



T.C.

**ÇANAKKALE ONSEKİZ MART ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ**

KİMYA ANABİLİM DALI

**GLİKOZ TAYİNİ İÇİN KONJUGE POLİMER TEMELLİ YENİ
BİYOSENSÖRLERİN HAZIRLANMASI**

DOKTORA TEZİ

BURCU TAN

Tez Danışmanı

PROF. DR. FATMA BAYCAN

ÇANAKKALE – 2023



T.C.

ÇANAKKALE ONSEKİZ MART ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

KİMYA ANABİLİM DALI

**GLİKOZ TAYİNİ İÇİN KONJUGE POLİMER TEMELLİ YENİ
BİYOSENSÖRLERİN HAZIRLANMASI**

DOKTORA TEZİ

BURCU TAN

Tez Danışmanı

PROF. DR. FATMA BAYCAN

Bu çalışma, Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi (Bilimsel Araştırma Projeleri
Koordinasyon Birimi) kurumu tarafından desteklenmiştir.

Proje No: FDK-2021-3625

ÇANAKKALE – 2023



T.C.
ÇANAKKALE ONSEKİZ MART ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ



Burcu TAN tarafından Prof. Dr. Fatma BAYCAN yönetiminde hazırlanan ve **23/01/2023** tarihinde aşağıdaki jüri karşısında sunulan “**Glikoz Tayini İçin Konjuge Polimer Temelli Yeni Biyosensörlerin Hazırlanması**” başlıklı çalışma, Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü **Kimya Anabilim Dalı**’nda **DOKTORA TEZİ** olarak oy birliği/oy çokluğu ile kabul edilmiştir.

Jüri Üyeleri

İmza

Prof. Dr. Fatma BAYCAN

(Danışman)

Prof. Dr. Mustafa CAN

Prof. Dr. Sema EKİCİ

Doç Dr. Gülşen SAĞLIKOĞLU

Dr. Öğr. Üyesi Uğur SELENGİL

Tez No :

Tez Savunma Tarihi : 27/01/2023

.....
Doç. Dr. Yener PAZARCIK
Enstitü Müdürü

.././20..

ETİK BEYAN

Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Tez Yazım Kuralları'na uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmasında; tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve dokümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi, tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu, tez çalışmasında yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi, kullanılan verilerde herhangi bir değişiklik yapmadığımı, bu tezde sunduğum çalışmanın özgün olduğunu, bildirir, aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi taahhüt ve beyan ederim.

(İmza)

Burcu TAN

(Tarih) 27/01/2023

TEŞEKKÜR

YÖK 100/2000 Bursiyeri olarak Biyoteknoloji öncelikli alanında gerçekleştirdiğim tez çalışmam boyunca bilgi, birikim ve tecrübelerini benimle paylaşan, benden bir an olsun ilgisini esirgemeyen, her zaman manevi desteğini hissettiğim saygı değer danışmanım Prof. Dr. Fatma BAYCAN'a en içten teşekkürlerimi sunarım.

Çalışmalarım sırasında bilgisi ve tecrübesiyle bana desteğini gösteren, laboratuvarlarının kapısını açan, değerli hocalarım Prof. Dr. Sermet KOYUNCU'ya, Prof. Dr. Yusuf DİLGİN'e ve Doç. Dr. Serkan KARAKAYA'ya, çalışmalarım ile ilgili önerileriyle aynı zamanda kimyasal malzeme ve analiz imkanı ile desteğini gösteren değerli hocam Prof. Dr. Mustafa CAN'a, doktora tezimle ilgili olarak hazırladığımız bilimsel yayınların değerlendirilmesinde yabancı dil bilgisiyle desteğini esirgemeyen değerli hocam Prof. Dr. Sıdıka POLAT ÇAKIR'a, çok teşekkür ederim.

Eskişehir'den Çanakkale'ye taşınan eğitim hayatımda, ilgisini ve desteğini bir an olsun eksik etmeyen, fikirlerinin bana pusula olduğu, kıymetli hocam Prof. Dr. Tijen Ennil BEKTAŞ'a çok teşekkür ederim.

