  $NH_3$  vb. gibi. Piyasada çokça yer alan potansiyometrik biyosensörlerinde kullanılan temel elektrotlar (sensörler) daha çok cam elektrotlar (pH), iyon seçici elektrotlar, gaz algılayıcı elektrotlar ( $CO_2$  ve  $NH_3$  duyarlı) bunlardan birkaçıdır.



Şekil 2.8. Potansiyometrik biosensörün şematik gösterimi (Danielsson, 1990).

### Amperometrik biosensörler

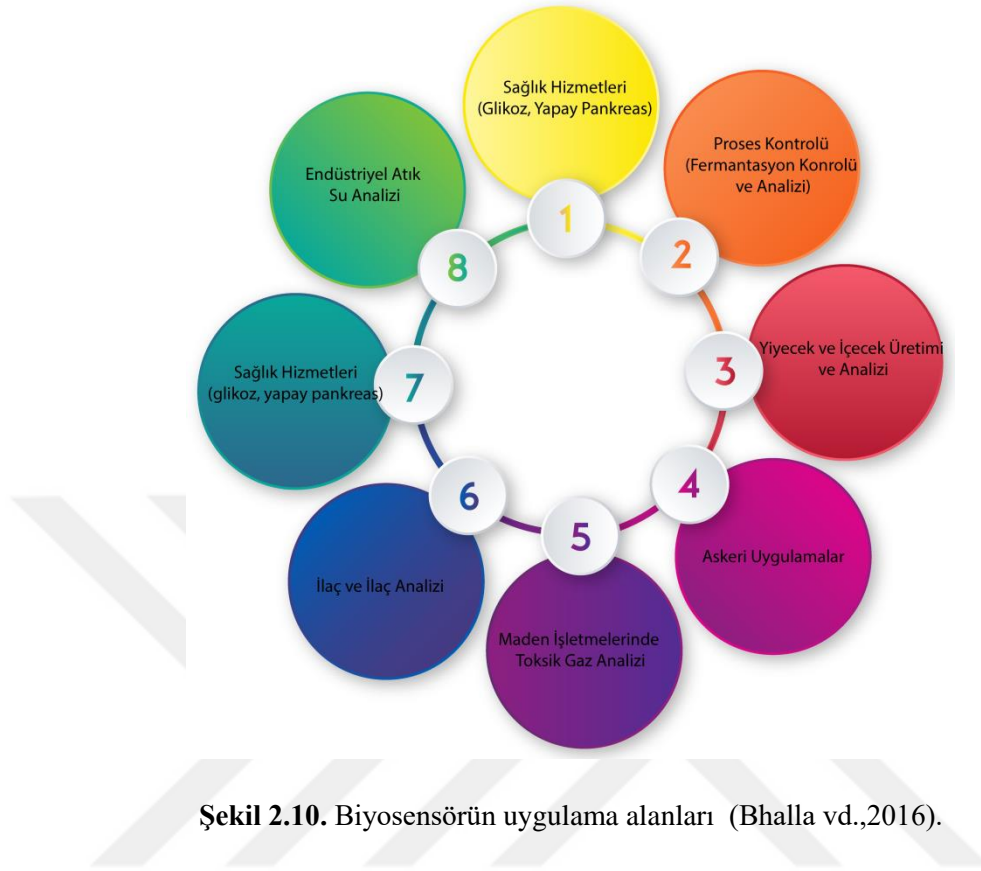
Amperometrik çeviriciler; uygulanan potansiyelde analit ile biyolojik tanı molekülü arasındaki kimyasal reaksiyon sonucunda ortaya çıkan akımı ölçer. Amperometrik çeviricileri kullanan sensörlere amperometrik biosensörler denir. Genel olarak amperometrik biosensörler akım şiddetinin ölçümüne dayanmaktadır. Ortaya çıkan akım şiddeti kullanılan çalışma elektrodunun bünyesinde barındırdığı indirgen ve yükseltgen elektro aktif türlerin derişiminin bir fonksiyonu olarak tanımlanmaktadır. Akımın büyüklüğü elektro aktif türlerin çözeltide bulunan konsantrasyonuyla orantılı olarak artar veya azalır. Bu şekilde gerçekleşen anodik ve katodik reaksiyonların takibi amperometrik olarak sağlanmaktadır. (Towseef vd., 2013). Amperometrik biosensörler hem en eski hem de en yaygın olarak kullanılan biosensör çeşididir. Amperometrik biosensörlerin endüstriyel, çevresel ve klinik amaçlara hitap eden yüksek kararlılık ve hassaslık içeren oldukça güvenilir bir yapısı bulunmaktadır. Clark ve Lyons'un konuyla ilgili yapmış olduğu çalışmalar sonrasında amperometrik biosensörler popülerlik kazanarak günümüze kadar temel alanın bir çalışma olmuştur. Bu yüzden en yaygın amperometrik biosensörlerde Clark Oksijen elektrodu kullanılır. (Clark ve Lyons 1962; Meena ve Rajendran 2010; Hammond vd., 2016). Amperometrik biosensörün genel gösterimi şekil 2.9' da verilmiştir.



Şekil 2.9. Amperometrik biyosensörün şematik gösterimi (Danielsson, 1990).

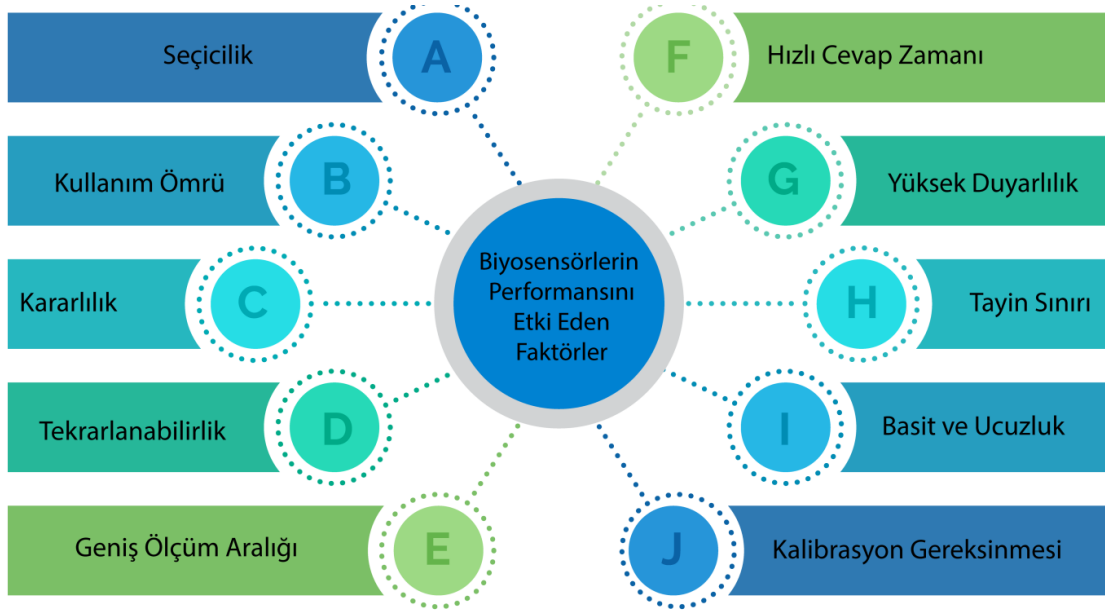
#### 2.4.4. Biyosensörün uygulama alanları

Biyosensörler, yaşam kalitesini iyileştirmeyi amaçlayan çok çeşitli uygulamalara sahiptir. Biyosensörler çevresel izleme, hastalık tespiti, gıda güvenliği, savunma, ilaç keşifleri ve daha birçok alanda kullanımları bulunmaktadır. Biyosensörlerin ana uygulamalarından biri, bir ilacın ya da bir ilacın hedeflerinin göstergeleri olan biyomoleküllerin saptanmasıdır. Örneğin, elektrokimyasal biyogüvenlik teknikleri, protein kanseri biyobelirteçlerini saptamak için klinik araçlar olarak kullanılabilir (Jolly vd., 2015; Formisano vd., 2016). Biyosensörler ayrıca, gıda izlenebilirliğini, kalitesini, güvenliğini ve besin değerini izlemek için de kullanılabilirler (Sharma vd., 2015; Van Dorst vd., 2010). Bu uygulamalar, “tek kullanımlık” analiz araçları kategorisine girer. Diğer taraftan, kirlilik izleme gibi uygulamalarda da kullanılmaktadır (Van Dorst vd., 2010; Gavrilescu vd., 2015), Bunlar tip uygulamalarda kullanılan biyosensörler birkaç saat ile birkaç gün arasında biyosensörün işlevini sürdürmesini gerektirmektedir. Bu tür biyosensörler “uzun vadeli izleme” analiz araçları olarakta bilinirler. İster uzun süreli, ister kısa süreli analiz olsun, biyosensörler, hem kaynak sınırlı ortamlarda hem de gelişmiş medikal kurulumlarda teknolojik olarak gelişmiş cihazlar olarak kullanımları bulunmaktadır: Örneğin ilaç keşfindeki uygulamalarda, (Bhalla vd., 2015; Bhalla vd., 2014) savunma sanayinin yararına toksik maddelerin olduğu düşünülen bazı kimyasal ve biyolojik ajanların tespiti için, kalp pili ve diğer protez cihazlar (Parker vd., 2015; Grayson vd., 2004) gibi yapay implante edilebilir cihazlarda biyosensörlerin kullanımı bulunmaktadır (Yang vd., 2015). Biyosensörlerin kullanıldığı farklı araştırma alanları Şekil 2.10’da gösterilmiştir.



#### 2.4.5. Hazırlanan biyosensörün performans faktörleri

Her biyosensörün sahip olduğu belirli statik ve dinamik özellikler vardır. Bu özelliklerin optimizasyonu, biyosensörün performansına yansır. Biyosensörlerin performansını etkileyen ve ideal bir sensör olarak tanımlayacağımız bir biyosensörün sahip olması gereken özellikler Şekil 2.11' de listelenmiştir.



Şekil 2.11. Hazırlanan biyosensörün performans faktörleri.

➤ **Seçicilik:** Seçicilik belki de bir biyosensörün en önemli özelliğidir. Seçicilik, bir bioreseptörün, diğer katkı maddelerini ve kirletici maddeleri içeren bir örnekte spesifik bir analit tespit etme kabiliyetidir. Seçiciliğin en iyi örneği, bir antijenin antikorla etkileşimi ile anlatılır. Yani antijen içeren bir çözelti (genellikle tuz içeren bir tampon) daha sonra, antikorların sadece antijenlerle etkileştiği transdüser maruz bırakılır. Seçici bir biyosensör oluşturmak için, bioreseptörü seçerken, seçicilik esas seçenektir. Anlaşıldığı üzere seçici bir biyosensör başka reaktiflere ilgi göstermez ve hatalı sonuç vermez.

➤ **Tekrarlanabilirlik:** Tekrarlanabilirlik, bir biyosensörün birden fazla tekrarlanan deneyler sonucunda aynı yanıtları üretebilme kabiliyetidir. En kolay tekrarlanabilirlik testi hazırlanan biyosensörün aynı örnekle ard arda alınan ölçümler sonucunda elde edilen verilerden standart sapma ve korelasyon katsayısının hesaplanmasıyla ortaya çıkar. Tekrarlanabilirlik değeri ne kadar iyi olursa o kadar iyi bir biyosensör elde edilmiş olur. Biyosensörlerin tekrarlanabilirlik testi sonucunda biyosensörün güvenilirlik ve sağlamlık decerelerinden söz edilebilir (Kılınç vd., 1996; Özer vd., 2014).

➤ **Kararlılık:** İdeal biyosensörler için en önemli parametrelerden biri kararlılıktır. Biyolojik materyallerin fiziksel dayanıklılıklarına göre uzun süre performansını korumasıyla kararlılık derecesi ortaya çıkar. Bu yüzden ideal bir biyosensörün performansını uzun sürece muhafaza etmesi istenir. Ancak; biyosensörün performansı değişen fiziksel ve kimyasal özelliklerden (pH, ortam, sıcaklık, nem ve O<sub>2</sub> derişimi) dolayı değişebileceği unutulmamalıdır.

➤ **Geniş Ölçüm Aralığı:** Biyosensörün lineerliği yani ölçüm aralığı, test altındaki biyosensör ve analit konsantrasyonlarının çözünürlüğü ile ilişkilendirilebilir. Biyosensörün çözünürlüğü, biyosensörün yanıtında bir değişiklik meydana getirmek için gerekli olan bir analitin konsantrasyonundaki en küçük değişiklik olarak tanımlanır. Uygulamaya bağlı olarak, biyosensör uygulamalarının çoğu sadece analit tespitini değil aynı zamanda geniş bir çalışma aralığı boyunca analit konsantrasyonlarının ölçümünü gerektirdiğinden iyi bir çözünürlük ve iyi bir algılama gereklidir. Biyosensör cevabının analit konsantrasyonları ile doğrusal olarak değiştiği aralığa biyosensörün ölçüm aralığı olarak tanımlanır. Bu doğrusal aralığın tespit edildiği en düşük sınır ise gözlenebilir en “düşük tayin sınırı” olarak tanımlanmaktadır. İdeal bir biyosensörün geniş doğrusal ölçüm aralığına ve düşük gözlenebilme sınırına sahip olması istenir.

➤ **Hızlı Cevap Zamanı:** İdeal bir biyosensörün cevap süresi oldukça kısa olması istenir. Burada test anında analizlenecek madde çalışma ortamına eklendiği anda biyosensörün verdiği ilk tepki süresi ölçülmektedir.

## 2.5. Nanoteknoloji

Yunancadan ve Latince'den türetilerek dilimize geçen “Nano” kelimesi “cüce” anlamına gelmektedir. Nanoteknoloji ise; 1 nanometre ile 100 nanometre arasındaki yapıların sentezlenip kullanımını olarak tanımlanmaktadır. Nanoteknolojinin tarihi 1959 yılında Richard Feynmann tarafından yapılan bir konuşmaya dayanmaktadır. Richard Feynmann konuşmasında “biyolojik sistemlerden esinlenerek, moleküler makineler yapılabilir ve aşağıda daha çok yer var.” diyerek nanoteknoloji tarihe geçmiştir. Richard Feynmann’ın savunduğu bu düşüncelerden sonra 1980 yıllarında nanoboyuttaki yapıların fiziksel büyüklüklerini tespit etmek ve nanoboyutta üretim yapmak için bazı optik cihazlar üzerine çalışmalar başlamıştır. Bu optik cihaz tasarımları atomların yapılarını, konumları gözleyebilme ve istediğimiz yere taşıyabilmemizi olanak sağlamak içindir. Gerçekleştirilen çalışmalar sonucunda önemli bir mesefa kaydedilerek önce karbon nanotoplar ve ardından karbonnanotüpler keşfedilmiştir. Böylece nanoteknoloji dönemi aktif olarak başlamıştır.

