

**ÇANKIRI KARATEKİN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**İNDİRGENMİŞ GRAFEN OKSİT MODİFİYELİ ELEKTROTLAR ÜZERİNDE
POLİNÖTRAL KIRMIZININ HAZIRLANMASI VE
BİYOSENSÖR UYGULAMALARI**

Alper BİLGİ

KİMYA ANABİLİM DALI

**ÇANKIRI
2019**

Her hakkı saklıdır

TEZ ONAYI

Alper BİLGİ tarafından hazırlanan “İNDİRGENMİŞ GRAFEN OKSİT MODİFİYELİ ELEKTROTLAR ÜZERİNDE POLİNÖTRAL KIRMIZININ HAZIRLANMASI VE BİYOSENSÖR UYGULAMALARI” adlı tez çalışması 13.06.2019 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oy birliği ile Çankırı Karatekin Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalında Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Muhammed ALTUN

Jüri Üyeleri :

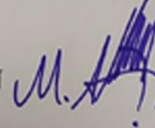
Başkan: Doç. Dr. Şevki ADEM



Üye: Dr. Öğr. Üyesi Burcu ÖZCAN



Üye: Dr. Öğr. Üyesi Muhammed ALTUN



Yukarıdaki sonucu onaylarım

Enstitü Müdürü

Prof.Dr. Tamer KEÇELİ

ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANNAMESİ

Çankırı Karatekin Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmenliğine göre hazırlamış olduğum “İNDİRGENMİŞ GRAFEN OKSİT MODİFİYELİ ELEKTROTLAR ÜZERİNDE POLİNÖTRAL KIRMIZININ HAZIRLANMASI VE BİYONSENSÖR UYGULAMALARI” konulu tezin bana ait, özgün bir çalışma olduğunu; çalışmamın hazırlık, veri toplama, analiz ve bilgilerin sunumu olmak üzere tüm aşamalarında bilimsel etik ilke ve kurallara uygun davrandığımı, tezin içerdiği yenilik ve sonuçları başka bir yerden almadığımı, tezde kullandığım eserleri usulüne göre kaynak olarak gösterdiğimi, tezin Çankırı Karatekin Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü’nden başka bir bilim kuruluna akademik amaç ve unvan almak amacıyla vermediğimi ve bu çalışmanın Çankırı Karatekin Üniversitesi tarafından kullanılan “Bilimsel İntihal Tespit Programıyla tarandığını, “intihal içermediğini” beyan ederim. Çalışmamla ilgili yaptığım bu beyana aykırı bir durumun saptanması halinde ortaya çıkacak tüm ahlaki ve hukuki sonuçlara razı olduğumu bildiririm. Çankırı Karatekin Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmenliğine ilgili maddeleri uyarınca gereğinin yapılmasını arz ederim. (13/06/2019).

Alper BİLGİ
(imza)

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

İNDİRGENMİŞ GRAFEN OKSİT MODİFİYELİ ELEKTROTLAR ÜZERİNDE POLİNÖTRAL KIRMIZININ HAZIRLANMASI VE BİYOSENSÖR UYGULAMALARI

Alper BİLGİ

Çankırı Karatekin Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Kimya Anabilim Dalı

Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Muhammed ALTUN

Çalışmada indirgenmiş grafen oksit modifiyeli elektrotlar üzerinde polinötral kırmızı (PNR) hazırlanmış ve biyosensör uygulaması olarak dopaminin (DA) amperometrik tayini amaçlanmıştır.

Çalışmada ilk olarak yüzey baskılı elektrotlar (SPCE) indirgenmiş grafen oksit (RGO) ile modifiye edilmiştir. Sonra SPCE-RGO'lar üzerinde nötral kırmızı elektropolimerizasyon tekniğiyle polimerleştirilerek SPCE-RGO-PNR elektrotları hazırlanmıştır. PNR'nin elektropolimerizasyonundaki optimum şartlar (döngü sayısı ve tarama hızı) belirlenmiş, SPCE-RGO-PNR elektrotlarının karakterizasyonları elektrokimyasal olarak gerçekleştirilmiştir. Son olarak SPCE-RGO-PNR elektrotları altın nanopartiküller (AuNP) ile modifiye edilmiştir. Hazırlanan SPCE-RGO-PNR-AuNP elektrotlarının biyosensör uygulaması olarak DA'nın amperometrik tayininde kullanılmıştır. DA'nın amperometrik tayininde optimum çalışma koşulları (optimum pH, optimum çalışma potansiyeli, doğrusal çalışma aralığı) belirlenmiştir. Analitiksel karakterizasyonları sonucunda DA sensörünün tekrarlanabilirliği 50 µM DA için bağıl standart sapma (R.S.D.) % 2,14 (n = 10), duyarlılığı 13,38 µA. mM⁻¹, tespit limiti ve tayin sınırı ise 0,17 µM ve 0,57 µM, doğrusal aralık 0,57 µM – 500 µM olarak bulunmuştur. Geliştirilen DA sensörü, yapay kan serumu numunelerinde DA tayini için kullanılmıştır.

2019, 71 sayfa

ANAHTAR KELİMELELER: İndirgenmiş grafen oksit, polinötral kırmızı, dopamin, biyosensör, yüzey baskılı elektrot

ABSTRACT

Master Thesis

PREPARATION OF POLYNEUTRAL RED ON REDUCED GRAPHENE OXIDE MODIFIED ELECTRODES AND BIOSENSOR APPLICATIONS

Alper BİLGİ

Cankiri Karatekin University

Graduate School of Natural and Applied Sciences

Department of Chemistry

Supervisors: Assist. Prof. Dr. Muhammed ALTUN

In this study, polynuclear red (PNR) was prepared on the reduced graphene oxide modified surface printed electrodes and it was aimed to amperometric detection of dopamine (DA) as a biosensor application.

Firstly, screen printed electrodes (SPCE) were modified with reduced graphene oxide (RGO). By the polymerizing of the neutral red on SPCE-RGOs with electropolymerization technique, SPCE-RGO-PNR electrodes were prepared. The optimum conditions of the electropolymerization of the PNR (the number of cycles and scan rate) were determined. The characterizations of the SPCE-RGO-PNR electrodes were performed electrochemically. Finally, the SPCE-RGO-PNR electrodes were modified with gold nanoparticles (AuNP). The SPCE-RGO-PNR-AuNP electrodes were used for the amperometric determination of DA as a biosensor application. The optimum working conditions (optimum pH, optimum working potential, linear working range) were determined in the amperometric determination of DA. The results of analytical characterizations, repeatability for 50 μM DA, sensitivity, the limit of detection and the limit of quantification and the linear range were found to be 2.14% ($n = 10$) as relative standard deviation (R.S.D.), 13,38 $\mu\text{A} \cdot \text{mM}^{-1}$; 0.17 μM and 0.57 μM and was 0.57 μM - 500 μM respectively. The developed DA sensor was used for DA determination in artificial blood serum samples.

2019, 71 pages

KEYWORDS: Reduced graphene oxide, polynuclear red, dopamine, biosensor, screen-printed electrode

ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR

Bu çalışmanın gerçekleşmesinde değerli bilgi ve tecrübeleriyle her zaman yol gösteren, güler yüzünü ve samimiyetini esirgemeyen değerli danışman hocam sayın Dr. Öğr. Üyesi Muhammed ALTUN'a,

Tez çalışmalarımı yürütmemde yardım eden ve manevi desteğini esirgemeyen Dr. Öğr. Üyesi Melike BİLGİ KAMAÇ'a, tezimin laboratuvar çalışmaları sırasında bana yardımcı olan Merve YILMAZ'a, hiçbir zaman desteklerini esirgmeden güvenerek sabırla ve inançla yanımda olan tüm çalışma arkadaşlarıma,

Bölümümüzün her türlü imkanından faydalanmamı sağlayan Çankırı Karatekin Üniversitesi Fen Fakültesi Kimya Bölümüne,

FF061218L07 nolu projemin desteklenmesi ile çalışmama katkıda bulunan Çankırı Karatekin Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimine,

Her anımda yanımda olup destek olan aileme,

15 Temmuz Şehitlerine ve Gazilerine teşekkürlerimi sunarım.

Alper BİLGİ

Çankırı, Haziran 2019

İÇİNDEKİLER

ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANNAMESİ.....	i
ÖZET.....	ii
ABSTRACT.....	iii
ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR.....	iv
SİMGELER DİZİNİ.....	vii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	viii
ÇİZELGELER DİZİNİ	xi
1. GİRİŞ	1
2. KURAMSAL TEMELLER.....	3
2.1. Biyosensörler	3
2.1.1. Biyosensörlerin yapısı ve sınıflandırılması	3
2.1.2. Elektrokimyasal biyosensörler	4
2.1.3. PNR.....	5
2.1.4. AuNP	6
2.1.5. Grafen, grafen oksit ve indirgenmiş grafen oksit	6
2.1.6. Döngüsel voltametri	8
2.1.7. Dopamin	9
3. MATERYAL VE METOT.....	11
3.1. Materyal.....	11
3.1.1. Kullanılan kimyasallar	11
3.1.2. Kullanılan cihazlar.....	11
3.1.2.1. Elektrokimyasal ölçüm sistemi.....	11
3.1.3. Kullanılan elektrotlar, hücreler ve konnektörler.....	12
3.2. Metot.....	14
3.2.1. Elektrot yüzeyinin temizlenmesi ve aktivasyonu	14
3.2.2. Destek elektrolit tampon çözeltisinin hazırlanması	14
3.2.3. SPCE'lerin RGO ile modifikasyonu.....	14
3.2.4. SPCE/RGO üzerinde PNR'nin hazırlanması.....	15
3.2.5. SPCE/RGO/PNR'lerin AuNP ile modifikasyonu.....	15
3.2.6. Elektrokimyasal ölçümler.....	15

4. BULGULAR	16
4.1. SPCE'ler üzerine indirgenmiş grafen oksitin modifikasyonu	16
4.2. İndirgenmiş Grafen Oksit Modifiyeli Elektrotlar Üzerinde Polinötral Kırmızının Hazırlanması	17
4.3.NR'nin SPCE/RGO Üzerindeki Elektropolimerizasyonunda Sayısının Optimizasyonu.....	23
4.4. NR'nin SPCE/RGO Üzerindeki 15 Döngü Elektropolimerizasyonunda Tarama Hızının Optimizasyonu.....	32
4.5. SPCE/RGO/PNR/AuNP'nin Elektrokimyasal Karakterizasyonu.....	36
4.6. Biyosensör Uygulaması.....	39
4.6.1.SPCE/RGO/PNR/AuNP'de Dopaminin Elektrokatalitik Yükseltgenmesi....	40
4.6.2. Elektrokimyasal DA Tayinine İlişkin Bulgular.....	48
4.6.2.1. pH optimizasyonu.....	48
4.6.2.2. Çalışma potansiyelinin optimizasyonu.....	51
4.6.2.3. Analitiksel karakterizasyon.....	52
4.6.2.4. Girişim testi.....	57
4.6.2.5. Gerçek numune analizi.....	59
5. TARTIŞMA VE SONUÇ.....	61
KAYNAKLAR.....	67
ÖZGEÇMİŞ.....	71

SİMGELER DİZİNİ

A	Elektrot yüzey alanı
AE	Yardımcı elektrot
AuNP	Altın nanoparçacık
cA	Analit derişimi
CV	Döngüsel voltametri
D	Difüzyon katsayısı
DPV	Diferansiyel puls voltametrisi
E_{pa}	Anodik pik potansiyeli
E_{pc}	Katodik pik potansiyeli
ΔE_p	Anodik ve katodik pik potansiyeli arasındaki fark
GO	Grafen oksit
I_{pa}	Anodik pik akımı
I_{pc}	Katodik pik akımı
μA	Mikroamper
mV	Milivolt
n	Alınan verilen elektron sayısı
PNR	Polinötral kırmızı
POC	Hasta başı test
Rbl	Zemine karşı alınmış cevap
RE	Referans elektrot
rGO	İndirgenmiş grafen oksit
Rss	Kararlı hal cevabı
SCE	Doygun kalomel elektrot
SEM	Taramalı elektron mikroskobu
SPCE	Screen printed electrode
v	Tarama hızı
V	Potansiyel
WE	Çalışma elektrodu

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1. Biyosensör şematik gösterimi.....	3
Şekil 2.2. Biyosensörlerin sınıflandırılması.....	4
Şekil 2.3. Nötral kırmızı molekül formülü.....	5
Şekil 2.4. Grafenin bal peteği görüntüsü.....	7
Şekil 2.5. Grafen Oksit.....	8
Şekil 2.6. Dopaminin molekül formülü.....	9
Şekil 3.1. Dropsens μ Stat 400 Bipotentiostat/Galvanostat.....	12
Şekil 3.2. Yüzey baskılı karbon elektrotların yapısı.....	12
Şekil 3.3. Yüzey baskılı elektrotlar için sensör konnektör çeşitleri.....	13
Şekil 3.4. Yüzey baskılı elektrotlar için elektrokimyasal hücre.....	13
Şekil 4.1. SPCE/RGO (A) ve yalın SPCE (B) elektrotlarının SEM görüntüleri.....	16
Şekil 4.2. NR'nin yalın SPCE üzerindeki 15 döngü elektropolimerizasyonunun döngüsel voltamogramları (0,1 M KNO_3 içeren pH 5,5 0,025 M fosfat tamponunda 1,0 mM NR monomer çözeltisinde, 50 mV.s^{-1} tarama hızında, 15 döngü).....	18
Şekil 4.3. NR'nin SPCE/RGO üzerindeki 15 döngü elektropolimerizasyonunun döngüsel voltamogramları (0,1 M KNO_3 içeren pH 5,5 0,025 M fosfat tamponunda 1,0 mM NR monomer çözeltisinde, 50 mV.s^{-1} tarama hızında, 15 döngü).....	18
Şekil 4.4. A) SPCE/PNR (15 döngü) elektrodunun tampon çözeltide - 1,1 V ile + 1,0 V potansiyel aralığında elde edilen döngüsel voltamogramları (Tarama hızı: 10, 25, 50, 75, 100, 125 mV.s^{-1} , 50 mM pH 7,0 fosfat tamponu, 0,1M KCl) B) A'da verilen döngüsel voltamogramlardan elde edilen pik akımı-tarama hızı grafikleri C) A'da verilen döngüsel voltamogramlardan elde edilen pik akımı-tarama hızının karekökü grafikleri.....	21
Şekil 4.5. A) SPCE/RGO/PNR (15 döngü) elektrodunun tampon çözeltide - 1,1 V ile + 1,0 V potansiyel aralığında elde edilen döngüsel voltamogramları (Tarama hızı: 10, 25, 50, 75, 100, 125 mV.s^{-1} , 50 mM pH 7,0 fosfat tamponu, 0,1M KCl) B) A'da verilen döngüsel voltamogramlardan elde edilen pik akımı-tarama hızı grafikleri C) A'da verilen döngüsel voltamogramlardan elde edilen pik akımı-tarama hızının karekökü grafikleri.....	22
Şekil 4.6. NR'nin SPCE/RGO üzerindeki 5 döngü elektropolimerizasyonunun döngüsel voltamogramları (0,1 M KNO_3 içeren pH 5,5 0,025 M fosfat tamponunda 1,0 mM NR monomer çözeltisinde, 50 mV.s^{-1} tarama hızında, 5 döngü).....	23
Şekil 4.7. NR'nin SPCE/RGO üzerindeki 10 döngü elektropolimerizasyonunun döngüsel voltamogramları (0,1 M KNO_3 içeren pH 5,5 0,025 M fosfat tamponunda 1,0 mM NR monomer çözeltisinde, 50 mV.s^{-1} tarama hızında, 10 döngü).....	24
Şekil 4.8. NR'nin SPCE/RGO üzerindeki 20 döngü elektropolimerizasyonunun döngüsel voltamogramları (0,1 M KNO_3 içeren pH 5,5 0,025 M fosfat tamponunda 1,0 mM NR monomer çözeltisinde, 50 mV.s^{-1} tarama hızında, 20 döngü).....	24
Şekil 4.9. SPCE/RGO/(PNR) _{5n} , SPCE/RGO/(PNR) _{10n} , SPCE/RGO/(PNR) _{15n} ve SPCE/RGO/(PNR) _{20n} elektrotlarının tampon çözeltide -1,1 V ile +0,9 V potansiyel aralığında elde edilen döngüsel voltamogramları (Döngü sayısı: 5, 10, 15 ve 20, 50 mM pH 7,0 fosfat tamponu, 0,1M KCl 25 mV.s^{-1} tarama hızında).....	25
Şekil 4.10. A) SPCE/RGO elektrodunun tampon çözeltide - 0,5 V ile + 0,7 V potansiyel aralığında elde edilen döngüsel voltamogramları (Tarama hızı: 10, 25, 50, 75,	

- 100, 125 mV.s⁻¹, 50 mM pH 7,0 fosfat tamponu, 0,1M KCl) B) A'da verilen döngüsel voltamogramlardan elde edilen pik akımı-tarama hızının karekökü grafikleri.....27
- Şekil 4.11. A) SPCE/RGO/PNR (5 döngü) elektrodunun tampon çözeltide - 1,1 V ile + 0,9 V potansiyel aralığında elde edilen döngüsel voltamogramları (Tarama hızı: 10, 25, 50, 75, 100, 125 mV.s⁻¹, 50 mM pH 7,0 fosfat tamponu, 0,1M KCl) B) A'da verilen döngüsel voltamogramlardan elde edilen pik akımı-tarama hızı grafikleri.....29
- Şekil 4.12. SPCE/RGO/PNR (10 döngü) elektrodunun tampon çözeltide - 1,1 V ile + 0,9 V potansiyel aralığında elde edilen döngüsel voltamogramları (Tarama hızı: 10, 25, 50, 75, 100, 125 mV.s⁻¹, 50 mM pH 7,0 fosfat tamponu, 0,1M KCl) B) A'da verilen döngüsel voltamogramlardan elde edilen pik akımı-tarama hızı grafikleri.....30
- Şekil 4.13. A) SPCE/RGO/PNR (20 döngü) elektrodunun tampon çözeltide - 1,1 V ile + 0,9 V potansiyel aralığında elde edilen döngüsel voltamogramları (Tarama hızı: 10, 25, 50, 75, 100, 125 mV.s⁻¹, 50 mM pH 7,0 fosfat tamponu, 0,1M KCl) B) A'da verilen döngüsel voltamogramlardan elde edilen pik akımı-tarama hızı grafikleri.....31
- Şekil 4.14. NR'nin SPCE/RGO üzerindeki 25 mV.s⁻¹ tarama hızlarında 15 döngü elektropolimerizasyonunun döngüsel voltamogramları (0,1 M KNO₃ içeren pH 5,5 0,025 M fosfat tamponunda 1,0 mM NR monomer çözeltisinde, 25 mV.s⁻¹ tarama hızında, 15 döngü)32
- Şekil 4.15. NR'nin SPCE/RGO üzerindeki 100 mV.s⁻¹ tarama hızlarında 15 döngü elektropolimerizasyonunun döngüsel voltamogramları (0,1 M KNO₃ içeren pH 5,5 0,025 M fosfat tamponunda 1,0 mM NR monomer çözeltisinde, 100 mV.s⁻¹ tarama hızında, 15 döngü).....33
- Şekil 4.16. A) 25 mV.s⁻¹ tarama hızında NR'nin elektropolimerizasyonu ile hazırlanan SPCE/RGO/NR elektrotlarının tampon çözeltide- 1,1 V ile + 0,9 V potansiyel aralığında elde edilen döngüsel voltamogramları (Tarama hızı: 10, 25, 50, 75, 100, 125 mV.s⁻¹, 50 mM pH 7,0 fosfat tamponu, 0,1M KCl) B) A'da verilen döngüsel voltamogramlardan elde edilen pik akımı-tarama hızı grafikleri.....34
- Şekil 4.17. A) 100 mV.s⁻¹ tarama hızında NR'nin elektropolimerizasyonu ile hazırlanan SPCE/RGO/NR elektrotlarının tampon çözeltide- 1,1 V ile + 0,9 V potansiyel aralığında elde edilen döngüsel voltamogramları (Tarama hızı: 10, 25, 50, 75, 100, 125 mV.s⁻¹, 50 mM pH 7,0 fosfat tamponu, 0,1M KCl) B) A'da verilen döngüsel voltamogramlardan elde edilen pik akımı-tarama hızı grafikleri.....35
- Şekil 4.18. SPCE, SPCE/RGO, SPCE/RGO/PNR ve SPCE/RGO/PNR/AuNP elektrotlarının 5 mM K₃Fe(CN)₆/K₄Fe(CN)₆ (0,1 M KCl içinde) çözeltisindeki -1,0 V ile +1,0 V potansiyel aralığı ve 50 mV.s⁻¹ tarama hızında elde edilen döngüsel voltamogramları.....37
- Şekil 4.19. A) SPCE/RGO/PNR/AuNP elektrodunun tampon çözeltide - 1,1 V ile + 0,9 V potansiyel aralığında elde edilen döngüsel voltamogramları (Tarama hızı: 10, 25, 50, 75, 100, 125 mV.s⁻¹, 50 mM pH 7,0 fosfat tamponu, 0,1M KCl) B) A'da verilen döngüsel voltamogramlardan elde edilen pik akımı-tarama hızının karekökü grafikleri.....38
- Şekil 4.20. SPCE/RGO/PNR/AuNP elektrodunun tampon çözeltide 30 döngü, -1,0 V ile +0,9 V potansiyel aralığı ve 50 mV.s⁻¹ tarama hızında, edilen döngüsel voltamogramları (50 mM pH 7,0 fosfat tamponu, 0,1M KCl).....39

- Şekil 4.21. SPCE, SPCE/RGO ve SPCE/RGO/PNR/AuNP elektrodunun 50 mV s^{-1} tarama hızında $-0,4 \text{ V}$ ile $+0,8 \text{ V}$ potansiyel aralığında 5 mM DA varlığındaki döngüsel voltamogramları (50 mM pH $7,0$ fosfat tamponu ($0,1 \text{ M KCl}$)).....40
- Şekil 4.22. SPCE/RGO/PNR/AuNP elektrodunun 50 mV s^{-1} tarama hızında 50 mM pH $7,0$ fosfat tamponunda ($0,1 \text{ M KCl}$) $-0,3 \text{ V}$ ile $+0,7 \text{ V}$ potansiyel aralığında 1 mM DA varlığında ve yokluğundaki döngüsel voltamogramı.....41
- Şekil 4.23. A) SPCE/RGO/PNR/AuNP elektrodunun 1 mM DA içeren 50 mM pH $7,0$ fosfat tamponunda ($0,1 \text{ M KCl}$ 'de) $-0,3 \text{ V}$ ile $+0,8 \text{ V}$ potansiyel aralığında farklı tarama hızlarındaki ($10\text{-}125 \text{ mV.s}^{-1}$) döngüsel voltamogramları B) A'daki verilerden yararlanılarak elde edilen akım-tarama hızı grafiği C) A'daki verilerden yararlanılarak elde edilen akım-tarama hızının karekökü grafiği D) A'da verilen döngüsel voltamogramlardan elde edilen pik potansiyeli-tarama hızının doğal logaritması grafiği.....44-45-46
- Şekil 4.24. SPCE/RGO/PNR/AuNP elektrodunun değişen DA konsantrasyonlarında ($0,05 \text{ mM}$ - 5 mM) $-0,4 \text{ V}$ ve $+0,9 \text{ V}$ potansiyel aralığındaki diferansiyel puls voltamogramları (50 mM pH $7,0$ fosfat tamponu, $0,1 \text{ M KCl}$; pulse amplitude: 5 mV , voltage step: 70 mV , pulse time: $0,1 \text{ s}$, scan rate: 10 mV.s^{-1}).....47
- Şekil 4.25. A) SPCE/RGO/PNR/AuNP elektrodunun $500 \text{ }\mu\text{M}$ DA içeren farklı pH'lardaki tamponlarda ($0,1 \text{ M KCl}$) $-0,3 \text{ V}$ ile $+0,8 \text{ V}$ potansiyel aralığında 50 mV.s^{-1} 'deki döngüsel voltamogramları B) A'da verilen döngüsel voltamogramlardan elde edilen anodik pik potansiyeli-pH grafiği.....49
- Şekil 4.26. DA'nın SPCE/RGO/PNR/AuNP elektrodunda elektroyükseltgenme reaksiyonu.....50
- Şekil 4.27. SPCE/RGO/PNR/AuNP biyosensörlerinin farklı potansiyellerde ($0,2 \text{ V}$, $0,25 \text{ V}$ ve $0,3 \text{ V}$) DA derişimine karşı elde edilen akım grafikleri (50 mM pH $7,0$ fosfat tamponu, $0,1 \text{ M KCl}$).....51
- Şekil 4.28. SPCE/RGO/PNR/AuNP elektrodunda $50 \text{ }\mu\text{M}$ NADH'nin ardışık katımı ile elde edilen örnek bir kronoamperogram ($+0,25 \text{ V}$, 50 mM pH $7,0$ fosfat tamponu, $0,1 \text{ M KCl}$).....52
- Şekil 4.29. SPCE/RGO/PNR/AuNP biyosensörleri ile DA derişimine karşı elde edilen akım grafikleri ($+0,25 \text{ V}$, 50 mM pH $7,0$ fosfat tamponu, $0,1 \text{ M KCl}$).....53
- Şekil 4.30. SPCE/RGO/PNR/AuNP biyosensörünün $50 \text{ }\mu\text{M}$ DA derişimine karşı elde edilen yüzde bağıl akım değerleri-gün sayısı grafiği ($+0,25 \text{ V}$, 50 mM pH $7,0$ fosfat tamponu, $0,1 \text{ M KCl}$).....55
- Şekil 4.31. SPCE/RGO/PNR/AuNP biyosensörünün farklı depolama zamanlarında $50 \text{ }\mu\text{M}$ DA derişimine karşı elde edilen akım grafikleri ($+0,25 \text{ V}$, 50 mM pH $7,0$ fosfat tamponu, $0,1 \text{ M KCl}$).....56
- Şekil 4.32. SPCE/RGO/PNR/AuNP biyosensörünün $50 \text{ }\mu\text{M}$ DA derişimine karşı elde edilen akım değerleri-hafta sayısı grafiği ($+0,25 \text{ V}$, 50 mM pH $7,0$ fosfat tamponu, $0,1 \text{ M KCl}$).....56
- Şekil 4.33. SPCE/RGO/PNR/AuNP elektrodunun 5 mM DA, AA, UA ve pH $7,0$ fosfat tamponundaki $-0,4 \text{ V}$ ile $+0,8 \text{ V}$ potansiyel aralığında, 50 mV.s^{-1} tarama hızında elde edilen döngüsel voltamogramları.....57
- Şekil 4.34. SPCE/RGO/PNR/AuNP elektrodunun 5 mM DA, AA, UA ve pH $7,0$ fosfat tamponundaki $-0,4 \text{ V}$ ile $+0,8 \text{ V}$ potansiyel aralığındaki diferansiyel puls voltamogramları (50 mM pH $7,0$ fosfat tamponu, $0,1 \text{ M KCl}$; pulse amplitude: 5 mV , voltage step: 70 mV , pulse time: $0,1 \text{ s}$, scan rate: 10 mV.s^{-1}).....58

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 4.1. Şekil 4.18’de verilen döngüsel voltamogramlardan elde edilen E_{pa} ve I_{pa} değerleri.....	37
Çizelge 4.2. Şekil 4.27’de verilen grafiklerden elde edilen duyarlık ve korelasyon katsayıları değerleri	51
Çizelge 4.3. DA’nin amperometrik tayini için SPCE/RGO/PNR/AuNP biyosensörleri ile elde edilen analitiksel parametreler.....	54
Çizelge 4.4. 20 μ M DA’nın tayinine girişim yapan analitlerin etkisi.....	59
Çizelge 4.5. Gerçek numune analizi sonuçları.....	60



1.GİRİŞ

Biyosensörler tıp, tarım, gıda, eczacılık, çevre kirliliği, savunma ve birçok endüstriyel aktivitede özellikle, otomasyon, kalite kontrolü ve durum tespitinde çok önemli rol oynarlar. Metabolitler, peptidler, proteinler ve DNA gibi biyomoleküller yanında bakteriler, virüsler gibi biyoparçacıkları ve birçok çevre kirletici veya gıda kirleticilerini çok seçici ve yüksek duyarlılıkta tayin edebilmektedirler. Ayrıca biyoterörizm aktiviteleri ve pandemilerin zamanında tespiti ve önlem alınması bakımından büyük önem taşımaktadır (Telefoncu 2012).

Biyosensörler, biyolojik analizlerde kullanılan ve farklı özellikteki kimyasal maddelere karşı verilen biyolojik yanıtların optik, ısıl, elektrik gibi sinyallere dönüştürülmesini sağlar. Biyosensörler, elektronik devrelerin zaman içinde gelişim göstermesi sonucu küçük boyutlu yapılar haline gelmişlerdir. Biyosensörlerin nano boyutlu çalışmalar sayesinde çipler üzerine montajı sağlanmıştır. Bununla birlikte elektronik alanda biyolojik yapıların bulundurulması ve farklı yanıt verme yetenekleri geliştirilmiştir.

Biyosensörler, analitin alınması ve sonuçların elde edilmesi arasında geçen süreyi oldukça kısaltmaktadır. Nanoteknoloji ile üretilen biyosensörler daha az analite ihtiyaç duyulmakta ve aynı zamanda yüksek düzeyde duyarlılık ve özgüllüğe sahip olmaktadır. Ölçüm düzeneklerinin otomasyon sistemine uygun ve taşınabilir olması değişik sektörlerde kullanılmasına imkân sağlar. Biyosensörler günümüzde ağırlıklı olarak biyomedikal alanlarda teşhis amaçlı kullanılır. Hiç şüphesiz biyomedikal cihaz teknolojisi biyosensör için en iyi uygulama alanlarından biridir. Biyomedikal alanında uygulama imkânı bulan ilk sensör enzim biyosensörüdür. Ticari amaçla üretilen ilk biyosensör şeker hastalığı teşhisi, kan ve idrarda glukoz tayini için geliştirilen glikoz oksidaz elektrotudur.

Dopamin (DA), vücutta doğal olarak üretilen bir kimyasaldır. Beyinde dopamin reseptörlerini aktive ederek nörotransmitter olarak görev yapar. Dopamin, ayrıca, hipotalamustan da salgılanır ve kana karışarak nörohormon görevi yapar. Nörohormon olarak görevi hipofizin ön lobundan prolaktin salgılanmasını baskılamaktır. DA'nın

düşük seviyeleri, Parkinson hastalığı ve şizofren gibi nörolojik bozukluklara neden olmaktadır. DA'nın tayini, nörokimya ve endüstriyel uygulamalarda kritik bir rol oynamaktadır. Bu nedenle DA'nın tayini oldukça önemlidir. Dopamin seviyeleri her kişide farklıdır. Bu seviyelerin düşme sebepleri arasında kötü beslenme şekli, alınan ilaçlar, stres, antidepresan ve uykusuzluk gelir. Dopamin eksikliğinin belirtileri başında depresyon gelir. Bunun dışında kronik can sıkıntısı, tatmin eksikliği, düşük fiziksel enerji, kronik yorgunluk ve vücut egzersizine ilgisizlik gelir. Dopamin seviyesindeki düşüklüklerde vücut sakinleşir ve el ve ayaklarda soğumalar gözlemlenir. Dopamin seviyesi düşük kişilerde özellikle uyarıcılara ve kafeine bağımlılık gözlemlenir. Huzursuz bacak sendromları görülür. Çünkü dopamin maddesi kas kontrolünü sağlayan sinirlere sinyal göndermekten de sorumludur.

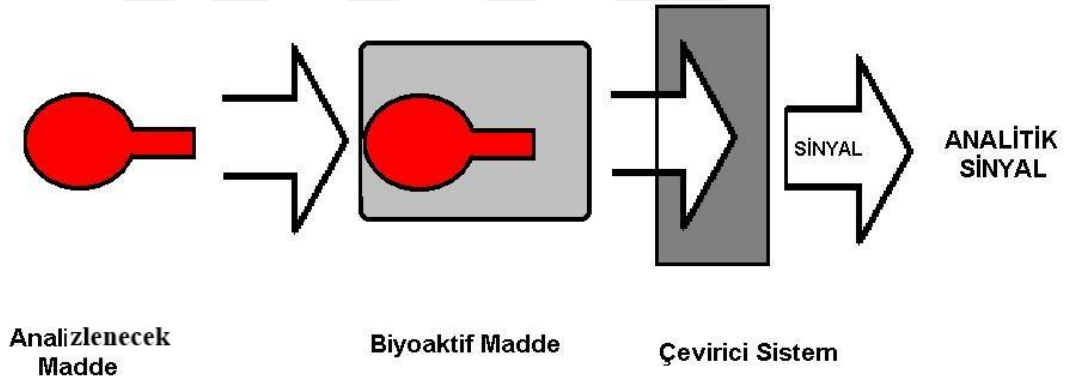
Bu çalışma ile etiketsiz, düşük maliyetli, hızlı ve pratik tayini için yeni bir elektrokimyasal dopamin biyosensörü geliştirilmiştir. Yüzey baskılı elektrotların kullanımı ile hazırlanmış olan biyosensör, analitlerin hızlı, pratik, tek kullanımlık ve düşük maliyetli tayinine imkân sağlamıştır. Geliştirilmiş olan biyosensör, uygun yazılım ve taşınabilir elektrokimyasal okuyucu yardımı ile prototip cihaza dönüştürülerek hasta başı testlerde kullanılabilir.