Doktora eğitimim boyunca yollarımızın aynı laboratuvarında kesiştiği, desteklerini her zaman hissettiğim, bu yolu farklı şehirlerde yürürken edindiğimiz tecrübeleri paylaşmaktan mutluluk duyduğum, bir telefon kadar yakınımda olan değerli arkadaşlarım Dr. Ceylan DOYRANLI ve Cansu KÖK'e, "Analitik Kimya Araştırma Laboratuvarı" ve "Katı-hal Laboratuvarı"nın kapısını her çaldığımda beni güler yüzle karşılayan, geçirdiğimiz mücadele dolu süreçlerde desteklerini her zaman hissettiğim değerli arkadaşlarım Gamze EMİR, Selen AYAZ, Teslime ATAĞLU ERŞAN ve G. Atiye ORGAN'a teşekkür ederim.

Hayatımın her evresinde ve her koşulda bana destek olarak bugünlere gelmemi sağlayan değerli annem Ayşe TAN'a, beni her zaman izlediğini hissettiğim merhum babam Beyhan TAN'a ve canım kardeşim Burak TAN'a çok teşekkür ederim.

Burcu TAN
Çanakkale, Ocak 2023

ÖZET

GLİKOZ TAYİNİ İÇİN KONJUGE POLİMER TEMELLİ YENİ BİYOSENSÖRLERİN HAZIRLANMASI

Burcu TAN

Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi

Lisansüstü Eğitim Enstitüsü

Kimya Anabilim Dalı Doktora Tezi

Danışman: Prof. Dr. Fatma BAYCAN

27/01/2023, 118

Bu tez çalışmasında, özgün olarak tasarlanan, 4-(dihekzilamino)9,12- di(tiyofen-2 il)-7H-benzo[de]benzo[4,5]imidazo [2,1-a]izokunolin-7- one (ThBN) ve 4-(dihegzilamino)-9,12-bis (2,3-dihidrotyieno[3,4-b][1,4]dioksin-5-yl)-7 H-benzo[de]benzo[4,5]imidazo[2,1-a]izoknolin-7-one (EDOTBN) monomerleri sentezlenmiş ve elektrokimyasal polimerizasyon yolu ile bu monomerlerden elde edilen konjuge polimerler, biyosensör uygulamalarında destek matrisi olarak kullanılmıştır. Konjuge polimer modifiye kalem grafit elektrotlar (KGE), altın nano partiküller (AuNP'ler) ile zenginleştirilmiş, ardından bu elektrotların yüzeyine glikoz oksidaz enziminin immobilizasyonu sağlanmıştır. Üçlü elektrot sisteminde, döngüsel voltametri yöntemi ile, O₂ tüketimine bağlı olarak enzimatik glikoz biyosensörünün performansı incelenmiştir. Enzimatik olmayan (non-enzimatik) elektrokimyasal glikoz biyosensörü uygulamaları, konjuge polimer ve AuNP'ler ile zenginleştirilerek modifiye edilmiş KGE'ler ile gerçekleştirilmiştir. İdeal glikoz biyosensörleri tasarlamak amacıyla her birinin optimizasyon çalışmaları gerçekleştirilmiş, performans kriterleri değerlendirilmiştir. Literatüre katkı sağlaması hedeflenen, özgün olarak tasarlanmış konjuge polimer tabanlı biyosensörlerin doğrusal çalışma aralıkları belirlenmiş, gerçek örnekler üzerindeki glikoz tespitleri başarı ile gerçekleşmiştir.