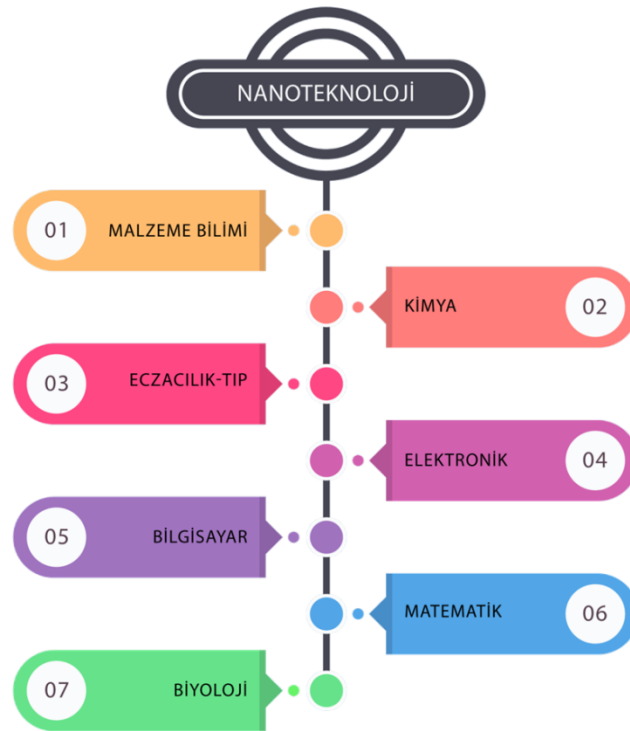
Nanoteknolojinin ve nanobilimin oldukça hızla ilerlemesindeki en büyük etmen nano boyutta ölçüm ve gözlem yapan mikroskopların tasarlanıp geliştirilmesi ve nano boyutta işlem yapabilen yöntemlerin oluşturulmasıdır. Bu yöntemlerden bazıları;

- Saçılma Yöntemleri
- SEM (Taramalı Elektron Mikroskobu)

- TEM (Geçirmeli Elektron Mikroskobu)
- AFM (Atomik Kuvvet Mikroskobu) ‘dur.

Son dönemlerin popüler alanlarından biri olan nanoteknoloji

- Daha fonksiyonel,
- Daha hızlı,
- Daha az yer kaplar,
- Daha az enerji sarfeder,
- Daha mukavemetli,
- Daha ucuz,
- Olağanüstü yeni özellikleri sayesinde birçok kullanım alanına sahiptir (Şekil 2.12).



Şekil 2.12. Nanoteknolojinin uygulama alanları.



## 2.6. Nanomateryal

Nanoteknolojinin temelini oluşturan nanomateryaller boyutları 1 ile 100 nm arasında değişen toz ve taneciklerlerdir. Her bir taneciğin milyonlarca atom barındırması sonucu nanomateryellerin farklı ve üst düzeyde özellikler göstermesi oldukça dikkat çekmiştir. Nano boyuttaki malzemelerin göstermiş olduğu yüzey alanı etkisi sonucu üstün özellikler sergilemektedir. Nanomateryaller, bazı araştırmaların sonucunda yüzeyin iletkenliğini arttırdığı gözlenmiş ayrıca yüzeyin morfolojisi ve büyüklüğü üzerinde modifikasyon yapılmasını olanak sağlamıştır (Telefoncu, 1997).

Son yıllarda nanomateryaller nanosensör, nanobiyosensör tasarımında oldukça fazla kullanılmaktadır. Kullanılan nanomateryallerde maksimum verim elde etmek için nanobiyosensör tasarımında çeşitli metaller ve destek malzemeleri kullanılarak bir nanopartikül veya nanomateryal hazırlanmaktadır. (Çizelge 2.2)

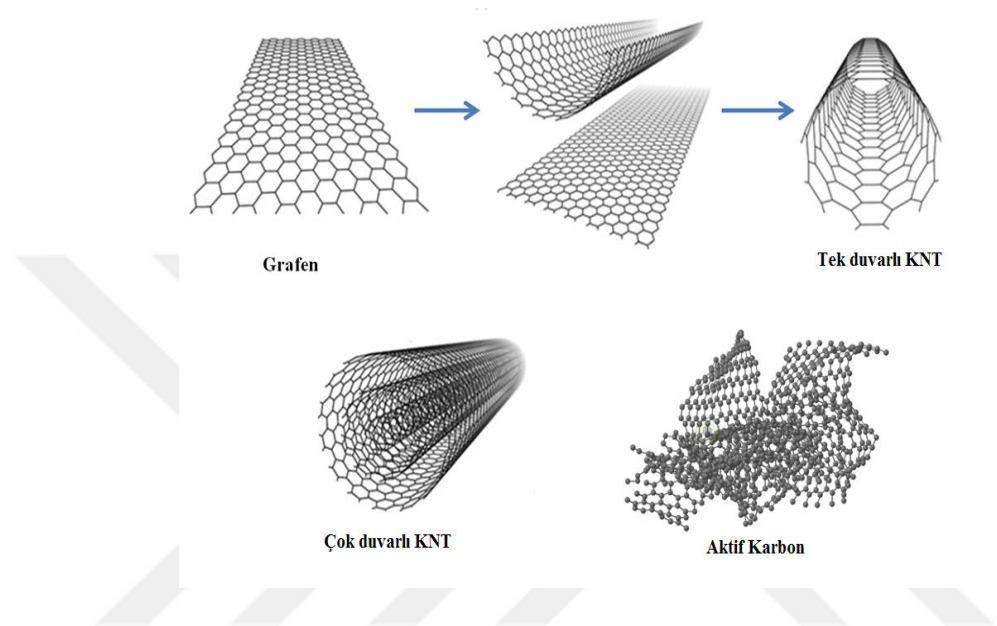
**Çizelge 2.2.** Sensör tasarımında önemli parametreler.

Sensör tasarımında önemli parametreler	Örnekler	Kaynaklar
<b>Destek Maddeleri</b>	Karbon türleri	Lopez vd., 2004
	Silika	Boudjahem vd., 2004
	Alümina	Balint vd.,2004
	Titanyum dioksit	Konova vd., 2004
	Polimer destekler	Greci vd., 2001
<b>Kimyasal Reaksiyonlar</b>	Hidrojenasyonlar	Grunes vd.,2002
	İndirgeme reaksiyonları	Ishiguro vd.,2002
	Bozunmalar	Delpeux vd.,2002
	Fuel Cell Reaksiyonları	Moore vd.,2003
	Dehalojenasyon	Nutt vd.,2006

### 2.6.1. Nanobiyosensör destek malzemeleri

Nanobiyosensör çalışmalarında sıklıkla karşımıza çıkan karbon sahip olduğu geniş yüzey alanı ve mükemmel elektrik iletkenliğinden dolayı hem kimyasal hem enzimatik biyokütle transformasyon reaksiyonlarında nanosensör ve nanosensör desteği olarak aktif rol oynamaktadır. Nanobiyosensör çalışmalarında kullanılan karbon yapısının göstermiş olduğu katalitik aktivitenin

üzerine çıkmak için karbon çeşitli nanometallerle, enzimlerle işlevselliği artırılabilir. Sıklıkla kullanılan destek malzemelerine birçok örnek verilebilir. Grafit, grafen, grafen oksit, çok duvarlı karbon nanotüb, aktif karbon, vulkan karbon vb. gibi daha birçok örnek sayılabilir. Şekil 2.13'te karbon türevlerinden birkaçı gösterilmiştir (Wang ve Yi Shi, 2014).



**Şekil 2.13.** Grafen, tek duvarlı KNT, çok duvarlı KNT ve aktif karbonun şematik gösterimi (Wang ve Yi Shi, 2014).

Gerçekleştirilmiş olan bu tez çalışmasında sağladığı mükemmel iletkenlik, geniş yüzey alanı sayesinde şekil 2.13'te gösterilen aktif karbon (AK) seçilerek indirgenme reaksiyonunda kullanılmıştır.

### 3. MATERYAL – METOT

Nanobiyosensör tasarımlarında yüksek iletkenlik, yüksek hassasiyet ve uzun ömürlü olması için yüksek dayanıklı yapıda olan destek malzemelerin kullanılması ile birçok farklı yapıda sensör tasarımlarına ihtiyaç duyulmuştur. Bu sebeble mükemmel bir elektriksel akım, yüksek hassasiyet, seçici ve dayanıklı bir nanobiyosensör için platin-nikel nanometalleriyle islevselleştirilmiş aktif karbon yapısı tasarlanmıştır. Burada kullanılan aktif karbon yapının yüzey alanını ve elektriksel iletkenliği arttırmak için kullanılmıştır. Yapının tamamı kimyasal indirgeme yöntemi ile hazırlanmasının ardından elektrokimyasal ve fiziksel karakterizasyonu gerçekleştirilmiştir.

#### 3.1. Materyal

##### 3.1.1. Cihaz ve Ekipmanlar

Amperometrik ve potansiyometrik ölçme işlemlerinde Gamry interface 3000 marka potansiyostat kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Gamry interface 3000 marka potansiyostat cihazı dışında

- Manyetik karıştırıcı (ISOLAB marka)
  - JEOL 200 kV TEM cihazı
  - Thermo Scientific spektrofotometre cihazı
  - 514 nm'lik lazer yayımlı Raman mikroskobu cihazı
  - Ultima+teta-teta yüksek çözünürlüklü goniometre içeren Panalytical Emperian difraktometresi cihazı
  - Analitik terazi (SHIMADZU AY220 marka)
  - Mikro pipet
- ekipmanları kullanılmıştır.

##### 3.1.2. Kimyasallar

Bu tez çalışmasının deneysel aşamasında 0,1 M glikoz çözeltisi, 10 µM glikoz çözeltisi, 1 M NaOH çözeltisi kullanılmıştır. Ayrıca kullanılan kimyasallar aşağıda verilmiştir.

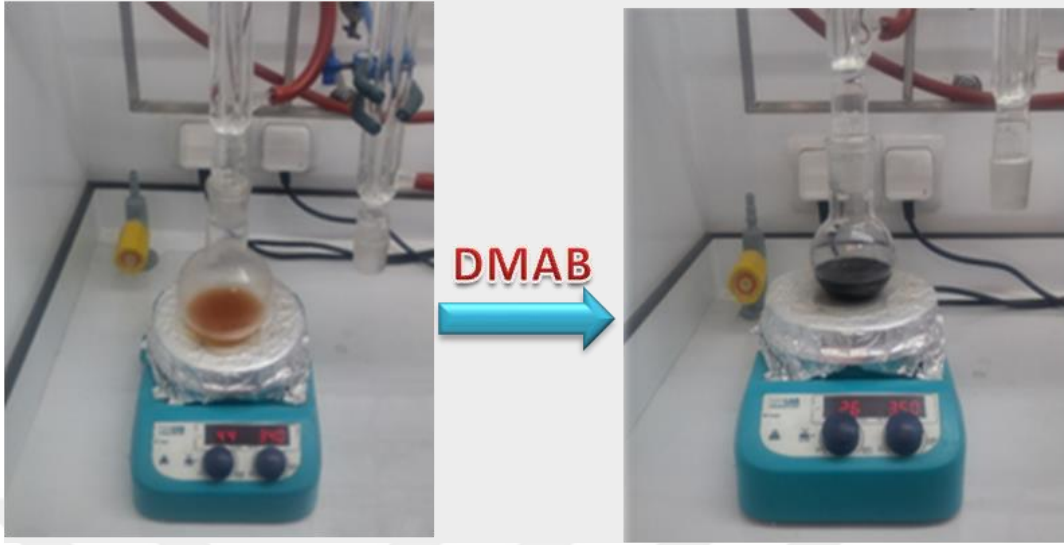
- PtCl<sub>4</sub> (Platin tetraklorür) (Sigma-Aldrich)
- Ni(OCOCH<sub>3</sub>)<sub>2</sub> · 4H<sub>2</sub>O (Nikel(II) Asetat tetrahidrat) (Sigma-Aldrich)
- Aktif karbon (Sigma-Aldrich)
- %5'lik Nafyon (Sigma-Aldrich)

- $C_6H_{12}O_6$  (Glikoz) (Sigma-Aldrich)
- NaOH (Sodyumhidroksit) (Sigma-Aldrich)
- NaCl (Sodyum klorür) (Sigma-Aldrich)
- $C_5H_4N_4O_3$  (Ürik asit) (Sigma-Aldrich)
- Dopamin hidroklorür (Sigma-Aldrich)
- Askorbik asit ( $C_6H_8O_6$ ) (Sigma-Aldrich)
- $(CH_3)_2NH \cdot BH_3$  (Dimetil Aminoboran) (Sigma-Aldrich)
- DMF (N,N-Dimetilformamid) (Sigma-Aldrich)

### 3.2. Metod

#### 3.2.1. AK, Pt@AK, Ni@AK, PtNi@AK nanobiyosensörlerin hazırlanması

PtNi@AK nanobiyosensörün sentezinde; 0.25 mmol  $PtCl_4$  metal tuzu ve 0.25 mmol Ni(acac) metal tuzu 15 ml THF içinde yaklaşık olarak 2 saat karıştırılarak homojen çözünmesi sağlanmıştır. Karıştırma işlemi devam ederken topaklanmayı önlemek ve homojen bir dağılım sağlamak için bis(heksametilen)triamin den 0,25 mmol çözeltiye ilave edilmiştir. Yaklaşık 15 dakika kadar karıştırma yapıldıktan sonra üzerine 2.5 mmol aktif karbon destek malzemesi ilave edilerek karıştırılmaya devam edilmiştir. Platin ve nikel nanoparçacıkların oluşumu için indirgeme aşamasından önce gerekli olan azot atmosferi sağlanmıştır. Burada oluşturulan azot atmosferinin amacı indirgeme işleminde indirgenen maddelerin oksijen varlığında tekrardan yükseltgenmesini engellemektir. Ardından indirgeme işlemini gerçekleştirmek için 148 mg DMAB eklenerek  $90^{\circ}C$ ' de 2 saat süreyle reflux yapılmıştır. DMAB ilavesinden sonra gözlemlenen kahverengi-siyah renk değişimi bize platin ve nikel nanoparçıkların oluşumunu kanıtlamıştır (Şekil 3.1). Hazırlanmış olan aktif karbon bazlı platin-nikel nanosensörünün sentezi tamamlandıktan sonra defalarca etanol ile yıkanarak sentifrüj işlemi uygulanmıştır. Yıkama işleminin ardından sentezlenen nanoyapı kurutulması için vakumlu etüve bırakılmıştır. Gerçekleştirilen tüm bu aşamalar ayrı ayrı AK, Pt@AK ve Ni@AK içinde uygulanmıştır.