Hazırlanan dopamin biyosensörlerinin optimum çalışma parametreleri belirlenmiştir. Biyosensörlerin elektrokimyasal analizlerinde, dönüşümlü voltametri (CV), diferansiyel puls voltametri (DPV) ve elektrokimyasal impedans spektroskopisi (EIS) teknikleri kullanılmıştır.

2. KURAMSAL TEMELLER

2.1. Biyosensörler

Biyosensör terimi ilk olarak 1977 yılında K. Cammann tarafından ortaya atılmıştır. Fakat biyosensörün IUPAC tanımı ancak 1999-2001 yılları arasında ortaya çıkmıştır (Thevenot *et al.* 2001). Biyosensörler, analit derişimi ile orantılı olarak ölçülebilen bir sinyal üretmek için biyolojik bir tanımlama elemanı ve fiziksel bir dönüştürücü içeren analitik bir cihazdır (Arora *et al.* 2011). IUPAC'ye göre bir biyosensör, biyolojik tanımlama elemanı (biyokimyasal algılayıcı) kullanarak özgün nicel veya yarı-nicel analitiksel bilgiyi sağlama yeteneğine sahip olan ve kendi kendine yeten birleşik (entegre) bir cihaz olarak tanımlanır (Şekil 2.1).

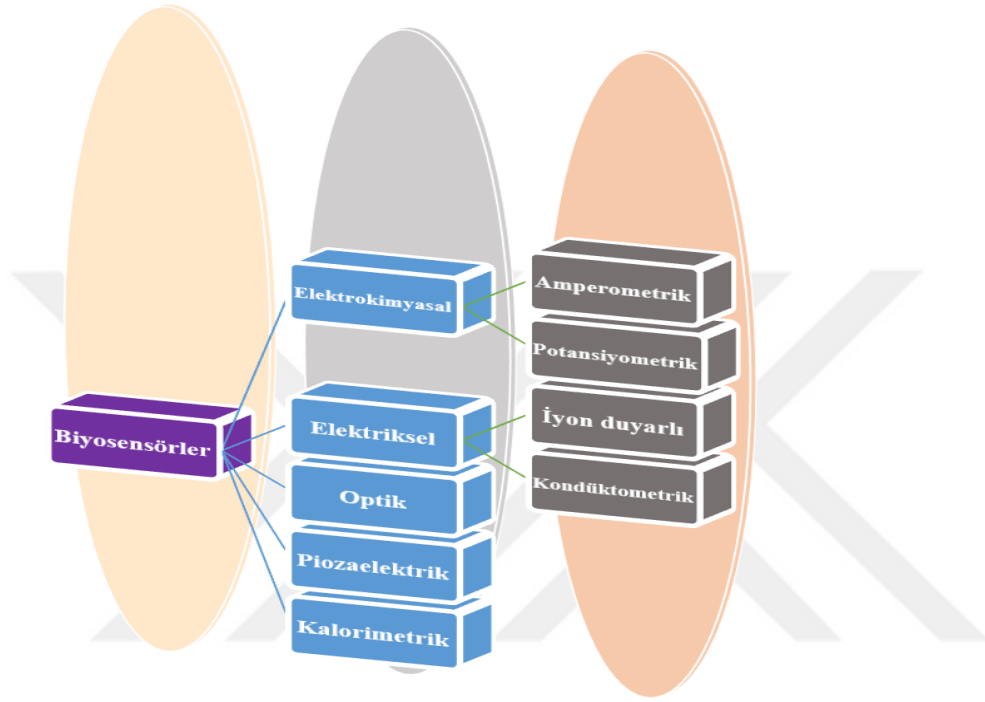


Şekil 2.1. Biyosensör Şematik Gösterimi

2.1.1. Biyosensörlerin yapısı ve sınıflandırılması

Biyosensörlerin yapısında görev alan biyolojik materyal hedef analite karşı cevap verir. Bu biyomateryaller enzim, mikroorganizma, bitki veya hayvan dokusu, hücre, organel gibi biyokatalizörler ve antikor, lektin veya nükleik asit gibi biyoligantlar olarak iki gruba ayrılabilirler. Fiziksel dönüştürücü ise biyomateryalin hedef analit ile etkileşimi sonucu algıladığı biyolojik sinyali tanımlanabilir bir sinyale dönüştürür ve bu sinyal analit ile

orantılıdır. Fiziksel dönüştürücüler, elektrokimyasal (amperometrik, potansiyometrik, kondüktometrik), optik, akustik, mekanik, kalorimetrik, piezoelektrik ve manyetik özellikte olabilir (Castillo *et al.* 2004, Xiu-Ling *et al.* 2008).



Şekil 2.2. Biyosensörlerin sınıflandırılması

2.1.2. Elektrokimyasal biyosensörler

Elektrokimyasal biyosensörler analit konsantrasyonları gibi biyokimyasal bilgileri analitik olarak yararlı bir sinyale dönüştüren biyosensörlerdir. Elektrokimyasal biyosensörler pratiklik, hassasiyet ve hızlı tepki sağladıklarından, bu sistemler hasta başı test (POC) platformları olarak kullanılmaya çok elverişlidir. Bu cihazlar hastalığın erken teşhisini sağlar ve hastanın iyileşme olasılığını artırır (Anık 2017).

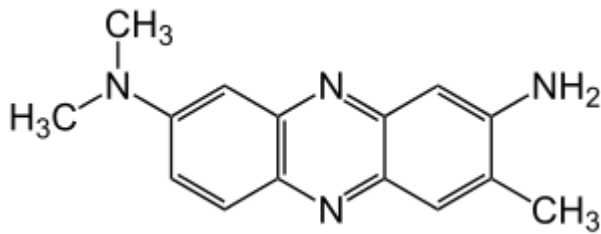
Elektrokimyasal biyosensörler en çok kullanılan biyosensörlerdir. IUPAC tanımına göre: “elektrokimyasal biyosensör, bir biyolojik tanıma elementi (biyokimyasal reseptör)

kullanarak spesifik nicel veya yarı nicel analitik bilgi sağlayabilen bağımsız bir entegre cihazdır. Bir elektrokimyasal transdüksiyon elemanı ile doğrudan mekansal temasta tutulur. Diğerlerine göre avantajları; hızlı, pratik ve ekonomik olmasıdır. Bu biyosensörlerin temeli, biyo-etkileşim işlemi süresince elektronlar gibi elektrokimyasal türlerin tüketilmesi veya üretilmesiyle oluşan elektrokimyasal sinyalin bir elektrokimyasal detektör tarafından ölçülmesine dayanır. Elektrokimyasal biyosensörler detektör sistem tarafından ölçülen elektrokimyasal özelliğine göre kondüktometrik, potansiyometrik ve amperometrik biyosensörler olmak üzere üç sınıfa ayrılır (Chaubey and Malhotra 2002).

2.1.3. PNR

Nötral kırmızı (NR; N8, N8, 3-trimetil-fenazin-2,8,-diamin klorür), virüsler gibi biyolojik materyalleri incelemek için bir renklendirici, biyokimyasal sistemlerde pH indikatörü, optik veya elektrokimyasal metotlar kullanarak DNA'nın tayini gibi çeşitli amaçlarla kullanılan bir fenazin boyasıdır (Pauliukaite and Brett 2008).

NR, diğer fenazin boya gibi elektrokimyasal olarak polimerleştirilerek iletken bir polimer oluşturabilir. Son zamanlarda poli(nötral kırmızı) (PNR), sensor ve biyosensörlerde hem iletken polimer hem de redoks medyatörü olarak kullanılan bir polimerdir (Pauliukaite and Brett 2008).



Şekil 2.3. Nötral Kırmızı Molekül Formülü

NR'nin yükseltgenmesi süresince elde edilen mekanizmalar polimerizasyon işlemini başlatır ve oluşan radikallerin sayısı polimerin yapısını tanımlar. Oluşan radikallerin sayısı arttıkça daha çok dallanmış polimer elde edilir (Pouget *et al.* 1994). NR'nin polimerizasyonu, hem radikal oluşumdan sorumlu olan uygulanan potansiyel ile hem de pH ile kontrol edilebilir (Nikolski *et al.* 1970, Halliday and Matthews 1983, Karyakin *et al.* 1995, Karyakin *et al.* 1999). Polimerizasyon mekanizması, radikallerin oluşumunu, monomerin dimerizasyonunu ve tetramerizasyonunu ve sonrasında polimer oluşturmak üzerine birleşmelerini içerir. Polimer C-N bağlanmasıyla oluşur. Bu mekanizma FT Raman ve ¹H NMR spektroskopik çalışmaları ile uyumlu olan IR spektroskopisi ile doğrulanmıştır. Bu çalışmalar NR'nin polimerizasyonunun NR'nin NH₂ grupları arasında olduğunu göstermiştir (Broncova *et al.* 2004).

2.1.4. AuNP

Elektrokimyasal biyosensörlerde dönüştürücülerin modifiye edilmesinde ya da biyolojik tanımlama elemanının tutuklanmasında altın nanoparçacıkların (AuNP) kullanımı, son yıllarda biyosensör çalışmalarında oldukça önemli bir rol oynamaktadır. AuNP'lerin eşsiz özelliklerinden yararlanılarak türetilen biyoelektroanalitik cihazlar, büyük bir umut vadetmektedir. Biyomoleküllerin dönüştürücü yüzeyine tutuklanmaları sırasında biyolojik aktivitelerinin korunması için kararlı bir yüzey sağlayabilme yeteneği, biyosensörlerin hazırlanmasında çok yararlıdır. Bu yeteneği, biyomoleküllerin serbest olarak yüzeye yönelmelerini kuvvetlendirebilmesinden kaynaklanmaktadır. Üstelik AuNP'ler yığın elektrot materyali ile redoks proteinleri arasındaki elektron aktarımına izin vererek, herhangi bir elektron aktarım medyatörü kullanmaya gerek kalmadan elektrokimyasal algılamayı sağlamaktadır (Yanez-Sedeno and Pingarron 2005, Katz *et al.* 2003).

2.1.5. Grafen, grafen oksit ve indirgenmiş grafen oksit

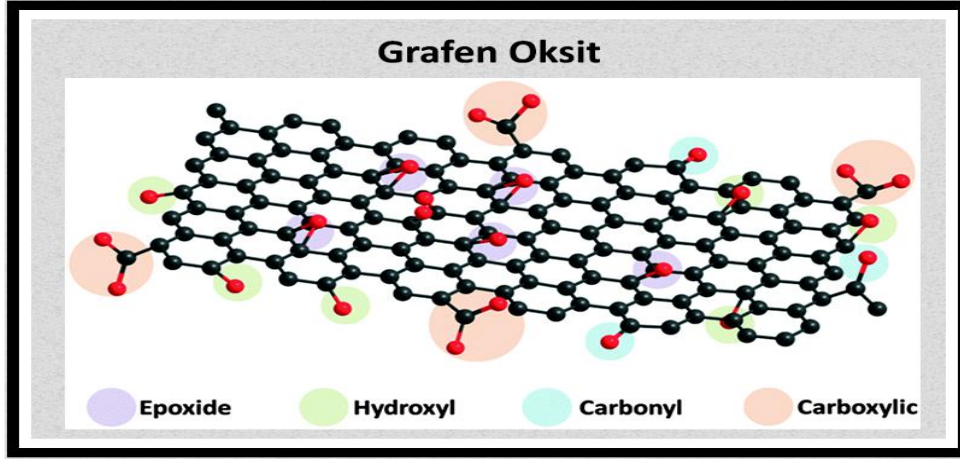
Grafen, atomik kalınlığa sahip 2 boyutlu bir nano malzemedir ve dikkat çekici optik, elektronik, termal, mekanik ve elektrokimyasal özellikleri nedeniyle oldukça dikkat

çekicidir. Grafen bazlı malzemeler, özellikle grafen oksit ve indirgenmiş grafen oksit, gıda endüstrisinden, çevresel izlemeye, biyomedikal alanlardan enerji sektörüne farklı tiplerde ve çeşitlilikte biyosensör cihazların geliştirilmesinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Söz konusu malzemelerin fonksiyonel gruplarındaki zenginlik, biyolojik tanıma elemanlarının bağlanmasını teşvik eden, yüzey işlevselliğini artıran, mikro ve nano-biyo-çevre ile uyumlu olan biyosensörlerin geliştirilmesinde önemli işlevlere sahiptir (Sun *et al.* 2018, Taniselass *et al.* 2019). Grafen bazlı elektrokimyasal biyosensörlerin tespit performansları; yüksek seçicilik, hassasiyet ve ileri seviyede tekrarlanabilirlik özellikleri ile çok yüksektir. (Zhao *et al.* 2014, Wang *et al.* 2011, Bonanni *et al.* 2012).



Şekil 2.4. Grafenin Bal Peteği Görüntüsü

Grafen, bal peteği kafes yapısındaki karbon atomlarından oluşmuş ve atomik bir kalınlığa sahip 2 boyutlu bir nanomalzemedir (Şekil 2.4). Grafen, sarılabilir (fulleren), karbon nanotüp olarak yuvarlanabilir veya 3 boyutlu katmanlar (grafit) oluşturacak şekilde istiflenebilir. Grafen, grafen oksit (GO) ve indirgenmiş grafen oksit (rGO), biyoyuymululukları nedeniyle biyosensörlerin üretimi için vazgeçilmez nanomalzemelerdir (Taniselass *et al.* 2019). Grafen bazlı malzemeler, elektrot yüzey işlevselliği için temel olan fonksiyonel gruplar içerir. Fiziksel olarak, bu nanomalzemeler, biyosensing işlemlerinde biyo-reseptör immobilizasyonunu artıran yüksek bir yüzey alanı / hacim oranı sergilemektedir (Dong *et al.* 2017).



Şekil 2.5. Grafen Oksit

Grafen, mekanik, optik, termal ve elektrokimyasal özellikleri nedeniyle çok kullanışlı bir nanomateryaldir (Singh *et al.* 2011). Grafen, çeşitli optik ve elektrikli cihazlarda uygulanan saydam iletken elektrotlar olarak yaygın şekilde kullanılmasını sağlayan yüksek geçirgenliğe ve iletkenliğe sahiptir. Ek olarak, taşınabilir kalite, ultra sertlik ve mükemmel Young modülü gibi özel mekanik özellikler nedeniyle nanoelektromekanik sistemlerde (NEMS) kullanılabilir (Sun *et al.* 2018, Taniselass *et al.* 2019).

Grafene dayalı elektronik cihazlar, enerji depolama aygıtları, sulu ortam ölçümleri, yalıtım, gıda analizleri ve güvenlik ile adli tıp bilimi gibi çeşitli uygulama alanlarında geniş çapta kullanılmaktadır. Grafen bazlı malzemelerin, çok çeşitli uygulamalarda kullanılması söz konusu nanomateryallerin önemini artırmakta ve daha hassas ve güvenilir ölçümler için araştırılmaktadır.

2.1.6. Döngüsel voltametri

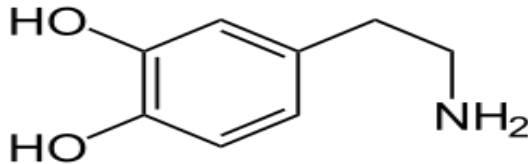
Döngüsel voltametri (CV) tekniği, elektrokimyasal çalışmalarda özel bir yere sahiptir ve çok yaygın olarak kullanılır. Bu teknik, gelişmiş voltametrik gibi analitik duyarlılığı artırmaya yönelik değil, daha çok elektrokimyasal mekanizmanın aydınlatılmasına yönelik çalışmalarda kullanılır. CV'de karıştırılmayan bir çözeltide küçük bir durgun elektrodun akım cevabı, bir üçgen dalga şekilli potansiyel ile uyarılır. Bu örnekte,

potansiyel ilk önce SCE'ye karşı + 0,8 V'den -0,15 V'a kadar doğrusal olarak değiştirilir, sonra tarama yönü tersine çevrilir ve potansiyel orijinal değeri olan + 0,8 V'a getirilir. Her iki yöndeki tarama hızı 50 mV/s'dir. Bu uyarma çevrimi genellikle birkaç kez tekrarlanır. Ters yöndeki potansiyellere (bu durumda -0,15 V ve + 0,8 V) *çevirici potansiyeller* denir. Verilen bir deney için çevirici potansiyellerin aralığı, bir veya daha fazla analitin difüzyon kontrollü bir yükseltgenme veya indirgenmenin olduğu potansiyeldir. Başlangıç taramasının yönü, numunenin bileşimine bağlı olarak burada gösterildiği gibi negatif veya pozitif olabilir. Genel olarak, çevrim süresi 1 ms veya daha kısa süreden 100 sn veya daha uzun süre aralığındadır (Skoog *et al.* 2004).

2.1.7. Dopamin

Dopamin (DA), vücutta doğal olarak üretilen bir kimyasaldır. Beyinde, dopamin reseptörlerini aktive ederek nörotransmitter olarak görev yapar. Dopamin, ayrıca, hipotalamustan da salgılanır ve kana karışarak nörohormon görevi yapar. Nörohormon olarak görevi hipofizin ön lobundan prolaktin salgılanmasını baskılamaktır.

Dopamin beyinde birçok işlevi olan önemli bir kimyasal habercidir. Beyindeki sinir hücreleri arası iletişimde görevli olan dopamin, ödül, motivasyon, hafıza, dikkat ve hatta vücut hareketlerini düzenlemede rol oynar. Beyindeki haz alma duygusundan dopamin sorumludur. Mutluluk hormonu olarak da bilinen bu hormon; hareket etme, öğrenme, konsantrasyon sağlama gibi günlük hayatta önemi yadsınamaz işlemlerin gerçekleştirilmesinde büyük öneme sahiptir (Arias and Pöppel 2007).



Şekil 2.6. Dopaminin Molekül Formülü

Orta beyin dopaminerjik nörönları beyindeki dopaminin (DA) esas kaynağıdır. DA'nın hareketlerin kontrolünde, ödöl öngörüsünde hatanın sinyalleşmesinde, motivasyonda ve bilişte rol oynadığı gösterilmiştir. Serebral DA tükenmesi, Parkinson hastalığının (PD) belirleyici özelliğidir. Diğer patolojik durumlarda, çocuklarda şizofreni, otizm, dikkat eksikliği hiperaktivite bozukluğu ve ayrıca ilaç kötüye kullanımı gibi DA işlev bozukluğu ile ilişkilendirilmiştir (Liu *et al.* 2005, Mo and Ogoorevc 2001). DA, yaklaşım, tüketim ve bağımlılık gibi ödüllendirici davranışlarla yakından ilişkilidir. Son araştırmalar DA nörönlarının ateşlenmesinin, ödöl beklentisinin bir sonucu olarak motivasyonel bir madde olduğunu göstermektedir. Dopaminin (DA) vücut sıvısı içindeki konsantrasyonunun hızlı ve doğru bir şekilde tayin edilmesi hastalığın teşhisi açısından önemlidir (Arias and Pöppel, 2007).

3. MATERYAL ve METOT

3.1. Materyal

3.1.1. Kullanılan kimyasallar

İndirgenmiş grafen oksit (RGO), nötral kırmızı (NR), koloidal altın nanoparçacık çözeltisi (10 nm), potasyum heksosiyanoferrat ($K_3Fe(CN)_6$), potasyum heksosiyanoferrit ($K_4Fe(CN)_6$), dopamin hidroklorür (DA), L-askorbik asit (AA) ve ürik asit (UA) Sigma-Aldrich firmasından temin edilmiştir. Potasyum dihidrojen fosfat (KH_2PO_4), dipotasyum hidrojen fosfat (K_2HPO_4), potasyum klorür (KCl), dimetil formamid (DMF), hidroklorik asit (HCl, % 37'lik), sodyum hidroksit (NaOH), asetik asit (CH_3COOH), sodyum asetat (CH_3COONa) ve potasyum nitrat (KNO_3) Merck firmasından temin edilmiştir. Kullanılan tüm kimyasallar yüksek analitik saflıktadır.

3.1.2. Kullanılan cihazlar

Elektrokimyasal ölçümler Dropsens μ Stat 400 Bipotentiostat/Galvanostat ile gerçekleştirilmiştir. İstenilen pH'da tampon çözelti hazırlamak için, standart tampon çözeltilerle kalibre edilmiş Mettler Toledo pH-metre kullanılmıştır. Batch şartlarda amperometrik tayin sırasında çözeltiyi istenilen hızda karıştırmak için manyetik karıştırıcı kullanılmıştır. Katı kimyasalların tartımı için Radwag AS220/C/2 0,01 mg duyarlı elektronik terazi kullanılmıştır. Deneyleerde kullanılan ultra saf su Millipore Milli-Q Direct Q-3 ultra saf su cihazından elde edilmiştir.

3.1.2.1. Elektrokimyasal ölçüm sistemi

Deneyleerde voltametri, kronoamperometri gibi çeşitli elektrokimyasal metotların çalışılabildiği Dropsens μ Stat 400 Bipotentiostat/Galvanostat elektrokimyasal ölçüm

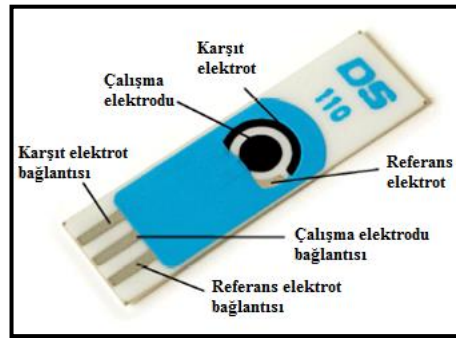
sistemi kullanılmıştır (şekil 3.1). Bilgisayar kontrollü olan Dropsens μ Stat 400 Bipotentiostat/Galvanostat cihazının sinyalleri DropView 8400 yazılımı ile değerlendirilmiştir.



şekil 3.1. Dropsens μ Stat 400 Bipotentiostat/Galvanostat

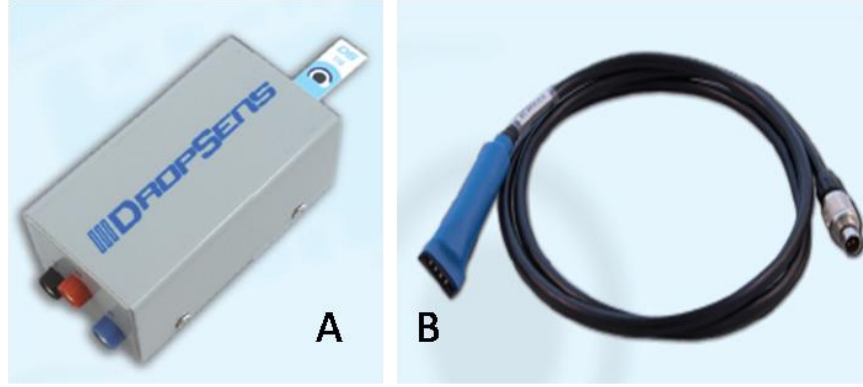
3.1.3. Kullanılan elektrotlar, hücreler ve konnektörler

DropSens firmasından temin edilmiş tek kullanımlık yüzey baskılı karbon elektrotlar kullanılmıştır. Yüzey baskılı karbon elektrodunun (SPCE), alışma elektrodu (4 mm) ve yardımcı elektrodu karbondan, referans elektrodu ise pseudo Ag/AgCl (0,1 M KCl)'dan oluşmaktadır. Yüzey baskılı elektrotların yapısı şekil 3.2'te verilmiştir.



şekil 3.2. Yüzey baskılı karbon elektrotların yapısı

Elektrotların Dropsens μ Stat 400 Bipotentiostat/Galvanostata bağlantısı DropSens'ten temin edilmiş konnektörler ile sağlanmıştır (şekil 3.3).



Şekil 3.3. Yüzey baskılı elektrotlar için sensör konnektör çeşitleri A) Damlamalı analizler için kutu şeklinde B) Kesikli analiz için kablo şeklinde

Elektrokimyasal ölçümlerde, kesikli analiz için metil metakrilattan yapılmış elektrokimyasal hücre kullanılmıştır (Şekil 3.4). Elektrokimyasal hücre 5-8 mL gibi büyük hacimli çözeltiler ve karıştırma şartları için uygundur.



Şekil 3.4. Yüzey baskılı elektrotlar için elektrokimyasal hücre

3.2. Metot

3.2.1. Elektrot yüzeyinin temizlenmesi ve aktivasyonu

SPCE elektrotlarının yüzeylerinin temizlenmesi ve aktivasyonu için 50 mM pH 7,5 fosfat tamponu içerisinde + 1,8V'da 300 s boyunca potansiyel uygulanarak elektrokimyasal ön işlem uygulanmıştır (Bilgi ve Ayrancı 2016, Şahin 2013, Şahin ve Ayrancı 2015).

3.2.2. Destek elektrolit tampon çözeltisinin hazırlanması

Deneyleerde destek elektrolit olarak 0,1 M KCl içinde, KH_2PO_4 ve K_2HPO_4 kullanılarak hazırlanan 50 mM fosfat tamponu kullanılmıştır. pH optimizasyonu deneyleeri için ise ayrıca 0,1 M KCl içinde, CH_3COOH ve CH_3COONa kullanılarak hazırlanan 50 mM asetat tamponu kullanılmıştır. Destek elektrolit hazırlanırken üzerine 1 M NaOH veya 1 M HCl ilave edilerek pH ayarlaması yapılmıştır. Deneyleerde kullanılan tüm çözeltiler fosfat tampon sistemi içerisinde hazırlanmıştır.

3.2.3. SPCE'lerin RGO ile modifikasyonu

RGO'nun SPCE yüzeyine modifikasyonu için Layer by layer (LBL) yöntemi kullanılmıştır. Bu amaçla 0,5 mg RGO ve 1mL DMF:H₂O (1:1) karışımına 3 saatlik sonikatör uygulamasıyla kararlı ve homojen bir süspansiyon hazırlanmıştır. Disperse edilmiş RGO'dan SPCE'lerin çalışma elektrodunun (WE) yüzeyine 1 µL damlatılmış ve karanlıkta kapalı ortamda oda sıcaklığında kurumaya bırakılmıştır (Bilgi ve Ayrancı 2016, Şahin 2013, Şahin ve Ayrancı 2015). Daha sonra ultra saf su ile elektrotların yüzeyi temizlenmiş ve yüksek saflıktaki Ar gazı ile kurutulmuştur. RGO ile modifiye edilen SPCE'ler SPCE/RGO şeklinde kısaltılmıştır.

3.2.4. SPCE/RGO üzerinde PNR'nin hazırlanması

0,1 M KNO₃ içeren 0,025 M pH 5,5 fosfat tamponu içerisinde 1,0 mM monomer nötral kırmızı çözeltilisi hazırlanmıştır. Döngüsel voltametri uygulanarak SPCE/RGO üzerinde nötral kırmızının elektropolimerizasyonu, dolayısıyla da PNR oluşumu sağlanmıştır. Döngüsel voltametri, -1,1 V ile + 0,9 V potansiyel aralığında 50 mV.s⁻¹ tarama hızında 15 döngü uygulanarak gerçekleştirilmiştir (Barsan and Brett 2008, Bilgi ve Ayrancı 2016, Şahin 2013, Şahin ve Ayrancı 2015). Daha sonra ultra saf su ile elektrotların yüzeyi temizlenmiş ve yüksek saflıktaki Ar gazı ile kurutulmuştur. PNR ile modifiye edilen SPCE/RGO'lar SPCE/RGO/PNR şeklinde kısaltılmıştır.

3.2.5. SPCE/RGO/PNR'lerin AuNP ile modifikasyonu

SPCE/RGO/PNR'lerin WE yüzeyine koloidal altın nanoparçacık çözeltilisinden (AuNP) (10 nm) 4 µL damlatılmıştır. Karanlıkta, kapalı ortamda kuruyuncaya kadar oda sıcaklığında bekletilmiştir (Serafin *et al.* 2011, Bilgi ve Ayrancı 2016, Şahin 2013, Şahin ve Ayrancı 2015). Daha sonra ultra saf su ile elektrotların yüzeyi temizlenmiş ve yüksek saflıktaki Ar gazı ile kurutulmuştur. AuNP ile modifiye edilen SPCE'ler SPCE/RGO/PNR/AuNP şeklinde kısaltılmıştır.

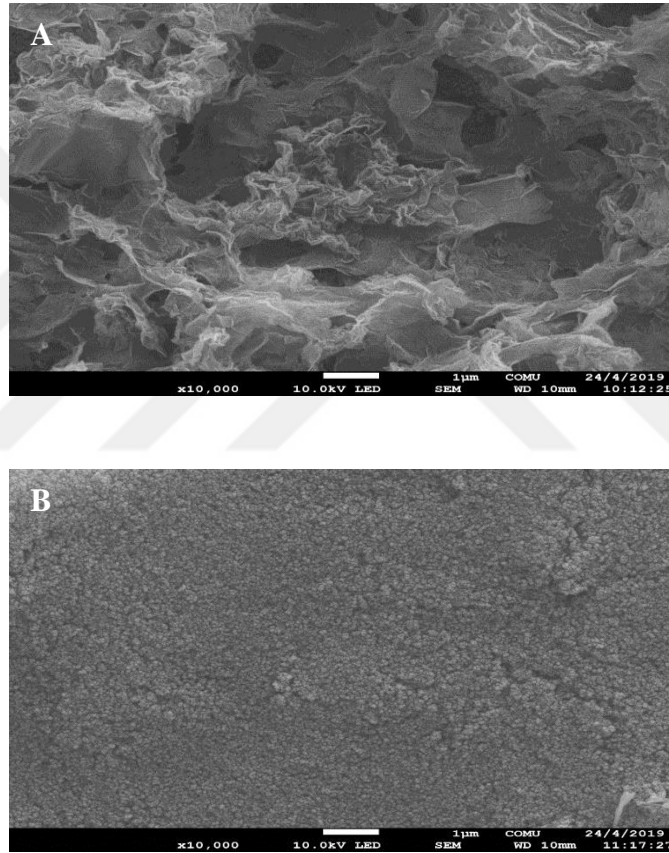
3.2.6. Elektrokimyasal ölçümler

Kesikli analiz 9 mL fosfat tamponu içeren hücre içerisinde yapılmıştır. Kronoamperometrik ölçümler karıştırma şartları altında yapılmıştır. Amperometrik tayinde sabit akım elde edildiğinde analit ilavesi yapılmış ve ölçülen akım potansiyostat tarafından kaydedilmiştir. Damlamalı analiz ise, elektrot yüzeyine 50 µL analit ilavesi ile gerçekleştirilmiştir.

4. BULGULAR

4.1. SPCE'ler üzerine indirgenmiş grafen oksitin modifikasyonu

SPCE'ler üzerine RGO'nun modifikasyonu LBL yöntemi ile yapılmıştır. Hazırlanan RGO/SPCE ve yalın SPCE elektrotlarının SEM görüntüleri alınmış ve sırasıyla Şekil 4.1(A) ve 4.1(B)'de verilmiştir.