Anahtar Kelimeler: Konjuge polimer, Elektrokimyasal biyosensör, Glikoz, Glikoz oksidaz (GOx)

ABSTRACT

PREPARATION OF NEW BIOSENSORS BASED ON CONJUGATED POLYMER FOR GLUCOSE DETERMINATION

Burcu TAN

Çanakkale Onsekiz Mart University

School of Graduate Studies

Doctoral Thesis in Chemistry

Advisor: Prof. Dr. Fatma BAYCAN

27/01/2023, 118

In this thesis, an originally designed 4-(dihexylamino)-9,12-di(thiophene-2-yl)-7H-benzo[de]benzo[4,5]imidazo[2,1-a]isoquinolin-7-one (ThBN) and 4-(dihexylamino)-9,12-bis(2,3-dihydrothieno[3,4-b][1,4]dioxin-5-yl)-7H-benzo[de]benzo[4,5]imidazo[2,1-a]isoquinolin-7-one (EDOTBN) monomers were synthesized and conjugated polymers obtained from these monomers by electrochemical polymerization were used as support matrix in biosensor applications. Pencil graphite electrodes (PGE), was enriched with conjugated polymer gold nanoparticles (AuNPs), and then glucose oxidase enzyme was immobilized on the surface of these electrodes. In the triple electrode system, the performance of the enzymatic glucose biosensor based on O₂ consumption was investigated by cyclic voltammetry method. Non-enzymatic (non-enzymatic) electrochemical glucose biosensor applications were carried out with modified PGEs enriched with conjugated polymer and AuNPs. In order to design ideal glucose biosensors, optimization studies of each were carried out and performance criteria were evaluated. The linear operating ranges of the specifically designed conjugated polymer-based biosensors, which are aimed to contribute to the literature, have been determined, and glucose determinations on real samples have been achieved successfully.

Keywords: Conjugated polymer, Electrochemical biosensor, Glucose, Glucose oxidase (GOx)

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

JÜRİ ONAY SAYFASI.....	i
ETİK BEYAN.....	ii
TEŞEKKÜR.....	iii
ÖZET	iv
ABSTRACT	v
İÇİNDEKİLER	vi
SİMGELER ve KISALTMALAR.....	xii
TABLolar DİZİNİ.....	xiii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xiv

BİRİNCİ BÖLÜM

GİRİŞ

1.1. Konjuge Polimer	1
1.1.1. Konjuge Polimerlerin Yapısı ve İletkenlik Kuramı.....	2
1.1.2. Konjuge Polimerlerin Sentezi.....	5
1.1.3. Konjuge Polimerlerin Kullanım Alanları.....	6
1.2. Biyosensör	7
1.2.1. Elektrokimyasal Sensörler	10
1.2.2. Enzimatik Biyosensörler	12
İmmobilizasyon Teknikleri.....	12
1.3. Biyosensör Tasarımında Konjuge Polimerler	14
1.4. Biyosensör Tasarımında Nanoyapılar.....	14
1.5. Biyosensörlerin Performans Kriterleri.....	15
1.6. Glikoz Biyosensörleri.....	17
1.6.1. Enzimatik Glikoz Biyosensörleri	19
1.6.2. Enzimatik Olmayan Glikoz Biyosensörleri.....	21