Şekil 3.1. Pt-Ni nanoparçacıkların oluşumu.

### 3.2.2. Elektrot solüsyonlarının ve çalışma elektrotlarının hazırlanması

Sentezlenmiş olan nanobiyosensörlerinden elektrot solüsyonları hazırlanması aşamasında biyonanosensörlerden (AK, Ni@AK, Pt@AK ve Ni-Pt@AK) elektrot solüsyonları hazırlanırken 0,02 gr tartılarak ve 4 ayrı flaska alındı. Üzerine 150  $\mu\text{L}$  DMF ve 1000  $\mu\text{L}$  distile su ve 75  $\mu\text{L}$  Nafyon ilave edildi. Ardından hazırlanan elektrot solüsyonun homojen karışımı sağlaması için ultrasonik banyoda bekletildi. Hazırlanmış olan 4 farklı elektrot solüsyonu mikro pipet yardımıyla alınarak (10  $\mu\text{L}$ ) camısı karbon elektrot üzerine damlatılarak etüvde kurumaya bırakıldı. Böylelikle elektrokimyasal analiz için gerekli olan çalışma elektrotlarının her biri ayrı ayrı hazırlanmış oldu.

### 3.2.3. Elektrokimyasal hücrenin hazırlanması

Yapılan çalışmada elektrokimyasal ölçümler bir bilgisayar kontrollü potansiyostat/galvanostat (Gamry Interface 1000) kullanılarak gerçekleştirildi. Elektrokimyasal ölçümler için üçlü elektrot sistemi kullanıldı. Bu üçlü elektrot sistemi çalışma elektrotu olarak camısı karbon elektrot (çapı 3 mm) karşı elektrot (platin tel levha) ve referans elektrottan (Ag/AgCl) oluşmaktadır. Elektrokimyasal ölçümler alınmadan önce çalışma elektrotları alümina ( $\text{Al}_2\text{O}_3$ ) ile temizlendikten sonra etanolden geçirildi. Çalışma elektrotların temizlenmesinden sonra hazırlanmış olan sensör solüsyonları 3 mm çaplı camısı karbon elektrotlarına damlatılıp kurutuldu. Ardından üçlü elektrot hücre sistemi Şekil 3.2 'de görüldüğü hazırlanıp gerekli bağlantılar yapılarak hücre sisteminden 4-5 dakika azot gazı geçirilerek inert bir ortam sağlandıktan sonra hazırlanan elektrot solüsyonları ile modifiye edilmiş camısı karbon

elektrotlar kronovoltametri ve kronoamperometri ölçümlerinde kullanıldı. Ölçüm esnasında 0.1 M NaOH elektrolit olarak kullanıldı.



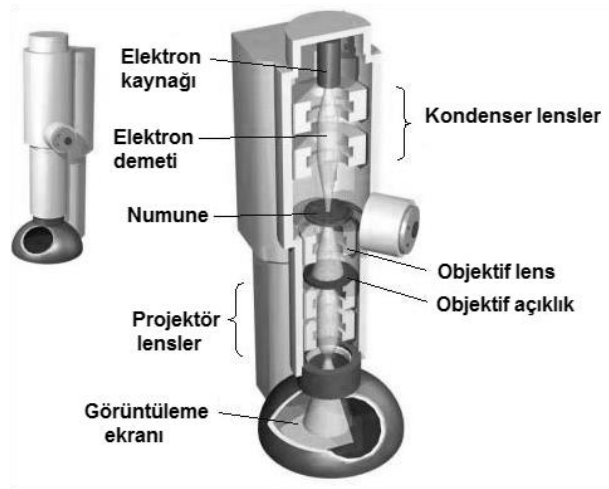
Şekil 3.2. Elektrokimyasal hücre düzeneği.

### 3.2.4. Hazırlanan nanosensörün karakterizasyonunda kullanılan teknikler

#### Geçirimli elektron mikroskobu (TEM)

TEM analizi nanoyapıların karakterizasyonunu gerçekleştirmede çok sık kullanılan malzeme bilimi için çok güçlü bir tekniktir (Şekil 3.3). TEM analizi morfolojik çalışmalar için 0.3  $\mu\text{m}$  ile 0.15 nm arasında genişletilerek yüksek çözünürlük sağlaması en büyük avantajıdır. TEM bu sayede nanoyapıların yüzey morfolojisi, boyutu, nanoparçacıkların dağılımı hakkında bilgi verir. Geliştirilmiş TEM modellerinde yapıdaki kafes kusurlarını hatta atom hareketlerini bile inceleyebilmektedir.

TEM'in çalışma prensibi yüksek enerjili bir elektron demeti çok ince bir numuneden geçirilir numuneden geçen elektronlar ve atomlar arasındaki etkileşimler sayesinde kristal yapı, yapıdaki yer değiştirme ve tane sınırları gibi özellikler gözlenebilmektedir. Ayrıca TEM sayesinde kimyasal analiz de yapılabilmektedir (Carter ve Williams, 2009). Ayrıca bu tez kapsamında hazırlanmış olan nanoparçacıkların geçirimli elektron mikroskobu analizleri, ODTÜ Merkez Laboratuvarı'nda yer alan JEOL 200 kV TEM cihazı kullanılarak yapılmıştır.



**Şekil 3.3.** Tipik bir TEM (Transmisyon Elektron Mikroskobu) cihazının görüntüsü (Carter ve Williams, 2009).

### **X-ışını kırınımı (XRD)**

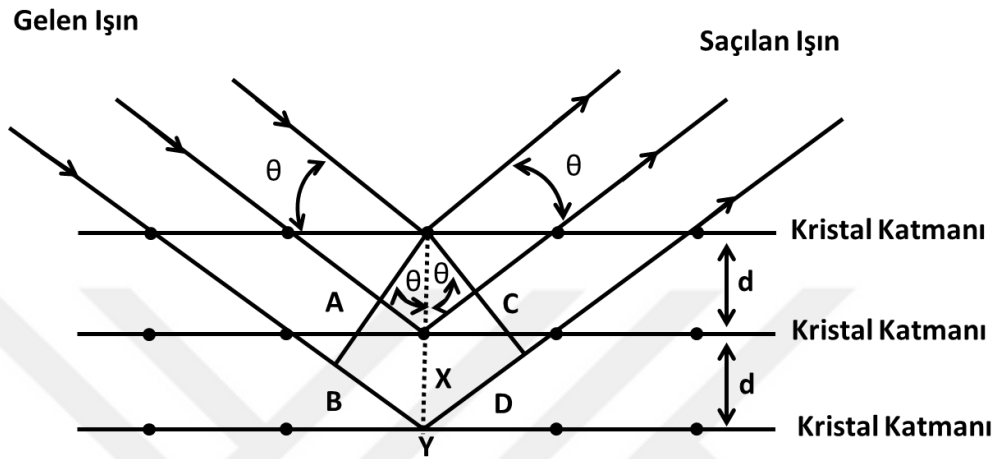
X-ışını kırınım tekniği sentezlenen nanoparçacıkların minerolojik analizinde sıklıkla kullanılan bir başka analizdir. Analiz edilen yapının parçacık boyutunu, bulunduğu düzlemi, kristal yapısını, kafes aralık parametrelerini ve yapının kimyasal bileşiminin tespit edilmesini sağlamaktadır. XRD kütüphanesinde yer alan spesifik piklerin analiz sonucu ortaya çıkan piklerle kıyaslanması sonucu analizin edilen maddenin kimyasal yapısı hakkında tanımlama yapılmaktadır. Ayrıca XRD tekniği sentezlenen nanoalaşım yapıların alaşım özelliğinin gerçekten oluşup oluşmadığını göstermek içinde kullanılmaktadır.

XRD tekniğinde numuneye gönderilen bir demet X-ışını numunenin atomlarıyla etkileşerek küçük ve geniş açılarla yansılar ve atomların bulunduğu paralel düzlemden saçılırlar. (Şekil 3.4) Gerçekleşen bu saçınımlar kırınım olarak adlandırılarak bu kırınım çok fazla sayıda atomun saçılmasından meydana gelmektedir. X-ışının kristal yapıdaki kırınımı William H. Bragg ve W. Lawrence Bragg tarafından keşfedilerek (Moudler vd., 1992) Bragg Kanunu ile açıklanmıştır. Bragg kanununun en basit şekli aşağıdaki formül ile gösterilmiştir.

$$n\lambda = 2d\sin\theta \quad (3.1.)$$

Şekil 3.4.'de verilen Bragg Kanununda; n kırınım sabitini,  $\lambda$  dalga boyunu, d kafes aralığını ve  $\theta$  kırılma açısını ifade etmektedir (He, 2009).

Bu tez kapsamında sentezlenen nanoparçacıkların X-ışını kırınımı analizleri için, KDPÜ İleri Teknolojiler Araştırma Merkezi bünyesinde bulunan Ultima+teta-teta yüksek çözünürlüklü goniometre içeren Panalytical Emperian difraktometresi kullanılarak analiz edilmiştir.



Şekil 3.4. Bir kristalde X-ışını kırınımı.

### X-ışını fotoelektron spektroskopisi (XPS)

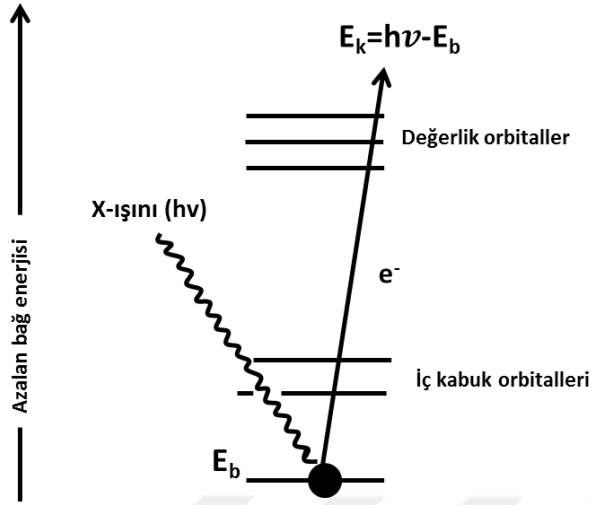
Malzemelerin yüzeyleri hakkında kimyasal bilgi edinmek için kullanılan X-ışını fotoelektron spektroskopisi oldukça gelişmiş bir yüzey analiz tekniğidir. XPS tekniği vakum altında analiz edilecek numuneye Şekil 3.5’te gösterildiği gibi  $h\nu$ ’lik bir monokromatik X-ışınları gönderilerek uyarılmasını sağlar (Şekil 3.5). Numuneye gelen her  $h\nu$ ’lik enerjili monokromatik X-ışını çekirdeğe en yakın kabuktan bir elektron koparır. Böylece kopan elektronların kinetik enerjisi ölçülerek o elektronun bağlanma enerjisi ortaya çıkar. Bunun sonucunda maddenin yüzey özellikleri yüzeyden saçılan elektronlar ile X-ışınındaki fotonlar arasındaki enerji farkı ölçülerek anlaşılır. (Brandon ve Kaplan, 2008) Aşağıdaki denklemde Bağlanma enerjisi açıklanmaktadır.

$$E_b = h\nu - (E_s + \phi) \quad (3.2.)$$

Bu denklemde  $E_b$ ; elektron bağlama enerjisi/eV,  $E_s$ ; elektron kinetik enerjisi/eV,  $h$ ; Planck sabiti/eV.s,  $\nu$ ; X ışınlarının olayı/s<sup>-1</sup> frekansı,  $\phi$ ; yüzey işlevi/eV olarak tanımlanmıştır.

Bu tez çalışması kapsamında sentezlenmiş olan nanoparçacıkların X-ışını fotoelektron spektroskopisi analizleri için, ODTÜ Merkez Laboratuvarı’nda Thermo Scientific spektrofotometre ile kullanılarak gerçekleştirilmiştir.





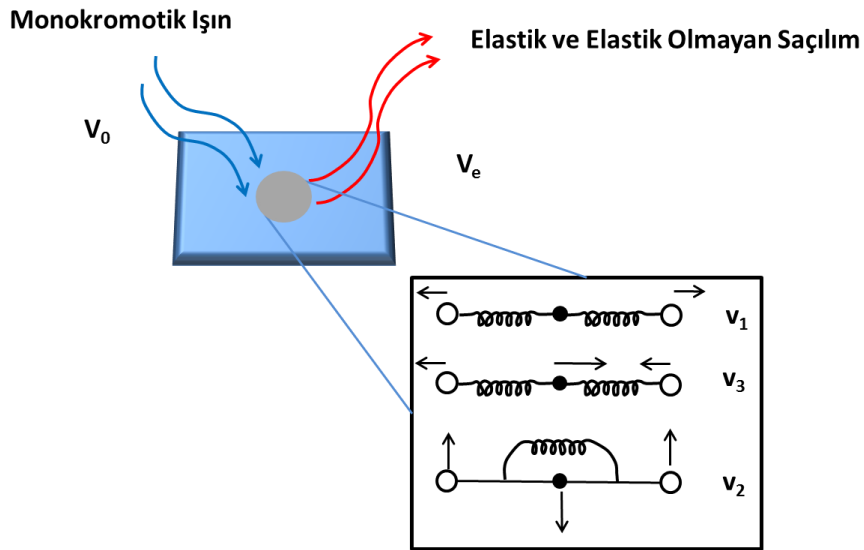
**Şekil 3.5.** X-ışını fotoelektron spektroskopisinde çekirdek düzeylerinden saçılan elektronların enerjileri.