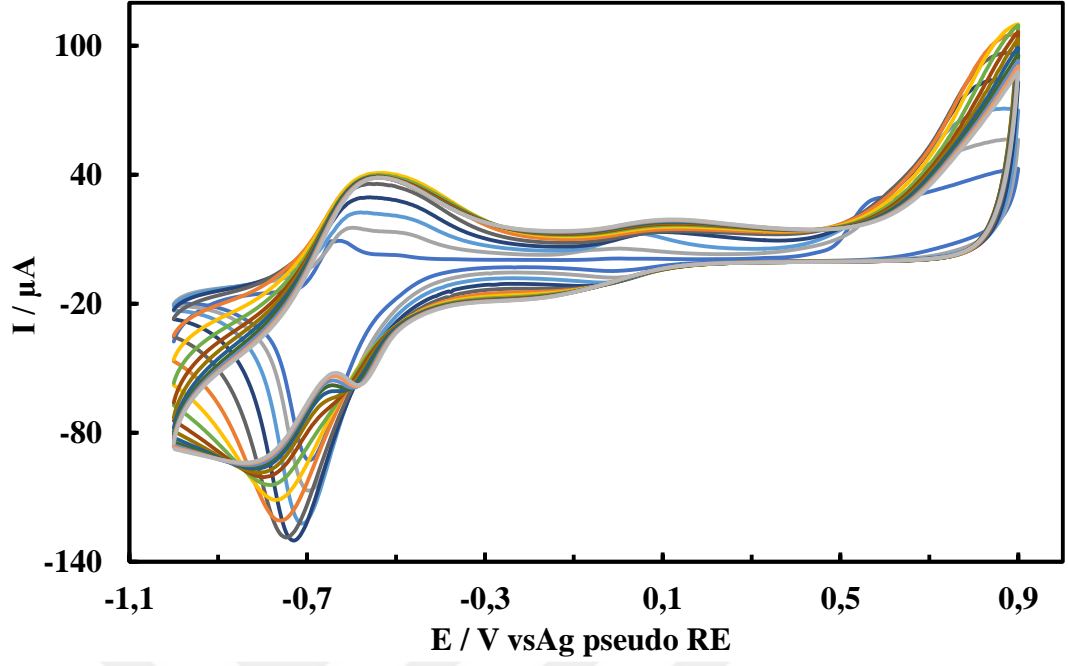
Şekil 4.1. SPCE/RGO (A) ve yalın SPCE (B) elektrotlarının SEM görüntüleri

Şekil 4.1(A)'da RGO'nun katmanlı, buruşuk yüzeyli ve birbirine benzer, rasgele dağılmış ince katmanlar ve dağınık halde üst üste binmiş yapısı gözlenmiştir ve bu görüntüler literatürle uyumludur (A. Shalaby *et al.* 2015, Tiyek vd. 2016).

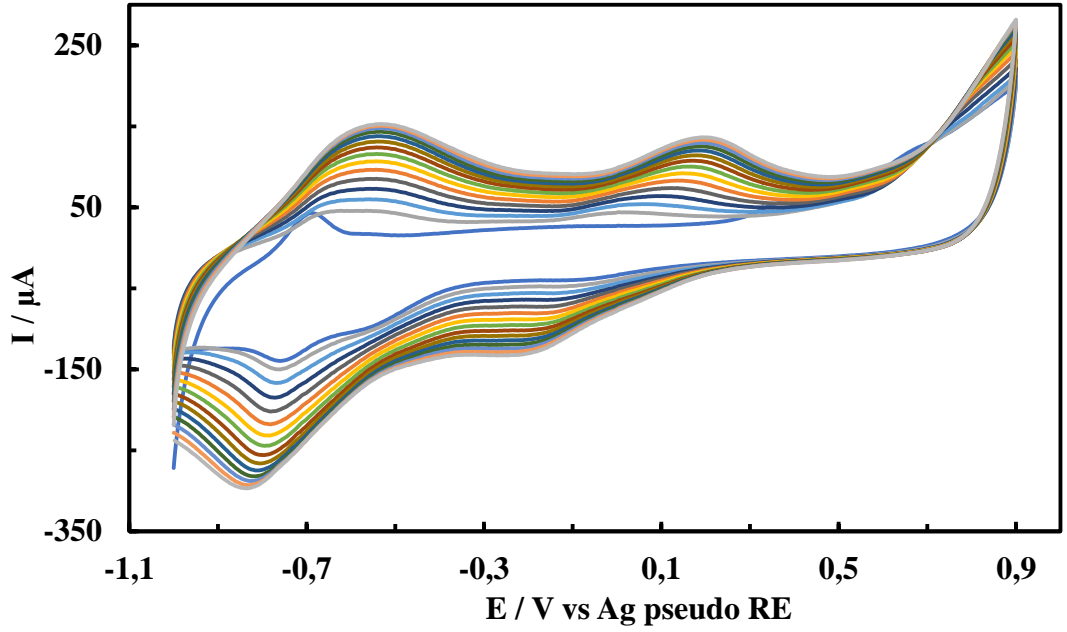
4.2. İndirgenmiş Grafen Oksit Modifiyeli Elektrotlar Üzerinde Polinötral Kırmızının Hazırlanması

Nötral kırmızı, SPCE ve SPCE/RGO'ların yüzeyinde 0,1 M KNO₃ içeren 0,025 M pH 5,5 fosfat tamponu içerisinde, -1,1 V ile +0,9 V potansiyel aralığında 50 mV.s⁻¹ tarama hızında 15 döngü uygulanarak elektrokimyasal olarak polimerleştirilmiştir. SPCE ve SPCE/RGO'lar üzerinde NR'nin elektropolimerizasyonunun döngüsel voltamogramları sırasıyla Şekil 4.2 ve Şekil 4.3'te verilmiştir. Bu voltamogramlar Pauliukaite *et al.* (2007), Şahin (2013), Şahin ve Ayrancı (2015), Bilgi ve Ayrancı'nın (2016) NR'nin elektropolimerizasyonu ile ilgili yapmış oldukları çalışmada elde ettikleri döngüsel voltamogramlarla benzerdir. NR'nin elektropolimerizasyonu pozitif potansiyelde monomer katyon radikallerin oluşmasıyla başlar ve zincir büyümesiyle devam eder. Pauliukaite *et al.* (2007), NR monomerinin tersinmez yükseltgenme pik potansiyelini yaklaşık +0,7 V'da gözlemlemişlerdir (SCE'ye karşı).

Bizim çalışmamızda NR monomerinin yükseltgenme pik potansiyeli tüm yalın SPCE'ler için yaklaşık +0,57 V 'da gözlenmiş ve tarama sayısı arttıkça bu potansiyel daha pozitif değerlere kaymıştır. Bu durumun nedeni, PNR filminin oluşmasıyla elektrot yüzeyinin değişmesi ve elektrot yüzeyindeki pH değişimleridir (Pauliukaite *et al.* 2007, Şahin 2013, Şahin ve Ayrancı 2015, Bilgi ve Ayrancı 2016). Monomerin katyon radikallerinin oluşması için gerekli pozitif potansiyel, SPCE'lerin RGO ile modifiye edilmesiyle, tek bir potansiyel olan + 0,57 V'dan 3 farklı potansiyel olan +0,37, +0,50 ve +0,670 V'a dönüşmüştür. RGO ile modifiye edilmiş SPCE'lerde gözlenen monomerin yükseltgenme potansiyelindeki bu değişim, RGO'nun eşsiz elektronik yapısı ve RGO'nun SPCE'lerin elektroaktif yüzey alanını ve elektronik iletkenliği artırmasıyla elektropolimerizasyonun daha istekli olmasının bir sonucudur.



Şekil 4.2. NR'nin yalın SPCE üzerindeki 15 döngü elektropolimerizasyonunun döngüsel voltamogramları (0,1 M KNO_3 içeren pH 5,5 0,025 M fosfat tamponunda 1,0 mM NR monomer çözeltisinde, $50 \text{ mV}\cdot\text{s}^{-1}$ tarama hızında, 15 döngü)



Şekil 4.3. NR'nin SPCE/RGO üzerindeki 15 döngü elektropolimerizasyonunun döngüsel voltamogramları (0,1 M KNO_3 içeren pH 5,5 0,025 M fosfat tamponunda 1,0 mM NR monomer çözeltisinde, $50 \text{ mV}\cdot\text{s}^{-1}$ tarama hızında, 15 döngü)

SPCE/RGO'lar üzerinde NR'nin elektropolimerizasyonunda ikinci döngüden itibaren, +0,37 V ve +0,50'daki potansiyel kaybolmaktadır. +0,670 V'daki potansiyel ise döngü sayısı arttıkça daha pozitif değerlere kaymıştır. SPCE ve SPCE/RGO'larda döngü sayısı arttıkça, monomerin katyon radikali ile yükseltgenmesi nedeniyle anodik akım da artmıştır. Bu durum pirrol, anilin ve diğer iletken polimer monomerlerinin davranışı ile benzerdir (Pauliukaite *et al.* 2007).

Yalın SPCE'ler üzerinde NR-leuko NR tersinir dönüşümü (redoks çiftinin merkezi, Redoks I) -0,75 V ile -0,55 V arasındadır. SPCE/RGO'larda NR-leuko NR tersinir dönüşümünün (redoks çiftinin merkezi, Redoks I) potansiyel aralığı (-0,85 V ile -0,55 V), yalın SPCE'lere göre biraz daha geniştir. Her bir döngü ile indirgenme piki daha negatif potansiyele kaymakta, indirgenme pik akımı azalmakta ve potansiyel sürekli daha negatif değerlere kayarak pik genişlemektedir. Döngü sayısı arttıkça da yükseltgenme pik akımı sürekli artmakta ve pik potansiyeli daha pozitif değerlere kaymaktadır. Bu durumun PNR'nin dallanması ve elektrot yüzeyinin yapısının değişmesiyle ilgili olabileceği savunulmaktadır (Pauliukaite *et al.* 2007).

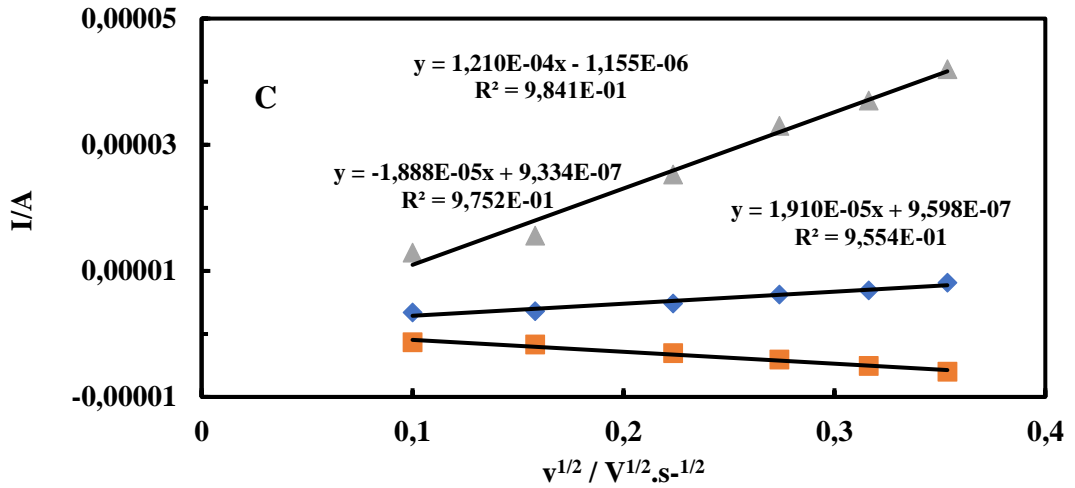
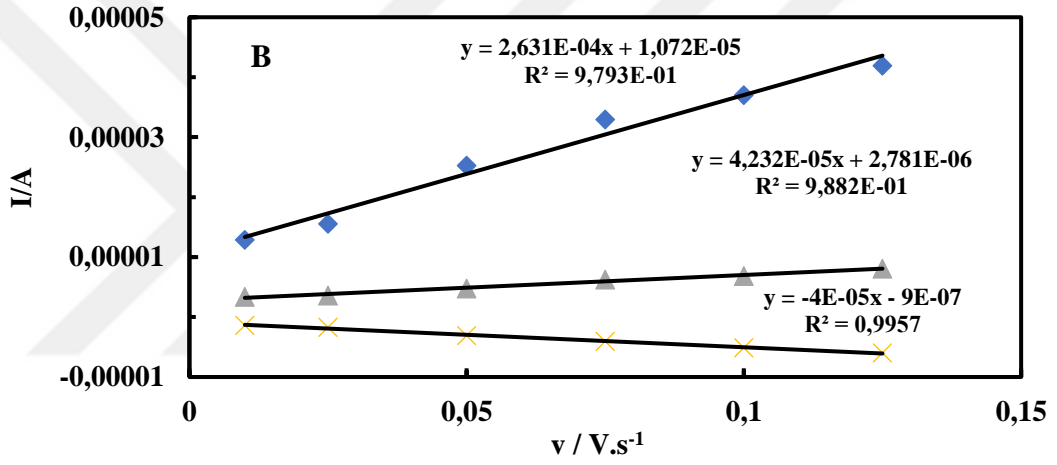
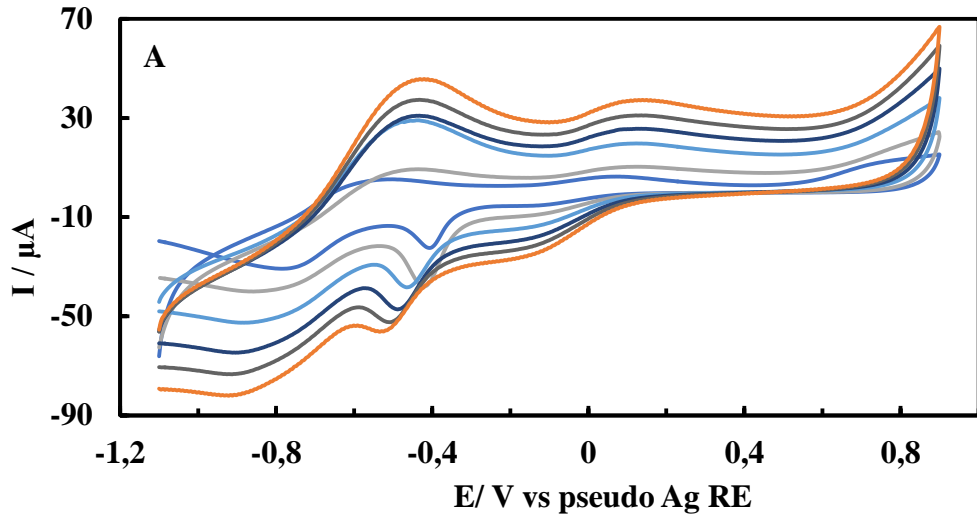
Yalın SPCE'ler üzerinde hazırlanan PNR'nin orta redoks çiftinin (doping/de-doping, Redoks II) potansiyel aralıkları -0,2 V ile + 0,1 V iken, RGO ile modifiye edilmiş SPCE'lerde PNR'nin orta redoks çiftinin (doping/de-doping, Redoks II) potansiyel aralıkları ise biraz daha geniştir (-0,2 V ile + 0,2 V). Her iki elektrot üzerinde hazırlanan PNR'nin orta redoks çiftinin potansiyel aralıkları, döngü sayısının artışı ile pozitif doğru çok yavaş artmaktadır. Döngü sayısı arttıkça yükseltgenme pik akımları da sürekli artmakta ve pik potansiyeli daha pozitif değerlere kaymaktadır.

SPCE/RGO üzerinde NR'nin elektropolimerizasyonunun daha istekli gerçekleştiği, döngüsel voltamogramlardaki Redoks I'deki anodik pik ve Redoks II'deki anodik ve katodik pik akımlarındaki artışlardan anlaşılmaktadır (Şekil 4.3). RGO, elektron transfer yolunu kolaylaştırarak polimerizasyon prosesini kolaylaştırmıştır. SPCE/RGO/PNR elektrodunda Redoks II'nin anodik ve katodik piki RGO'nun varlığıyla yalın SPCE'ye

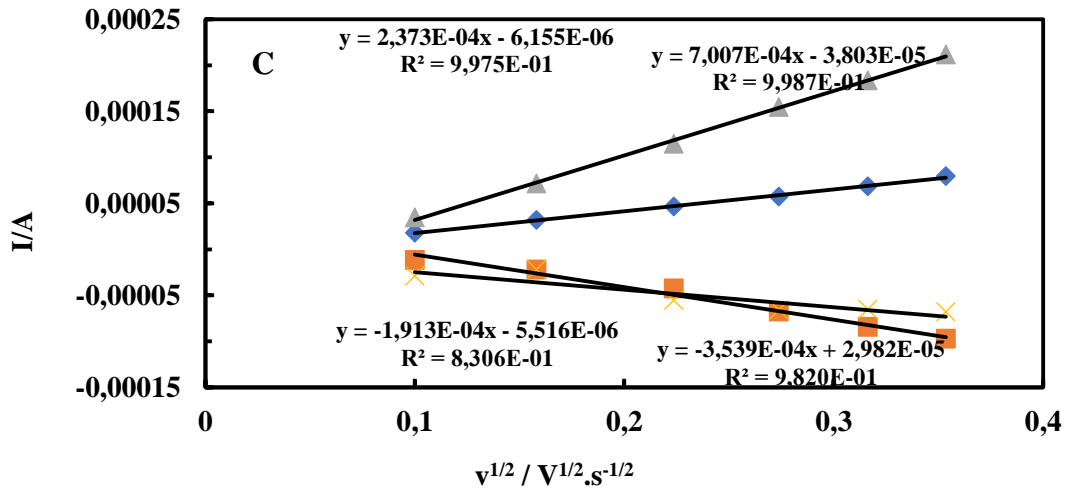
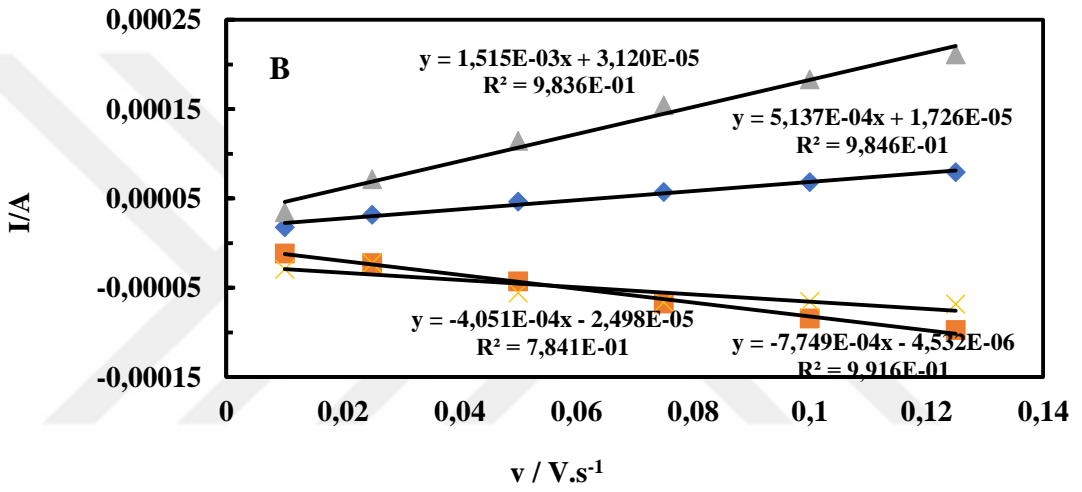
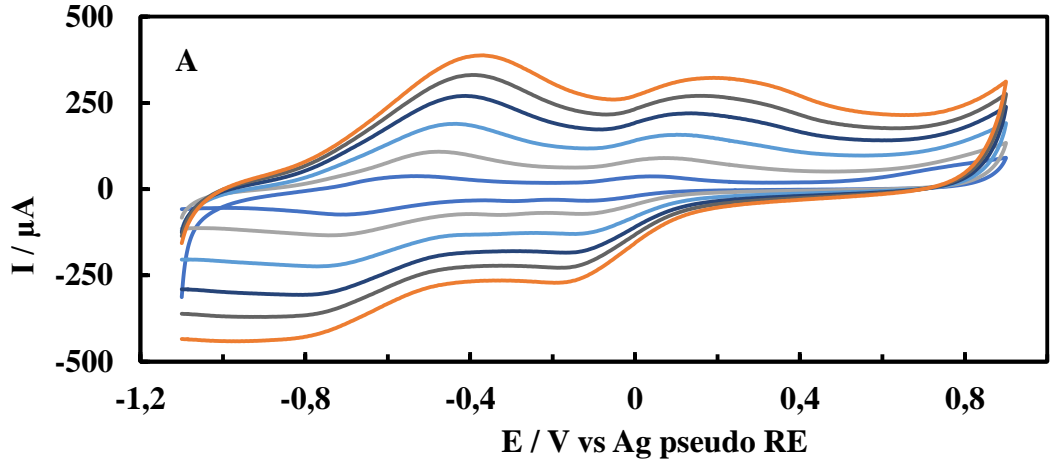
göre daha iyi tanımlanırken, Redoks I'in hem anodik hem de katodik piki ise biraz daha az iyi tanımlanmıştır.

NR'nin SPCE/RGO üzerindeki elektropolimerizasyonu ile elde edilen döngüsel voltamogramlar, Carvalho *et al.*'nin (2010) GC/MWCNT üzerinde NR'nin elektropolimerizasyonu, Şahin (2013), Şahin ve Ayrancı (2015), Bilgi ve Ayrancı'nın (2016) SPCE/MWCNT üzerinde NR'nin elektropolimerizasyonu ile elde edilen döngüsel voltamogramlarla benzerdir. NR'nin SPCE/RGO üzerinde elektropolimerasyon ile deposite edildiği herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır ve ilk kez bizim çalışmamızda yapılmıştır.

SPCE ve SPCE/RGO elektrotlarında NR'nin elektropolimerizasyonun karakterizasyonu için SPCE/PNR ve SPCE/RGO/PNR elektrotlarının 50 mM pH 7,0 fosfat tamponu içerisinde farklı tarama hızlarında döngüsel voltamogramları alınmıştır. SPCE/PNR ve SPCE/RGO/PNR elektrotları için elde edilen döngüsel voltamogramlar sırasıyla Şekil 4.4 (A) ve 4.5 (A)'da verilmiştir. Tarama hızına karşı döngüsel voltamogramlardan elde edilen anodik I, anodik II, katodik I ve katodik II pik akımlarının grafikleri çizilmiş ve SPCE/PNR ve SPCE/RGO/PNR elektrotları için sırasıyla Şekil 4.4 (B) ve 4.5 (B)'de verilmiştir. Tarama hızının kareköküne karşı döngüsel voltamogramlardan elde edilen anodik I, anodik II, katodik I ve katodik II pik akımlarının grafikleri çizilmiş ve SPCE/PNR ve SPCE/RGO/PNR elektrotları için sırasıyla Şekil 4.4 (C) ve 4.5 (C)'de verilmiştir. Tarama hızı arttıkça anodik ve katodik pik akımlarının arttığı, SPCE ve SPCE/RGO elektrotları için elde edilen döngüsel voltamogramlardan görülmektedir. Anodik ve katodik pik akımlarındaki bu artışın hem tarama hızı hem de tarama hızının karekökü ile doğrusal olduğu, ancak tarama hızının karekökü ile daha doğrusal olduğu grafiklerden elde edilen doğruların denkleminde anlaşılmaktadır. Tarama hızının karekökünün anodik ve katodik pik akımları ile daha doğrusal olması, SPCE ve SPCE/RGO elektrotlarında NR'nin elektropolimerizasyonu ile oluşan PNR filmindeki elektrokimyasal prosesin, karşı iyonun difüzyonuyla, difüzyon kontrollü olduğunu göstermektedir.



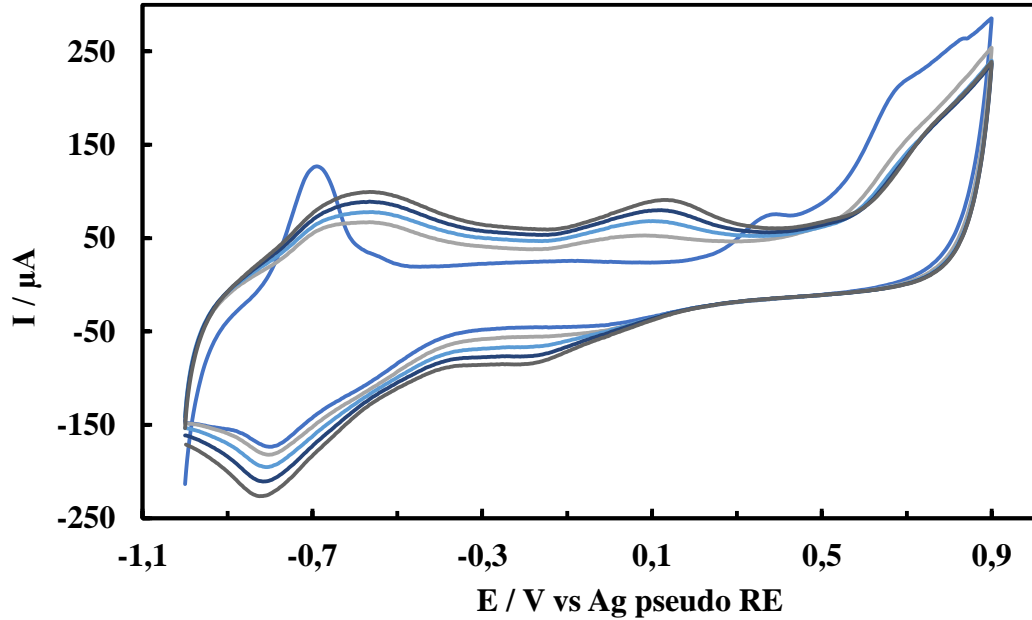
Şekil 4.4. A) SPCE/PNR (15 döngü) elektrodunun tampon çözeltide - 1,1 V ile + 1,0 V potansiyel aralığında elde edilen döngüsel voltamogramları (Tarama hızı: 10, 25, 50, 75, 100, 125 $\text{mV} \cdot \text{s}^{-1}$, 50 mM pH 7,0 fosfat tamponu, 0,1M KCl) B) A'da verilen döngüsel voltamogramlardan elde edilen pik akımı-tarama hızı grafikleri C) A'da verilen döngüsel voltamogramlardan elde edilen pik akımı-tarama hızının karekökü grafikleri



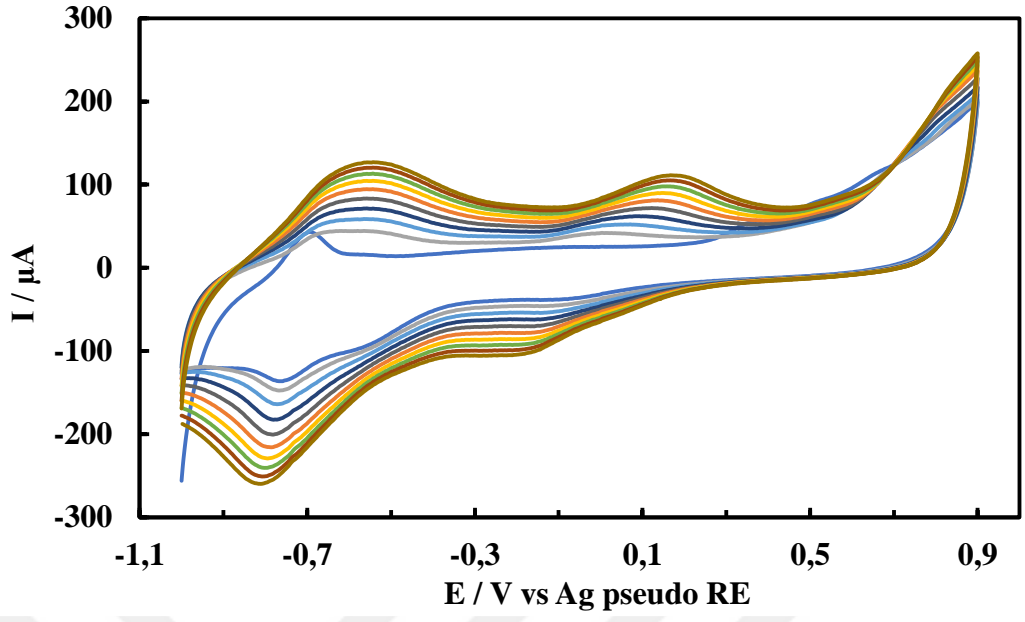
Şekil 4.5. A) SPCE/RGO/PNR (15 döngü) elektrodunun tampon çözeltide - 1,1 V ile + 1,0 V potansiyel aralığında elde edilen döngüsel voltamogramları (Tarama hızı: 10, 25, 50, 75, 100, 125 mV.s⁻¹, 50 mM pH 7,0 fosfat tamponu, 0,1M KCl) B) A'da verilen döngüsel voltamogramlardan elde edilen pik akımı-tarama hızı grafikleri C) A'da verilen döngüsel voltamogramlardan elde edilen pik akımı-tarama hızının karekökü grafikleri

4.3. NR'nin SPCE/RGO Üzerindeki Elektropolimerizasyonunda Döngü Sayısının Optimizasyonu

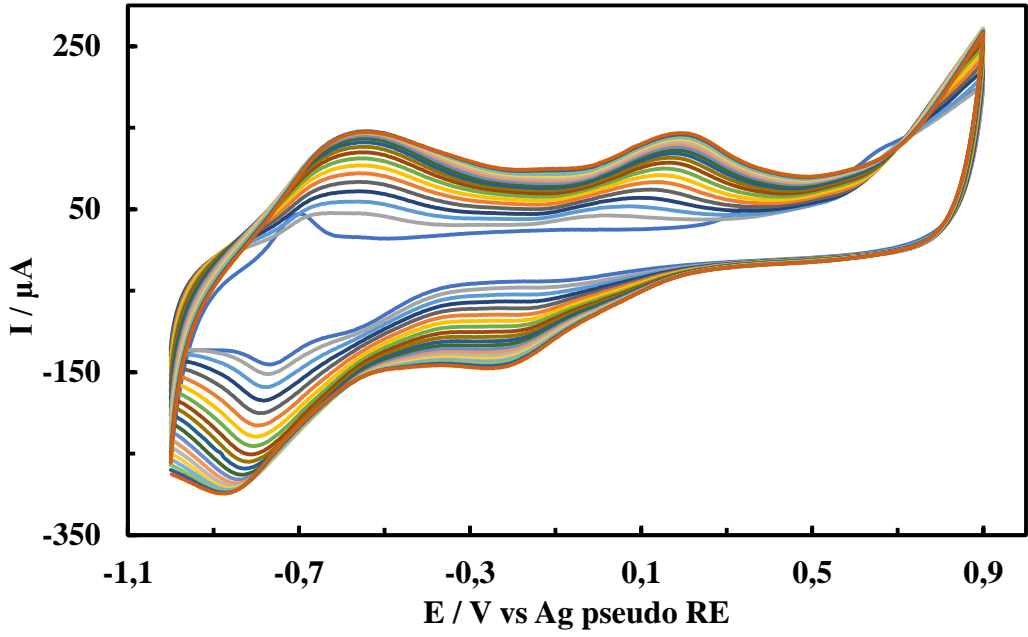
Döngüsel voltametri tekniği kullanılarak yapılan bir iletken ya da redoks monomerinin elektropolimerizasyonunda döngü sayısının optimizasyonu önemlidir. Döngü sayısı az olduğunda polimerin elektrot yüzeyindeki film kalınlığı çok ince olurken, döngü sayısı fazla olduğunda ise film kalınlığı fazla olmakta ve difüzyon zor olmaktadır (Qu *et al.* 2006). Nötral kırmızının elektropolimerizasyonunda döngü sayısının optimizasyonu için SPCE/RGO elektrotlarında NR'nin elektropolimerizasyonu 5, 10, 15 ve 20 döngü sayılarında gerçekleştirilmiş ve sırasıyla SPCE/RGO/(PNR)_{5n}, SPCE/RGO/(PNR)_{10n}, SPCE/RGO/(PNR)_{15n} ve SPCE/RGO/(PNR)_{20n} olarak sembolize edilmiştir. NR'nin SPCE/RGO'lar üzerinde 5, 10, 15 ve 20 döngü yapılan elektropolimerizasyonunun döngüsel voltamogramları sırasıyla Şekil 4.6, 4.7, 4.3 ve 4.8'de verilmiştir. Döngü sayısının artışı ile anodik ve katodik pik akımlarının arttığı ve polimerin her döngü ile daha çok dallanıp büyüyerek elektrodun yüzeyine kaplandığı voltamogramlardan anlaşılmaktadır.