İKİNCİ BÖLÜM		
KURAMSAL ÇERÇEVE/ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR		25
2.1.	Enzimatik ve Enzimatik Olmayan (Non-enzimatik) Glikoz Biyosensörü Çalışmalarının Literatür Özeti.....	25
ÜÇÜNCÜ BÖLÜM		
ARAŞTIRMA YÖNTEMİ/MATERYAL YÖNTEM		35
3.1.	Kullanılan Kimyasal Maddeler	35
3.2.	Kullanılan Cihaz ve Ekipmanlar.....	36
3.3.	Kullanılan Çözeltilerin Hazırlanması	37
3.3.1	Monomer Sentezinde Kullanılan Çözeltilerin Hazırlanması.....	37
3.3.2.	Enzimatik ve Enzimatik Olmayan Biyosensör Uygulamalarında Kullanılan Çözeltilerin Hazırlanması.....	37
3.4.	Monomerlerin Sentezi.....	39
3.4.1.	4-(dihegzilamino)9,12-di(tiyofen-2 il)-7H-benzo[de]benzo[4,5]imidazo [2,1-a]izokunolin-7-one (ThBN) Monomerinin Sentezi.....	39
3.4.2.	4-(dihegzilamino)-9,12-bis(2,3-dihidrotyieno[3,4-b][1,4]dioksin-5-yl)-7H-benzo[de]benzo[4,5]imidazo[2,1-a]izoknolin-7-one (EDOTBN) Monomerinin Sentezi.....	41
3.4.3.	ThBN ve EDOTBN Monomerlerinin Karakterizasyonu.....	42
3.5.	p(ThBN) ve AuNP Modifiye KGE'lerin Hazırlanışı, GOx İmmobilizasyonu, Modifiye Elektrotların Elektrokimyasal Özelliklerinin ve Yüzey Morfolojilerinin İncelenmesi.....	42
3.5.1.	ThBN Polimerinin KGE Yüzeyinde Elektrokimyasal Sentezi.....	42
3.5.2.	AuNPlerin KGE Yüzeyine Elektrokimyasal Biriktirilmesi.....	43
3.5.3.	p(ThBN) ve AuNP Modifiye Elektrotlara GOx Enziminin İmmobilizasyonu	43
3.5.4.	Modifiye Elektrotların Yüzey Morfolojisinin İncelenmesi.....	45
3.6.	p(EDOTBN) ve AuNP Modifiye KGE'lerin Hazırlanışı, GOx immobilizasyonu, Modifiye Elektrotların Elektrokimyasal Özelliklerinin ve Yüzey Morfolojilerinin İncelenmesi.....	45
3.6.1.	EDOTBN Polimerinin KGE Yüzeyinde Elektrokimyasal Sentezi.....	45
3.6.2.	AuNPlerin KGE Yüzeyine Elektrokimyasal Biriktirilmesi.....	45
3.6.3.	p(EDOTBN) ve AuNP Modifiye Elektrotlara GOx Enziminin İmmobilizasyonu.....	46

3.6.4.	Modifiye Elektrotların Yüzey Morfolojisinin İncelenmesi.....	47
3.7.	ThBN Polimer Tabanlı Elektrokimyasal Glikoz Biyosensörü Çalışmaları.....	47
	KGE/p(ThBN)/AuNPs/GOx Enzimatik Glikoz Biyosensörünün	47
3.7.1.	Glikoza Karşı Elektrokatalitik Yanıtlarının Döngüsel Voltammetri Yöntemi ile İncelenmesi.....	
3.7.2.	Enzimatik Glikoz Biyosensörünün Girişim Çalışmaları.....	48
3.7.3.	Enzimatik Glikoz Biyosensörünün Gerçek Örneğe Uygulama Çalışması.....	48
3.7.4.	Enzimatik Glikoz Biyosensörünün Kararlılık Çalışması.....	49
	KGE/p(ThBN)/AuNPs Enzimatik Olmayan Glikoz Biyosensörünün	49
3.7.5.	Glikoza Karşı Elektrokatalitik Yanıtlarının Döngüsel Voltammetri Yöntemi ile İncelenmesi.....	
3.7.6.	Enzimatik Olmayan Glikoz Biyosensörünün Girişim Çalışmaları.....	50
3.7.7.	Enzimatik Olmayan Glikoz Biyosensörünün Gerçek Örneğe Uygulama Çalışması.....	50
3.7.8.	Enzimatik Olmayan Glikoz Biyosensörünün Kararlılık Çalışması.....	50
3.8.	EDOTBN Polimer Tabanlı Elektrokimyasal Glikoz Biyosensörü Çalışmaları...	51
	KGE/p(EDOTBN)/AuNPs/GOx Enzimatik Glikoz Biyosensörünün	51
3.8.1.	Glikoza Karşı Elektrokatalitik Yanıtlarının Döngüsel Voltammetri Yöntemi ile İncelenmesi.....	
3.8.2.	Enzimatik Glikoz Biyosensörünün Girişim Çalışmaları.....	51
3.8.3.	Enzimatik Glikoz Biyosensörünün Gerçek Örneğe Uygulama Çalışması.....	54
3.8.4.	Enzimatik Glikoz Biyosensörünün Kararlılık Çalışması.....	52
	KGE/p(EDOTBN)/AuNPs Enzimatik Olmayan Glikoz	52
3.8.5.	Biyosensörünün Glikoza Karşı Elektrokatalitik Yanıtlarının Döngüsel Voltammetri Yöntemi ile İncelenmesi.....	
3.8.6.	Enzimatik Olmayan Glikoz Biyosensörünün Girişim Çalışmaları.....	53
3.8.7.	Enzimatik Olmayan Glikoz Biyosensörünün Gerçek Örneğe Uygulama Çalışması.....	53
3.8.8.	Enzimatik Olmayan Glikoz Biyosensörünün Kararlılık Çalışması.....	54
DÖRDÜNCÜ BÖLÜM		55
ARAŞTIRMA BULGULARI		
4.1.	Monomerlerinin Karakterizasyonu	55
4.1.1.	ThBN Monomerinin Karakterizasyonu.....	55
4.1.2.	EDOTBN Monomerinin Karakterizasyonu.....	57