### **Raman spektroskopisi (RS)**

Raman spektroskopisi, maddenin monokromatik ışığın elastik olmayan saçılması ile incelenmesi prensibine dayanmaktadır. Raman spektroskopisi maddenin yapısındaki atomların titreşimini inceleyerek kimyasal bileşimi ve madde hakkında gerekli bilgileri ortaya çıkaran bir analiz tekniğidir. (Şekil 3.6). Kaynaktan maddeye gönderilen lazer ışığı sistemdeki fotonlarla etkileşime girer. Gerçekleşen etkileşim sonucunda lazer fotonlarının enerjilerinde aşağı ve yukarıya kayma gözlemlenir (Gouadec vd., 2007). Enerji kayması sonucunda sistemdeki foton modları ile ilişkili bilgi verir. Kısaca raman spektroskopisinde, numune, numune molekülleri ile etkileşime giren ve saçılan bir ışık veren monokromatik bir lazer ışını ile aydınlatılır. Gelen ışıktan farklı bir frekansa sahip olan dağınık ışık (esnek olmayan saçılma) bir Raman spektrumu oluşturmak için kullanılır. Raman spektrumu, gelen monokromatik radyasyonu ve numune molekülleri arasındaki elastik olmayan çarpışma nedeniyle ortaya çıkar. Monokromatik bir radyasyon numuneye çarptığında, numune molekülleri ile etkileşiminin ardından her yöne dağılır. Bu dağınık radyasyonun çoğu, gelen radyasyonunun frekansına eşit bir frekansa sahiptir ve Rayleigh saçılımını oluşturur. Saçılan radyasyonun sadece küçük bir kısmı, gelen radyasyonunun frekansından farklı bir frekansa sahiptir ve Raman saçılımını oluşturur. Gelen radyasyonunun frekansı, dağınık radyasyonun frekansından yüksek olduğunda, Stokes çizgileri Raman spektrumunda görünür. Ancak olay radyasyonunun frekansı, dağınık radyasyonun frekansından düşük olduğunda, Raman spektrumunda anti-Stokes çizgileri belirir. Dağınık radyasyon, genellikle olay radyasyonuna dik açıda ölçülür. Stokes kaydırılmış Raman bantları, daha düşük

enerji yüksek titreşim seviyelerinden geçişleri içerir ve bu nedenle, Stokes bantları, anti-Stokes bantlarından daha yoğundur ve bu nedenle, geleneksel Raman spektroskopisinde ölçülür. Raman kaymalarının büyüklüğü, gelen radyasyonunun dalga boyuna bağlı değildir. Raman saçılması, gelen radyasyonunun dalga boyuna bağlıdır. Moleküler titreşim sırasındaki polarize edilebilirlikteki bir değişiklik, numunenin Raman spektrumunu elde etmek için temel bir gerekliliktir. Ramanın suya bağlı saçılması düşük olduğundan, su numuneleri çözmek için ideal bir çözücüdür. Bir Raman spektrumu, şiddete karşı dalga boyu kayması olarak grafiğe geçirilir. Raman spektrumları  $4000-10 \text{ cm}^{-1}$  aralığında kaydedilebilir. Bununla birlikte, Raman aktif organik moleküllerin normal titreşim modları  $4000-400 \text{ cm}^{-1}$  aralığında gerçekleşir. Spektrofotometrenin tasarımına ve optik bileşenlerine bağlı olarak, tipik Raman spektrumları dalga boyu bölgesini  $400-5 \text{ cm}^{-1}$  ile  $4000-3800 \text{ cm}^{-1}$  arasında kaplar (Skoog vd., 2006; Willard vd., 1998; Bumbrah vd., 2016).

Bu tez çalışması kapsamında kullanılmış olan aktif karbon Raman aktif bir maddedir. Bu yüzden sentezlenmiş olan yapının alaşım yapısını görebilmek için Raman analizi yapılmıştır. Raman analizi ODTÜ Merkez Laboratuvarı'nda yer alan  $514 \text{ nm}$ 'lik lazer yayımlı Raman mikroskobu kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

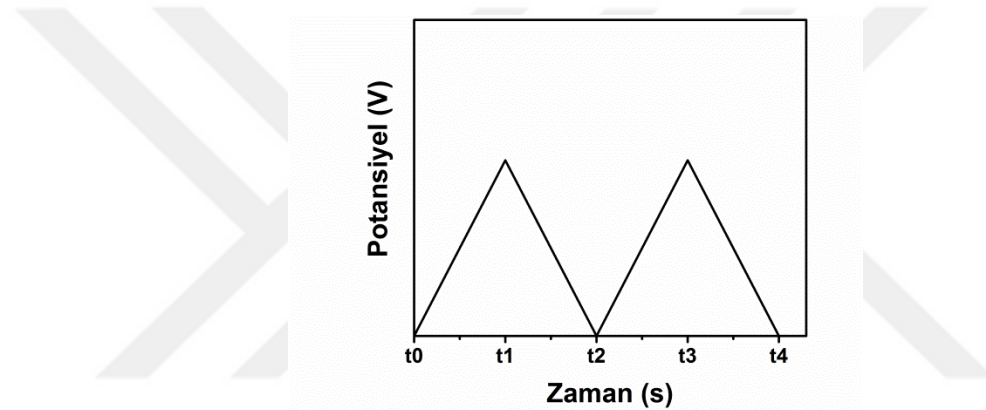


**Şekil 3.6.** Raman saçılım şeması ve iki atomlu bir molekülün olası titreşimleri (Gouadec vd., 2007).

### 3.2.5. Hazırlanan nanosensörlerin elektrokimyasal analiz teknikleri

#### Dönüşümlü voltametri (DV) tekniği

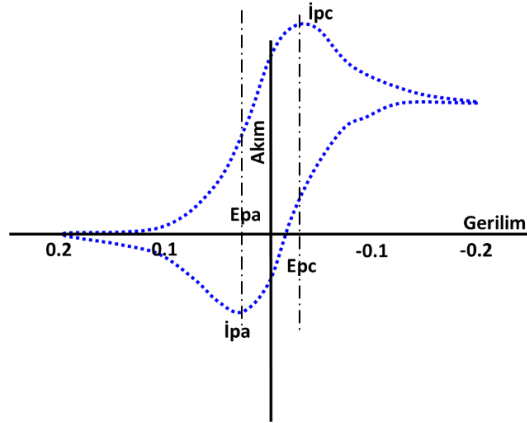
Elektrokimyasal ölçümlerin bir türü olan dönüşümlü voltametri (DV) reaksiyon sırasında meydana gelen indirgenme ve yükseltgenme basamaklarını görmek için kullanılan bir tekniktir. Dönüşümlü voltametri ölçümünde potansiyelin zamanla değişmesi incelenir. Zamanla potansiyelin değişimi tarama hızı olarak adlandırılır. DV tekniğinde anodik (artı) ve katodik (eksi) yönlerde potansiyel uygulanarak zamanla değişkenlik gösteren akım incelenir. Şekil 3.7’da Dönüşümlü voltametricde potansiyel-zaman grafiği verilmiştir.



Şekil 3.7. Potansiyelin zamanla değişimini gösteren dönüşümü.

Genelde dönüşümlü voltametri bir çözeltideki bir analitin elektrokimyasal davranışlarını incelemek için kullanılmaktadır. Referans elektrot ile çalışma elektrot arasındaki potansiyel değeri ölçülürken, çalışma elektrodu ve karşı elektrot arasında akım değeri ölçülür. Sonuç olarak potansiyele (E) karşı akım (i) grafiği elde edilir. Şekil 3.7’ de dönüşümlü voltametriye ait potansiyel akım grafiğinde ortaya çıkan anodik ve katodik tepe akımları gösterilmiştir (Kissinger ve Heineman, 1996).

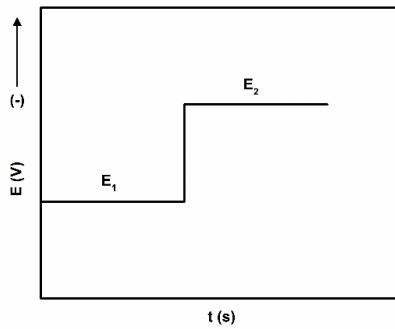
Bu tez kapsamında sentezlenen nanoparacıkların sensör özelliğinin araştırılması için gerçekleştirilen hazırlanan kronoamperometri (KA) ve dönüşümlü voltametri (DV) analizleri Sen Research Group Laboratuvarı’nda yer alan Gamry Reference 3000 Potentiostat/Galvanostat/ZRA cihazı kullanılarak yapılmıştır.



Şekil 3.8. Dönüşümlü voltamtride potansiyel-akım grafiği.

### **Kronoamperometri (KA) Tekniği**

Kronoamperometri tekniği ile çözelti içindeki çalışma elektrodunun potansiyelinde ortaya çıkan ani ve durgun olarak gerçekleşen akım-zaman ilişkisini verir. (Şekil 3.9) Çalışma elektroduna Şekil 3.9'deki gibi bir E1 potansiyeli uygulandığında herhangi bir indirgenme reaksiyonunun olmadığı anlaşılır. Uygulanan potansiyel aniden E2 seviyesine çıkartıldığında ise indirgenmenin difüzyon kontrollü olarak gerçekleşmektedir. Burada açıkça çalışma elektrodunun E1 potansiyelinde herhangi bir tepki vermezken potansiyel E2 ye çıkartıldığında çalışma elektrodunun bu potansiyele cevap verdiği gözlemlenmiştir. Genel olarak Kronoamperometri tekniğinde elde edilen akım-zaman grafiği şekil 3.9'da verilmiştir.



Şekil 3.9. Dönüşümlü Voltamtride Potansiyel-Akım Grafiği (Eren, 2014).

Elektrokimyasal ölçümlerden biri olan Kronoamperometri tekniği sayesinde bir maddenin difüzyon katsayısı hesaplanabilir, gerçekleşen reaksiyon mekanizması ve kinetiği hakkında bilgi sahibi olunabilir, reaksiyon hız sabiti hesaplanabilir ve elektortta adsorbsiyon mekanizmasının gerçekleşip gerçekleşmediği bilinebilir. (Bard ve Faulkner, 2001).

## 4. BULGULAR VE TARTIŞMA

### 4.1. Sentezlenen AK, Pt@AK, Ni@AK ve PtNi@AK Nanosensörlerinin Karakterizasyonu

Bu tez kapsamında sentezlenen aktif karbon temelli platin-nikel nanoparçacıklarıyla oluşturulmuş nanobiyosensörün karakterizasyonu TEM, HR-TEM (Geçirimli Elektron Mikroskobu) XPS (X-Işını Spektrofotometresi), XRD (X-Işını Kırınımı) ve Raman (Raman Spektroskopisi) teknikleriyle gerçekleştirilmiştir. Ayrıca sentezlenen nanosensörün elektrokimyasal çalışmaları Döngüsel Voltametri ve Kronoamperometri kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Çalışmalardan elde edilen sonuçlar alt başlıklar halinde aşağıda sırasıyla verilmiştir.

#### 4.1.1. Nanosensörlerin XRD (X-ışını kırınımı) analizi

Bu tez çalışması kapsamında sentezlenen aktif karbon temelli platin-nikel nanoparçacıklarıyla oluşturulmuş nanosensörün kristal yapısını anlamak ve ortalama kristal boyutunu hesaplamak için XRD analizi yapılmıştır. Şekil 4.1’de görülen XRD analizi sonucunda sentezlenen nanosensör kristal yapısının YMK (yüzey merkezli kübik) yapıda olduğu anlaşılmıştır. Ayrıca şekil 4.1’de PtNi@AK kırınım piklerinin PtNi@AK kırınım pikinin Pt@AK kırınım piklerine göre hafifçe sağa kayması PtNi@AK yapısının alaşım olduğunu kanıtlanmıştır. Bunun yanı sıra yaklaşık 25.4° lik derecede gözlemlenen karbon piki bize yapıda aktif karbonun varlığına işaret etmektedir. PtNi@AK nanosensör yapısının XRD analizi sonucunda gözlemlenen Pt (111), (200), (220) ve (311) kristal düzlemlerine karşılık 2θ değerleriyle sırasıyla 39.8°, 46.22°, 67.7° ve 81.4°’dir. XRD analizi sonucunda aşağıda verilen Scherrer denkleminde yararlanarak yapının ortalama kristal boyutu  $3.72 \pm 0.51$  hesaplanmıştır.

$$(\text{Å}) = \frac{k\lambda}{\beta \cos\theta} \quad (4.1.)$$

k= katsayı (0,9)

$\lambda$ =kullanılan X-ışını dalga boyu (1,54056 Å)

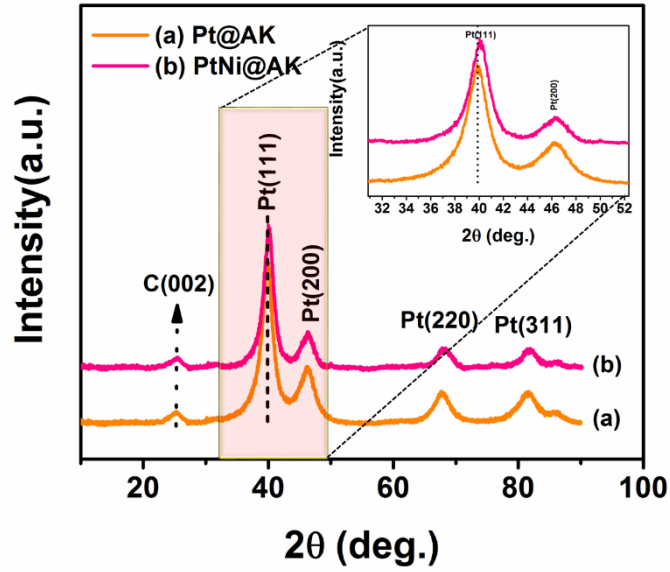
$\beta$ = ilgili kırılma tepe noktası tam genişliği, yarı maksimum kırılma piki (rad)

$\theta$ = pikin maksimum yükseklikteki açısı (rad)

Burada Pt (220) kırınım piki yapının ortalama kristal boyutunu ve nanopartiküllerin kafes parametre değerlerini ( $\alpha_{Pt}$ ) hesaplanmak için kullanılmıştır. PtNi@AK nanosensörün kafes

parametre değeri aşağıdaki kübik yapı için verilen formülden 3.927 Å olarak hesaplanmıştır. Bu değerin saf Pt için literatürde bulunan 3,923 Å değeri ile kıyaslandığında uyum içinde olduğu görülmüştür (Sen vd., 2014).

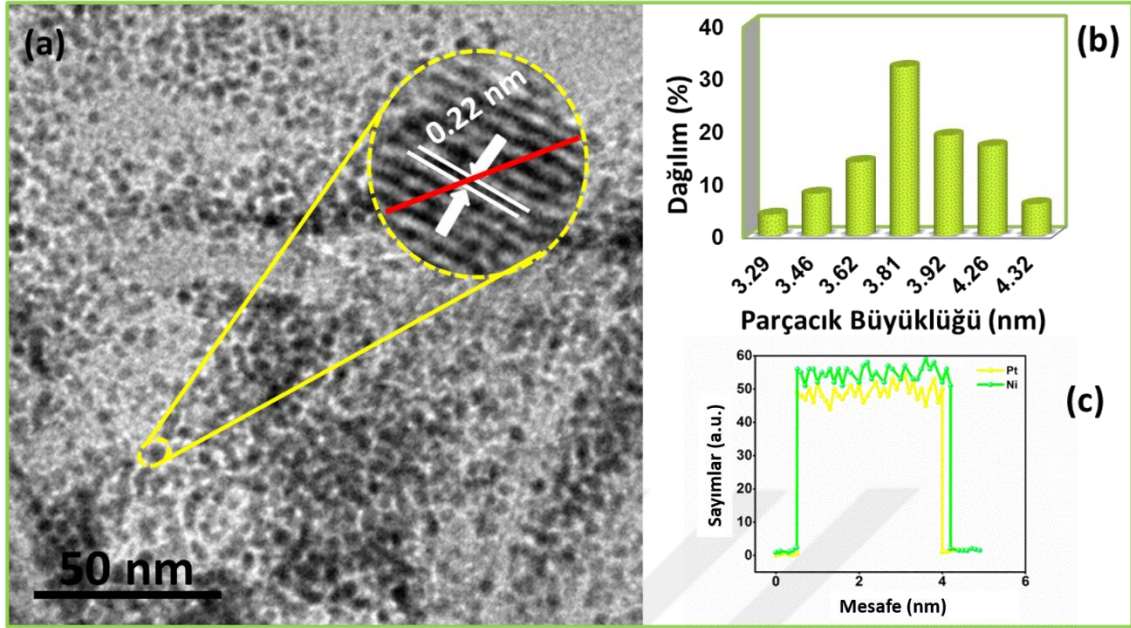
$$\sin\theta = \frac{\lambda\sqrt{h^2+k^2+l^2}}{2a} \quad (\text{kübik yapı için}) \quad (4.2)$$



Şekil 4.1. Ni@AK, Pt@AK, PtNi@AK X-ışını kırınım analiz sonucu.