Şekil 4.6. NR'nin SPCE/RGO üzerindeki 5 döngü elektropolimerizasyonunun döngüsel voltamogramları (0,1 M KNO₃ içeren pH 5,5 0,025 M fosfat tamponunda 1,0 mM NR monomer çözeltisinde, 50 mV.s⁻¹ tarama hızında, 5 döngü)

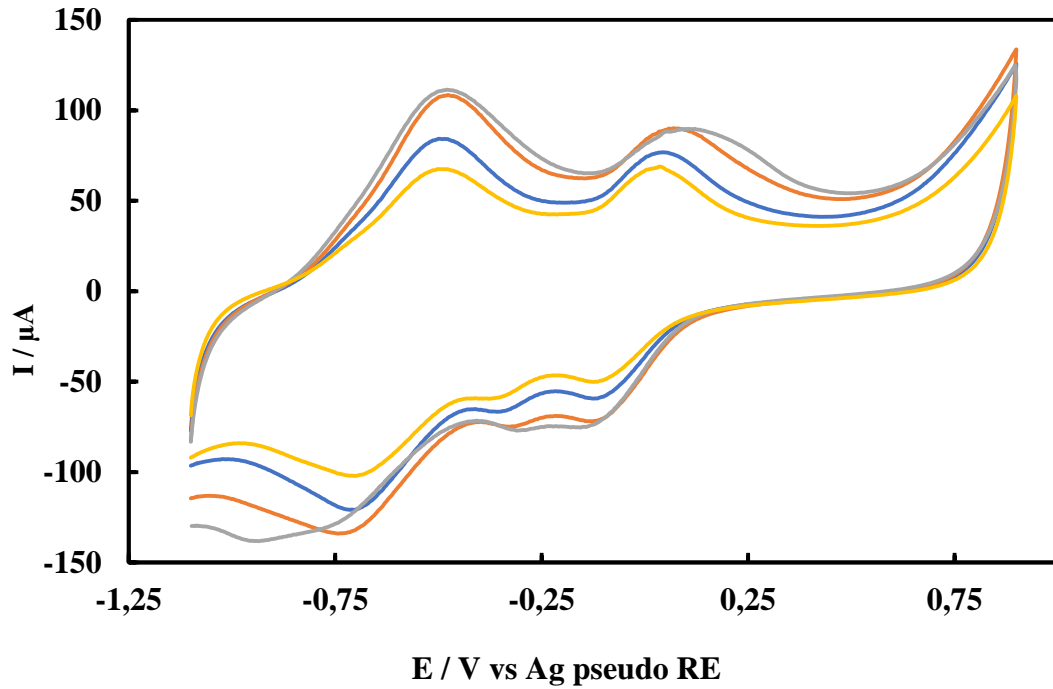


Şekil 4.7. NR'nin SPCE/RGO üzerindeki 10 döngü elektropolimerizasyonunun döngüsel voltamogramları (0,1 M KNO_3 içeren pH 5,5 0,025 M fosfat tamponunda 1,0 mM NR monomer çözeltisinde, $50 \text{ mV}\cdot\text{s}^{-1}$ tarama hızında, 10 döngü)



Şekil 4.8. NR'nin SPCE/RGO üzerindeki 20 döngü elektropolimerizasyonunun döngüsel voltamogramları (0,1 M KNO_3 içeren pH 5,5 0,025 M fosfat tamponunda 1,0 mM NR monomer çözeltisinde, $50 \text{ mV}\cdot\text{s}^{-1}$ tarama hızında, 20 döngü)

Şekil 4.9’da SPCE/RGO/(PNR)_{5n}, SPCE/RGO/(PNR)_{10n}, SPCE/RGO/(PNR)_{15n} ve SPCE/RGO/(PNR)_{20n} elektrotlarının tampon çözelti içerisinde elde edilen döngüsel voltamogramları verilmiştir. Döngü sayısının artışıyla anodik ve katodik pik akım yüksekliklerinin, polimer filminin büyümesine paralel olarak arttığı voltamogramlardan anlaşılmaktadır. Ancak 15 döngüden sonra pik akım yüksekliklerindeki bağıl akım artışının azaldığı, 15 ve 20 döngü ile hazırlanan elektrotlarla elde edilen pik akım yüksekliklerinin birbirine yakın değerde olduğu görülmektedir. Ayrıca 20 döngü ile elde edilen voltamogramda anodik ve katodik pik potansiyellerinde kayma olduğu gözlenmiştir. Bu sonuçlara göre NR’nin elektropolimerizasyonu için döngü sayısı 15’den fazla olduğunda, film kalınlığı giderek artmış bu da difüzyonu azaltıcı yönde etki yapmıştır. Bu sebeple, PNR’nin döngü sayısının 15 olmasının yeterli olduğu düşünülmüştür.



Şekil 4.9. SPCE/RGO/(PNR)_{5n}, SPCE/RGO/(PNR)_{10n}, SPCE/RGO/(PNR)_{15n} ve SPCE/RGO/(PNR)_{20n} elektrotlarının tampon çözeltide -1,1 V ile +0,9 V potansiyel aralığında elde edilen döngüsel voltamogramları (Döngü sayısı: 5, 10, 15 ve 20, 50 mM pH 7,0 fosfat tamponu, 0,1M KCl 25 mV.s⁻¹ tarama hızında)

NR'nin SPCE/RGO'lar üzerindeki elektropolimerizasyonunda optimum döngü sayısını belirlemek için yapılan çalışmaları desteklemek için, yüzey-kontrollü proses için SPCE/RGO/(PNR)_{5n}, SPCE/RGO/(PNR)_{10n}, SPCE/RGO/(PNR)_{15n} ve SPCE/RGO/(PNR)_{20n} elektrotlarının yüzeyinde bulunan PNR'deki elektroaktif türlerin ortalama yüzey konsantrasyonu, (Γ), Laviron eşitliği kullanılarak hesaplanmıştır (Bard and Faulkner 2001):

$$I_p = \frac{n^2 F^2 v A \Gamma}{4RT} \quad (4.1)$$

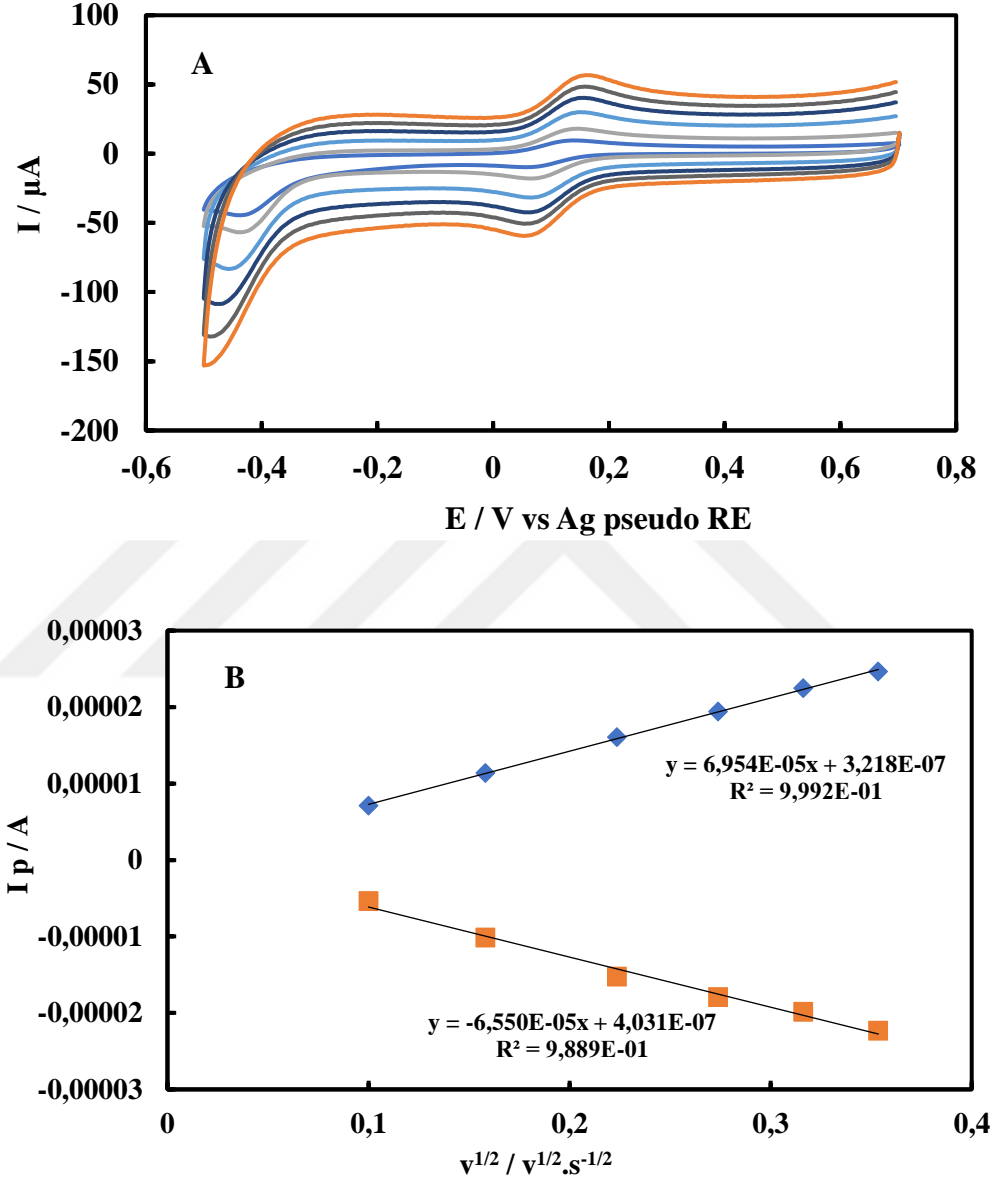
Burada I_p anodik I'e ait yükseltgenme pik akımını, A elektroaktif yüzey alanını (cm^2), n transfer edilen elektronların sayısını, v potansiyel tarama hızını (V.s^{-1}), T sıcaklığı (293 K), R gaz sabitini ($8,314 \text{ J.K}^{-1}.\text{mol}^{-1}$) ve F ise Faraday sabitini (96485 C.mol^{-1}) ifade eder.

Eşitlik 4.1'i kullanabilmek için SPCE/RGO'ların elektroaktif yüzey alanının değeri gerekmektedir. Bu nedenle ilk olarak SPCE/RGO'ya $10\text{-}125 \text{ mV.s}^{-1}$ tarama hızı aralığında, $0,1 \text{ M}$ KCl destek elektrolit çözeltisinde, 1 mM potasyum ferrisiyanür varlığında $-0,5 \text{ V}$ ile $+0,7 \text{ V}$ arasında dönüşümlü voltametri uygulanmıştır. Elde edilen voltamogramlar Şekil 4.10A'da verilmiştir. Bu voltamogramların gösterdiği anodik ve katodik pik akımlarının tarama hızının kareköküne karşı grafikleri de Şekil 4.10B'de verilmiştir. Buradan hem anodik hem de katodik pik akımlarının $10\text{-}125 \text{ mV.s}^{-1}$ tarama hızı aralığında tarama hızının kareköküyle mükemmel bir doğrusallık gösterdiği anlaşılmaktadır. Bu da SPCE/RGO'lar üzerinde potasyum ferrisiyanürün elektro-yükseltgenme ve indirgenmesinin difüzyon kontrollü bir proseste gerçekleştiğini göstermektedir. Difüzyon kontrollü elektrokimyasal prosesler için Randles-Sevcik eşitliği kullanılabilir. SPCE/RGO'ların elektroaktif yüzey alanı değerleri Randles-Sevcik eşitliğinden hesaplanmıştır. Randles-Sevcik eşitliğinde;

$$i_p = 2,96 \times 10^{-5} n^{3/2} A D^{1/2} C v^{1/2} \quad (4.2)$$

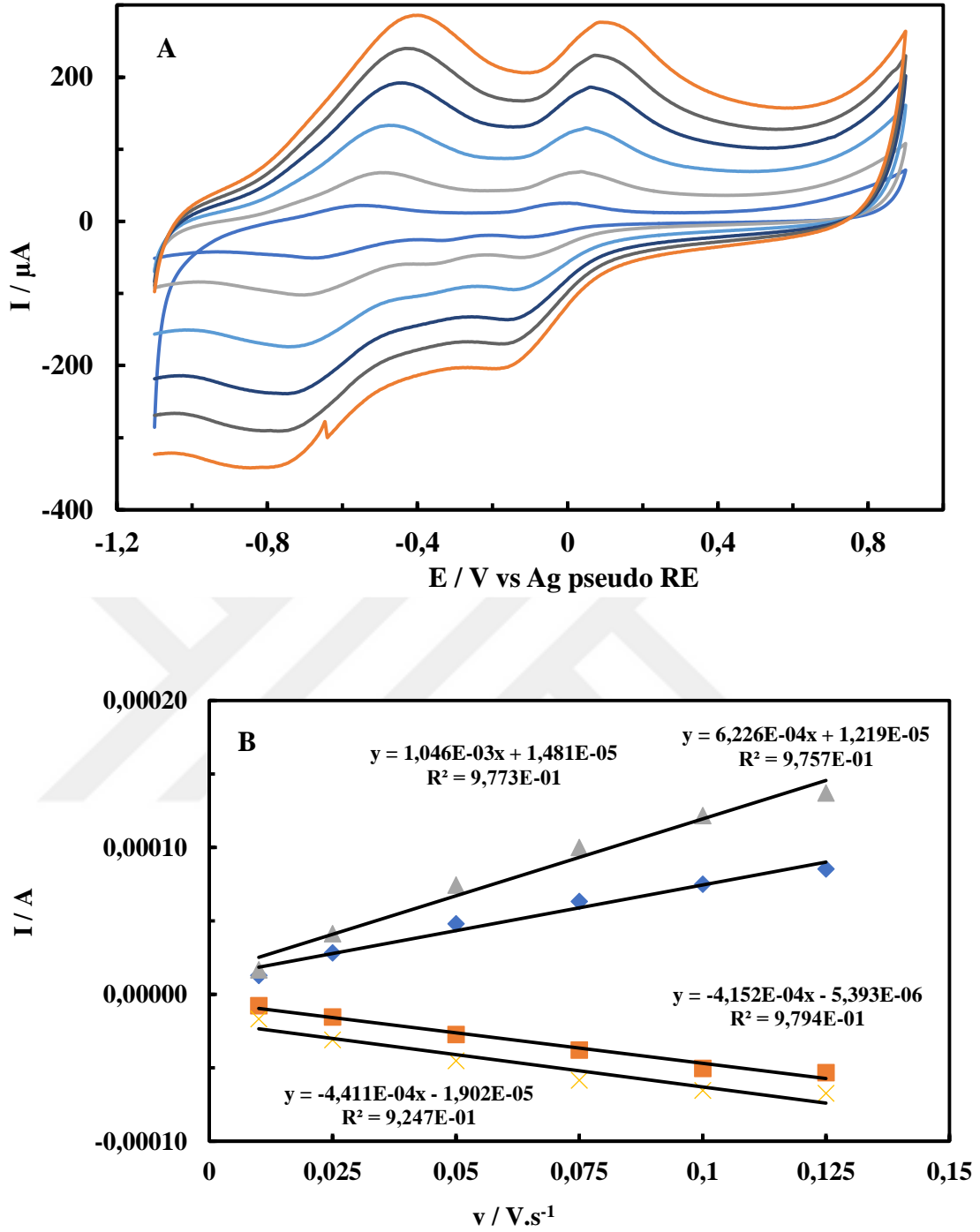
i_p pik akımı (A), n alınan verilen elektron sayısı, A elektrot yüzey alanı (cm^2), D difüzyon katsayısı ($\text{cm}^2.\text{s}^{-1}$), C konsantrasyon (mol.cm^{-3}) ve v ise tarama hızıdır (V.s^{-1}). 1 mM

$\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$ için difüzyon katsayısı $7,63 \times 10^{-6} \text{ cm.s}^{-1}$ 'dir (Bard and Faulkner 2001). Şekil 4.10B'deki grafiğin doğru denkleminde ve eşitlik 4.2'den yararlanılarak SPCE/RGO'lerin elektroaktif yüzey alanı $0,0851 \text{ cm}^2$ olarak hesaplanmıştır.

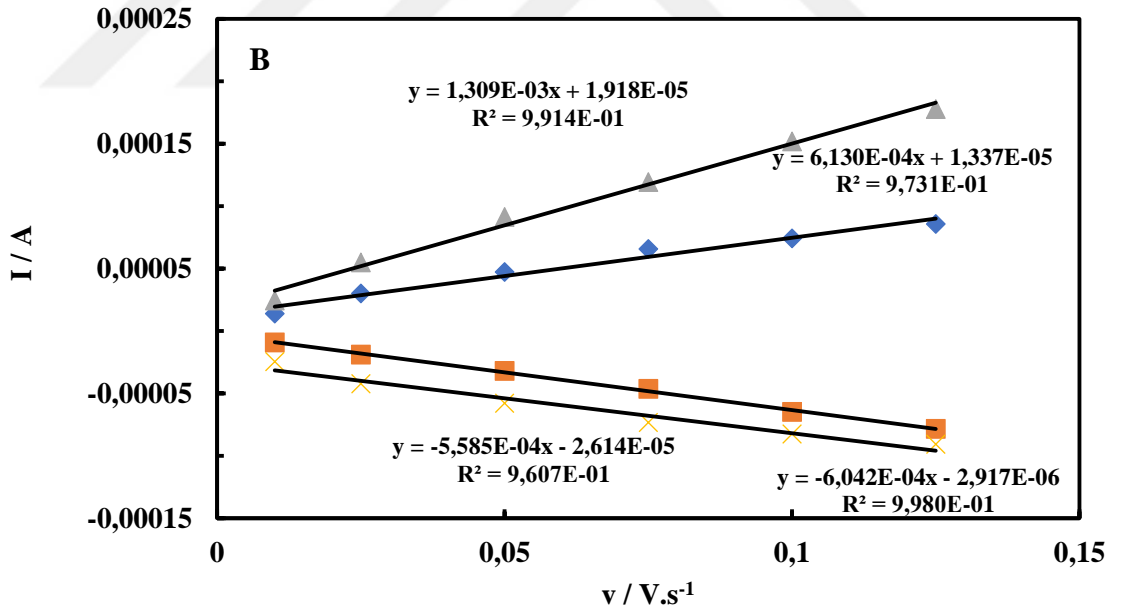
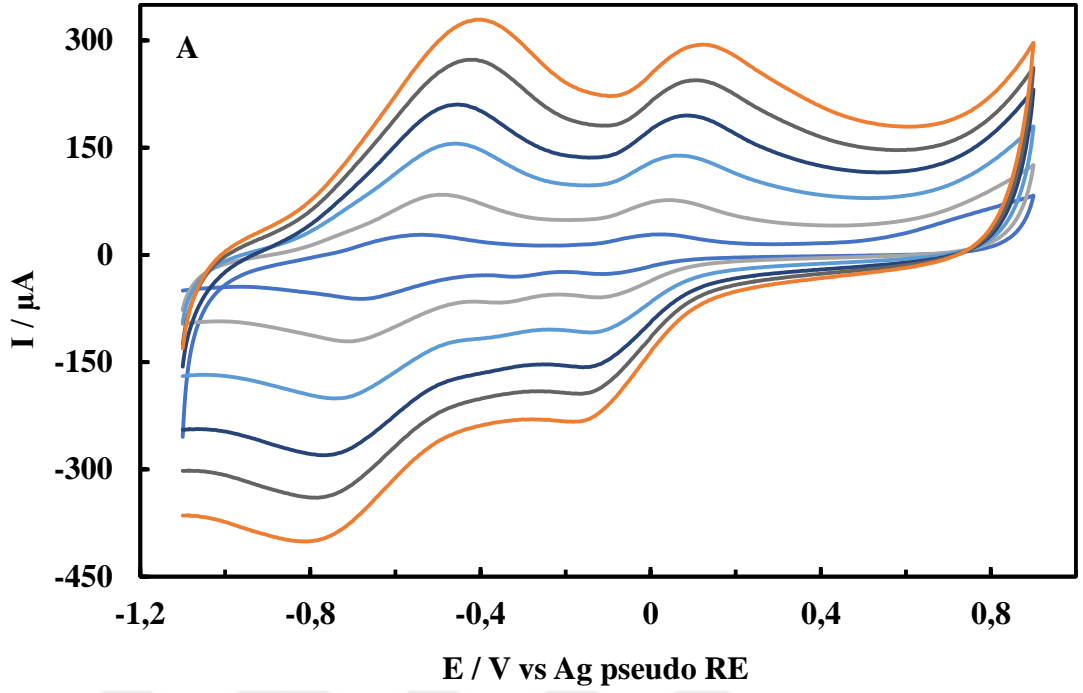


Şekil 4.10. A) SPCE/RGO elektrodunun tampon çözeltide $-0,5 \text{ V}$ ile $+0,7 \text{ V}$ potansiyel aralığında elde edilen döngüsel voltamogramları (Tarama hızı: $10, 25, 50, 75, 100, 125 \text{ mV.s}^{-1}$, 50 mM pH $7,0$ fosfat tamponu, $0,1\text{M}$ KCl) B) A'da verilen döngüsel voltamogramlardan elde edilen pik akımı-tarama hızının karekökü grafikleri

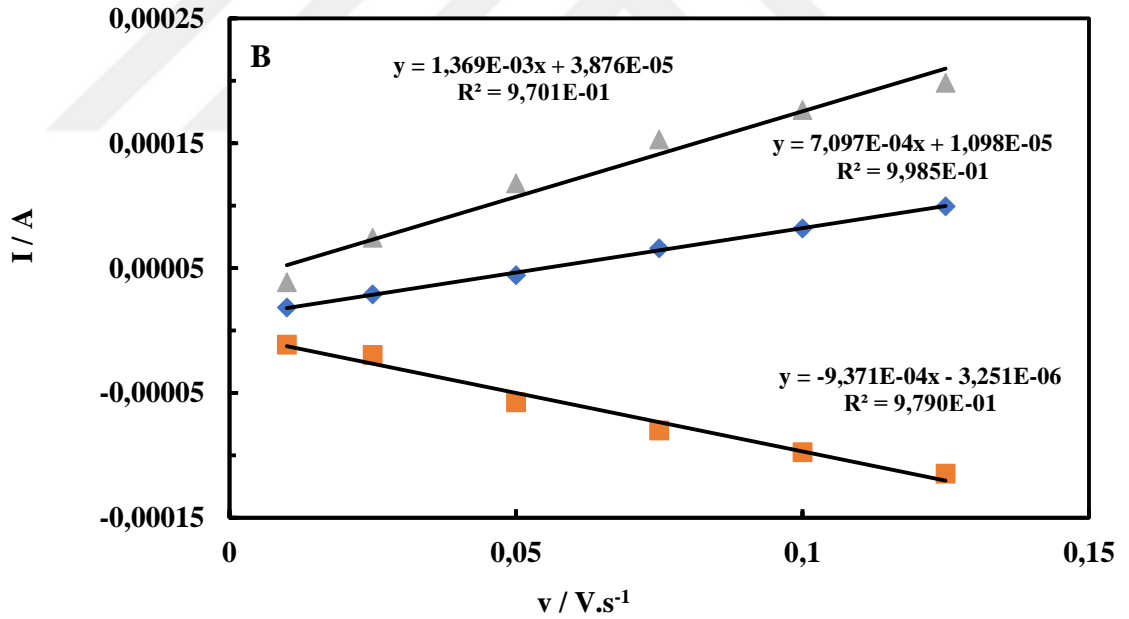
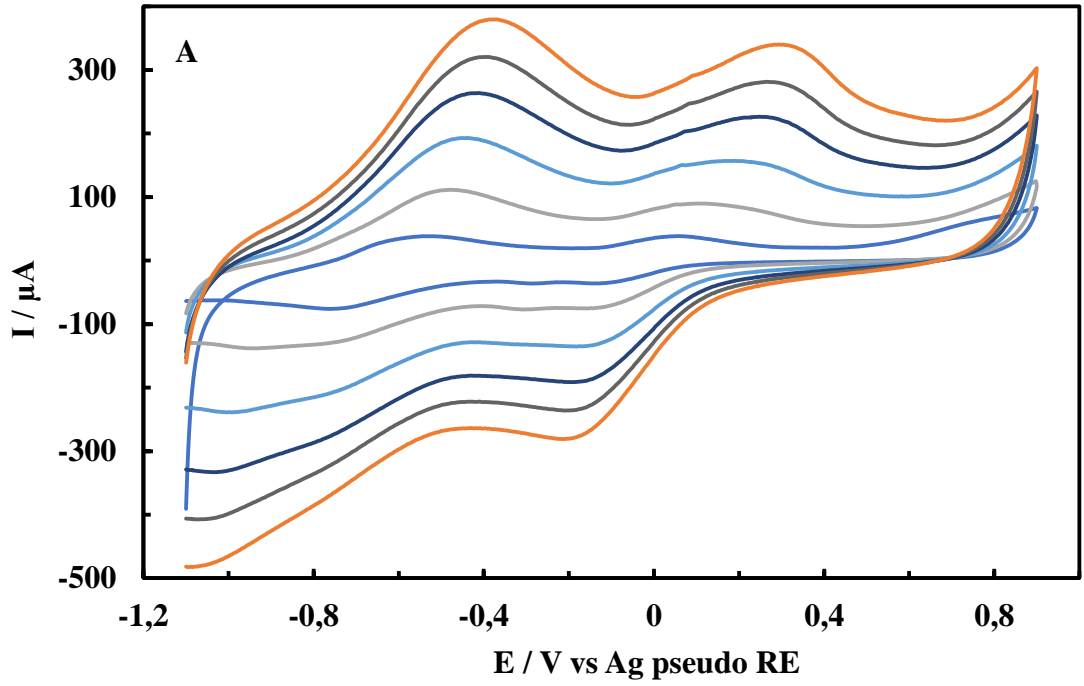
Eşitlik 4.1'den yararlanarak elektrotlarının yüzeyinde bulunan PNR'deki elektroaktif türlerin ortalama yüzey konsantrasyonu hesaplayabilmek için ilk olarak SPCE/RGO/(PNR)_{5n}, SPCE/RGO/(PNR)_{10n}, SPCE/RGO/(PNR)_{15n} ve SPCE/RGO/(PNR)_{20n} elektrotlarının tampon çözeltide farklı tarama hızlarında döngüsel voltamogramları alınarak elektrokimyasal karakterizasyonları yapılmıştır. SPCE/RGO/(PNR)_{5n}, SPCE/RGO/(PNR)_{10n}, SPCE/RGO/(PNR)_{15n} ve SPCE/RGO/(PNR)_{20n} elektrotları için elde edilen döngüsel voltamogramlar sırasıyla Şekil 4.11 (A), 4.12 (A), 4.5 (A) ve 4.13 (A)'da verilmiştir. Tarama hızına karşı döngüsel voltamogramlardan elde edilen anodik I, anodik II, katodik I ve katodik II pik akımlarının grafikleri çizilmiş ve SPCE/RGO/(PNR)_{5n}, SPCE/RGO/(PNR)_{10n}, SPCE/RGO/(PNR)_{15n} ve SPCE/RGO/(PNR)_{20n} elektrotları için sırasıyla Şekil 4.11 (B), 4.12 (B), 4.5 (B) ve 4.13 (B)'de verilmiştir. Grafiklerden elde edilen doğruların denklemleri kullanılarak, PNR'nin SPCE/RGO'lar yüzeyindeki ortalama yüzey konsantrasyonları, SPCE/RGO/(PNR)_{5n}, SPCE/RGO/(PNR)_{10n}, SPCE/RGO/(PNR)_{15n} ve SPCE/RGO/(PNR)_{20n} elektrotları için sırasıyla, $3,29 \times 10^{-9} \text{ mol.cm}^{-2}$, $4,09 \times 10^{-9} \text{ mol.cm}^{-2}$, $4,74 \times 10^{-9} \text{ mol.cm}^{-2}$ ve $1,99 \times 10^{-9} \text{ mol.cm}^{-2}$ olarak hesaplanmıştır. Γ değerlerine göre optimum döngü sayısı, bu döngü sayıları içinde en yüksek yüzey konsantrasyonunu sağlamasından dolayı 15 döngü olarak belirlenmiştir. Şekil 4.13 (A) incelendiğinde SPCE/RGO/(PNR)_{20n} için katodik I pikinin tanımlanamadığı da açıkça gözlenmektedir. Elde edilen bu sonuçlar, Şekil 4.9'daki voltamogramlar ile elde edilen sonuçlar ile uyumlu ve birbirini destekleyici niteliktedir. Çalışmanın bundan sonraki kısmında SPCE/RGO elektrotları üzerinde NR'nin elektropolimerizasyonu 15 döngü olarak yapılmıştır.



Şekil 4.11. A) SPCE/RGO/PNR (5 döngü) elektrodunun tampon çözeltide - 1,1 V ile + 0,9 V potansiyel aralığında elde edilen döngüsel voltamogramları (Tarama hızı: 10, 25, 50, 75, 100, 125 $mV.s^{-1}$, 50 mM pH 7,0 fosfat tamponu, 0,1M KCl) B) A'da verilen döngüsel voltamogramlardan elde edilen pik akımı-tarama hızı grafikleri



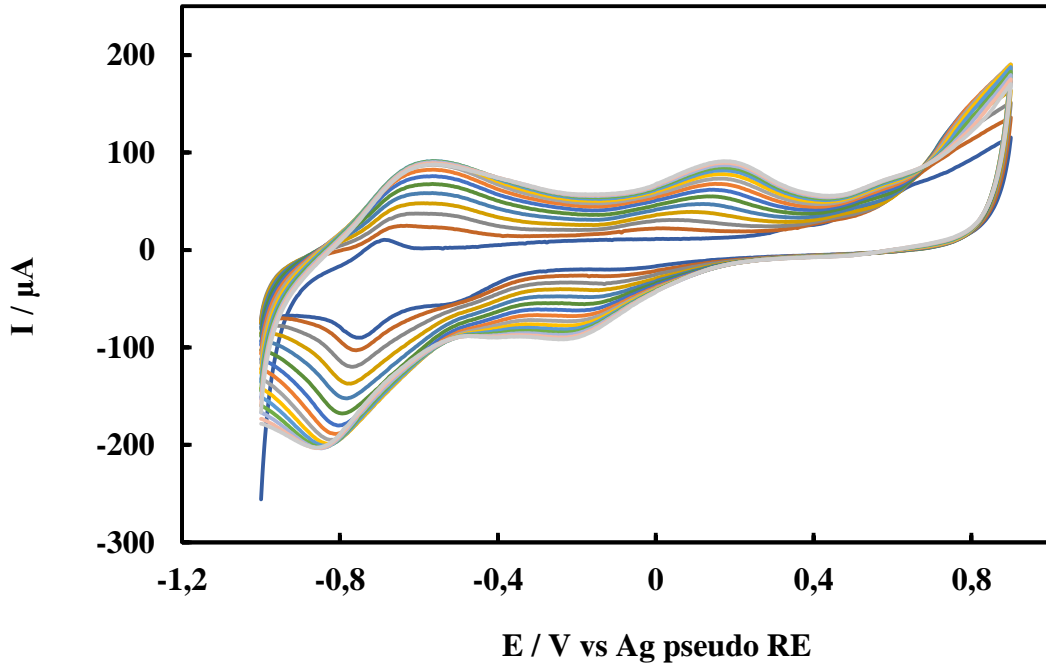
Şekil 4.12. A) SPCE/RGO/PNR (10 döngü) elektrodunun tampon çözeltide - 1,1 V ile + 0,9 V potansiyel aralığında elde edilen döngüsel voltamogramları (Tarama hızı: 10, 25, 50, 75, 100, 125 mV.s⁻¹, 50 mM pH 7,0 fosfat tamponu, 0,1M KCl) B) A'da verilen döngüsel voltamogramlardan elde edilen pik akımı-tarama hızı grafikleri



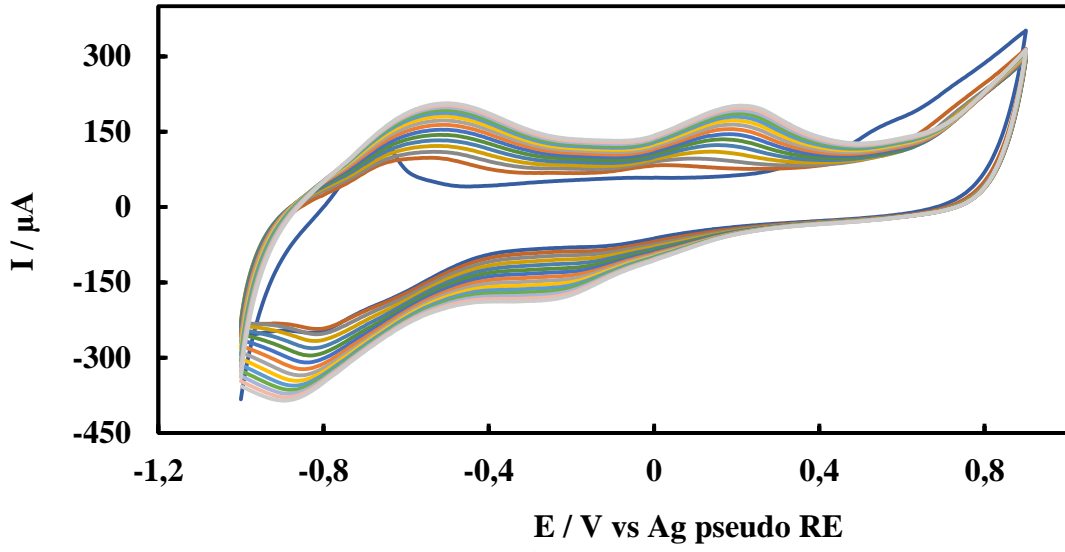
Şekil 4.13. A) SPCE/RGO/PNR (20 döngü) elektrodunun tampon çözeltide - 1,1 V ile + 0,9 V potansiyel aralığında elde edilen döngüsel voltamogramları (Tarama hızı: 10, 25, 50, 75, 100, 125 mV.s⁻¹, 50 mM pH 7,0 fosfat tamponu, 0,1M KCl) B) A'da verilen döngüsel voltamogramlardan elde edilen pik akımı-tarama hızı grafikleri

4.4. NR'nin SPCE/RGO Üzerindeki 15 Döngü Elektropolimerizasyonunda Tarama Hızının Optimizasyonu

NR'nin SPCE/RGO üzerindeki 15 döngü elektropolimerizasyonunda tarama hızının etkisini incelemek için sırasıyla 25, 50 ve 100 mV.s^{-1} tarama hızlarında SPCE/RGO'lar NR ile modifiye edilmiştir. NR'nin SPCE/RGO'lar üzerinde 25, 50 ve 100 mV.s^{-1} tarama hızlarında 15 döngü yapılan elektropolimerizasyonunun döngüsel voltamogramları sırasıyla Şekil 4.14, 4.3 ve 4.15'te verilmiştir. Elektropolimerizasyonda tarama hızı arttıkça anodik ve katodik pik potansiyellerinin döngü sayısının artışı ile daha çok kaydığı gözlenmiştir. 100 mV.s^{-1} tarama hızlarında yapılan elektropolimerizasyonda, katodik I potansiyelinin diğer tarama hızlarında yapılan elektropolimerizasyonlara göre daha az tanımlanabilir olduğu Şekil 4.15'ten anlaşılmaktadır.