#### 4.1.2. PtNi@AK nanosensörünün TEM (Geçirimli elektron mikroskobu) analizi

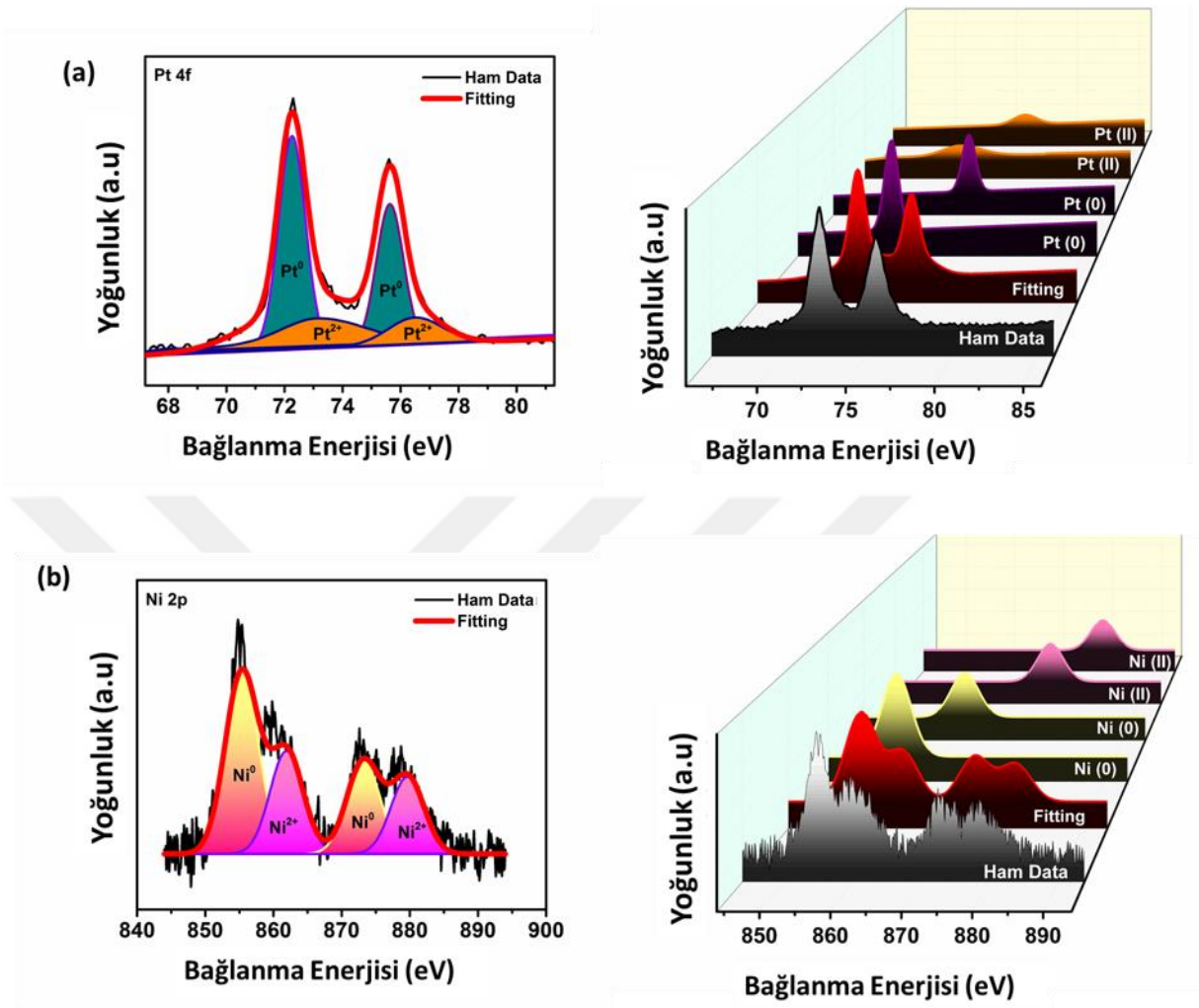
Hazırlanan nanosensör yapısının yapısal morfolojisi, içerik analizi ve parçacık boyutunun belirlenmesinde geçirimli elektron mikroskobu (TEM) ve yüksek çözünürlüklü elektron mikroskobu (HRTEM) kullanılmıştır. Hazırlanan sensör nanoyapısında platin-nikel nanometallerin aktif karbon üzerinde homojen dağılımı Şekil 4.2’de görülmektedir. Ayrıca TEM görüntüsünde kullanılan nanometallerin kümeleşmediği ve küresel yapıda bulunarak sabit kaldığı gözlemlenmiştir. TEM’de görüldüğü üzere homojen dağılımlı Pt-Ni@AK nanoyapısının ortalama parçacık boyutu  $3.81 \pm 0.52$  nm olarak bulunmuştur. Ayrıca Pt-Ni@AK nanoyapısının atomik kafes saçaklarını görmek için yüksek çözünürlüklü elektron mikroskobu (HRTEM) kullanılmış ve literatürdeki sonuçlarla tutarlı olduğu anlaşılmıştır (Ayrancı vd., 2019). Ayrıca şekil 4.2c’de görülen oklar üzerindeki EELS çizgi sonucu hazırlanan nanoyapıdaki platin ve nikel nanometallerinin varlığını kanıtlamaktadır.



**Şekil 4.2.** PtNi@AK Nanosensörünün (a) TEM-HRTEM görüntüsü (b) parçacık boyutu histogramı (c)EELS çizgi histogramı.

#### 4.1.3. PtNi@AK nanosensörünün XPS (X-ışını fotoelektron spektroskopisi) analizi

Hazırlanmış olan PtNi@AK nanosensörün yapısındaki platin ve nikelin oksidasyon durumlarını görmek için X-ışını fotoelektron spektroskopisi (XPS) kullanılmıştır. Bu çalışmada nanoyapının Pt 4f ve Ni 2p bölgesi Gauss-Lorentzian yöntemi ile incelenmiştir. Şekil 4.3'te XPS analizi sonucunda nanosensör yapısının (Pt-4f<sub>7/2</sub>: 72.1 eV, Ni-2p<sub>3/2</sub>: 855.1 eV) yüzeyinde çoğunlukla platin ve nikel sıfırların varlığı görülmektedir. Ayrıca literatürle kıyaslandığında şekilde görülen +2 valansların (Pt-4f<sub>5/2</sub>: 73.2 eV, Ni-2p<sub>1/2</sub>: 861.2 eV) küçüklüğü önemsiz derecededir. Elde edilen XPS sonuçlarına göre hazırlanan nanoyapıda kullanılan platin ve nikelin sıfır değerlikli metalik yapıda olduğu gözlemlenmiştir. Bununla birlikte yapıda indirgenmemiş türlerin, sentez ortamındaki yüzey oksidasyonu vb. sebebiyle yapıda platin (2+) ve nikel (2+) görülmektedir. Pt (4f) için görülen bağlanma enerjisinin Ni (2p)'den oldukça yüksek olması sebebiyle Pt için ortaya çıkan zirveler Ni zirvelerinden oldukça büyüktür. Bu da yapının alaşım oluşturarak AK yapısı üzerinde tutunmasıyla açıklanabilir.

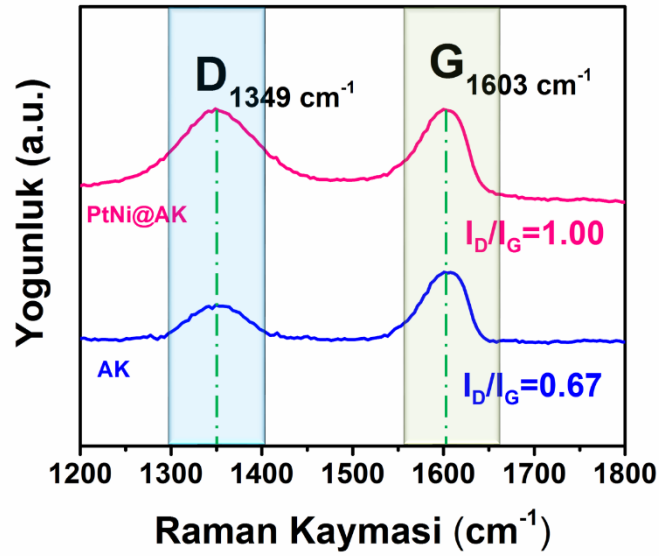


**Şekil 4.3.** PtNi@AK nanosensörünün (a) Pt 4f XPS spektrumu (b) Pt 4f'nin 3D görünümünün XPS spektrumları (c) Ni 2p XPS spektrumu (d) Ni 2p'nin 3D görünümünün XPS spektrumları.

#### 4.1.4. PtNi@AK nanosensörünün RAMAN (Raman spektroskopisi) analizi

Karbon içerikli yapılarda düzenli ve düzensiz karbon yapılarını gözlemleyebilmek için Raman spektroskopisi kullanılmıştır. Bu tez çalışmasında hazırlanan AK ve PtNi@AK nanosensör yapısının raman analizi Şekil 4.4.'te verilmiştir. Şekil 4.4' te görüldüğü gibi  $1349\text{ cm}^{-1}$  ve  $1603\text{ cm}^{-1}$ 'deki pikler, D ve G bandlarını göstermektedir. Burada D bandının G bandına oranı ID / IG olarak verilmektedir. Değişen ID / IG oranı AK nanoyapısının kusurlarını ve modifikasyon derecelerini görmek için kullanılmıştır. AK ve PtNi@AK Nanosensörünün raman spektroskopisi analizi sonuçlarında sırasıyla ID/IG değerleri 0,67 ve 1.00 olarak bulunmuştur. Elde edilen bu ID/IG değerleri sonuçlarına göre PtNi nanoparçacıklarının AK desteğine bağlandığı ve artık AK kendi yapısından çıkarak farklı bir nanomalzeme oluştuğunu kanıtlamaktadır.





Şekil 4.4. PtNi@AK nanosensörünün Raman spektroskopisi analizi sonucu.

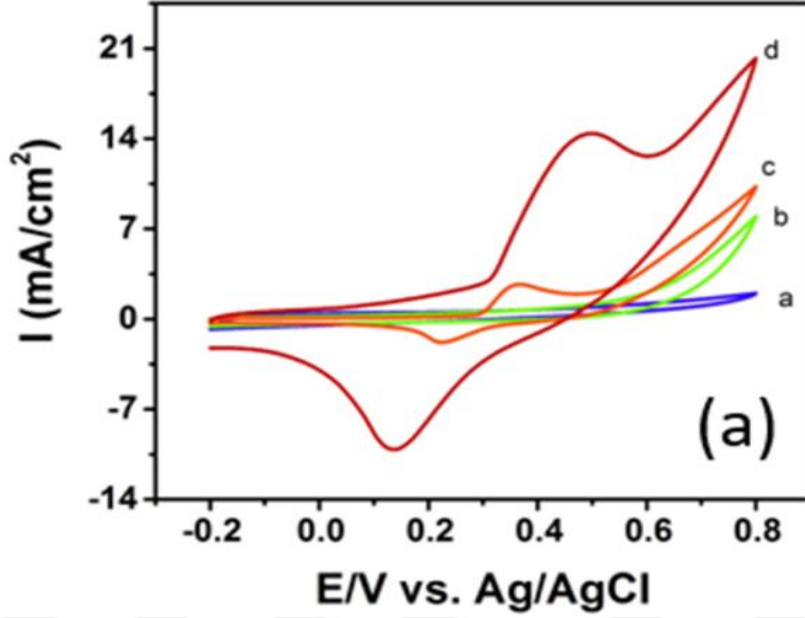
#### 4.2. Sentezlenen AK, Pt@AK, Ni@AK ve PtNi@AK Nanosensörlerinin Elektrokimyasal Aktivitelerinin Belirlenmesi

Hazırlanmış olan nanosensörün gerekli karakterizasyon teknikleriyle karakterize edilmesinden sonra nanosensörün glikoza karşı elektrokimyasal aktivitesi görmek için DV (Dönüşümlü voltametri) ve KA (Kronoamperometri) teknikleri kullanılmıştır.

##### 4.2.1. PtNi@AK nanosensörü ile kaplanan elektrodun karşılaştırma çalışmasına dair bulgular

Gerçekleştirilmiş olan karşılaştırma çalışmasında tampon çözelti olarak 0.1 M NaOH kullanılarak inert bir ortamda, hazırlanmış olan farklı AK, Pt@AK, Ni@AK, PtNi@AK nanosensörlerin glikoza karşı göstermiş olduğu aktivite DV çalışması ile belirlenmiştir. Her bir nanosensör için eşit miktar ve molarite de glikoz (0.3 Mm) sisteme ilave edilmiştir. Şekil 4.5'te verilen karşılaştırma çalışması sonucunda Pt(II)/ Pt(III) ve Ni(II)/Ni(III) anodik ve katodik pikleri 0.12 ve 0.49 V'de gözlenmiştir. Gerçekleştirilen karşılaştırma çalışmasında her bir farklı nanosensör için DV çalışması 50 mVs<sup>-1</sup> tarama hızında ve (-0.2 V) ile (0.8 V) potansiyel aralığında çalışılmıştır. Şekil 4.5' te görüldüğü gibi ortamda glikoz bulunurken AK, Pt@AK ve Ni@AK nanosensörlerin anodik ve katodik piklerinde çok büyük artış görülmezken PtNi@AK nanosensöründe çok dikkat çekici anodik ve katodik pik akımları elde edilmiştir. PtNi@AK nanosensörü için elde edilen bu dikkat çekici anodik ve katodik piklerin sebebi yapıda kullanılan

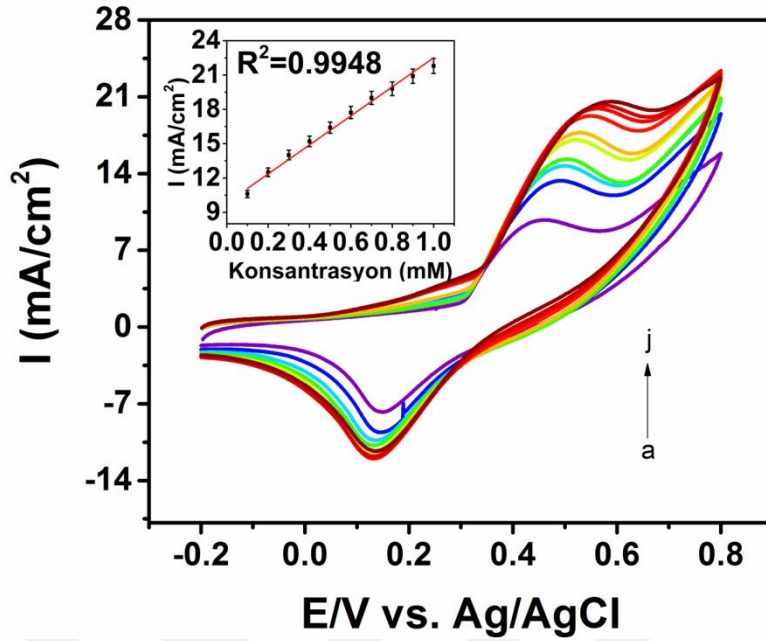
aktif karbonun sağlamış olduğu büyük yüzey alanı ile birlikte kullanılan platin ve nikel nanometallerinin glikozun glikonolaktone elektro-oksidasyonunun çok iyi derecede gerçekleştirdiğinin bir göstergesidir.



**Şekil 4.5.** (a) AK, (b) Pt@AK, (c) Ni@AK ve (d) PtNi@AK nanosensör elektrotlarının 0,1 M NaOH içerisinde 50 mV/s tarama hızında 0,3 mM glikoz ilavesinde DV sonuçları.

#### 4.2.2. PtNi@AK nanosensörü ile modifiye edilmiş elektrodun glikoz derişimin etkisi

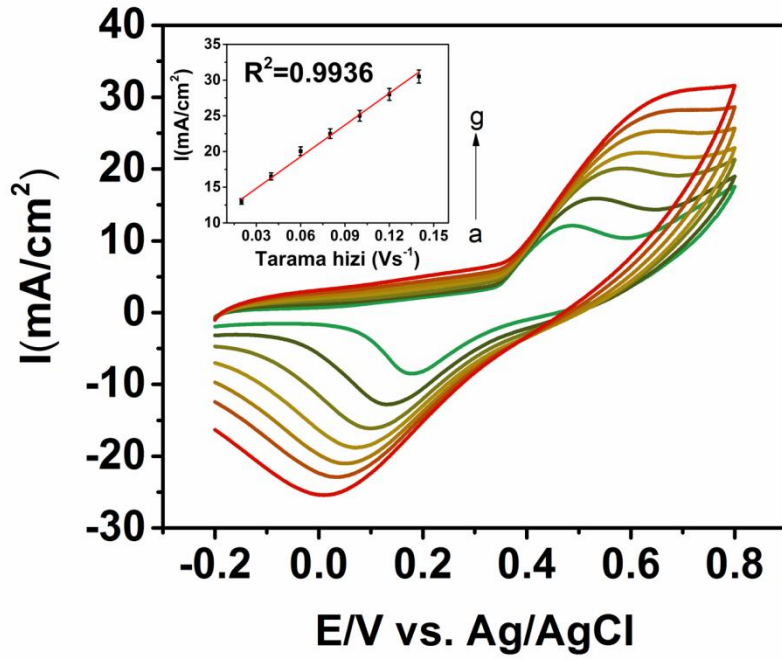
Hazırlanan PtNi@AK nanosensörüyle modifiye edilmiş elektrodun değişen glikoz derişimine verdiği tepki DV ile incelenmiştir. Şekil 4.6' da 0.1 M NaOH tampon çözeltisi içinde PtNi@AK nanosensörüyle modifiye edilmiş elektrodun 0,1 mM ila 1,0 mM arasında değişen glikoz derişimleri ilavesiyle ortaya çıkan anodik ve katodik akım pikleri gösterilmiştir. Bu çalışma sonucunda artan glikoz miktarıyla pik yoğunluğunda arttığı göze çarpmaktadır.



**Şekil 4.6.** 0.1 M NaOH'da PtNi@AK nanosensörüyle modifiye edilmiş elektrot için artan glikoz konsantrasyonlarındaki dönüşümlü voltamogramları aşağıdan yukarıya doğru: (a) 0,1; (b) 0,2; (c) 0,3; (d) 0,4; (e) 0,5; (f) 0,6 ve (g) 0,7; (h)0,8; (i)0,9; (j)1,0; Ek olarak kalibrasyon grafiği.

#### 4.2.3. PtNi@AK nanosensörü ile modifiye edilmiş elektrodun glikoza olan duyarlılığına tarama hızının etkisi

PtNi@AK'nın elektrokimyasal davranışları tampon çözelti içinde (0,1 M NaOH) artan tarama hızında 0.3 mM glikoz varlığında incelenmiştir. Gerçekleştirilen tarama hızı çalışmasında 20 mV/s'den 140 mV/s'ye kadar artan tarama hızında ortaya çıkan yükseltgenme ve indirgenme tepe akımları gözlemlenmiştir. PtNi@AK nanosensörü ile modifiye edilmiş elektrodun artan tarama hızıyla beraber göstermiş olduğu redoks reaksiyonu için difüzyon kontrollü olarak gerçekleştiği söylenebilir.



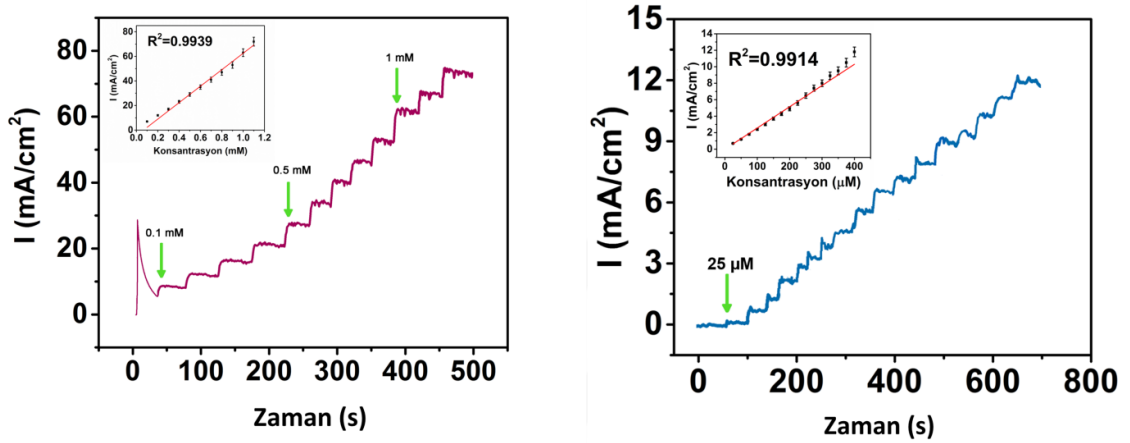
**Şekil 4.7.** 0.1 M NaOH’da PtNi@AK nanosensörüyle modifiye edilmiş elektrot için 0.5 mM glikoz varlığında artan tarama hızlarındaki (20 ile 140 mVs<sup>-1</sup>.) dönüşümlü voltamogramları. Ek olarak kalibrasyon grafiği.

Değişen tarama hızında elde edilen sonuca göre glikozun elektrokatalitik oksidasyonunun, glikozun ve PtNi@AK'nin redoks reaksiyonundaki yük transfer kinetik sınırlamaların arttığını göstermiştir. Bu tez çalışmasında gerçekleştirilen tüm elektrokimyasal ölçümlerde güçlü bir destekleyici olan NaOH 0.1 M gibi yüksek konsantrasyonda kullanıldığından dolayı yüksek omik düşüş nedeniyle Şekil 4.7’de görülen potansiyel olarak sağa kaymaları önemsizdir.

#### 4.2.4. PtNi@AK nanosensörü ile modifiye edilmiş elektrodun glikoza olan duyarlılığının amperometrik olarak tespiti

Bu çalışmada PtNi@AK nanosensörüyle modifiye edilmiş elektrotun tampon çözelti içinde 0,55 V’da sırasıyla 0.1 mM (şekil 4.8. (a)) ve 25 µM (şekil 4.8. (b)) glikoz ilavesiyle elektrotun göstermiş olduğu amperometrik cevaplar incelenmiştir. Alınan amperometrik sonuçlarda glikozun artan varlığında elektrodun göstermiş olduğu akım değerleri doğrusal denklem ile verilmiştir. Şekil 4.9(a) ve Şekil 4.9.(b)’de görüldüğü üzere elektrot ortama her ilave edilen glikozu oldukça kısa sürede algıladığı görülmüştür. Burada PtNi@AK nanosensörüyle modifiye edilmiş elektrotun 10 µM ila 1,2 mM arasında değişen glikoz konsantrasyonları

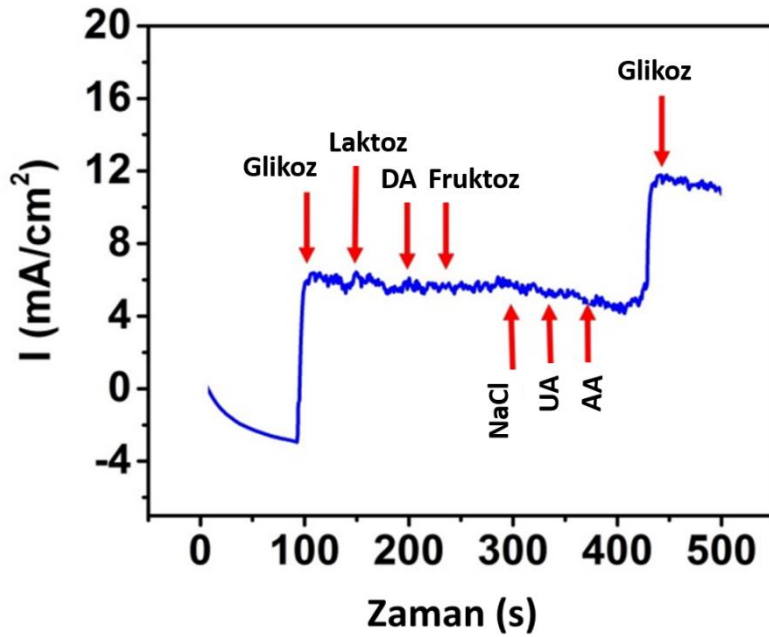
aralığında gerçekleştirilen amperometrik çalışmanın sonucunda çok yüksek doğrusal korelasyon değerlerine sahip olduğu görülmüştür. Bu doğrusal korelasyon katsayıları sırasıyla 0,9939 ve 0,9914 olarak ortaya çıkmıştır. Tasarımı gerçekleştirilen sensörün algılayabildiği en küçük tayin sınırı ise 0.052  $\mu\text{M}$  olarak hesaplanmıştır (S/N=3).



**Şekil 4.8.** (a) PtNi@AK nanosensörü ile modifiye edilmiş elektrodun 0,1 mM glikoz ilavesi sonucu elektrodunun amperometrik yanıtları. (b). PtNi@AK nanosensörü ile modifiye edilmiş elektrodun 25  $\mu\text{M}$  glikoz ilavesi sonucu elektrodunun amperometrik yanıtları.

#### 4.2.5. PtNi@AK nanosensörü ile modifiye edilmiş elektroda girişim etkisinde bulunan maddelerin incelenmesi

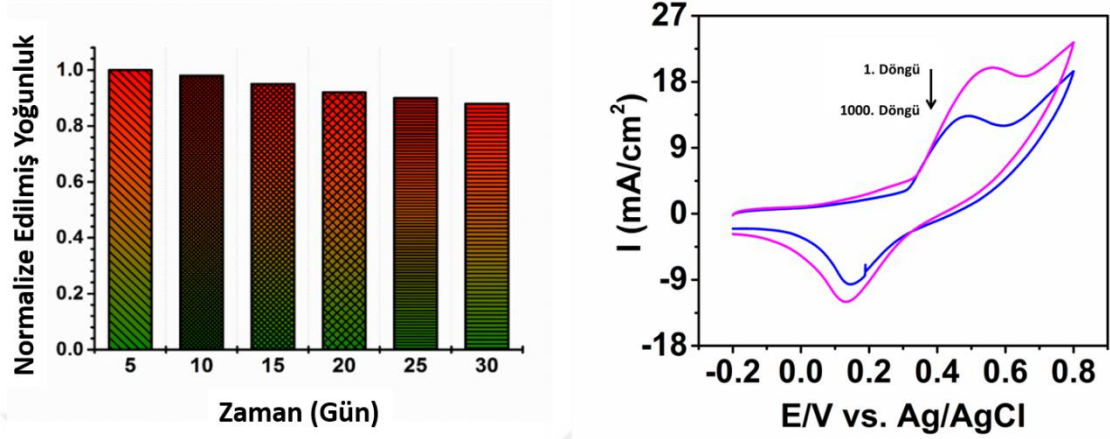
İnsan kan örneklerinde sadece glikoz bulunmaz; bunun yanında fruktoz, laktoz, ürik asit, dopamin, askorbik asit ve diğer karbonhidrat türevleride yer almaktadır. Bu nedenle biyosensörlerin seçici olması oldukça önemli bir özelliktir. Bu yüzden bu çalışmada tampon çözelti içinde PtNi@AK nanosensörü ile modifiye edilmiş elektroda +0,5 V potansiyelde 1 mM glikoz eklendikten sonra sırasıyla 0.1 mM laktoz, fruktoz, NaCl, AA (askorbik asit) , DA (dopamin) ve ÜA(ürik asit) eklendikten sonra elektrodun verdiği amperometrik yanıtlar incelenmiştir. İncelenen sonuçlar doğrultusunda Şekil 4.9'da görüldüğü gibi elektrot sadece glikoza büyük bir tepki verirken diğer girişim yapan maddelere vermiş olduğu tepki önemsiz derecededir.



**Şekil 4.9.** 0.1 M NaOH'da PtNi@AK nanosensörüyle modifiye edilmiş elektroduna girişim yapan maddelerin amperometrik yanıtı (0,1 M NaOH çözeltisi +0.5 V'de.).