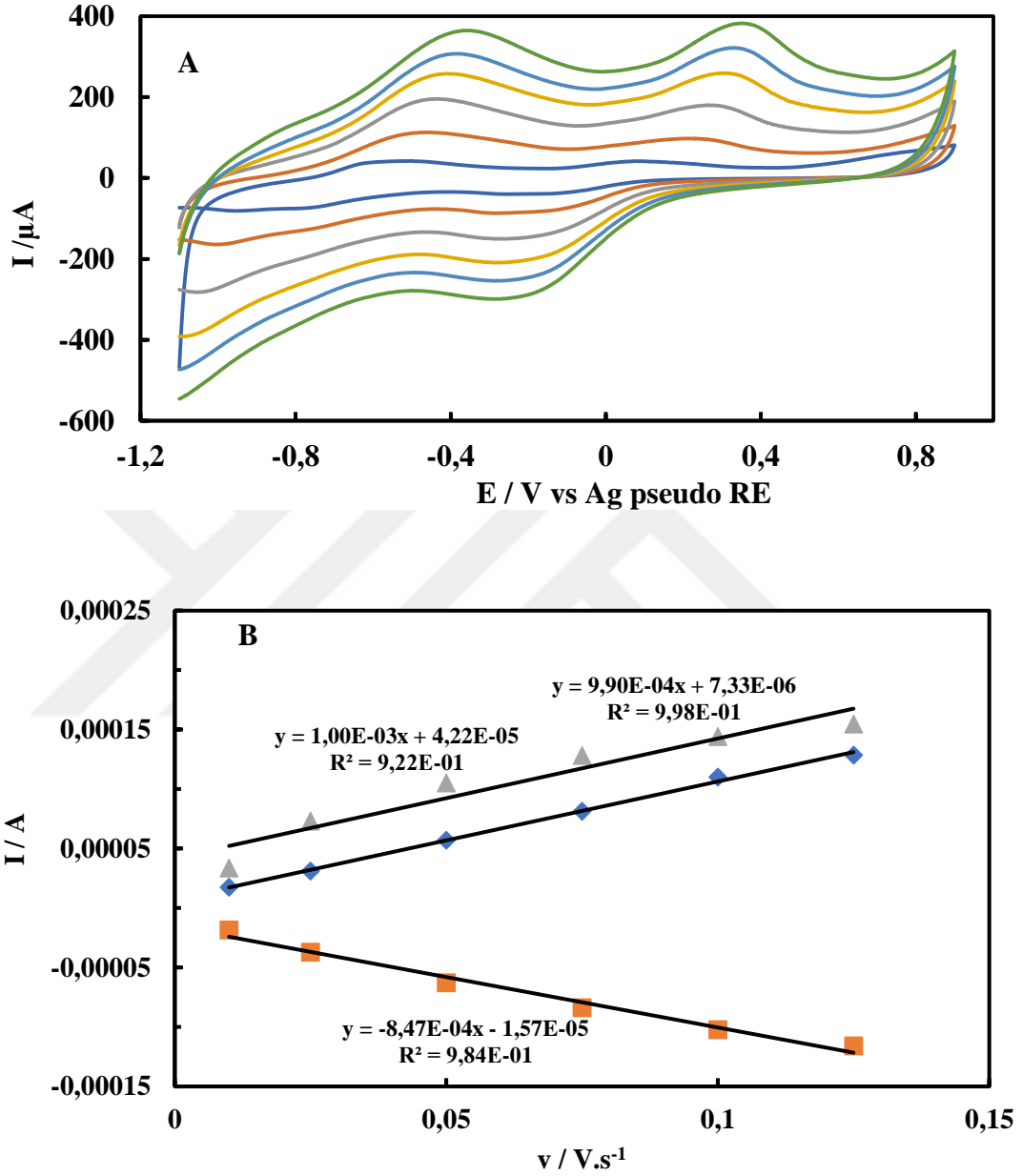
Şekil 4.14. NR'nin SPCE/RGO üzerindeki 25 mV.s^{-1} tarama hızlarında 15 döngü elektropolimerizasyonunun döngüsel voltamogramları (0,1 M KNO_3 içeren pH 5,5 0,025 M fosfat tamponunda 1,0 mM NR monomer çözeltisinde, 25 mV.s^{-1} tarama hızında, 15 döngü)



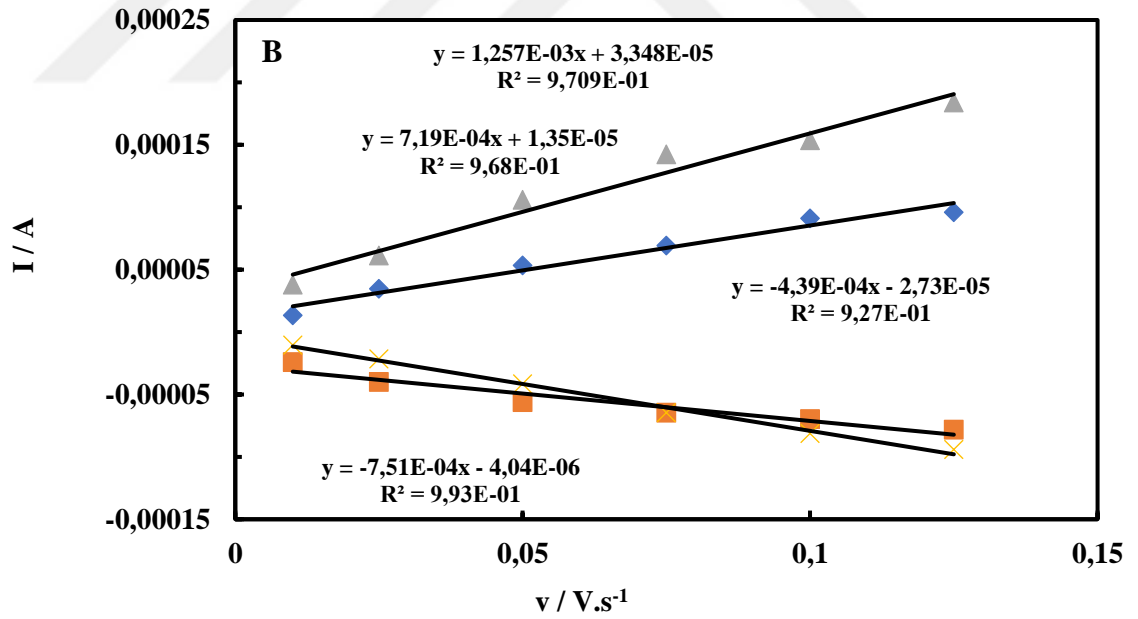
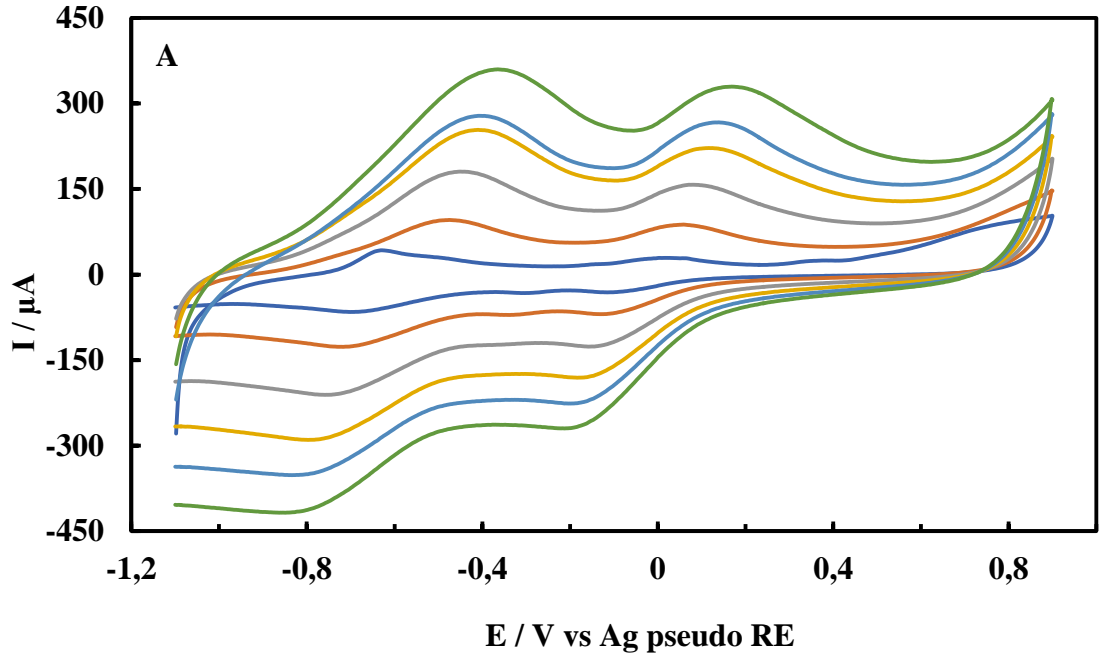
Şekil 4.15. NR'nin SPCE/RGO üzerindeki 100 mV.s^{-1} tarama hızlarında 15 döngü elektropolimerizasyonunun döngüsel voltamogramları (0,1 M KNO_3 içeren pH 5,5 0,025 M fosfat tamponunda 1,0 mM NR monomer çözeltisinde, 100 mV.s^{-1} tarama hızında, 15 döngü)

Farklı tarama hızlarında NR'nin elektropolimerizasyonu ile hazırlanan SPCE/RGO/NR elektrotlarının tampon çözeltideki döngüsel voltamogramları $10\text{-}125 \text{ mV.s}^{-1}$ arasında değişen tarama hızlarında kaydedilmiş ve elde edilen voltamogramlar $25, 50$ ve 100 mV.s^{-1} tarama hızları için sırasıyla Şekil 4.16A, 4.5A ve 4.17A'da verilmiştir. Şekil 4.15A incelendiğinde, katodik I'in tanımlanamadığı ve anodik II pik akımlarının, anodik I pik akımlarından daha yüksek olduğu gözlenmiştir. 4.5A ve 4.17A'da ise anodik I pik akımlarının anodik II pik akımlarından daha yüksek olduğu ve katodik I pik potansiyel ve akımlarının tanımlanabildiği anlaşılmaktadır. Şekil 4.16B, 4.5B ve 4.17B'de ise, Şekil 4.16A, 4.5A ve 4.17A'daki verilerden yararlanılarak anodik ve katodik pik akımlarının tarama hızına karşı çizilmiş grafikleri verilmiştir. Anodik ve katodik pik akımlarının değerleri, $10\text{-}125 \text{ mV.s}^{-1}$ aralığında potansiyel tarama hızı ile doğrusal olarak artmaktadır. $25, 50$ ve 100 mV.s^{-1} tarama hızlarında 15 döngü NR ile modifiye edilmiş SPCE/RGO'lar için Γ değerleri, eşitlik 4.1'den yararlanılarak hesaplanmış ve sırasıyla, $3,14 \times 10^{-9}$, $4,74 \times 10^{-9}$ ve $3,93 \times 10^{-9} \text{ mol.cm}^{-2}$ olarak bulunmuştur. En yüksek yüzey konsantrasyonu 50 mV.s^{-1} tarama hızında modifiye edilen SPCE/RGO/PNR elektrodunda elde edildiği için, optimum tarama hızı 50 mV.s^{-1} olarak belirlenmiştir. Çalışmanın bundan sonraki

kısımında SPCE/RGO elektrotları üzerinde NR'nin elektropolimerizasyonu 50 mV.s^{-1} tarama hızında 15 döngü olarak yapılmıştır.



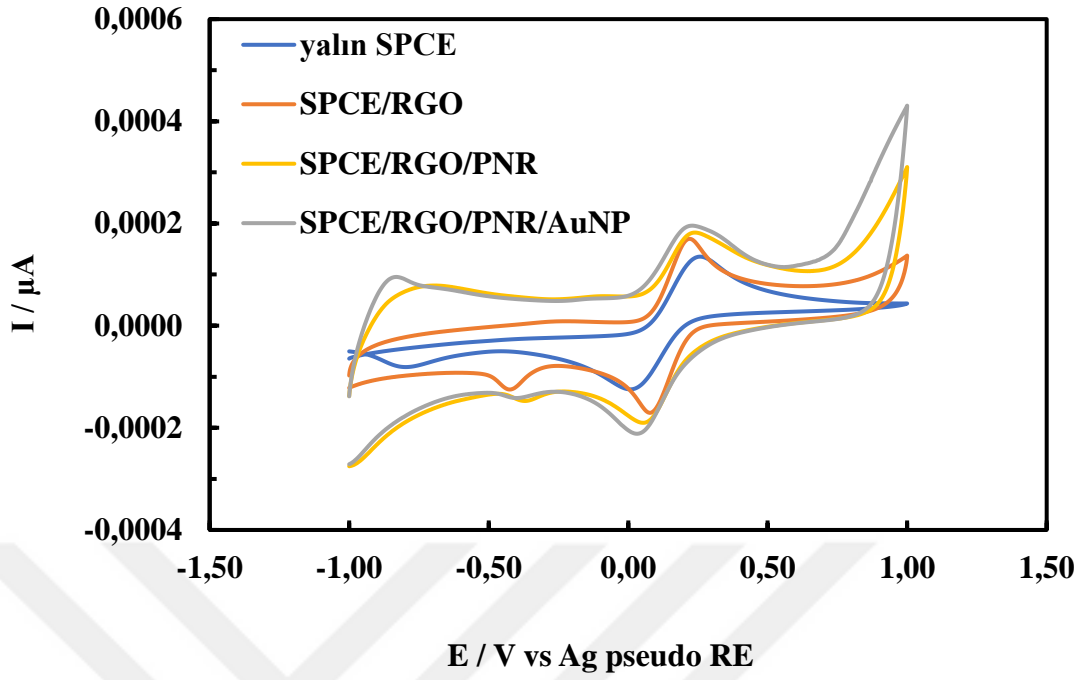
Şekil 4.16. A) 25 mV.s^{-1} tarama hızında NR'nin elektropolimerizasyonu ile hazırlanan SPCE/RGO/NR elektrotlarının tampon çözeltide -1,1 V ile + 0,9 V potansiyel aralığında elde edilen döngüsel voltamogramları (Tarama hızı: 10, 25, 50, 75, 100, 125 mV.s^{-1} , 50 mM pH 7,0 fosfat tamponu, 0,1M KCl) B) A'da verilen döngüsel voltamogramlardan elde edilen pik akımı-tarama hızı grafikleri



Şekil 4.17. A) 100 mV.s^{-1} tarama hızında NR'nin elektropolimerizasyonu ile hazırlanan SPCE/RGO/NR elektrotlarının tampon çözeltide -1,1 V ile +0,9 V potansiyel aralığında elde edilen döngüsel voltamogramları (Tarama hızı: 10, 25, 50, 75, 100, 125 mV.s^{-1} , 50 mM pH 7,0 fosfat tamponu, 0,1M KCl) B) A'da verilen döngüsel voltamogramlardan elde edilen pik akımı-tarama hızı grafikleri

4.5. SPCE/RGO/PNR/AuNP'nin Elektrokimyasal Karakterizasyonu

SPCE/RGO/PNR/AuNP elektrodunun formülasyonunda yer alan nanomateriyaller ve iletken polimerin etkisini incelemek için, SPCE, SPCE/RGO, SPCE/RGO/PNR ve SPCE/RGO/PNR/AuNP elektrotlarının 5 mM $K_3Fe(CN)_6/K_4Fe(CN)_6$ (0,1 M KCl içinde) çözeltisinde -1,0 V ile +1,0 V potansiyel aralığı ve $50 \text{ mV}\cdot\text{s}^{-1}$ tarama hızında döngüsel voltamogramları alınmış ve elde edilen voltamogramlar Şekil 4.18'de verilmiştir. Voltamogramlardan elde edilen anodik pik potansiyelleri (E_{pa}), katodik pik potansiyelleri (E_{pc}), anodik pik akımları (I_{pa}) ve katodik pik akımları (I_{pc}) Çizelge 4.1'de verilmiştir. Elektrot formülasyonunda RGO'nun yer alması ile anodik ve katodik pik akımlarının arttığı ve pik potansiyelleri arasındaki farkın daraldığı görülmektedir. RGO, elektronik iletkenliği ve elektrokimyasal reaksiyonun tersinirliğini artırmıştır. SPCE/RGO formülasyonuna PNR'nin girmesi ise, RGO'da olduğu gibi anodik ve katodik pik akımlarının artırmıştır. Elektrot formülasyonunda RGO ve PNR'nin birlikte bulunması, sinerjik bir etki yaratarak, elektronik iletkenliği ve duyarlılığı oldukça artırmıştır. Bu sinerjik etki şöyle açıklanabilir. RGO'nun formülasyonda bulunması elektroaktif yüzey alanını ve bunun sonucu olarak da elektronik iletkenliği artırmıştır. RGO'nun sp^2 karbonlarından oluşan hidrofobik yan duvarlarına ve π -konjuge yapılarına sahip olması, PNR'nin aromatik halkasında bulunan π - π konjuge yapıları ile, π - π elektronik ve hidrofobik etkileşim yapmasına neden olmuştur. PNR ve RGO arasındaki bu etkileşim sonucu elektronik iletkenlik, sinerjik bir etkiyle artmıştır. Elektronik iletkenliğin artışıyla da elektron transfer hızı ve faradik cevabı artırmıştır. SPCE/RGO/PNR formülasyonunda AuNP'nin yer alması ile anodik ve katodik pik akımlarının daha da arttığı anlaşılmaktadır. Anodik pik potansiyellerinin negatif yönde, katodik pik potansiyellerinin ise pozitif yönde kaydığı görülmüştür. AuNP'nin göstermiş olduğu etki, RGO ve PNR'ye göre daha az olmasına rağmen, RGO, PNR ve AuNP'nin elektrot formülasyonunda birlikte yer alması sinerjik bir etki göstermiş, elektrodun elektroaktif yüzey alanını artırarak elektronik iletkenliği ve elektrodun tersinirliğini artırmıştır.



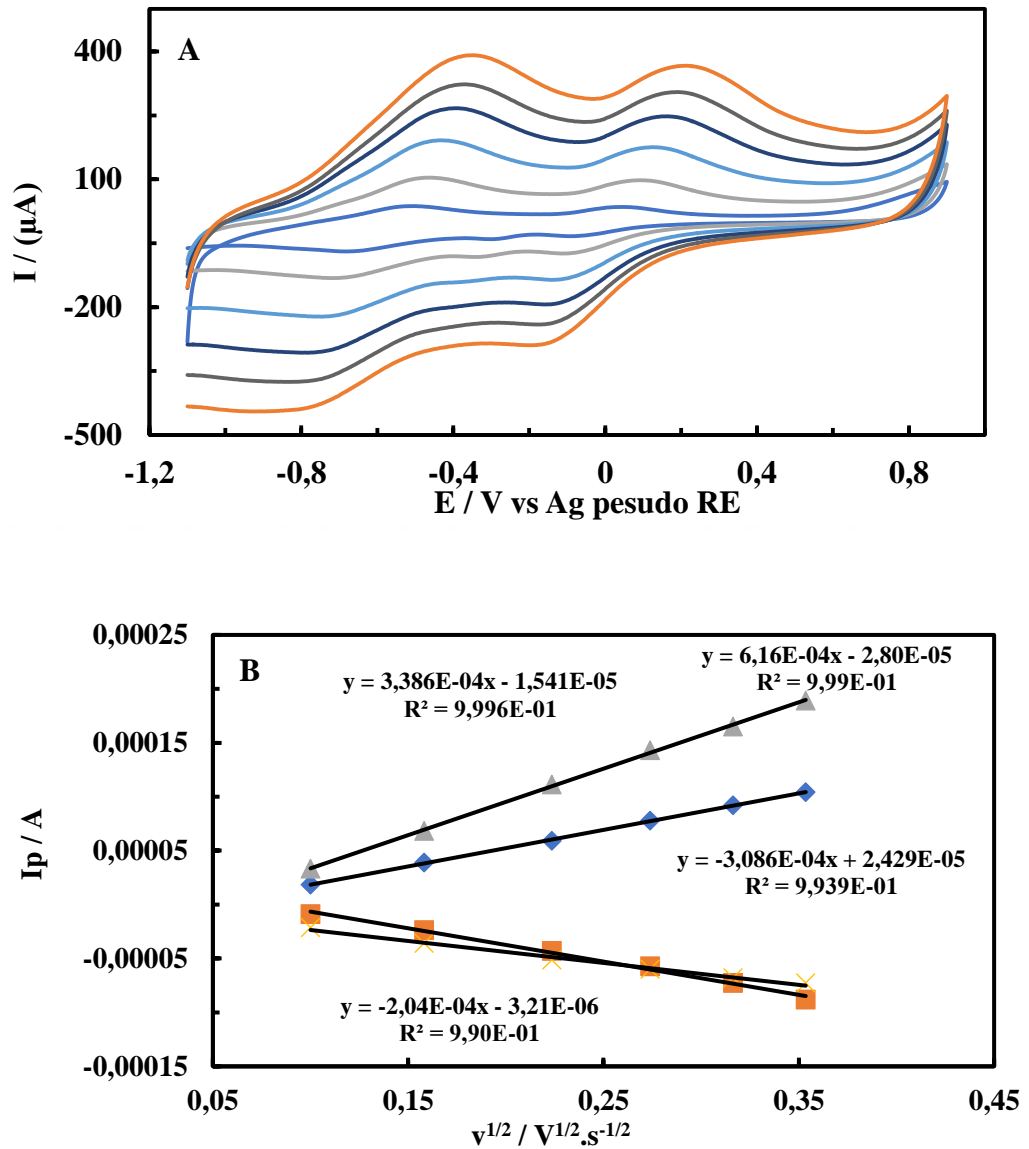
Şekil 4.18. SPCE, SPCE/RGO, SPCE/RGO/PNR ve SPCE/RGO/PNR/AuNP elektrotlarının 5 mM $K_3Fe(CN)_6/K_4Fe(CN)_6$ (0,1 M KCl içinde) çözeltisindeki -1,0 V ile +1,0 V potansiyel aralığı ve 50 $mV \cdot s^{-1}$ tarama hızında elde edilen döngüsel voltamogramları

Çizelge 4.1. Şekil 4.18’de verilen döngüsel voltamogramlardan elde edilen E_p ve I_p değerleri

Elektrot türü	E_{pa} (V)	I_{pa} (μA)	E_{pc} (V)	I_{pc} (μA)
SPCE	0,258	135	0,008	-124,8
SPCE/RGO	0,221	169,8	0,078	-170,7
SPCE/RGO/PNR	0,240	182,1	0,054	-190,2
SPCE/RGO/PNR/AuNP	0,230	195,7	0,032	-211,7

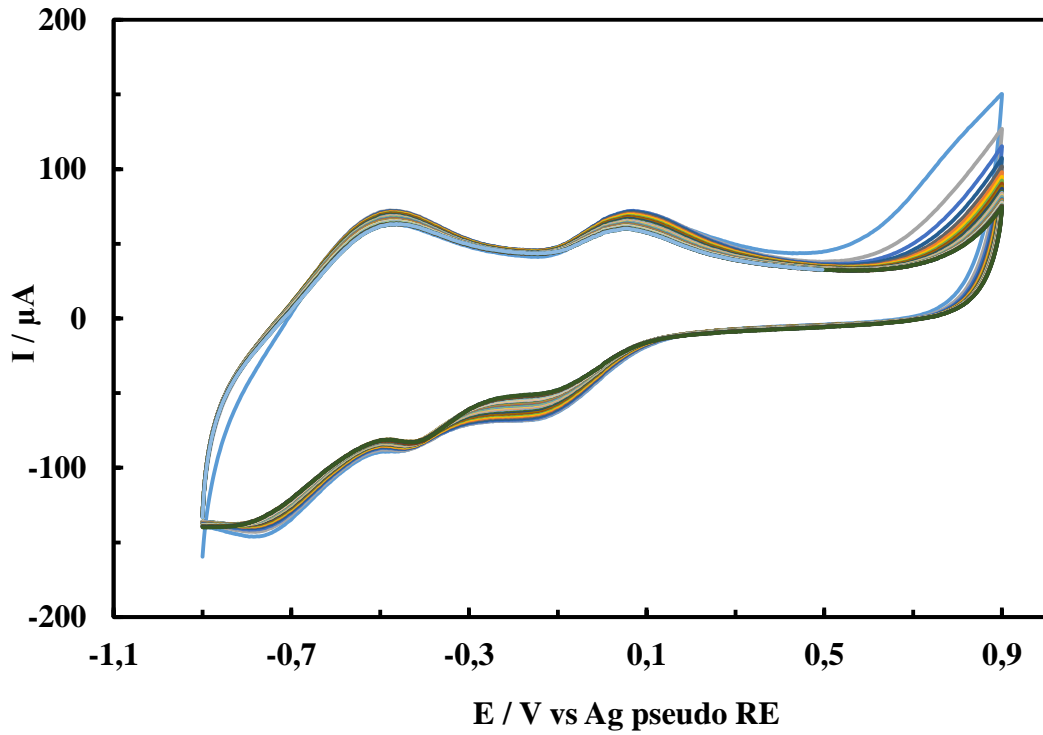
SPCE/RGO/PNR/AuNP elektrodunun elektrokimyasal davranışını daha ayrıntılı incelemek için, tampon çözeltide -1,1 V ile +0,9 V potansiyel aralığında farklı tarama hızlarında dönüşümlü voltamogramları alınmış ve Şekil 4.19 (A)’da verilmiştir. Tarama hızının kareköküne karşı döngüsel voltamogramlardan elde edilen anodik I, anodik II, katodik I ve katodik II pik akımlarının grafikleri çizilmiş ve Şekil 4.19 (B)’de verilmiştir.

Tarama hızı arttıkça anodik ve katodik pik akımlarının arttığı elde edilen döngüsel voltamogramlardan görülmektedir. Anodik ve katodik pik akımlarındaki bu artışın tarama hızının karekökü ile doğrusal olduğu grafiklerden elde edilen doğruların denkleminde anlaşılmaktadır. Tarama hızının karekökünün anodik ve katodik pik akımları ile daha doğrusal olması, SPCE/RGO/PNR/AuNP'ler üzerinde gerçekleşen elektrokimyasal prosesin difüzyon kontrollü olduğunu göstermektedir.



Şekil 4.19. A) SPCE/RGO/PNR/AuNP elektrodunun tampon çözeltide - 1,1 V ile + 0,9 V potansiyel aralığında elde edilen döngüsel voltamogramları (Tarama hızı: 10, 25, 50, 75, 100, 125 mV.s⁻¹, 50 mM pH 7,0 fosfat tamponu, 0,1M KCl) B) A'da verilen döngüsel voltamogramlardan elde edilen pik akımı-tarama hızının karekökü grafikleri

SPCE/RGO/PNR/AuNP elektrodunun elektrokimyasal kararlılığını incelemek için, tampon çözeltide -1,0 V ile +0,9 V potansiyel aralığı ve 50 mV.s^{-1} tarama hızında 30 döngü dönüşümlü voltametri uygulanmış ve elde edilen döngüsel voltamogramlar Şekil 4.20’de verilmiştir. İlk döngüden 30. döngüye kadar, anodik ve katodik pik potansiyellerinin sabit kaldığı ve elektrodun kararlılığının yüksek olduğu Şekil 4.19’dan anlaşılmaktadır. Elektrot formülasyonunda yer alan RGO, PNR ve AuNP’nin birlikte yarattığı sinerjik etki, elektrodun kararlılığını da artırmaktadır.



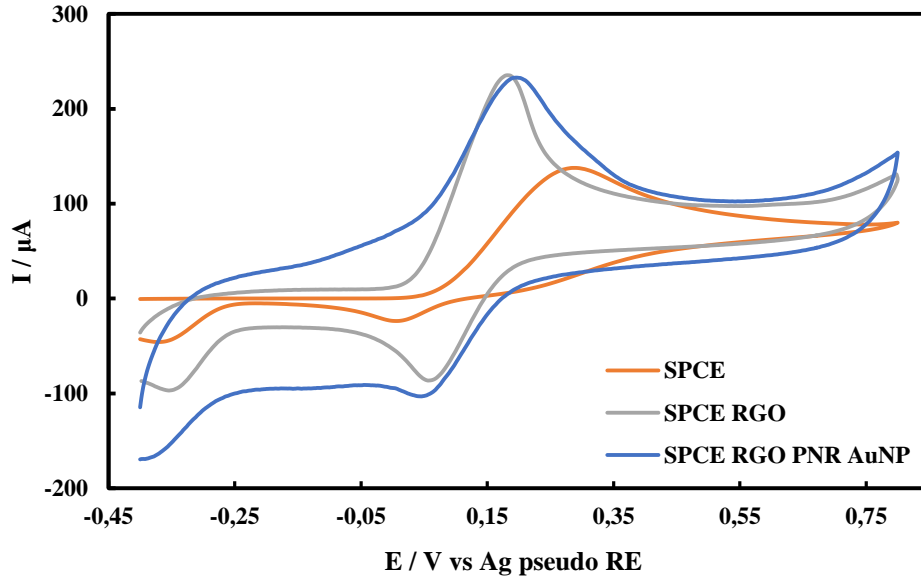
Şekil 4.20. SPCE/RGO/PNR/AuNP elektrodunun tampon çözeltide 30 döngü, -1,0 V ile +0,9 V potansiyel aralığı ve 50 mV.s^{-1} tarama hızında, edilen döngüsel voltamogramları (50 mM pH 7,0 fosfat tamponu, 0,1M KCl)

4.6. Biyosensör Uygulaması

Çalışmamızda hazırladığımız SPCE/RGO/PNR/AuNP elektrotlarının biyosensörlerde kullanımı incelenmiştir. Bu amaçla SPCE/RGO/PNR/AuNP elektrotları dopaminin elektrokimyasal tayininde kullanılmıştır.

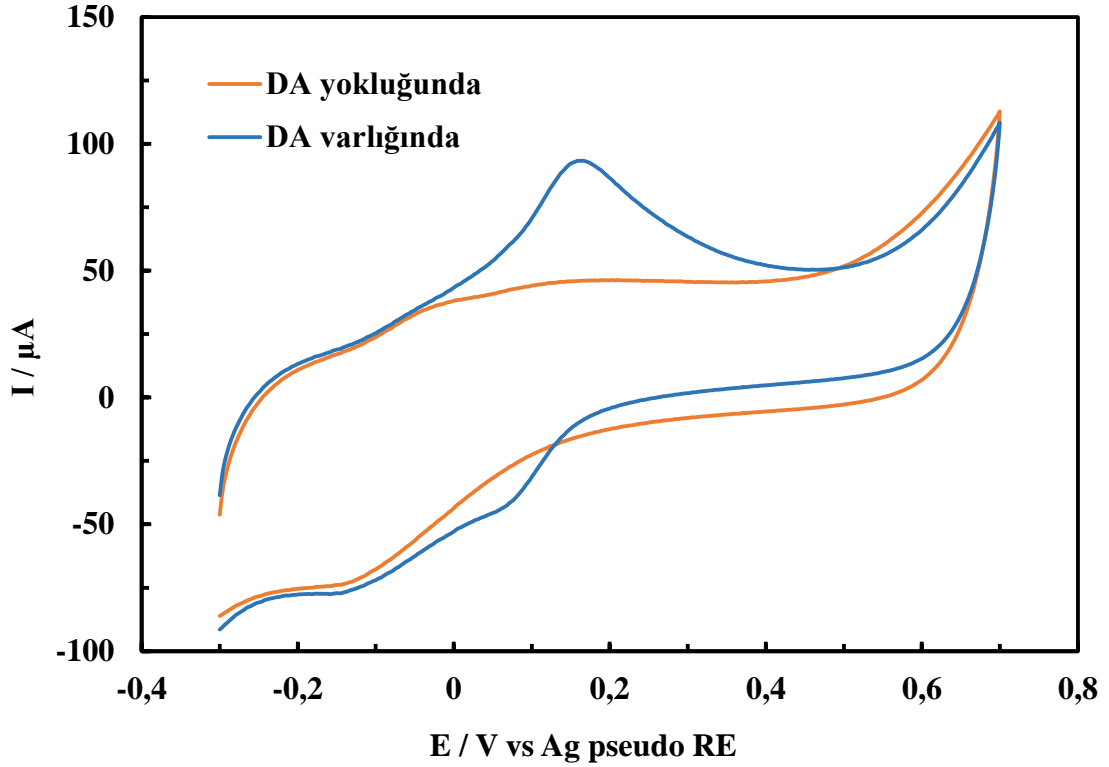
4.6.1. SPCE/RGO/PNR/AuNP’de Dopaminin Elektrokatalitik Yükseltgenmesi

DA’nın elektrokimyasal davranışına RGO, PNR ve AuNP’nin etkisini incelemek için, SPCE, SPCE/RGO ve SPCE/RGO/PNR/AuNP elektrotlarına 50 mV s^{-1} tarama hızında $-0,4 \text{ V}$ ile $+0,8 \text{ V}$ potansiyel aralığında 5 mM DA varlığındaki döngüsel voltamogramları (50 mM pH 7,0 fosfat tamponu ($0,1 \text{ M KCl}$)) alınmış ve Şekil 4.21’de verilmiştir. Voltamogramlar incelendiğinde, yalın SPCE elektrodunda DA’nın tersinirliğinin düşük olduğu, Epa değerinin $+0,288 \text{ V}$ ve Ipa değerinin ise $109,5 \mu\text{A}$ olduğu gözlenmiştir. RGO varlığında SPCE/RGO elektrodunda Epa ve Ipa değerleri sırası ile $+0,186 \text{ V}$ ve $198,1 \mu\text{A}$, RGO, PNR ve AuNP varlığında SPCE/RGO/PNR/AuNP elektrodunda ise Epa ve Ipa değerleri sırası ile $+0,196 \text{ V}$ ve $166,7 \mu\text{A}$ olarak bulunmuştur. Elektrot formülasyonunda RGO, PNR ve AuNP’nin birlikte bulunması yalın elektroda göre DA’nın elektroyükseltgenme ve elektroindirgenmesinde elektrokatalitik etki gösterdiği anlaşılmaktadır.



Şekil 4.21. SPCE, SPCE/RGO ve SPCE/RGO/PNR/AuNP elektrodunun 50 mV s^{-1} tarama hızında $-0,4 \text{ V}$ ile $+0,8 \text{ V}$ potansiyel aralığında 5 mM DA varlığındaki döngüsel voltamogramları (50 mM pH 7,0 fosfat tamponu ($0,1 \text{ M KCl}$))

SPCE/RGO/PNR/AuNP elektrotlarının DA'nin elektroyükseltgenmesindeki elektrokatalitik aktivitesini test etmek için, 50 mM pH 7,0 fosfat tamponu (0,1 M KCl) içerisinde 1 mM DA'nin varlığında ve yokluğunda döngüsel voltametri uygulanmış ve elde edilen voltamogramlar Şekil 4.21'de verilmiştir.



Şekil 4.22. SPCE/RGO/PNR/AuNP elektrodunun 50 mV s⁻¹ tarama hızında 50 mM pH 7,0 fosfat tamponunda (0,1 M KCl) -0,3 V ile +0,7 V potansiyel aralığında 1 mM DA varlığında ve yokluğundaki döngüsel voltamogramları

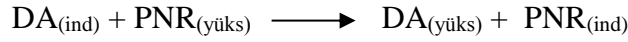
DA yokluğunda tampon çözeltide sadece elektrot formülasyonunda yer alan PNR'nin pikleri gözlenmekte iken DA varlığında redoks çifti gözlenmektedir. 1 mM DA varlığında gözlenen redoks çiftinin E_{pa} ve E_{pc} değerleri ile 0,158 V ve 0,076 V'dur. I_{pa} ve I_{pc} değerleri ise sırasıyla 57,52 µA ve 8,43 µA'dır. Britto *et al.* (1996) karbon nanotüp elektrot ile DA'nın E_{pa} ve E_{pc} değerlerini pH 7,4 fosfat tamponunda sırasıyla 0,22 V ve 0,19 V olarak bulmuşlardır (SCE'ye karşı). Sun *et al.* (1998) PNR ile modifiye camı karbon elektrotta (GCE) pH 4,6 asetat tamponunda DA'nın E_{pa} değerini 0,265 V olarak tespit etmişlerdir (SCE'ye karşı). Sun *et al.* (2007) iyonik sıvı ile modifiye edilmiş karbon

hamur elektrodunda DA'nın Epa ve Epc değerlerini pH 6,0 fosfat tamponunda sırasıyla 0,215 V ve 0,151 V olduğunu bildirmişlerdir (SCE'ye karşı). Yogeswaran and Chen (2007) PNR ve karbon nanotüp ile modifiye ettikleri GCE'de pH 4 ftalat tamponunda DA'nın Epa değerini 0,38 V olarak belirlemişlerdir (Ag/AgCl'e karşı). Hou *et al.* (2010) EDTA ve RGO ile modifiye edilmiş camsı karbon elektrotlar üzerinde DA'nın Epa ve Epc değerlerini pH 7,2 fosfat tamponunda sırasıyla 0,199 V ve 0,119 V olarak bulmuşlardır (SCE'ye karşı). Yue *et al.* (2012) mezo-gözenekli karbon nanofiber ile modifiye ettikleri pirolitik grafit elektrotlar üzerinde pH 7,0 fosfat tamponunda DA'nın Epa değerinin 0,193 V olduğunu gözlemlemişlerdir (SCE'ye karşı). Han *et al.* (2014) elektrokimyasal olarak indirgenmiş grafen oksit ve ferulik asit ile modifiye edilmiş GCE üzerinde pH 6,0 sitrat tamponunda DA'nın Epa değerinin 0,312 V olduğunu gözlemlemişlerdir (Ag/AgCl'e karşı). Yang *et al.* (2014) indirgenmiş grafen oksit ile modifiye edilmiş GCE üzerinde pH 7,0 fosfat tamponunda DA'nın Epa ve Epc değerlerinin sırası ile 0,224 V 0,166 V olarak bulmuşlardır (Ag/AgCl'e karşı). Zhang *et al.* (2017) indirgenmiş grafen oksit ve poli L-lisin ile modifiye edilmiş GCE üzerinde pH 7,4 fosfat tamponunda DA'nın Epa değerinin 0,228 V olduğunu bildirmişlerdir (Ag/AgCl'e karşı). Tampon çözeltinin pH'sı arttıkça DA'nın Epa ve Epc değerlerinin daha negatif değerlere kaydığı bilinmektedir (Sun *et al.* 2007, Kamyabi and Shafiee 2012, Han *et al.* 2014, Yang *et al.* 2014, Zhang *et al.* 2017).

Literatür verileri incelendiğinde ve tampon çözeltinin pH'sı da dikkate alındığında, çalışmamızda hazırlamış olduğumuz SPCE/RGO/PNR/AuNP elektrodunun, DA'nın Epa ve Epc değerlerini oldukça fazla düşürdüğü ve DA'nın yükseltgenmesine karşı elektrokatalitik etki gösterdiği açıkça görülmektedir.

RGO, PNR ve AuNP'nin elektrot formülasyonunda birlikte yer alması DA'nın elektroyükseltgenmesinde hem sinerjik bir etki göstererek elektrodun elektroaktif yüzey alanını artırarak elektronik iletkenliği ve elektrodun tersinirliğini artırmış, hem de DA'nın elektroyükseltgenmesinde elektrokatalitik etki göstererek pik potansiyellerinin değerini azaltmıştır. DA'nın yükseltgenmesindeki daha düşük anodik pik potansiyeli, DA'nın elektroyükseltgenmesi için özellikle PNR'nin elektrokatalitik etki sergilediğini belirtmektedir. DA varlığında yükseltgenme pik akımının artması, DA'nın çözüldüğü ortamdan

elektrot yüzeyine doğru difüzlenerak yükseltgendiğini ve buna karşın yüzeydeki PNR'nın indirgendiğini gösterir. Bu elektrokimyasal işlem zinciri şöyle formülize edilebilir:



Modifiye edilmiş elektrot tarafından DA'nin tüm yükseltgenmesi aşağıda gösterilmiştir.

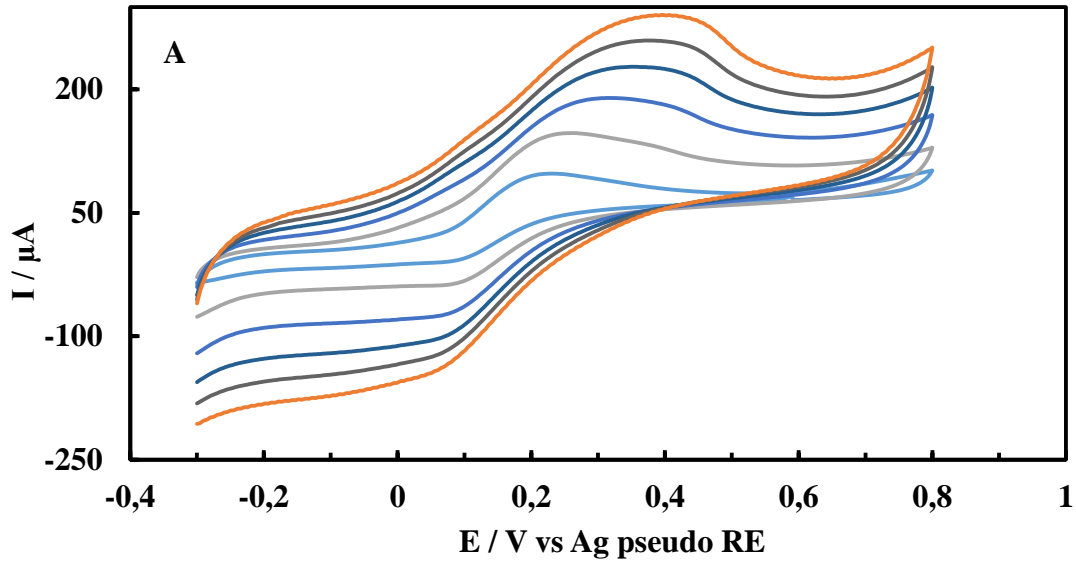


Bu reaksiyonlar incelendiğinde, PNR'nin DA'nın yükseltgenmesinde medyatör olarak etki gösterdiği anlaşılmaktadır. SPCE/RGO/PNR/AuNP elektrodunun, DA'ya karşı gösterdiği yüksek elektrokatalitik aktivite ve yüksek elektronik iletkenlik şu şekilde açıklanabilir:

Elektrokimyasal ön işlem uygulanmış SPCE elektrodunun yüzeyinde, karbonun yükseltgenmesi ile karboksil, hidroksil ve kinon-hidrokinon grupları oluşur (Şahin ve Ayrancı 2015, Bilgi ve Ayrancı 2016). İndirgenmiş grafen oksitin yüzeyinde $-\text{COOH}$, $-\text{OH}$ ve $-\text{NH}_2$ grupları bulunmaktadır (Mao *et al.* 2012). SPCE üzerine RGO'nun modifiye edilmesiyle ise, SPCE ve RGO yüzeyinde bulunan elektroaktif fonksiyonel grupların arasında oluşan hidrofilik etkileşimler ile yüksek elektroaktif yüzey alanına sahip bir elektrot yüzeyi elde edilir. SPCE/RGO üzerinde NR'nin elektropolimerizasyonu ile PNR filmi oluşur. PNR filminin yapısında bulunan π konjuge yapıları, RGO'da bulunan π konjuge yapıları ile π - π elektronik etkileşimini ve hidrofobik etkileşim yapar. Böylece SPCE/RGO/PNR elektrodunda elektron transfer hızı oldukça artar ve faradik cevap kuvvetlenir (Şahin ve Ayrancı 2015, Bilgi ve Ayrancı 2016). SPCE/RGO/PNR elektrodunun AuNP ile modifikasyonu sonrasında, AuNP'ler ile elektrot yüzeyindeki PNR'nin $-\text{NH}_2$ grupları arasında da bir etkileşim olacaktır. Böylelikle çalışmamızda hazırlamış olduğumuz SPCE/RGO/PNR/AuNP elektrodunun elektronik iletkenliği

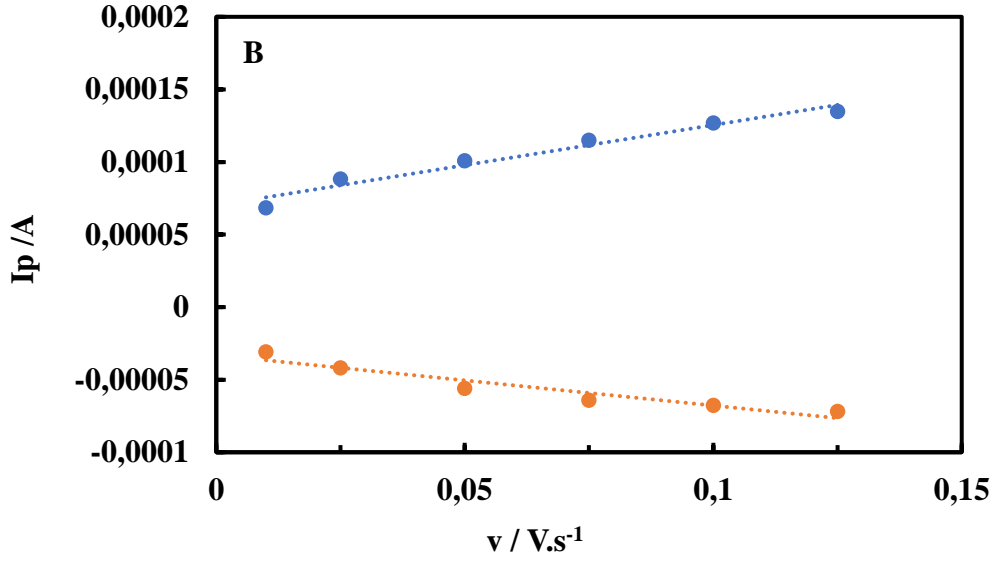
oldukça yüksektir. AuNP'nin biyouyumluluk özelliği ise, DA'nın redoks reaksiyonunda uyumlu bir mikroçevre oluşturur.

Şekil 4.23A'da, SPCE/RGO/PNR/AuNP üzerinde 1 mM DA'nın farklı tarama hızlarındaki (10, 25, 50, 75, 100, 125 $\text{mV}\cdot\text{s}^{-1}$) döngüsel voltamogramları verilmiştir.

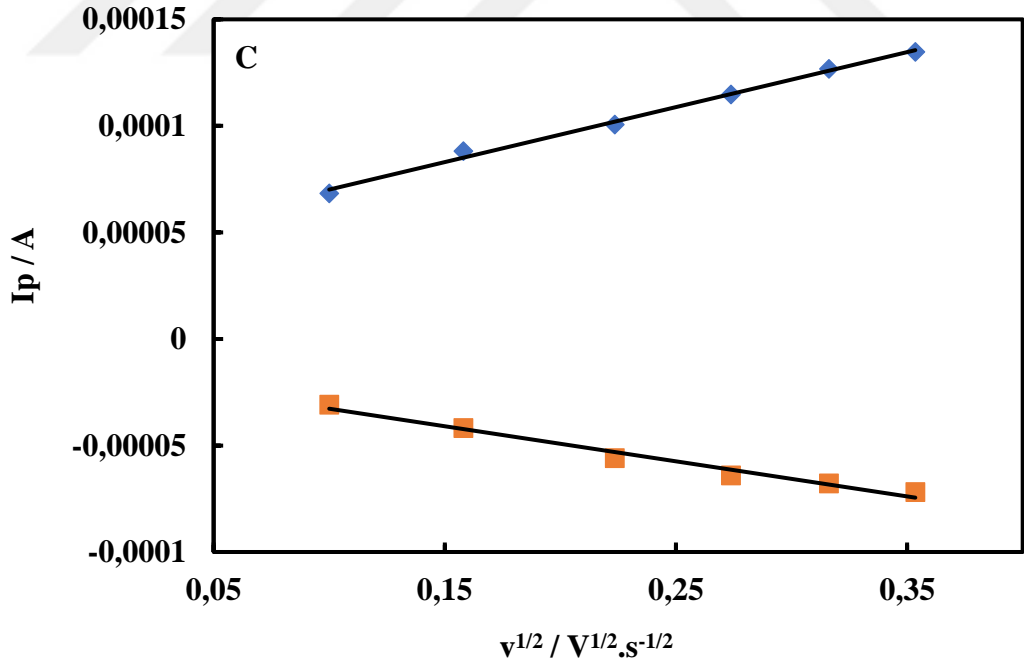


Şekil 4.23. A) SPCE/RGO/PNR/AuNP elektrodunun 1 mM DA içeren 50 mM pH 7,0 fosfat tamponunda (0,1 M KCl'de) -0,3 V ile +0,8 V potansiyel aralığında farklı tarama hızlarındaki (10-125 $\text{mV}\cdot\text{s}^{-1}$) döngüsel voltamogramları

Tarama hızı arttıkça anodik ve katodik pik akımlarının doğrusal bir şekilde arttığı Şekil 4.23B'den anlaşılmaktadır. Tarama hızının artmasıyla anodik ve katodik pik potansiyelleri sırasıyla, daha pozitif ve negatif değerlere kaymıştır. Şekil 4.23B'de anodik ve katodik pik akımlarının tarama hızına karşı, Şekil 4.23C'de de tarama hızının kareköküne karşı grafikleri verilmiştir. Hem anodik hem de katodik pik akımlarının, çalışma şartlarımızdaki tarama hızı ve tarama hızının kareköküyle doğrusal olduğu bu grafiklerden görülmektedir.



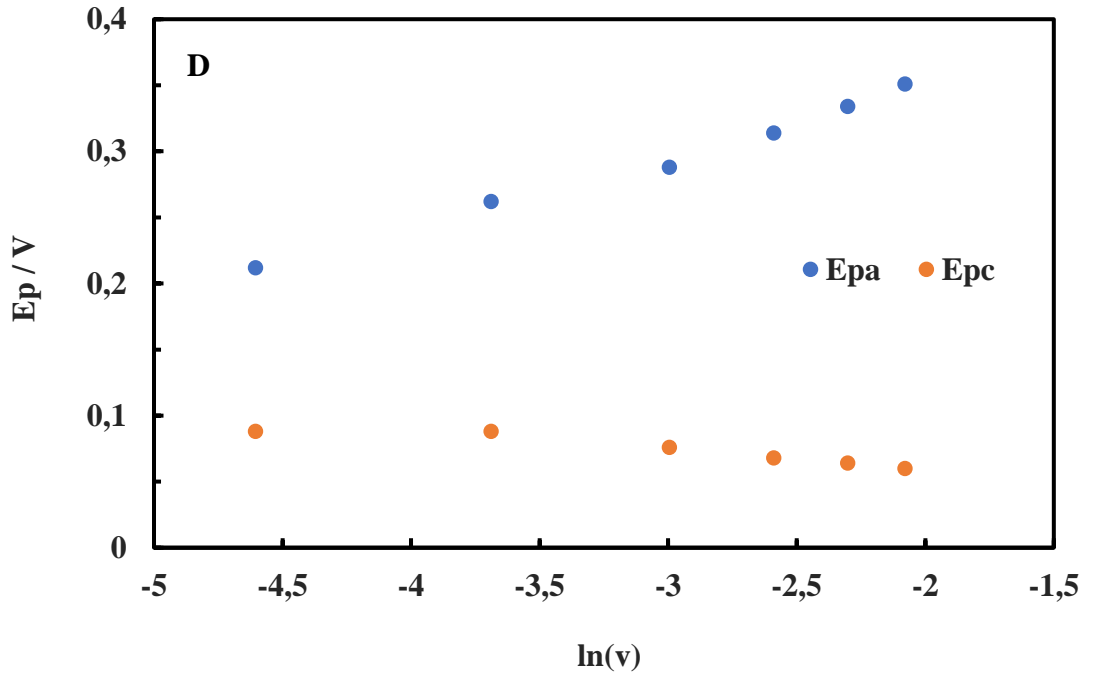
Şekil 4.23. B) A'daki verilerden yararlanılarak elde edilen akım-tarama hızı grafiği



Şekil 4.23. C) A'daki verilerden yararlanılarak elde edilen akım-tarama hızının karekökü grafiği

Yapılan regresyon analizlerinin sonucunda bu grafiklerin korelasyon katsayıları sırasıyla, 0,982, 0,956, 0,997 ve 0,989 olarak bulunmuştur. Bu değerler incelendiğinde, Şekil 4.23C’de verilen grafiğin korelasyon katsayısının daha iyi olduğu açıkça görülmektedir. Bu da, SPCE/RGO/PNR/AuNP’ler üzerinde DA’nın elektro-yükseltgenme ve indirgenmesinin difüzyon kontrollü bir proseste gerçekleştiğini göstermektedir.

Şekil 4.23D’de Şekil 4.23A’daki verilerinden yararlanarak tarama hızının doğal logaritması ($\ln v$) ve pik potansiyeli arasındaki ilişki verilmiştir.



Şekil 4.23. D) A’da verilen döngüsel voltamogramlardan elde edilen pik potansiyeli-tarama hızının doğal logaritması grafiği

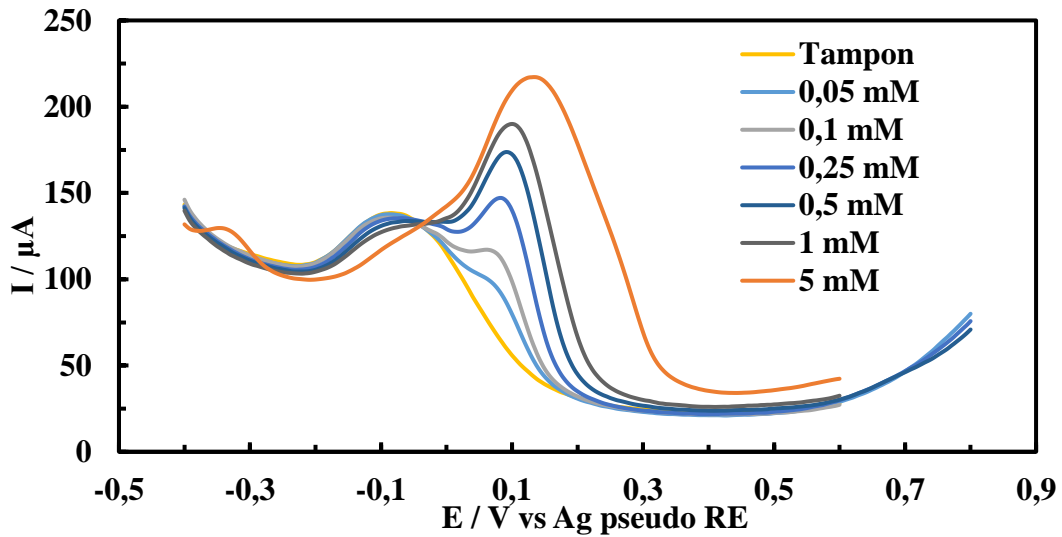
SPCE/RGO/PNR/AuNP’lerin yüzeyi ve çözelti arasında meydana gelen DA’nın elektroyükseltgenmesi için elektron-transfer katsayısı (α) aşağıdaki eşitlikten bulunabilir (Harrison and Khan 1970):

$$E_p = \left(\frac{RT}{2\alpha F} \right) \ln v + \text{sabit} \quad (4.3)$$

Burada E_p pik potansiyelini, ν tarama hızını, T sıcaklığı (293 K), R gaz sabitini ($8,314 \text{ J.K}^{-1}.\text{mol}^{-1}$) ve F ise Faraday sabitini (96485 C.mol^{-1}) ifade eder. Anodik pik potansiyelleri tüm tarama hızı aralığında $\ln \nu$ 'ye karşı doğrusal olarak değişmektedir. Bu değişim için doğrusal regresyon denklemi $E_{pa} = 0,0533 \ln \nu + 0,4557$, $r = 0,995$ şeklindedir. Şekil 4.19C'deki doğrunun eğimi ve eşitlik 4.3 kullanılarak, 1 mM DA için α değeri hesaplanmış ve bu değer 0,237 olarak bulunmuştur.

1 mM DA'nın SPCE/RGO/PNR/AuNP'ler üzerine difüzyon katsayısını hesaplamak için, difüzyon kontrollü elektrokimyasal proses için eşitlik 4.2 kullanılmış ve 1 mM DA'nın difüzyon katsayısı $1,32 \times 10^{-5} \text{ cm}^2.\text{s}^{-1}$ olarak bulunmuştur. Bu değer DA'nın difüzyon katsayısı için literatürde verilen $3,2 \times 10^{-6} \text{ cm}^2.\text{s}^{-1}$ ve $5,8 \times 10^{-6} \text{ cm}^2.\text{s}^{-1}$ değerinden daha büyüktür (Chen *et al.* 2006, Raj *et al.* 2003).

SPCE/RGO/PNR/AuNP elektrodunun DA'ya karşı olan voltametrik cevabında DA konsantrasyonunun etkisi incelenmiştir. Bunun için 50 mM pH 7,0 (0,1 M KCl) tamponunda hazırlanmış DA'nın farklı konsantrasyonları için diferansiyel puls voltametri uygulanmış ve sonuçlar Şekil 4.24'te verilmiştir. Burada, DA konsantrasyonu arttıkça anodik pik akımlarının da arttığı görülmektedir.



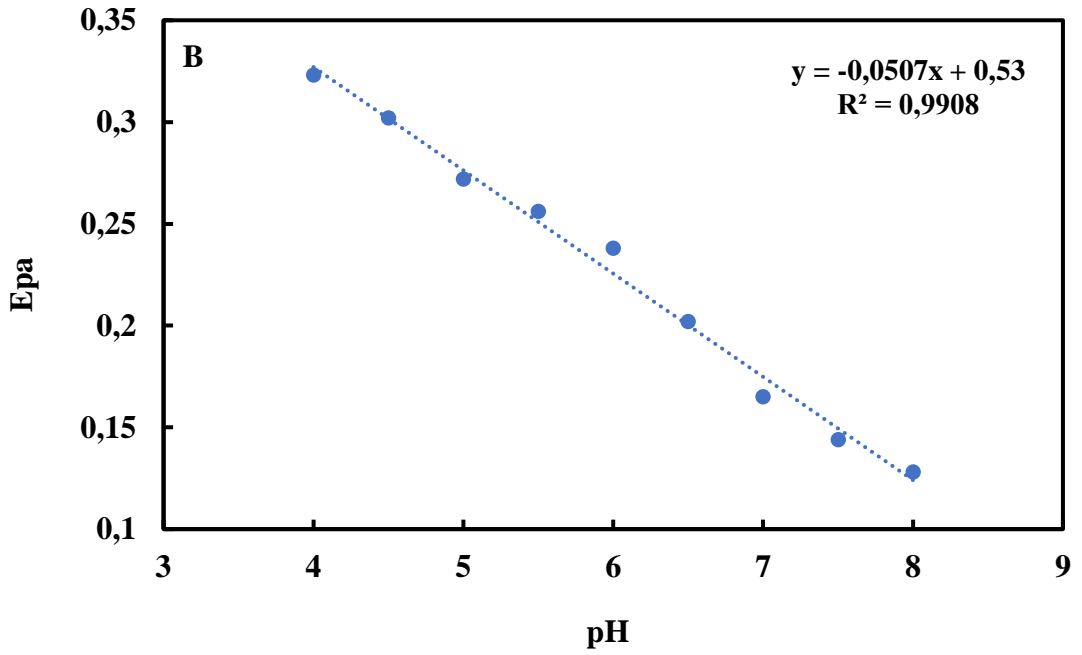
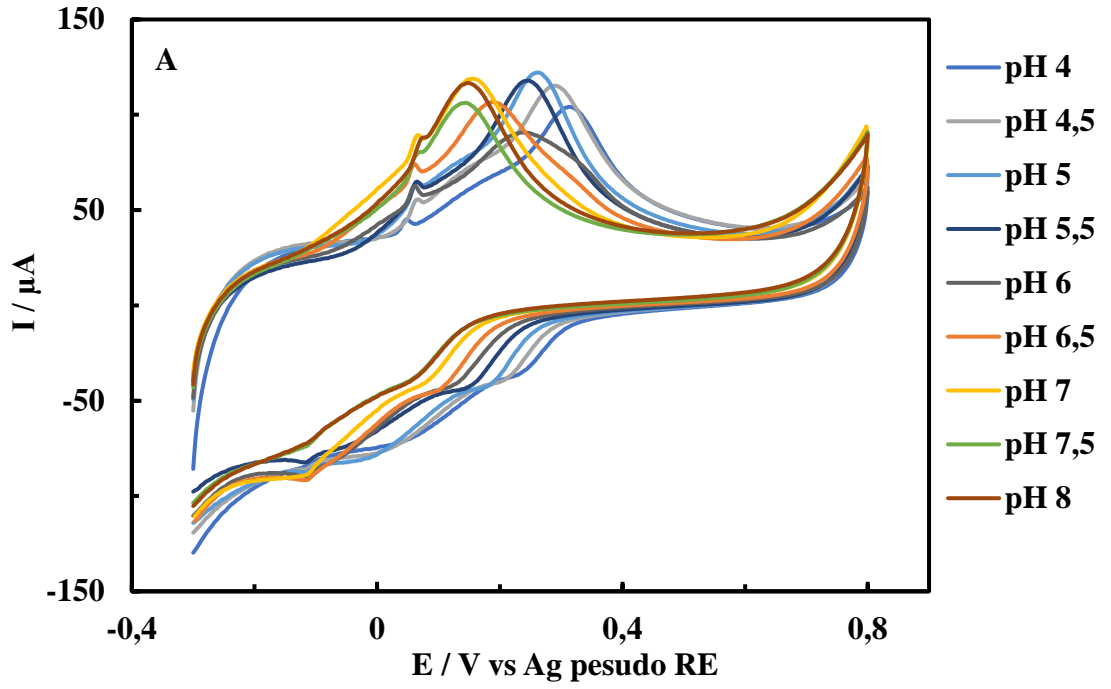
Şekil 4.24. SPCE/RGO/PNR/AuNP elektrodunun değişen DA konsantrasyonlarında (0,05 mM- 5 mM) - 0,4 V ve +0,9 V potansiyel aralığındaki diferansiyel puls voltamogramları (50 mM pH 7,0 fosfat tamponu, 0,1 M KCl; pulse amplitude: 5 mV, voltage step: 70 mV, pulse time: 0,1 s, scan rate: 10 mV.s⁻¹)

4.6.2. Elektrokimyasal DA Tayinine İlişkin Bulgular

Çalışmamızda hazırladığımız SPCE/RGO/PNR/AuNP kompozit elektrodun DA'nin yükseltgenmesine karşı gösterdiği yüksek elektrokatalitik etki, yüksek elektronik iletkenlik ve yüksek duyarlık, bu elektrodun DA'nin amperometrik tayininde biyosensör olarak kullanılması için bir yeniliktir. Bu bölümde, SPCE/RGO/PNR/AuNP elektrodunun DA'nin amperometrik tayininde biyosensör olarak kullanımı ile ilgili yapmış olduğumuz çalışmalardan bahsedilecektir.

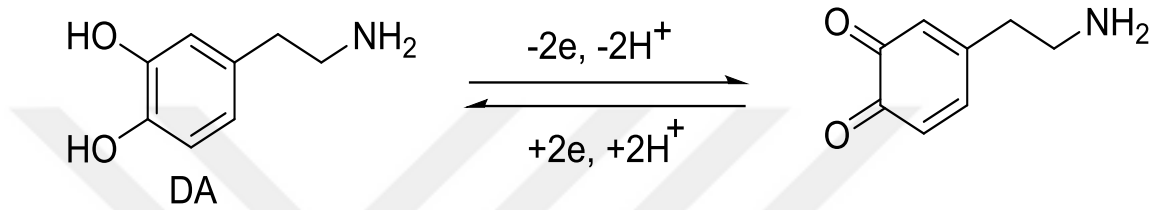
4.6.2.1. pH optimizasyonu

DA'nin elektrokimyasal tayini için destek elektrolit olarak kullanılan tamponunun optimum pH'sını belirlemek için, 50 mM derişiminde farklı pH'larda (4-8 aralığında) asetat ve fosfat tampon çözeltileri hazırlanmıştır. Her bir farklı pH'ya sahip tampon çözeltiler kullanılarak 500 µM sabit derişimde DA çözeltileri hazırlanmış ve bu DA çözeltilerinin döngüsel voltamogramları Şekil 4.25A'da verilmiştir. Şekil 4.25A'daki voltamogramlardan elde edilen anodik pik potansiyellerine karşı pH değişimi grafiği Şekil 4.25B'de verilmiştir. DA'nin yükseltgenme potansiyelinin pH artışı ile azaldığı hem voltamogramlardan hem de grafikten anlaşılmaktadır. Elde ettiğimiz bu sonuç literatür ile de uyumludur (Sun *et al.* 2007, Kamyabi and Shafiee 2012, Han *et al.* 2014, Yang *et al.* 2014, Zhang *et al.* 2017).