#### 4.2.6. PtNi@AK nanosensörü ile modifiye edilmiş elektrodunun kararlılığının ve tekrarlanabilirliğinin incelenmesi

Bu başlık altında tasarladığımız sensörün uzun ve kısa dönem kararlılık aktiviteleri test edilmiştir. PtNi@AK nanosensörünün uzun dönem kararlılık çalışmasında 30 gün içinde sensörün glikoza verdiği tepkiler ölçülerek değerlendirme yapılmıştır. Ölçümler oda sıcaklığında tampon çözeltide 0.55 V'da gerçekleştirilerek elektrodun anodik tepe akımlarında değişimler kaydedilmiştir. Sonuç olarak sensörün 30 gün boyunca aktivitesinin %89'unu koruyarak mükemmel bir aktivite ve kararlılık sağladığı gözlemlenmiştir. Uzun dönem kararlılık çalışması sürecince tasarlanan sensör elektrod kullanılmayan zamanlarda buzdolabında tutulmuştur. Ayrıca sensörümüz için kısa dönem kararlılık çalışmasında çoklu döngü alınarak belirlenmiştir. Çoklu döngüde ise aynı çalışma şartlarında 1000 döngü alınarak yaklaşık 5 mA lik bir düşüş gözlemlenmiştir. Gerçekleştirilen bütün bu çalışmalar sonucunda tasarlanmış olan PtNi@AK nanosensörünün kısa ve uzun vadede oldukça kararlı bir yapıda olduğunu söyleyebiliriz. Buna ek olarak PtNi@AK nanosensörü için önemli parametreler çizelge 4.1'de verilerek Ni, Pt, Pt-Ni bazlı diğer sensörlerle karşılaştırma yapılmıştır. Bu karşılaştırma sonucunda da anlaşılır ki tasarlanmış olduğumuz enzimsiz PtNi@AK nanosensörü literatüre göre oldukça iyi performans sergilemiştir (Çizelge 4.1).



**Şekil 4.10.** +0.50 V'da 0,1 M NaOH tamponu içinde 1 mM glikoz varlığında 30 günlük uzun dönem kararlılık ve çoklu döngü voltamogramı.

**Çizelge 4.1.** Literatürde bulunan Pt ve Ni ile hazırlanmış bazı sensörler ve PtNi@AK'nin kıyaslanması.

Sensör Çeşitleri	Tayin Sınırı ( $\mu\text{M}$ )	Doğrusal Aralık ( $\mu\text{M}$ )	Hassasiyet ( $\mu\text{A mM}^{-1} \text{cm}^{-2}$ )	Referanslar
Ni nanowire arrays	0.1	0.5-7000	1043	(Lu vd., 2009)
Pt-Ni	0.3	0-15000	940	(Zhao vd., 2016)
Ni-Cu	0.8	1000-9000	-	(Jafarian vd., 2009)
NiO/Pt/ERGO/GCEs	0.2	50-5660	668.2	(Li vd., 2014)
PtNi-ERGO	10	~35000	20.42	(Gao vd., 2011)
Ni/Cu/MWCNT	0.025	2000-8000	2633	(Lin vd., 2013)
Pt-Ni@AK	0.052	1200'e kadar	40.900	Tez çalışması

### 4.3. PtNi@AK Nanosensörünün Kan Serumunda Glikoz Tayini

Tasarlanan PtNi@AK nanosensörünün günlük yaşamımızda kullanılabilirliğini test etmek için insan serum örneğindeki glikozu algılanmasında kullanılmıştır. Bu testi gerçekleştirmek için alınan her serum örneği seyreltikten sonra 10 mL 0,1 M NaOH çözeltisi içine her örnekten 20  $\mu\text{L}$  serum örneği ilave edilmiştir. Ve her numune için 3 farklı ölçüm yapılmıştır. Elde edilen deneysel sonuçlar Çizelge 4.2.'de verilmiştir. Geliştirilen sensörün biyolojik sıvıda test edilmesiyle elde edilen sonuçlar ticari glikoz sensörü ve hastane kan şekeri

tespit yöntemiyle karşılaştırılmıştır. Çizelgede verildiği gibi tasarlanmış olan sensörün sonuçları ile ticari glikoz metre sonuçlarının uyum içerisinde olduğu dikkat çekmektedir.

**Çizelge 4.2.** PtNi@AK camsı karbon elektrot kullanılarak insan kan serum numunesinden tayin edilen glikoz miktarları.

Numune	Glikoz (mM)	RSD (N = 4)	Glikoz(mM) (ticari glikoz metre)
1	5.38	1.6	5.30
2	5.59	1.5	5.44
3	6.68	1.8	6.59
4	6.71	4.7	6.68



## 5. SONUÇLAR

Bu tez kapsamında tasarlanmış olan oldukça homojen dağılımlı aktif karbon temelli platin-nikel nanoparçacıklarla oluşturulmuş PtNi@AK nanosensörü son derece basit ve kolay bir yöntemle sentezlenmiştir. Enzimsiz tasarlanarak sentezlenmiş olan PtNi@AK nanosensörü sadece glikoz tayininde kullanılmıştır.

Bu tez çalışmasında tasarlanmış olan glikoz naobiyosenösü TEM, HRTEM, XPS, XRD ve RAMAN teknikleriyle karakterize edilmiştir. Gerçekleştirilen TEM analizi sonucunda PtNi nanoparçacıkların aktif karbon üzerinde homojen dağıldığı ve topaklanmaya uğramadığı açıkça görülmüştür. Ayrıca TEM analizi sonucuna göre yapının ortalama parçacık boyutu  $3.81 \pm 0.52$  gibi oldukça küçük ve ideal parçacık boyutuna sahip olduğunu göstermiştir. XRD analizinde de TEM analizini destekler nitelikte bir parçacık boyutu elde edilmiştir. XRD analizi sonucu yapının alaşım olduğu ortaya konmuştur. RAMAN analizi sonucunda ise aktif karbon desteğine PtNi nanoparçacıkların bağlandığını bir alaşım oluşturduklarını ortaya koymuştur. Yapının platin ve nikel bölgelerinin XPS analizi sonucunda ise platin ve nikel metallere (0) değerlikli parçacıklarının oranının (+2) değerlikli parçacıklardan daha yoğun olduğu görülmüştür. Bu durum bize elektrokimyasal analiz sonuçlarımızda yüksek akım değerleri elde edeceğimize öngörmüştür.

Karakterizasyon işlemlerinin tamamlanmasının ardından elektrokimyasal analiz sonuçları için kronoamperometri (KA) ve dönüşümlü voltametri (DV) analizleri gerçekleştirilmiştir. İlk elektrokimyasal çalışma olarak karşılaştırma çalışması yapılmıştır. Karşılaştırma çalışması için AK, Pt@AK, Ni@AK, PtNi@AK yapılarının glikoza olan tepkilerine bakılmıştır. Sonuç olarak en fazla akım PtNi@AK yapısında elde edilmiştir. Bu sonuç doğrultusunda tüm çalışmalar PtNi@AK yapısı üzerinden devam etmiştir. Daha sonrasında PtNi@AK yapısının artan glikoza olan tepkisini ölçmek için dönüşümlü voltametri analizi gerçekleştirilmiştir. PtNi@AK yapısının her döngüde artan glikozu kusursuz şekilde algıladığı açıkça sonuçlandırılmıştır. Aynı şekilde artan tarama hızında gerçekleştirilen dönüşümlü voltametri analizi sonucunda yapının her artan tarama hızında bünyesinde bulunan glikozu rahatça algıladığı tespit edilmiştir. Daha sonrasında gerçekleştirilen kronoamperometri (KA) testlerinde de yapının glikozu her şekilde her ölçümde rahatça algılayabildiği tespit edilmiştir.

Tüm elektrokimyasal çalışmalar sonucunda glikoz tayininde oldukça iyi performans sergileyen PtNi@AK nanosensörü için en düşük limit sınırı  $0.052 \mu\text{M}$  olarak tespit edilmiştir. Enzimsiz olarak tasarlanan PtNi@AK nanosensörü + 0.5 V'de yapılan elektrokimyasal çalışmalar

sonucunda oldukça yüksek bir hassasiyet ( $40.9 \text{ mA mM}^{-1} \text{ cm}^{-2}$ ) sergilediği gözlemlenmiştir. Nanosensörün göstermiş olduğu bu olağanüstü davranışlar nanosensörün tasarımında kullanılan nanometallerin glikoz dönüşüm reaksiyonunda oldukça aktif rol oynadıklarını göstermektedir. Yani tasarlanmış olan bu nanosensör yapısı mükemmel derecede elektrokimyasal algılamaya sahip olması yönünden enzimsiz glikoz sensörler için oldukça iyi bir aday diyebiliriz.

Geliştirilen bu eşsiz yapı, aktif karbon kullanımının sonucunda sağlamış olduğu yüksek yüzey alanı ve geniş iç gözenek yapısı ve bununla beraber platin-nikel arasındaki etkileşimler sonucunda ortaya mükemmel bir iletken yapı çıkarmıştır. Fakat PtNi@AK nanosensörünün en önemli özelliği kısa ve uzun dönemde oldukça kararlı bir yapıda bulunarak aktivitesini kaybetmemesidir. Bununla birlikte gerçekleştirilmiş olan tüm elektrokimyasal çalışmalar sonucunda PtNi@AK nanosensörünün; geniş çalışma aralığına, düşük algılama limitine, tekrarlanabilir ve kararlı bir yapıya sahip olduğu görülmüştür. Ayrıca PtNi@AK nanosensörünün insan kan serumunda glikoz algılaması için kullanıldığında ticari glikoz metrelerle oldukça uyumlu sonuçlar ortaya çıkardığı unutulmamalıdır.

Sonuç olarak bu tez kapsamında enzim kullanmadan tasarlanan glikoz biyosensör şeker hastalığının erken dönemde tanısına yönelik umut vaat eden bir biyosensör olması açısından oldukça önemlidir.

## KAYNAKLAR DİZİNİ

Ayrancı R., Demirkan, B., Sen, B., Şavk A., Ak M., Şen F., (2019), Use of the monodisperse Pt/Ni@rGO nanocomposite synthesized by ultrasonic hydroxide assisted reduction method in electrochemical nonenzymatic glucose detection. *Materials Science & Engineering C* 99 (2019) 951–95.

Bard, A. J., Faulkner, L. R. (2001), *Electrochemical methods Fundamentals and applications*, John Wiley & Sons, USA.

Bumrah, G. S., Sharma, R. M. (2016), Raman spectroscopy – Basic principle, instrumentation and selected applications for the characterization of drugs of abuse *Egyptian Journal of Forensic Sciences*. C.6, S.3, September (2016) 209-215.

Bhalla, N., Di Lorenzo, M., Pula, G. ve Estrela, P. (2015) Protein phosphorylation detection using dual-mode field-effect devices and nanoplasmonic sensors. *Scientific Reports*.5, 8687

Bhalla, N., Jolly, P., Formisano N., ve Estrela P., (2016) Introduction to biosensors. *Essays in Biochemistry* 60, 1–8.

Balint, I., Miyazaki, A. ve Aika, K. (2004). Effect of platinum morphology on lean reduction of NO with C<sub>3</sub>H<sub>6</sub>, *Physical Chemistry Chemical Physics*. 6, s.2000-2002.

Boudjahem, A. G., Monteverdi, S., Mercy, M. ve Bettahar, M. M., (2004). “Study of nickel catalysts supported on silica of low surface area and prepared by reduction of nickel acetate in aqueous hydrazine”. *Journal of Catalysis*. 221, s.325-334.

Bergveld, P. (1970), Development of an ion-sensitive solid-state device for neurophysiological measurements. *IEEE Transactions on Biomedical Engineering*. 1970;1(7):70–71. doi: 10.1109/TBME.1970.4502688.

Brandon, D. ve Kaplan, W. D. (2008), *Transmission Electron Microscopy, in Microstructural Characterization of Materials*, John Wiley & Sons, Ltd. s179-260.

Bhalla, N., Di Lorenzo, M., Pula, G. ve Estrela, P. (2014) Protein phosphorylation analysis based on proton release detection: potential tools for drug discovery. *Biosensors and Bioelectronics*. 54, 109–114

Bhalla, N., Formisano, N., Miodek, A., Jain, A., Di Lorenzo, M., Pula, G. vd. (2015) Plasmonic ruler on field-effect devices for kinase drug discovery applications. *Biosensors and Bioelectronics*. 71, 121–128

Carter, C. B., Williams, D. B., (2009), *Transmission electron microscopy, A text Book for Materials Science*, Springer.

Castillo, J., Gaspar, S., Leth, S., Niculescu, M., Mortari, A., Bontidean, I., Soukharev, V., Dorneanu, A.A., Ryabov, A.D. ve Csöregi, E. (2004). Biosensors for life quality Design, development and applications. *Sensors and Actuators B*, Cilt. 110, s.179-194.

### KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

Cremer, M. (1906), Über die Ursache der elektromotorischen Eigenschaften der Gewebe, zugleich ein Beitrag zur Lehre von den polyphasischen Elektrolytketten. *Essays in Biochemistry*, 1906; 47:562–608.

Cass, A. E., Davis, G., Francis, G. D., Hill, H. A. O., Aston, W. J., Higgins I. J., (1984). Ferrocene-mediated enzyme electrode for amperometric determination of glucose. *Analytical Chemistry*, 1984; 56:667–671.

Clark, L. C., Lyons, C. (1962). Electrode Systems for Continuous Monitoring in Cardiovascular Surgery. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 102/1:029–045.

Danielsson, B., Winqvist, F. (1990), in *Biochemistry* (Cass, A. E. G., ed.) Oxford University Press, Oxford.

Delpoux, S., Szostak, K., Frackowiak, E., Bonnamy, S. ve Beguin, F., (2002). “High Yield of Pure Multiwalled Carbon Nanotubes from the Catalytic Decomposition of Acetylene on in Situ Formed Cobalt Nanoparticles” *Journal of Nanoscience and Nanotechnology*, 2, s.481-484.

Diñçkaya, E. (1999), *Biyosensörler*, (Telefoncu, A., ed.), s.81., Ege Üniversitesi Fen Fakültesi Baskı Atölyesi, İzmir.

Eren, K., (2014), Bazı geçiş metallerinin arginin komplekslerinin elektrokimyasal özelliklerinin araştırılması, Yüksek Lisans Tezi, Çorum.

Fan, X., White, I. M., Shopova, S. I., Zhu, H., Suter, J. D., Sun, Y. (2008). Sensitive Optical Biosensors for Unlabeled Targets: A Review. *Analytica Chimica Acta*, 620/1–2:008–026.

Formisano, N., Jolly, P., Bhalla, N., Cromhout, M., Flanagan, S.P. ve Fogel, R. (2015) Optimisation of an electrochemical impedance spectroscopy aptasensor by exploiting quartz crystal microbalance with dissipation signals. *Sensors and Actuators B* 220, 369–375 CrossRef.

Gerard, M. Chaubey, A. Malhotra, B. D. (2002), *Biosensors and Bioelectronics*, 17, 345.