Şekil 4.25 A) SPCE/RGO/PNR/AuNP elektrodunun 500 μM DA içeren farklı pH'lardaki tamponlarda (0,1 M KCl) -0,3 V ile +0,8 V potansiyel aralığında 50 $mV \cdot s^{-1}$ 'deki döngüsel voltamogramları B) A'da verilen döngüsel voltamogramlardan elde edilen anodik pik potansiyeli-pH grafiği

Şekil 4.25B’de elde edilen doğrunun eğimi $-50,7 \text{ mV/pH}$ ’dır. Bu değer, Nernst eşitliği için verilen teorik değere yakındır ($-59,2 \text{ mV/pH}$, $25 \text{ }^\circ\text{C}$ ’de). Buna göre, SPCE/RGO/PNR/AuNP elektrodunda DA’nın elektroyükseltgenme reaksiyonu protona bağımlıdır ve transfer edilen elektron sayısı proton sayısına eşittir (Yue *et al.* 2012, Dong *et al.* 2003). DA’nın elektroyükseltgenmesi 2 elektronlu-2 protonlu prosesi içerir (Yue *et al.* 2012, Luczak 2008). DA’nın SPCE/RGO/PNR/AuNP elektrodunda elektroyükseltgenme reaksiyonu Şekil 4.26’te gösterilmiştir.

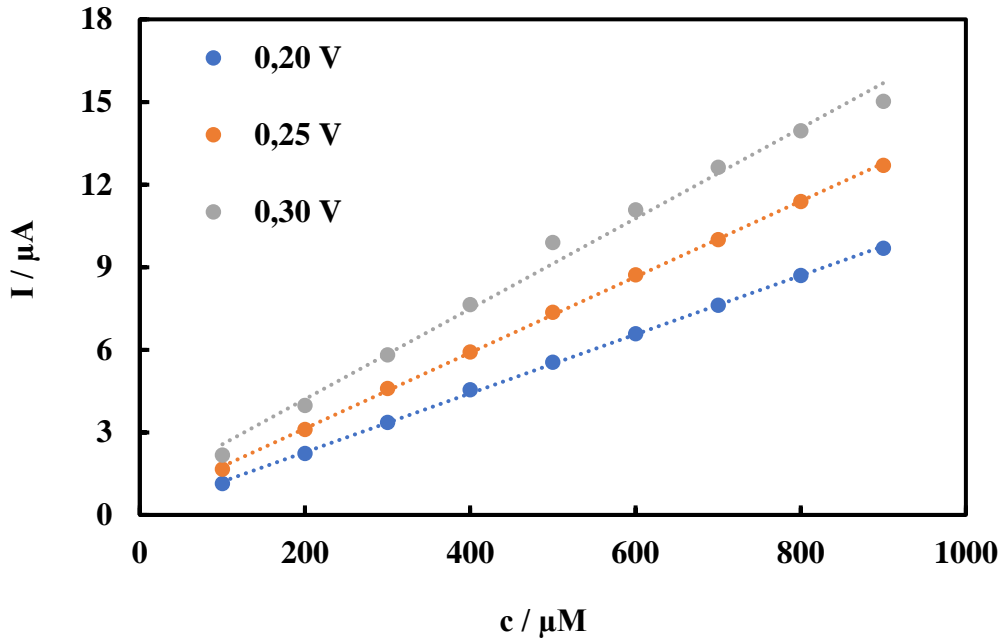


Şekil 4.26. DA’nın SPCE/RGO/PNR/AuNP elektrodunda elektroyükseltgenme reaksiyonu

Çalışmamızın amacı RGO ile modifiye edilmiş elektrotlar üzerinde PNR’nin hazırlanması ve biyosensör uygulamalarıdır. Bu amaçla, SPCE/RGO/PNR/AuNP elektrodunun biyosensör uygulaması olarak DA’nın analizinde kullanımı incelenmiştir. PNR’nin DA’nın elektroyükseltgenmesinde iletken polimer özelliği göstermesinin yanı sıra medyatör olarak rol oynadığı Bölüm 2.1.3’te açıklanmıştı. PNR, kimyasal yapısı gereği farklı pH’larda farklı redoks davranışı göstermektedir. pH 7,0’de PNR, 2-elektronlu 2-protonlu redoks davranışı göstermektedir. DA’nın elektroyükseltgenmesinde PNR’nin medyatör olarak rol olabilmesi için pH’nın 7,0 olması gerektiğinden, optimum pH 7,0 olarak belirlenmiştir. DA’nın elektrokimyasal tayininde bundan sonraki ölçümler 50 mM pH 7,0 fosfat tamponunda gerçekleştirilmiştir.

4.6.2.2. Çalışma potansiyelinin optimizasyonu

Çalışmanın bu kısmında, SPCE/RGO/PNR/AuNP biyosensörlerinin DA'nin tayini için farklı potansiyelerde gösterdiği amperometrik yanıtlar incelenmiştir. SPCE/RGO/PNR/AuNP biyosensörleri ile DA'nin amperometrik tayini pH 7,0'de, 0,20 V, 0,25 V ve 0,30 V potansiyellerinde yapılmıştır. Elde edilen amperogramlardan yararlanılarak akım-konsantrasyon grafikleri çizilmiştir (Şekil 4.27). Bu grafiklerden elde edilen duyarlık ve korelasyon katsayısı değerleri Çizelge 4.2'de verilmiştir.



Şekil 4.27. SPCE/RGO/PNR/AuNP biyosensörlerinin farklı potansiyelerde (0,2 V, 0,25 V ve 0,3 V) DA derişimine karşı elde edilen akım grafikleri (50 mM pH 7,0 fosfat tamponu, 0,1 M KCl)

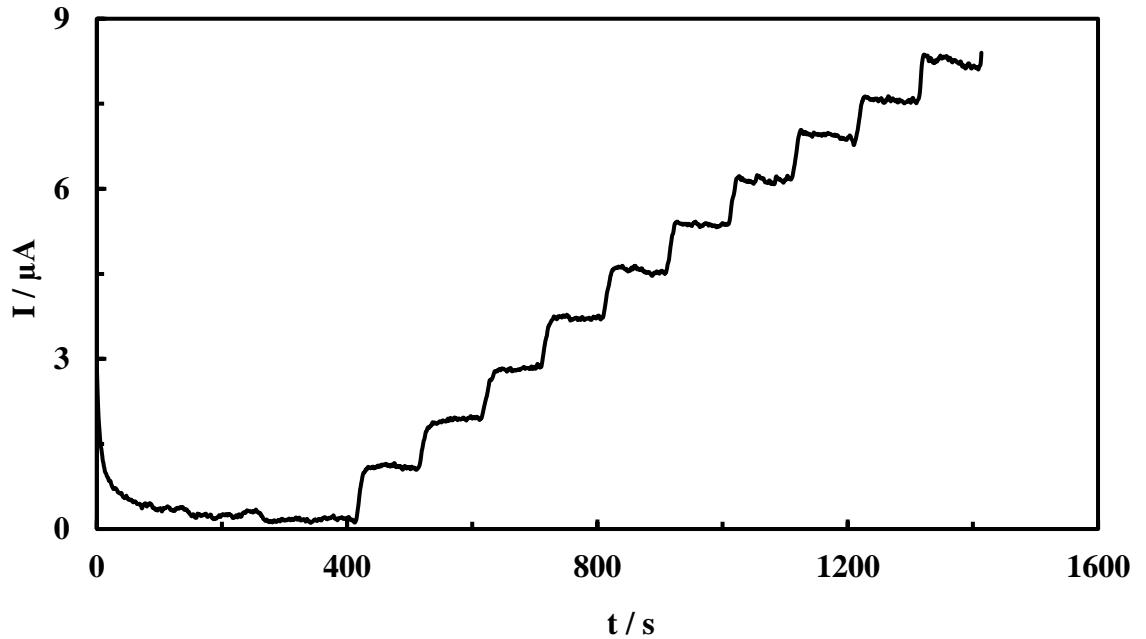
Çizelge 4.2. Şekil 4.27'de verilen grafiklerden elde edilen duyarlık ve korelasyon katsayıları değerleri

Çalışma potansiyeli / V	Duyarlık / ($\mu\text{A} \cdot \text{mM}^{-1}$)	Korelasyon katsayısı (r)
0,200	10,69	0,9997
0,250	13,76	0,9998
0,300	16,40	0,9956

En yüksek duyarlık 0,3 V potansiyelde elde edilen doğrunun denkleminde elde edilmiş olmasına rağmen, korelasyon katsayısı en düşüktür. Amperometrik tayin sırasında ise 0,2 V ve 0,25 V'da akım kararlılığı en yüksek iken, 0,30 V'da ise analit konsantrasyonu arttıkça akım kararlılığı azalmıştır. Akım kararlılığı ve korelasyon katsayısı göz önüne alındığında, optimum çalışma potansiyeli +0,25 V olarak belirlenmiştir.

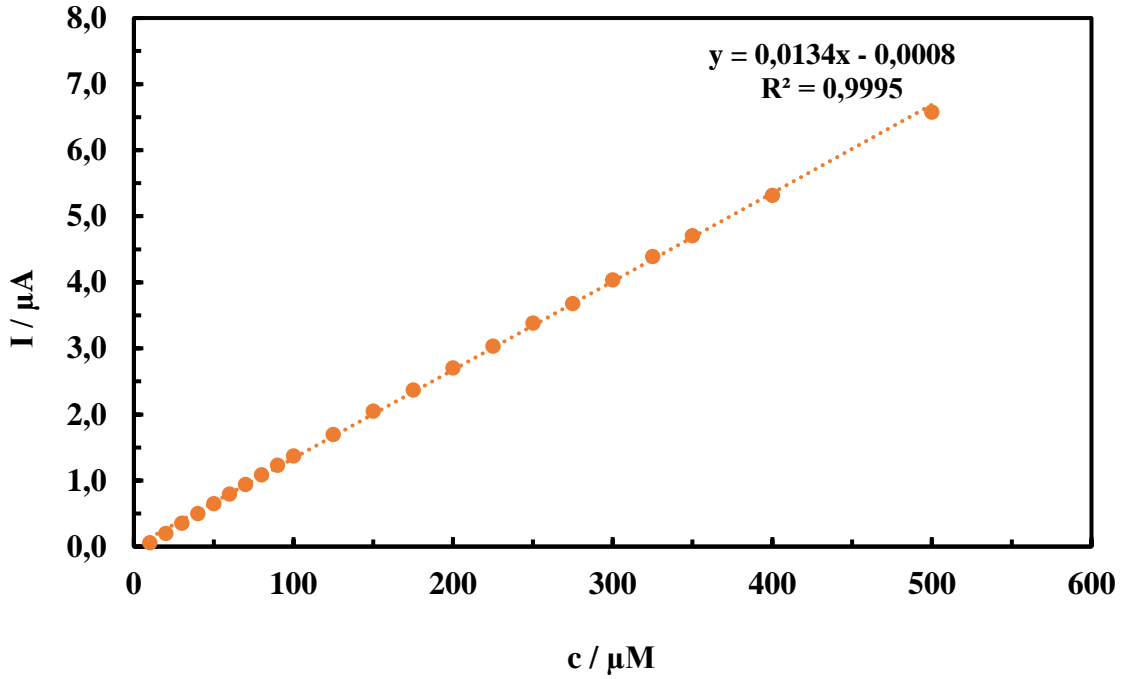
4.6.2.3. Analitiksel karakterizasyon

SPCE/RGO/PNR/AuNP elektrodu ile DA'nin amperometrik tayini, içerisinde 9 ml 50 mM pH 7,0 fosfat tamponu bulunan elektrokimyasal hücrede, çözeltinin sabit hızda sürekli karıştırıldığı şartlarda +0,25 V'da gerçekleştirilmiştir. Akım kararlı hale geldikten sonra, 50 μ M DA elektrokimyasal hücreye ardışık olarak katılmıştır. Kararlı hal akım cevabı ölçülmüş ve zamana karşı akım değerleri potansiyostat tarafından kaydedilmiştir. Şekil 4.28'de DA'nin amperometrik tayini için elde edilen örnek bir kronoamperogram verilmiştir. DA ilavesiyle zamanla akımda bir artış olduğu kronoamperogramdan anlaşılmaktadır.



Şekil 4.28. SPCE/RGO/PNR/AuNP elektrodunda 50 μ M DA'nın ardışık katımı ile elde edilen örnek bir kronoamperogram (+0,25 V, 50 mM pH 7,0 fosfat tamponu, 0,1 M KCl)

DA konsantrasyonu ile artan akım değerleri kullanılarak DA'nın kantitatif tayini yapılabilir. Amperometrik tayini sonucu kronoamperogramlardan elde edilen akım değerlerinin DA'nın konsantrasyonuna karşı çizilen grafiği Şekil 4.29'da verilmiştir. DA miktarının artması ile akım değerleri de doğru orantılı olarak artmıştır.



Şekil 4.29. SPCE/RGO/PNR/AuNP biyosensörleri ile DA derişimine karşı elde edilen akım grafikleri (+0,25 V, 50 mM pH 7,0 fosfat tamponu, 0,1 M KCl)

DA'nın amperometrik tayini için kullanılan SPCE/RGO/PNR/AuNP biyosensörünün analitiksel karakterizasyonu için duyarlık, bağıl standart sapma, tayin ve gözlemlenebilme sınırı ve tekrarlanabilirlik gibi parametreler belirlenmiş ve Çizelge 4.3'te verilmiştir.

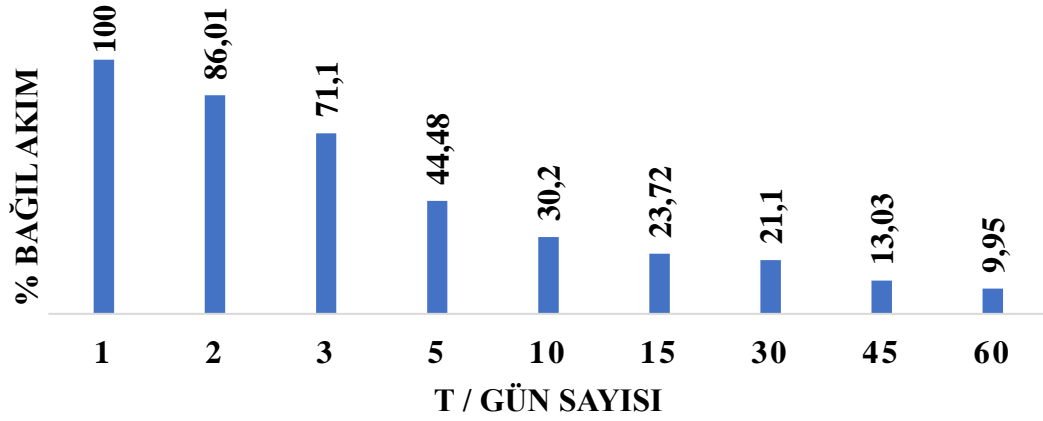
Çizelge 4.3. DA'nin amperometrik tayini için SPCE/RGO/PNR/AuNP biyosensörleri ile elde edilen analitiksel parametreler

Tespit limiti	0,17 μM
Tayin sınırı	0,57 μM
Doğrusal aralık	0,57 μM – 500 μM
Duyarlık	13,38 $\mu\text{A. mM}^{-1}$
Tekrarlanabilirlik	RSD %2,14 (n=10), 50 μM DA

Çizelge 4.3 incelendiğinde, SPCE/RGO/PNR/AuNP biyosensörünün duyarlığının oldukça yüksek olduğu görülmektedir. Duyarlığın yüksek olması, elektroaktif yüzey alanının ve elektronik iletkenliğin artmasıyla, elektron transferinin hızlı olması nedeniyledir. +0,25 V'da 50 μM DA biyosensörünün tekrarlanabilirliği test edilmiş ve bağıl standart sapma (R.S.D.) %2,14 olarak hesaplanmıştır. Tekrarlanabilirlik için hesaplanan RSD değeri, 10 tekrara kadar DA'nın amperometrik tayininin iyi olduğunu göstermektedir.

SPCE/RGO/PNR/AuNP biyosensörünün uygulama kararlılığı, 50 μM derişiminde DA çözeltisinin +0,25 V potansiyelde 60 gün boyunca aralıklarla akımların ölçülmesi ile test edilmiştir. 60 gün boyunca DA için biyosensör cevabının ilk günkü akıma göre yüzde bağıl akım değerleri Şekil 4.30'da verilmiştir. Başlangıçta DA için biyosensörün amperometrik cevabı 2. günün sonunda %13,99, 10. günün sonunda %69,8, 30. günün sonunda %79,8 ve 60. günün sonunda ise %90,05 oranında azalmıştır.

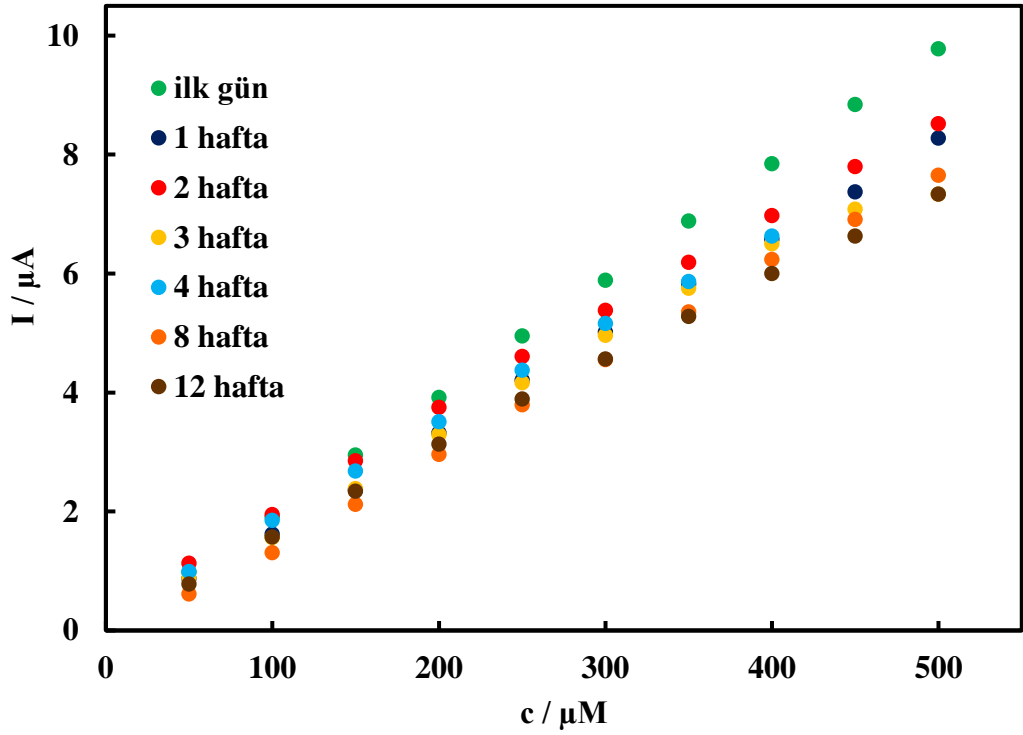
SPCE/RGO/PNR/AuNP biyosensörünün uygulama kararlılığı ilk kullanımdan sonra azalmış olsa da, 60. güne kadar DA için amperometrik yanıt vermiştir. Bu sonuçlardan, tek kullanımlık olarak hazırlanan bir biyosensör için, bu uygulama kararlılığının iyi olduğu ve biyosensör formülasyonunda bulunan RGO, PNR ve AuNP'nin biyosensörün uygulama kararlılığını arttırdığı sonucuna varılabilir.



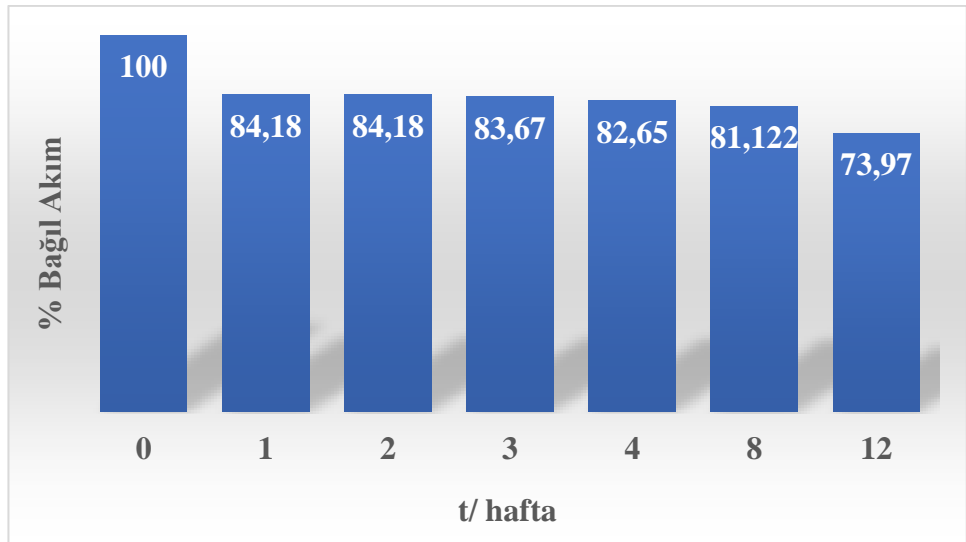
Şekil 4.30. SPCE/RGO/PNR/AuNP biyosensörünün 50 μ M DA derişimine karşı elde edilen yüzde bağıl akım değerleri-gün sayısı grafiğı (+0,25 V, 50 mM pH 7,0 fosfat tamponu, 0,1 M KCl)

Çalışma şartlarında geliştirilen biyosensörün depolama kararlılığını belirlemek için, hazırlanan biyosensörler +4°C’de sabit nem ortamında bekletilmiştir. Daha sonra bu biyosensörler sırasıyla 16. hafta boyunca + 0,25 V’da amperometrik DA tayini yapılmıştır. Amperometrik tayin sonucu elde edilen akım-konsantrasyon grafiğı ve akım değerleri-hafta sayısı grafiğı sırasıyla Şekil 4.31 ve Şekil 4.32’de verilmiştir. SPCE/RGO/PNR/AuNP biyosensörünün 12. haftaya kadar DA’ya karşı yanıt verdiği görülmektedir.

%Bağıl akım verileri incelendiğinde DA’nın ilk gün analizine kıyasla biyosensörün amperometrik cevabı 1. ve 2. haftanın sonunda %15,82, 4. haftanın sonunda %17,35 ve 8. haftanın sonunda %18,88 oranında azalmıştır. 16. haftanın sonunda yapılan amperometrik tayinde ise akım kararlılığının azalması nedeniyle düzgün bir yanıt alınamamış ve bu nedenle veriler grafiklerde verilmemiştir. Biyosensörün 12. haftanın sonunda duyarlılığının % 26,03’ünü koruduğı görülmektedir.



Şekil 4.31. SPCE/RGO/PNR/AuNP biyosensörünün farklı depolama zamanlarında 50 μM DA derişimine karşı elde edilen akım grafikleri (+0,25 V, 50 mM pH 7,0 fosfat tamponu, 0,1 M KCl)

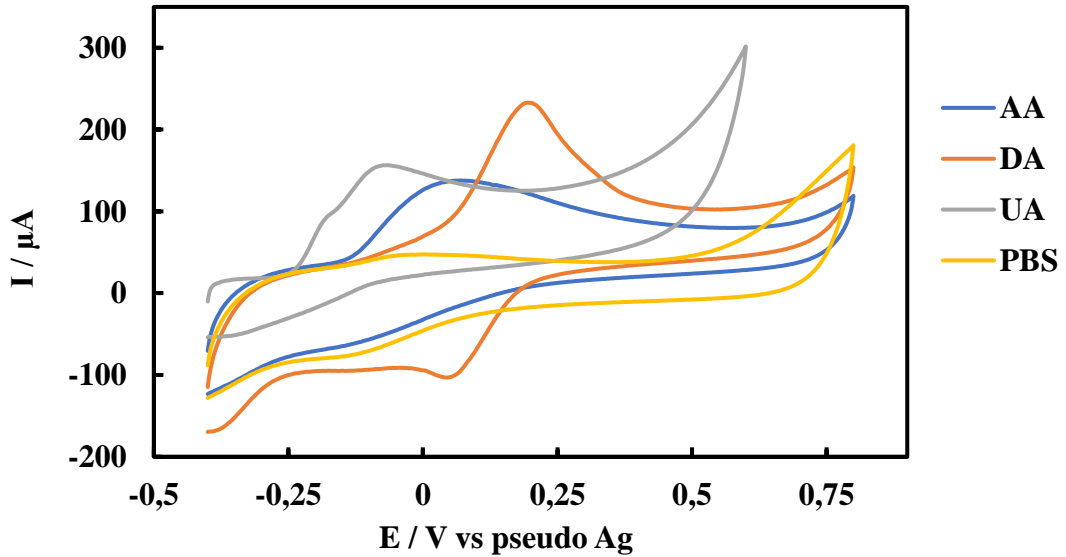


Şekil 4.32. SPCE/RGO/PNR/AuNP biyosensörünün 50 μM DA derişimine karşı elde edilen akım değerleri-hafta sayısı grafiği (+0,25 V, 50 mM pH 7,0 fosfat tamponu, 0,1 M KCl)

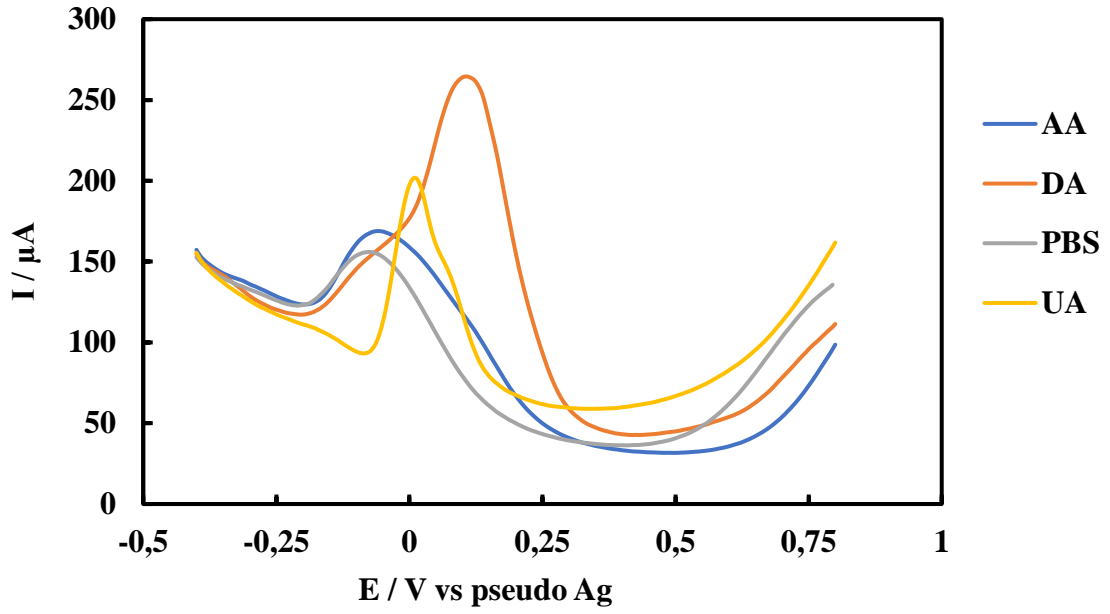
4.6.2.4 Girişim testi

SPCE/RGO/PNR/AuNP elektrodunun DA'nın elektrokimyasal tayininde kullanılmasında, girişim yapabilecek elektroaktif analitler olan askorbik asit (AA) ve ürik asit (UA) varlığındaki davranışı incelenmiştir.

Şekil 4.33 ve Şekil 4.34'de sırasıyla SPCE/RGO/PNR/AuNP elektrotlarının 5 mM DA, AA, UA ve pH 7,0 fosfat tamponundaki döngüsel voltamogramları ve diferansiyel puls voltamogramları verilmiştir. DA'nın yükseltgenme pik potansiyelinin, AA ve UA'nın yükseltgenme pik potansiyellerinden farklı bir yerde geldiği Şekil 4.33 ve Şekil 4.34'deki voltamogramlardan açıkça görülmektedir. Döngüsel voltamogramlar incelendiğinde ve DA'nın amperometrik tayininin 0,25 V'da yapıldığı göz önüne alındığında UA'nın çok az girişim yapacağı, AA'nın ise biraz girişim yapacağı görülmektedir. Diferansiyel puls voltamogramları incelendiğinde ise, askorbik asit ve ürik asitin az da olsa girişim yapma ihtimalinin olduğu görülmektedir.



Şekil 4.33. SPCE/RGO/PNR/AuNP elektrodunun 5 mM DA, AA, UA ve pH 7,0 fosfat tamponundaki -0,4 V ile +0,8 V potansiyel aralığında, 50 mV.s⁻¹ tarama hızında elde edilen döngüsel voltamogramları



Şekil 4.34. SPCE/RGO/PNR/AuNP elektrodunun 5 mM DA, AA, UA ve pH 7,0 fosfat tamponundaki -0,4 V ile +0,8 V potansiyel aralığındaki diferansiyel puls voltamogramları (50 mM pH 7,0 fosfat tamponu, 0,1 M KCl; pulse amplitude: 5 mV, voltage step: 70 mV, pulse time: 0,1 s, scan rate: 10 mV.s⁻¹)

Bir analitin elektrokimyasal tayininde seçilen yöntem, analitin seçici olarak analiz yapılması noktasında oldukça önemlidir. Çalışmamızda DA'nın analizini amperometrik yöntemle yapmamızın en önemli sebebi amperometrik yöntemin seçiciliğinin yüksek olmasıdır. DA'nın elektrokimyasal analizi, girişim yapan elektroaktif türler olan AA, UA, NADH ve H₂O₂ varlığında amperometrik olarak yapılmıştır. 20 μM DA'nın amperometrik tayinine 20 μM AA, UA, NADH ve H₂O₂'nin girişim etkisini gösteren amperometrik tayin sonuçları Çizelge 4.4'te verilmiştir. Çizelge 4.4 incelendiğinde DA'nın amperometrik tayinine H₂O₂'nin girişim yapmadığı, NADH'nin girişim etkisinin %5'in altında olduğu, AA ve UA'nın girişim etkisinin ise sırasıyla %9,3 ve %5,2 olduğu görülmektedir.

Bu sonuçlar, hazırlamış olduğumuz SPCE/RGO/PNR/AuNP elektrodunun DA'nın elektrokimyasal tayininde girişim yapan türlerin etkisini azalttığını göstermektedir. Çalışmamızda amaç DA, AA ve UA'nın eş zamanlı tayini değil, hazırlamış olduğumuz SPCE/RGO/PNR/AuNP elektrodunun DA'nın amperometrik tayininde kullanılmasıdır.

DA'nın amperometrik tayininde ise PNR, DA için medyatör olarak görev yapmaktadır. PNR'nin medyatör olarak görev yapması için ise pH'nın 7,0 olması gerekmektedir. Literatürde DA, AA ve UA'nın eş zamanlı tayini genellikle pH 4'te yapılmaktadır (Ensafi *et al.* 2009, Huang *et al.* 2008). Çünkü pH 4'de türlerin pKa değerleri de göz önüne alındığında özellikle DPV yönteminde DA, AA ve UA'nın pik potansiyelleri birbirinden tamamen ayrılmaktadır. Bizim çalışmamızda amperometrik ölçümler pH 7,0'de gerçekleştirilmiş olmasına rağmen, AA ve UA çok fazla girişim yapmamıştır.

Çizelge 4.4. 20 µM DA'nın tayinine girişim yapan analitlerin etkisi

Girişim yapan analit	Konsantrasyon (µM)	(%) Bağlı hata
AA	20	% 9,3
UA	20	% 5,2
NADH	20	% 3,1
H ₂ O ₂	20	Girişim yok

4.6.2.5. Gerçek numune analizi

Geliştirdiğimiz DA biyosensörlerinin gerçek numune analizinde kullanılmıştır. Merck firmasında satın alınan insan kan serumu numunesi 1:100 oranında pH 7.4 tampon çözelti ile seyreltilmiştir. Kan serumu numunesine bilinen konsantrasyonda DA ilave edilerek DA içeren yapay kan serumu numuneleri hazırlanmıştır. Bilinen miktarda DA içeren kan serumu numunelerinin elektrokimyasal tayini, +0,25 V'da SPCE/RGO/PNR/AuNP biyosensörleri ile amperometrik olarak yapılmıştır. Çizelge 4.5'te yapay kan serumu numunelerin analiz sonuçları yer almaktadır.

Çizelge 4.5. Gerçek numune analizi sonuçları

Kan serumu	Eklenen DA (μM)	Deneysel hesaplanan DA (μM)	(%) Geri kazanım
1	20	$20,30 \pm 0,18$	101,5
2	50	$51,25 \pm 0,15$	102,5

5. TARTIŞMA ve SONUÇ

Dopamin yüksek duyarlık ve seçicilikteki tayini oldukça önemlidir. Bu çalışma kapsamında, SPCE elektrotları indirgenmiş grafen oksit (RGO) LBL yöntemi kullanılarak modifiye edilmiş, SEM ve elektrokimyasal olarak karakterize edilmiştir. RGO'nun SPCE yüzeyinde katmanlı, buruşuk yüzeyli ve birbirine benzer, rasgele dağılmış ince katmanlar ve dağınık halde üst üste binmiş yapısı SEM görüntülerinde gözlenmiştir ve bu görüntüler literatürle uyumludur (A. Shalaby *et al.* 2015, Tiyek vd. 2016).

Nötral kırmızı, SPCE ve SPCE/RGO'ların yüzeyinde 0,1 M KNO₃ içeren 0,025 M pH 5,5 fosfat tamponu içerisinde, -1,1 V ile +0,9 V potansiyel aralığında 50 mV.s⁻¹ tarama hızında 15 döngü uygulanarak elektrokimyasal olarak polimerleştirilmiştir. SPCE ve SPCE/RGO elektrotlarında NR'nin elektropolimerizasyonun karakterizasyonu için SPCE/PNR ve SPCE/RGO/PNR elektrotlarının 50 mM pH 7,0 fosfat tamponu içerisinde farklı tarama hızlarında döngüsel voltamogramları alınmıştır. Tarama hızı arttıkça anodik ve katodik pik akımlarının arttığı gözlenmiştir. SPCE ve SPCE/RGO elektrotlarında oluşan PNR filmindeki elektrokimyasal prosesin, karşı iyonun difüzyonuyla, difüzyon kontrollü olduğu bulunmuştur. Bu sonuçların literatür ile uyumlu olduğu bulunmuştur (Pauliukaite *et al.* (2007), Şahin (2013), Şahin ve Ayrancı (2015), Bilgi ve Ayrancı (2016)).

Nötral kırmızının elektropolimerizasyonunda döngü sayısının optimizasyonu için SPCE/RGO elektrotlarında NR'nin elektropolimerizasyonu 5, 10, 15 ve 20 döngü sayılarında gerçekleştirilmiş, elektropolimerizasyon için optimum döngü sayısı 15 olarak bulunmuştur. NR'nin elektropolimerizasyonunda tarama hızının optimizasyonu için, SPCE/RGO elektrotlarında NR'nin elektropolimerizasyonu 25, 50 ve 100 mV.s⁻¹ tarama hızlarında gerçekleştirilmiş, elektropolimerizasyon için optimum tarama hızı 50 mV.s⁻¹ olarak bulunmuştur.

SPCE/RGO/PNR/AuNP'nin elektrokimyasal karakterizasyonu için farklı tarama hızlarında dönüşümlü voltamogramları alınmış ve SPCE/RGO/PNR/AuNP'ler

üzerinde gerçekleşen elektrokimyasal prosesin difüzyon kontrollü olduğu bulunmuştur. SPCE/RGO/PNR/AuNP elektrodunun elektrokimyasal kararlılığını incelemek için, tampon çözeltide -1,0 V ile +0,9 V potansiyel aralığı ve $50 \text{ mV}\cdot\text{s}^{-1}$ tarama hızında 30 döngü dönüşümlü voltametri uygulanmış ve ilk döngüden 30. döngüye kadar, anodik ve katodik pik potansiyellerinin sabit kaldığı ve elektrodun kararlılığının yüksek olduğu görülmüştür.

SPCE/RGO/PNR/AuNP elektrotlarının DA'nin elektroyükseltgenmesindeki elektrokatalitik aktivitesini test etmek için 50 mM pH 7,0 fosfat tamponu (0,1 M KCl) içerisinde 1 mM DA'nin varlığında ve yokluğunda döngüsel voltametri uygulanmış ve SPCE/RGO/PNR/AuNP elektrodunun, DA'nin Epa ve Epc değerlerini oldukça fazla düşürdüğünü ve DA'nin yükseltgenmesine karşı elektrokatalitik etki gösterdiği bulunmuştur.

DA'nin elektrokimyasal davranışına RGO, PNR ve AuNP'nin etkisini incelemek için, SPCE, SPCE/RGO ve SPCE/RGO/PNR/AuNP elektrotlarına 50 mV s^{-1} tarama hızında -0,4 V ile +0,8 V potansiyel aralığında 5 mM DA varlığındaki döngüsel voltamogramları (50 mM pH 7,0 fosfat tamponu (0,1 M KCl)) alınmıştır. Yalın SPCE elektrodunda DA'nin tersinirliğinin düşük olduğu, Epa değerinin +0,288 V ve Ipa değerinin ise $109,5 \mu\text{A}$ olduğu gözlenmiştir. RGO varlığında SPCE/RGO elektrodunda Epa ve Ipa değerleri sırası ile +0,186 V ve $198,1 \mu\text{A}$, RGO, PNR ve AuNP varlığında SPCE/RGO/PNR/AuNP elektrodunda ise Epa ve Ipa değerleri sırası ile +0,196 V ve $166,7 \mu\text{A}$ olarak bulunmuştur. Elektrot formülasyonunda RGO, PNR ve AuNP'nin birlikte bulunması yalın elektroda göre DA'nin elektroyükseltgenme ve elektroindirgenmesinde elektrokatalitik etki gösterdiği anlaşılmaktadır.

SPCE/RGO/PNR/AuNP elektrotlarının DA'nin elektroyükseltgenmesindeki elektrokatalitik aktivitesini test etmek için, 50 mM pH 7,0 fosfat tamponu (0,1 M KCl) içerisinde 1 mM DA'nin varlığında ve yokluğunda döngüsel voltametri uygulanmıştır. DA yokluğunda tampon çözeltide sadece elektrot formülasyonunda yer alan PNR'nin pikleri gözlenmekte iken DA varlığında redoks çifti gözlenmektedir. 1 mM DA varlığında gözlenen redoks çiftinin Epa ve Epc değerleri ile 0,158 V ve 0,076 V'dur. Ipa ve Ipc değerleri ise sırasıyla $57,52 \mu\text{A}$ ve $8,43 \mu\text{A}$ 'dir. Britto *et al.* (1996) karbon

nanotüp elektrot ile DA'nın Epa ve Epc değerlerini pH 7,4 fosfat tamponunda sırasıyla 0,22 V ve 0,19 V olarak bulmuşlardır (SCE'ye karşı). Sun *et al.* (1998) PNR ile modifiye camı karbon elektrotta (GCE) pH 4,6 asetat tamponunda DA'nın Epa değerini 0,265 V olarak tespit etmişlerdir (SCE'ye karşı). Sun *et al.* (2007) iyonik sıvı ile modifiye edilmiş karbon hamur elektrodunda DA'nın Epa ve Epc değerlerini pH 6,0 fosfat tamponunda sırasıyla 0,215 V ve 0,151 V olduğunu bildirmişlerdir (SCE'ye karşı). Yogeswaran and Chen (2007) PNR ve karbon nanotüp ile modifiye ettikleri GCE'de pH 4 ftalat tamponunda DA'nın Epa değerini 0,38 V olarak belirlemişlerdir (Ag/AgCl'e karşı). Hou *et al.* (2010) EDTA ve RGO ile modifiye edilmiş camı karbon elektrotlar üzerinde DA'nın Epa ve Epc değerlerini pH 7,2 fosfat tamponunda sırasıyla 0,199 V ve 0,119 V olarak bulmuşlardır (SCE'ye karşı). Yue *et al.* (2012) mezo-gözenekli karbon nanofiber ile modifiye ettikleri pirolitik grafit elektrotlar üzerinde pH 7,0 fosfat tamponunda DA'nın Epa değerinin 0,193 V olduğunu gözlemlemişlerdir (SCE'ye karşı). Han *et al.* (2014) elektrokimyasal olarak indirgenmiş grafen oksit ve ferulik asit ile modifiye edilmiş GCE üzerinde pH 6,0 sitrat tamponunda DA'nın Epa değerinin 0,312 V olduğunu gözlemlemişlerdir (Ag/AgCl'e karşı). Yang *et al.* (2014) indirgenmiş grafen oksit ile modifiye edilmiş GCE üzerinde pH 7,0 fosfat tamponunda DA'nın Epa ve Epc değerlerinin sırası ile 0,224 V 0,166 V olarak bulmuşlardır (Ag/AgCl'e karşı). Zhang *et al.* (2017) indirgenmiş grafen oksit ve poli L-lisin ile modifiye edilmiş GCE üzerinde pH 7,4 fosfat tamponunda DA'nın Epa değerinin 0,228 V olduğunu bildirmişlerdir (Ag/AgCl'e karşı). Tampon çözeltinin pH'sı arttıkça DA'nın Epa ve Epc değerlerinin daha negatif değerlere kaydığı bilinmektedir (Sun *et al.* 2007, Kamyabi and Shafiee 2012, Han *et al.* 2014, Yang *et al.* 2014, Zhang *et al.* 2017). Literatür verileri incelendiğinde ve tampon çözeltinin pH'sı da dikkate alındığında, çalışmamızda hazırlamış olduğumuz SPCE/RGO/PNR/AuNP elektrodunun, DA'nın Epa ve Epc değerlerini oldukça fazla düşürdüğü ve DA'nın yükseltgenmesine karşı elektrokatalitik etki gösterdiği açıkça görülmektedir. RGO, PNR ve AuNP'nin elektrot formülasyonunda birlikte yer alması DA'nın elektroyükseltgenmesinde hem sinerjik bir etki göstererek elektrodun elektroaktif yüzey alanını artırarak elektronik iletkenliği ve elektrodun tersinirliğini artırmış, hem de DA'nın elektroyükseltgenmesinde elektrokatalitik etki göstererek pik potansiyellerinin değerini azaltmıştır. DA'nın yükseltgenmesindeki daha düşük anodik pik potansiyeli, DA'nın elektroyükseltgenmesi için özellikle PNR'nin elektrokatalitik etki sergilediğini belirtmektedir. DA varlığında yükseltgenme pik

akımının artması, DA'nın çözeltilen elektrot yüzeyine doğru difüzlenererek yükseltgenmesini ve buna karşın yüzeydeki PNR'nin indirgenmesini gösterir.

SPCE/RGO/PNR/AuNP üzerinde 1 mM DA'nın farklı tarama hızlarındaki döngüsel voltamogramları alınmış ve SPCE/RGO/PNR/AuNP'ler üzerinde DA'nın elektroyükseltgenme ve indirgenmesinin difüzyon kontrollü bir proseste gerçekleştiği görülmüştür. SPCE/RGO/PNR/AuNP'lerin yüzeyi ve çözelti arasında meydana gelen DA'nın elektroyükseltgenmesi için elektron-transfer katsayısı (α) değeri, 1 mM DA için hesaplanmış ve bu değer 0,237 olarak bulunmuştur. 1 mM DA'nın SPCE/RGO/PNR/AuNP'ler üzerine difüzyon katsayısını hesaplanmış ve $1,32 \times 10^{-5} \text{ cm}^2 \cdot \text{s}^{-1}$ olarak bulunmuştur. Bu değer DA'nın difüzyon katsayısı için literatürde verilen $3,2 \times 10^{-6} \text{ cm}^2 \cdot \text{s}^{-1}$ ve $5,8 \times 10^{-6} \text{ cm}^2 \cdot \text{s}^{-1}$ değerinden daha büyüktür (Chen *et al.* 2006, Raj *et al.* 2003).

DA'nın elektrokimyasal tayini için destek elektrolit olarak kullanılan tamponunun optimum pH'sını belirlemek için, 50 mM derişiminde farklı pH 'larda (4-8 aralığında) asetat ve fosfat tampon çözeltileri kullanılarak döngüsel voltamogramları alınmış ve optimum pH 7,0 olarak belirlenmiştir. DA'nın yükseltgenme potansiyelinin pH artışı ile azaldığı elde edilen voltamogramlardan görülmüştür. Elde ettiğimiz bu sonuç literatür ile de uyumludur (Sun *et al.* 2007, Kamyabi and Shafiee 2012, Han *et al.* 2014, Yang *et al.* 2014, Zhang *et al.* 2017). Voltamogramlardan elde edilen Epa-pH grafiğindeki doğrunun eğimi $-50,7 \text{ mV/pH}$ 'dır. Bu değer, Nernst eşitliği için verilen teorik değere yakındır ($-59,2 \text{ mV/pH}$, $25 \text{ }^\circ\text{C}$ 'de). Buna göre, SPCE/RGO/PNR/AuNP elektrodunda DA'nın elektroyükseltgenme reaksiyonu protona bağımlıdır ve transfer edilen elektron sayısı proton sayısına eşittir (Yue *et al.* 2012, Dong *et al.* 2003). DA'nın elektroyükseltgenmesi 2 elektronlu-2 protonlu prosesi içerir (Yue *et al.* 2012, Luczak 2008).

Çalışmamızın amacı RGO ile modifiye edilmiş elektrotlar üzerinde PNR'nin hazırlanması ve biyosensör uygulamalarıdır. Bu amaçla, SPCE/RGO/PNR/AuNP elektrodunun biyosensör uygulaması olarak DA'nın analizinde kullanımını incelenmiştir. PNR'nin DA'nın elektroyükseltgenmesinde iletken polimer özelliği göstermesinin yanı sıra medyatör olarak rol oynamaktadır. PNR, kimyasal yapısı gereği farklı pH'larda farklı redoks davranışı göstermektedir. pH 7,0'de PNR, 2-

elektronlu 2-protonlu redoks davranışındadır. DA'nın elektroyükseltgenmesinde PNR'nin medyatör olarak rol olabilmesi için pH'nın 7,0 olması gerektiğinden, optimum pH 7,0 olarak belirlenmiştir. DA'nın elektrokimyasal tayininde bundan sonraki ölçümler 50 mM pH 7,0 fosfat tamponunda gerçekleştirilmiştir.

SPCE/RGO/PNR/AuNP biyosensörlerinin DA'nın tayini için farklı potansiyelerde gösterdiği amperometrik yanıtlar incelenmiştir. SPCE/RGO/PNR/AuNP biyosensörleri ile DA'nın amperometrik tayini pH 7,0'de, 0,20 V, 0,25 V ve 0,30 V potansiyellerinde yapılmıştır. En yüksek duyarlık 0,3 V potansiyelde elde edilen doğrunun denkleminde elde edilmiş olmasına rağmen, korelasyon katsayısı en düşüktür. Amperometrik tayin sırasında ise +0,2 V ve +0,25 V'da akım kararlılığı en yüksek iken, +0,30 V'da ise analit konsantrasyonu arttıkça akım kararlılığı azalmıştır. Akım kararlılığı ve korelasyon katsayısı göz önüne alındığında, optimum çalışma potansiyeli +0,25 V olarak belirlenmiştir.

DA'nın amperometrik tayini için kullanılan SPCE/RGO/PNR/AuNP biyosensörünün analitiksel karakterizasyonu için duyarlık, bağıl standart sapma, tayin ve gözlemlenebilirlik sınırı ve tekrarlanabilirlik gibi parametreleri incelenmiştir. 50 μM DA için tekrarlanabilirliği bağıl standart sapma (R.S.D.) % 2,14 ($n = 10$), duyarlığı 13,38 $\mu\text{A} \cdot \text{mM}^{-1}$, tespit limiti ve tayin sınırı ise 0,17 μM ve 0,57 μM , doğrusal aralık 0,57 $\mu\text{M} - 500 \mu\text{M}$ olarak bulunmuştur.

SPCE/RGO/PNR/AuNP biyosensörünün uygulama kararlılığı, 50 μM derişiminde DA çözeltisinin +0,25 V potansiyelde 60 gün boyunca aralıklarla akımların ölçülmesi ile test edilmiş ve uygulama kararlılığı ilk kullanımdan sonra azalmış olsa da, 60. güne kadar DA için amperometrik yanıt verdiği belirlenmiştir.

Depolama kararlılığını belirlemek için, hazırlanan biyosensörler +4°C'de sabit nem ortamında bekletilmiş ve 16. haftaya kadar belirli aralıklarda +0,25 V'da amperometrik DA tayini için kullanılmıştır. SPCE/RGO/PNR/AuNP biyosensörünün 12. haftaya kadar DA'ya karşı yanıt verdiği görülmüştür.

SPCE/RGO/PNR/AuNP elektrodu kullanılarak DA'nın elektrokimyasal analizi, girişim yapan elektroaktif türler olan AA, UA, NADH ve H₂O₂ varlığında amperometrik olarak yapılmış ve H₂O₂'nin girişim yapmadığı, NADH'nin girişim etkisinin %5'in altında olduğu, AA ve UA'nın girişim etkisinin ise sırasıyla %9,3 ve %5,2 olduğu görülmüştür.

Geliştirilen DA biyosensörleri gerçek numune analizinde kullanılmıştır. Bilinen miktarda DA içeren kan serumu numunelerinin elektrokimyasal tayini, +0,25 V'da SPCE/RGO/PNR/AuNP biyosensörleri ile amperometrik olarak yapılmış ve eklenen 20 µM ve 50 µM DA için % geri kazanımlar sırasıyla %101,5 ve % 102,5 olarak bulunmuştur.

Çalışma sonunda hazırlanan SPCE/RGO/PNR/AuNP elektrodunun DA'nin yükseltgenmesine karşı gösterdiği yüksek elektrokatalitik etki, yüksek elektronik iletkenlik ve yüksek duyarlık ve gerçek numune analizleri sonuçları, bu elektrodun DA'nin amperometrik tayininde biyosensör olarak kullanılması için bir yenilik olduğunu göstermektedir.

KAYNAKLAR

- Anık, Ü. 2017. Electrochemical medical biosensors for POC applications. In R. J. B. T.-M. B. for P. of C. (POC) A. Narayan (Ed.) (pp. 275–292). Woodhead Publishing.
- Arias-Carrion, Ó. and Pöppel, E. 2007. Dopamine, learning, and reward-seeking behavior. *Acta Neurobiologiae Experimentalis*, 67(4), 481-488.
- Arora, P., Sindhu, A., Dilbaghi, N. And Chaudhury, A. 2011. Biosensors as innovative tools for the detection of food borne pathogens. *Biosensors and Bioelectronics*, 28, 1–12.
- Bard, A. J. and Faulkner, L. R. 2001. Fundamentals and applications. *Electrochemical Methods*, 2, 482.
- Barsan, M. M. and Brett, C. M. 2008. An alcohol oxidase biosensor using PNR redox mediator at carbon film electrodes. *Talanta*, 74(5), 1505-1510.
- Bonanni, A., Loo, A. H. and Pumera, M. 2012. Graphene for impedimetric biosensing. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 37, 12–21.
- Britto, P. J., Santhanam, K. S. V and Ajayan, P. M. 1996. Carbon nanotube electrode for oxidation of dopamine. *Bioelectrochemistry and Bioenergetics*, 41(1), 121–125.
- Broncova, G., Shishkanova, T. V., Matejka, P., Volf, R. And Král, V. 2004. Citrate selectivity of poly (neutral red) electropolymerized films. *Analytica chimica acta*, 511(2), 197-205.
- Carvalho, R. C., Gouveia-Caridade, C. and Brett, C. M. 2010. Glassy carbon electrodes modified by multiwalled carbon nanotubes and poly (neutral red): a comparative study of different brands and application to electrocatalytic ascorbate determination. *Analytical and bioanalytical chemistry*, 398(4), 1675-1685.
- Castillo, J., Gaspar, S., Leth, S., Niculescu, M., Mortari, A., Bontidean, I., Soukharev, V., Dornenanu, S.A., Ryabov, A.D. and Csoregi, E. 2004. Biosensors for life quality Design, development and applications. *Sensors Actuat B*, 102, 179-194.
- Chaubey, A. and Malhotra, B.D. 2002. Mediated biosensors. *Biosens Bioelectron*, 17, 441-456.
- Chen, S. M., Liao, C. J. and Vasantha, V. S. 2006, Preparation and electrocatalytic properties of osmium oxide/hexacyanoruthenate films modified electrodes for catecholamines and sulfur oxoanions. *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 589(1), 15-23.
- Dong, SJ., Che, LG., Xie YW. 2003. Chemical Modified Electrode.
- Dong, W., Ren, Y., Zhang, Y., Chen, Y., Zhang, C., Bai, Z., Ma, R. and Chen, Q. 2017. Synthesis of Pb nanowires-Au nanoparticles nanostructure decorated with reduced graphene oxide for electrochemical sensing. *Talanta*, 165, 604–611.
- Ensafi, A. A., Taei, M. and Khayamian, T. 2009. A differential pulse voltammetric method for simultaneous determination of ascorbic acid, dopamine, and uric acid using poly (3-(5-chloro-2-hydroxyphenylazo)-4,5-dihydroxynaphthalene-2,7-disulfonic acid) film modified glassy carbon electrode. *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 633(1), 212–220.

- Halliday, C. S. and Matthews, D. B. 1983. c. Some electrochemical and photoelectrochemical properties of 3-Amino-7-dimethylamino-2-methylphenazine (Neutral Red) in aqueous solution. *Australian Journal of Chemistry*, 36(3), 507-516.
- Han, H. S., Seol, H., Kang, D. H., Ahmed, M. S., You, J.M. and Jeon, S. 2014. Electrochemical oxidation and determination of dopamine in the presence of AA using ferulic acid functionalized electrochemically reduced graphene. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 204, 289–296.
- Harrison, J. A. and Khan, Z. A. 1970. The oxidation of hydrazine on platinum in acid solution. *Journal of Electroanalytical Chemistry and Interfacial Electrochemistry*, 28(1), 131-138.
- Hou, S., Kasner, M. L., Su, S., Patel, K. and Cuellari, R. 2010. Highly Sensitive and Selective Dopamine Biosensor Fabricated with Silanized Graphene. *The Journal of Physical Chemistry C*, 114(35), 14915–14921.
- Huang, J., Liu, Y., Hou, H. and You, T. 2008. Simultaneous electrochemical determination of dopamine, uric acid and ascorbic acid using palladium nanoparticle-loaded carbon nanofibers modified electrode. *Biosensors and Bioelectronics*, 24(4), 632–637.
- Kamyabi, M. A. and Shafiee, M. A. 2012. Electrocatalytic oxidation of dopamine, ascorbic acid and uric acid at poly(2,6-diaminopyridine) on the surface of carbon nanotubes/gc electrodes. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 23(4), 593–601.
- Karyakin, A. A., Bobrova, O. A. and Karyakina, E. E. 1995. Electroreduction of NAD⁺ to enzymatically active NADH at poly (neutral red) modified electrodes. *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 399(1-2), 179-184.
- Karyakin, A. A., Karyakina, E. E. and Schmidt, H. L. 1999. Electropolymerized azines: a new group of electroactive polymers. *Electroanalysis: An International Journal Devoted to Fundamental and Practical Aspects of Electroanalysis*, 11(3), 149-155.
- Katz, E., Willner, I. and Wang, J. 2004. Electroanalytical and bioelectroanalytical systems based on metal and semiconductor nanoparticles. *Electroanalysis: An International Journal Devoted to Fundamental and Practical Aspects of Electroanalysis*, 16(1- 2), 19-44.
- Liu, A., Honma, I. and Zhou, H. 2005. Amplified voltammetric detection of dopamine using ferrocene-capped gold nanoparticle/streptavidin conjugates. *Biosensors and Bioelectronics*. 21, 809-816.
- Łuczak, T. 2008. Preparation and characterization of the dopamine film electrochemically deposited on a gold template and its applications for dopamine sensing in aqueous solution. *Electrochimica Acta*, 53(19), 5725-5731.
- Mao, S., Pu, H. and Chen, J. 2012. Graphene oxide and its reduction: modeling and experimental progress. *Rsc Advances*, 2(7), 2643-2662.
- Mo, J.W. and Ogorevc, B. 2001. Simultaneous measurement of dopamine and ascorbate at their physiological levels using voltammetric microprobe based on overoxidized poly (1,2-phenylenediamine)-coated carbon fiber. *Analytical Chemistry*, 73(6), 1196-1202.
- Nikolski, B.P., Palchevskii, V.V., Polyanskaya, L.A. and Rodichev, A. G. 1970. Investigation of Protolytic Properties of Neutral Red and Leuconneutral Red in Aqueous Solutions. *Doklady Akademii Nauk SSSR*, 194(6), 1334.

- Pauliukaite, R., Ghica, M. E., Barsan, M. and Brett, C. M. 2007. Characterisation of poly (neutral red) modified carbon film electrodes; application as a redox mediator for biosensors. *Journal of Solid State Electrochemistry*, 11(7), 899-908.
- Pauliukaite, R. and Brett, C.M.A. 2008. Poly(neutral red): Electrosynthesis, Characterization, and Application as a Redox Mediator. *Electroanal*, 20, 1275-1285.
- Pouget, J.P., Oblakowski, Z., Nogami, Y., Albouy, P.A., Laridjani, M., Oh, E.J., Min, Y., MacDiarmid, A.G., Tsukamoto, J., Ishiguro, T. and Epstein, A.J. 1994. Recent structural investigations of metallic polymers. *Synth Met*, 65(2-3), 131-140.
- Qu, F., Yang, M., Chen, J., Shen, G. And Yu, R. 2006. Amperometric Biosensors for Glucose Based on Layer- by- Layer Assembled Functionalized Carbon Nanotube and Poly (Neutral Red) Multilayer Film. *Analytical letters*, 39(9), 1785-1799.
- Raj, C. R., Okajima, T. and Ohsaka, T. 2003. Gold nanoparticle arrays for the voltammetric sensing of dopamine. *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 543(2), 127-133.
- Serafin, V., Agui, L., Yanez-Sedeno, P. and Pingarron, J. M. 2011. A novel hybrid platform for the preparation of disposable enzyme biosensors based on poly (3,4-ethylenedioxythiophene) electrodeposition in an ionic liquid medium onto gold nanoparticles-modified screen-printed electrodes. *Journal of electroanalytical chemistry*, 656(1-2), 152-158.
- Shalaby, A., Nihtianova, D., Markov, P., Staneva, A. D., Iordanova, R. S. and Dimitriev, Y. B. 2015. Structural analysis of reduced graphene oxide by transmission electron microscopy. *Bulgarian Chemical Communications*, 47(1), 291-295.
- Singh, V., Joung, D., Zhai, L., Das, S., Khondaker, S. I. and Seal, S. 2011. Graphene based materials: past, present and future. *Progress in Materials Science*, 56(8), 1178–1271.
- Skoog, D.A., Holler, F. J., Nieman, T. A. and Crouch, S.R. 2004, *Fundamentals of Analytical Chemistry*, Eighth Edition, Thomson, Chapter 23: Voltammetry, 665 s Canada.
- Sun, Y., Sun, M. and Xie, D. 2018. 5 - Graphene Electronic Devices. In H. Zhu, Z. Xu, D. Xie, & Y. B. T.-G. Fang (Eds.), pp. 103–155. Academic Press.
- Sun, W., Yang, M. and Jiao, K. 2007. Electrocatalytic oxidation of dopamine at an ionic liquid modified carbon paste electrode and its analytical application. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 389(4), 1283–1291.
- Sun, Y., Ye, B., Zhang, W. and Zhou, X. 1998. Simultaneous determination of dopamine and ascorbic acid at poly(neutral red) modified electrodes. *Analytica Chimica Acta*, 363(1), 75–80.
- Şahin, M. ve Ayrancı, E. 2013. Studies on the interactions of diglycine and triglycine with polyethylene glycol 400 in aqueous solutions by density and ultrasound speed measurements. *The Journal of Chemical Thermodynamics*, 58, 70-82.
- Şahin, M. and Ayrancı, E. 2015. Electrooxidation of NADH on modified screen-printed electrodes: effects of conducting polymer and nanomaterials. *Electrochimica Acta*, 166, 261-270.

- Şahin, M., Erkan, N. and Ayrancı, E. 2016. Solution behavior of p-coumaric, caffeic and ferulic acids in methanol as determined from volumetric properties: attempts to explore a correlation with antioxidant activities. *Journal of Solution Chemistry*, 45(1), 52-66.
- Taniselass, S., Arshad, M. K. M. and Gopinath, S. C. B. 2019. Graphene-based electrochemical biosensors for monitoring noncommunicable disease biomarkers. *Biosensors and Bioelectronics*, 130, 276–292.
- Telefoncu, A. 2012. Biyosensörlere genel bakış ve biyosensör uygulamalarında son gelişmeler. Telefoncu A. ve Kılınç A. (Editörler), *Biyosensörler: Metodlar, Uygulamalar ve Son Gelişmeler*. Ege Üniv. Matbaası, 5-12 ss, İzmir.
- Thevenot, D. R., Toth, K., Durst, R. A. and Wilson, G. S. 1999. Electrochemical biosensors: recommended definitions and classification. *Pure and applied chemistry*, 71(12), 2333-2348.
- Tiyek, İ., Dönmez, U., Yıldırım, B., Alma, M. H., Ersoy, M. S. ve Karataş, Ş. (2016). Kimyasal yöntem ile indirgenmiş grafen oksit sentezi ve karakterizasyonu. *Sakarya University Journal of Science*, 20(2), 349-357.
- Wang, C., Han, X., Xu, P., Zhang, X., Du, Y., Hu, S., Wang J. and Wang, X. 2011. The electromagnetic property of chemically reduced graphene oxide and its application as microwave absorbing material. *Applied Physics Letters*, 98(7), 72906.
- Xiu-Ling, M., Jian, W. and Yi-Bin, Y. 2008. Application of electrochemical biosensors in fermentation. *Chinese Journal of Analytical Chemistry*, 36(12), 1749-1755.
- Yanez-Sedeno, P. and Pingarron, J. M. 2005. Gold nanoparticle-based electrochemical biosensors. *Analytical and bioanalytical chemistry*, 382(4), 884-886.
- Yang, L., Liu, D., Huang, J. and You, T. 2014. Simultaneous determination of dopamine, ascorbic acid and uric acid at electrochemically reduced graphene oxide modified electrode. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 193, 166–172.
- Yogeswaran, U. and Chen, S.M. 2007. Separation and concentration effect of f-MWCNTs on electrocatalytic responses of ascorbic acid, dopamine and uric acid at f-MWCNTs incorporated with poly (neutral red) composite films. *Electrochimica Acta*, 52(19), 5985–5996.
- Yue, Y., Hu, G., Zheng, M., Guo, Y., Cao, J. and Shao, S. 2012. A mesoporous carbon nanofiber-modified pyrolytic graphite electrode used for the simultaneous determination of dopamine, uric acid, and ascorbic acid. *Carbon*, 50(1), 107–114.
- Zhang, D., Li, L., Ma, W., Chen, X. and Zhang, Y. 2017. Electrodeposited reduced graphene oxide incorporating polymerization of l-lysine on electrode surface and its application in simultaneous electrochemical determination of ascorbic acid, dopamine and uric acid. *Materials Science and Engineering: C*, 70, 241–249.
- Zhao, J., Wang, Z., White, J. C. and Xing, B. 2014. Graphene in the aquatic environment: adsorption, dispersion, toxicity and transformation. *Environmental Science & Technology*, 48(17), 9995–10009.

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Alper BİLGİ
Doğum Yeri : Aydın / Nazilli
Doğum Tarihi : 15/04/1980
Medeni Hali : Bekar
Yabancı Dili : İngilizce
Mesleği : Veteriner Hekim (T.C. Tarım ve Orman Bakanlığı)
Tel : 530 224 42 70
E-posta : alperbilgisweet@gmail.com
Eğitim Durumu
Lise : Antalya Gazi Lisesi (1997)
Lisans : Akdeniz Üniversitesi Veterinerlik Fakültesi (Ocak 2003)
Yüksek Lisans : ÇKÜ/FBE/Kimya Anabilim Dalı 2016-2019

Uluslararası Kongreler:

1. Muhammed Altun, Melike Bilgi Kamac, Alper Bilgi, Merve Yılmaz, “Dopamine biosensor based on screen-printed electrode modified with nanoparticles and conducting polymer”. 4th International Congress on Biosensors, Çanakkale, Turkey, 08-11 July 2019, poster presentation.