Greci, M. T., Pathak, S., Mercado, K., Prakash, G. K. S., Thompson, M. E. ve Olah, G. A. (2001). “Poly(p-hydroxystyrene) grafted polystyrene nanospheres: excellent hosts for silver and ruthenium nanoparticles”, *Journal of Nanoscience and Nanotechnology*, 1, s. 3-6.

Grunes, J., Zhu, J., Anderson, E. A. ve Somorjai, G. A., (2002). “Ethylene Hydrogenation over Platinum Nanoparticle Array Model Catalysts Fabricated by Electron Beam Lithography: Determination of Active Metal Surface Area”, *The Journal of Physical Chemistry B.*, 106, s. 11463-11468.

Griffin, E. G., Nelson, J. M. (1916), The influence of certain substances on the activity of invertase. *Journal of the American Chemical Society*, 1916; 38:722–730. doi: 10.1021/ja02260a027.

### KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

Guilbault, G. G. (1969), Montalvo J.G., Jr Urea-specific enzyme electrode. *Journal of the American Chemical Society*, 1969; 91:2164–2165. doi: 10.1021/ja01036a083.

Gavrilescu, M., Demnerova, K., Aamand, J., Agathos, S. ve Fava, F. (2015), Emerging pollutants in the environment: present and future challenges in biomonitoring, ecological risks and bioremediation. *New Biotechnology*, 32, 147–156.

Grayson, A. C. R., Shawgo, R. S., Johnson, A. M., Flynn, N.T., Li, Y., Cima, M. J. (2004), A BioMEMS review: MEMS technology for physiologically integrated devices. *IEEE Transactions on Biomedical Engineering*, 92, 6–21

Gao, H., Xiao, F., Ching, C.B., Duan, H., (2011), One-step electrochemical synthesis of PtNi nanoparticles-graphene nanocomposites for nonenzymatic amperometric glucose detection, *ACS Applied Materials & Interfaces*, 3, 3049–3057

He, B., B., (2009), Two-dimensional X-Ray Diffraction, John Wiley & Sons, Hoboken.

<https://www.news-medical.net/health/Biosensor-Applications.aspx>

<http://www2.chemistry.msu.edu/courses/cem419/cem372cyclicvoltammetry.pdf>.

[https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Biosens%C3%B6r\\_bile%C5%9Fenleri.png](https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Biosens%C3%B6r_bile%C5%9Fenleri.png)

Hughes, W. S. (1922), The potential difference between glass and electrolytes in contact with the glass. *Journal of the American Chemical Society*, 1922; 44:2860–2867. doi: 10.1021/ja01433a021.

Heineman, W. R., Jensen, W. B. Leland, C. Clark, Jr. (1918–2005) *Biosensors and Bioelectronics*. 2006; 21:1403–1404. doi: 10.1016/j.bios.2005.12.005.

Hammond, J. L., Formisano, N., Estrela, P., Carrara, S., Tkac, J. (2016). Electrochemical Biosensors and Nanobiosensors. *Essays in Biochemistry*, 60:069–080.

Ishiguro, A., Nakajima, T., Iwata, T., Fujita, M., Minato, T., Kiyotaki, F., Izumi, Y., Aika, K., Uchida, M., Kimoto, K., Matsui, Y. ve Wakatsuki, Y. (2002). “Nanoparticles of Amorphous Ruthenium Sulfide Easily Obtainable from a TiO<sub>2</sub>-Supported Hexanuclear Cluster Complex [Ru<sub>6</sub>C(CO)<sub>16</sub>]<sub>2</sub>: A Highly Active Catalyst for the Reduction of SO<sub>2</sub> with H<sub>2</sub>”, *Chemistry – A European Journal*, 8, s.3260-3268.

Jolly, P., Formisano, N. ve Estrela, P. (2015), DNA aptamer-based detection of prostate cancer. *Chemical Papers*, 69, 77–89

Jafarian M., Forouzandeh F., Danaee I., Gobal F., Mahjani M. G., (2009), Electrocatalytic oxidation of glucose on Ni and NiCu alloy modified glassy carbon electrode *Journal of Solid State Electrochemistry*, 13, s.1171-1179.

**KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)**

- King, H., Aubert, R. E. ve Herman, W. H. (1998), Global burden of diabetes 1995–2025: prevalence, numerical estimates and projections. *Diabetes Care*, 21, 1414–1431.
- Konova, P., Naydenov, A., Venkov, Cv., Mehandjiev, D., Andreeva, D. ve Tabakova, T. (2004). “Activity and deactivation of Au/TiO<sub>2</sub> catalyst in CO oxidation”, *Journal of Molecular Catalysis A: Chemical*, 213, s.235-240.
- Kissinger, P. T., Heineman, W. R., (1996), *Laboratory techniques in electroanalytical chemistry*, Marcel Dekker, New York.
- Kılınç, M. E. (1996). Enzime dayalı elektrokimyasal biyosensörlerin mediyatör kullanarak tasarımı, Yüksek Lisans Tezi, Ege Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İzmir.
- Lopez, N., Janssens, T. V. W., Clausen, B. S., Xu, Y., Mavrikakis, M., Bligaard, T. ve Norskov, J. K., (2004). “On the origin of the catalytic activity of gold nanoparticles for low-temperature CO oxidation” *Journal of Catalysis*, 223, s. 232-235.
- Louro, P. Silva, V. Vieira, M.A. Karmali, A. Vieira, M. (2013) Use of a-SiC: H semiconductor-based transducer for glucose sensing through FRET analysis, *Technological Innovation for the Internet of Things*, 394, s. 631–638.
- Lu, L. M., Zhang, L., Qu, F. L., Lu, H. X., Zhang, X. B., Wu, Z. S., Huan, S. Y., Wang, Q. A., Shen, G. L., Yu, R. Q., (2009). A nano-Ni based ultra sensitive nonenzymatic electrochemical sensor for glucose: enhancing sensitivity through a nano wire array strategy. *Biosensors and Bioelectronics*, 25, s.218–223.
- Liedberg B., Nylander C. (1983), Lunström I. Surface plasmon resonance for gas detection and biosensing. *Sensors and Actuators*,1983; 4:299–304.
- Li, M., Bo, X., Mu, Z., Zhang, Y., Guo, L., (2014) Electrodeposition of nickel oxide and platinum nanoparticles on electrochemically reduced graphene oxide film as a nonenzymatic glucose sensor, *Sensors and Actuators B*, 192, 261–268.
- Lin, K., Lin, Y., Chen, S., (2013) A highly sensitive nonenzymatic glucose sensor based on multi-walled carbon nanotubes decorated with nickel and copper nanoparticles, *Electrochimica Acta* 30, 164–172
- Masoud, T. (2016), Study of the effect of temperature on frequency behavior of carbon nanotube, sin mass sensitive sensor *International Conference on researches in Science and Engineering*, s.07-28.
- Matsumoto, F. Harada, M. Koura, N. Uesugi, S. (2003), Electrochemical oxidation of glucose at Hg adatom-modified Au electrode in alkaline aqueous solution, *Electrochemistry Communications*, 5, s. 42–46.

### KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

Moore, J. T., Corn, J. D., Chu, D., Jiang, R., Boxall, D. L., Kenik, E. A. ve Lukehart, C. M. (2003). "Synthesis and characterization of a Pt<sub>3</sub>Ru<sub>1</sub>/Vulcan carbon powder nanocomposite and reactivity as a methanol electrooxidation catalyst", *Chemistry of Materials*, 15, s. 3320-3325.

Moudler, J. F., Stickle, W., F., Sobol, P., E., Bomben, K., D., Chastain, J., (editor), (1992). *Handbook of X-ray photoelectron spectroscopy*, 2nd Edition, Perkin Elmer Corporation, Minnesota.

Meena, A., Rajendran, L. (2010). Mathematical Modeling of Amperometric and Potentiometric Biosensors and System of Non-Linear Equations – Homotopy Perturbation Approach. *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 644/1:050–059

Nichols, S. P., Koh, A., Storm, W. L., Shin J. H., ve Schoen M. H., isch, (2013), *Chemical Reviews*, 113, s. 2528.

Nutt, M. O., Heck, K. N., Alvarez, P. ve Wong, M. S. (2006). "Improved Pd-on-Au Bimetallic Nanoparticle Catalysts for Aqueous-Phase Trichloroethene Hydrodechlorination", *Applied Catalysis B: Environmental*, 69, s. 115–125.

Nelson, J. M., Griffin, E. G. (1916), Adsorption of invertase. *Journal of the American Chemical Society*, 1916; 38:1109–1115. doi: 10.1021/ja02262a018.

Olsan, A. (1991), Glucose and glucose containing syrups, Ullmann's encyclopedia of industrial chemistry. *VCH Publishers*, 12, 457-475

Özer, B. O. (2014). Kolesterol tayini için amperometrik bir biyosensör hazırlanması, Yüksek Lisans Tezi, Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.

Paddle, B. M. (1996), Biosensors for chemical and biological agents of defence interest *Biosensors & Bioelectronics*, 11, s.1069-1079.

Parker, K. K. ve O'Grady, M. (2015), *Porous electroactive hydrogels and uses thereof*. U.S. Pat. 8,999,378 B2.

Sarkar, P., Tothill, I., E., Setford, S., J., Turner, A. P. (1999), Screen-printed amperometric biosensors for the rapid measurement of L- and D-amino acids. *Analyst*, 124, s. 865.

Sassolas, A., Blum, L. J., Leca-Bouvier, B. D., (2011), Immobilization Strategies to Develop Enzymatic Biosensors, *Biotechnology Advances* 30, s. 489-571.

Sen, F., Karatas, Y., Gulcan, M., Zahmakiran, M., (2014), Amylamine stabilized platinum(0) nanoparticles: active and reusable nanocatalyst in the room temperature dehydrogenation of dimethylamine-borane, *RSC Advances*, 4, s.1526-1531. (XRD)

Suzuki S., Takahashi F., Satoh I., Sonobe N. (1975), Ethanol and lactic acid sensors using electrodes coated with dehydrogenase–collagen membranes. *Bulletin of the Chemical Society of Japan*, 1975; 48:3246–3249.

### KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Schultz, J. S. (1982), *Optical sensor of plasma constituents*. 4,344,438 A. U.S. Pat.
- Skoog, D. A., Holler, F. J. Crouch S.R. (2006), *Principles of instrumental analysis (6th ed.)*, Cengage Learning.
- Shabnam, L., Faisal S. N., Roy A.K., Haque E., Minett A. I., Gomes V. G. (2017), Doped graphene/Cu nanocomposite: A high sensitivity non-enzymatic glucose sensor for food. *Food Chemistry*. 221.751-759.
- Sharma, T. K., Ramanathan, R., Rakwal, R., Agrawal, G.K. ve Bansal, V. (2015), Moving forward in plant food safety and security through nanobiosensors: adopt or adapt biomedical technologies? *Proteomics* 15, 1680–1692
- Telefoncu, A., (1999). *Biyosensörler*, Lisans Üstü Yaz Okulu, Ege Üniversitesi Fen Fakültesi Yayınları, Aydın- Türkiye, s.280.
- Telefoncu, A., (1997). *Enzimoloji*, Ege Üniversitesi Fen Fakültesi Yayınları, Aydın- Türkiye, 446 s.
- Towseef, W., Amin Q. A., Quadir, N. (2013), Role of Biosensors in Agro-Food Technology. *Asian Journal of Home Science*, 8/1:347–352.
- Vestergaard, M. C., Kerman, K., Hsing, I. M. (2015), Tamiya E., editors. *Nanobiosensors and Nanobioanalyses*. Tokyo: Springer.
- Velasco-Garcia, M. N. (2009). Optical Biosensors for Probing at The Cellular Level: A Review of Recent Progress and Future Prospects. *Seminars in Cell and Developmental Biology*, 20/1:027–033.
- Van Dorst, B., Mehta, J., Bekaert, K., Rouah-Martin, E., De Coen, W., Dubruel, P. (2010), Recent advances in recognition elements of food and environmental biosensors: a review. *Biosensors and Bioelectronics* 26, 1178–1194
- Wang, J., Pamidi, P. V. A., Cepria, G. (1996), Electrocatalysis and amperometric detection of aliphatic aldehydes at platinum-palladium alloy coated glassy carbon electrode, *Analytica Chimica Acta*, 330, s. 151–158.
- Wang, J. (2001). Glucose biosensors: 40 yrs of advances and challenges. *Electroanalysis*, S.12, s. 983–988.
- Wang, J., (2008). Electrochemical Glucose Biosensors. *Chemistry Reviews*, S.108, s. 814-825.
- Wang, J., X. Zhang J., Parakash, M., (1999), Glucose microsensor based on electrochemical deposition of iridium and glucose oxidase onto carbon fiber electrodes, *Analytica Chimica Acta*, 395, s.11.



### KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

Willard, H. H., Meritt, L. L., Dean, J. J., Settle, Jr. F. A. (1988), *Instrumental methods of analysis* (7th ed.), CBS Publisher & Distributors, New Delhi.

Wang, X. ve Yi Shi, (2014), CHAPTER 1: *Fabrication Techniques of Graphene Nanostructures, in Nanofabrication and its Application in Renewable Energy*, s. 1-30.

Yamakoshi, K., Yamakoshi, Y. P., (2006), glucometry, a new approach for noninvasive blood glucose measurement using instantaneous differential near-infrared spectrophotometry, *Journal of Biomedical Optics*, 11, s.1-9.

Yang, J., Yu, J. H., RudiStrickler, J., Chang, W. J., Gunasekaran, S., (2013). Nickel nano-particle-chitosan-reduced graphene oxide-modified screen-printed electrodes for enzyme-free glucose sensing inportable microfluidic devices, *Biosensors and Bioelectronics*. 47, s. 530-538.

Yang, Z., Kasprzyk-Hordern, B., Frost, C. G., Estrela, P. ve Thomas, K. V. (2015), Community sewage sensors for monitoring public health. *Environmental Science & Technology*, 49, 5845-5846

Yoo, E. H., Lee, S. Y. (2010), Glucose biosensors: an overview of use in clinical practice. *Sensors*. 2010; 10:4558-4576. doi: 10.3390/s100504558.

Zhang, J., Z. Li, B., Xu, G., B., Cheng, G. J., Dong, S. J., (1999), *Analyst*, 124, s. 699.

Zhang, G., Malik, V. S., Pan, A., Kumar, S., Holmes, M. D., Spiegelman, D, Lin, X., Hu, F. B. (2010). Substituting brown rice for white rice to lower diabetes risk: a focus-group study in Chinese adults. *Journal of the American Dietetic Association*, 110:1216-1221.

Zhao, Y., Fan, L. Z., Hong, B., Ren, J. L., Zhang, M. S., Que, Q. M., Ji J. Y. (2016), Nonenzymatic detection of glucose using three-dimensional PtNi nanoclusters electrodeposited on the multiwalled carbon nanotubes *Sensors and Actuators B*, 231, s.800-810.