4.2.	ThBN Polimer Tabanlı Elektrokimyasal Glikoz Biyosensörü Çalışmaları.....	61
4.2.1.	ThBN Polimerinin KGE Yüzeyinde Elektrokimyasal Sentezi.....	61
4.2.2.	AuNP'lerin KGE Yüzeyine Biriktirilmesi.....	61
4.2.3.	KGE/p(ThBN)/AuNP Modifiye Elektrotlara GOx Enziminin İmmobilizasyonu.....	62
4.2.4.	Modifiye Elektrotların Yüzey Morfolojisinin İncelenmesi.....	63
4.2.5.	KGE/p(ThBN)/AuNPs/GOx Enzimatik Glikoz Biyosensörünün Glikoza Karşı Elektrokatalitik Yanıtlarının Döngüsel Voltammetri Yöntemi ile İncelenmesi.....	64
4.2.6.	KGE/p(ThBN)/AuNPs/GOx Enzimatik Glikoz Biyosensörünün Optimizasyon Çalışmaları.....	65
	KGE Elektrot Tipinin Belirlenmesi.....	66
	ThBN Polimerinin Elektrot Üzerindeki Kalınlığı.....	67
	Destek Elektrolit Çözeltisinin pH Değerinin Belirlenmesi.....	68
	GOx Enziminin İmmobilizasyon Süresi.....	68
	Tarama Hızı.....	69
4.2.7	KGE/p(ThBN)/AuNPs/GOx Enzimatik Glikoz Biyosensörünün Çalışma Aralığının Belirlenmesi.....	70
4.2.8.	KGE/p(ThBN)/AuNPs/GOx Enzimatik Glikoz Biyosensörünün Girişim Çalışmaları.....	71
4.2.9.	KGE/p(ThBN)/AuNPs/GOx Enzimatik Glikoz Biyosensörünün Gerçek Örneğe Uygulama Çalışması.....	73
4.2.10.	KGE/p(ThBN)/AuNPs/GOx Enzimatik Glikoz Biyosensörünün Kararlılık Çalışması.....	75
4.2.11.	KGE/p(ThBN)/AuNPs/GOx Enzimatik Glikoz Biyosensörünün Teşhis Sınırı (TS), Tayin Alt Sınırı (TAS) ve Hassaslığının Belirlenmesi.....	75
4.2.12.	KGE/p(ThBN)/AuNPs Enzimatik Olmayan Glikoz Biyosensörünün Glikoza Karşı Elektrokatalitik Yanıtlarının Döngüsel Voltammetri Yöntemi ile İncelenmesi.....	76
4.2.13.	KGE/p(ThBN)/AuNPs Enzimatik Olmayan Glikoz Biyosensörünün Optimizasyon Çalışmaları.....	77
	KGE Elektrot Tipinin Belirlenmesi.....	77
	ThBN Polimerinin Elektrot Üzerindeki Kalınlığı.....	78
	AuNP'lerin Elektrokimyasal Biriktirilmesi.....	79
	Tarama Hızı.....	80
4.2.14	KGE/p(ThBN)/AuNPs Enzimatik Olmayan Glikoz Biyosensörünün Çalışma Aralığının Belirlenmesi.....	81

4.2.15.	KGE/p(ThBN)/AuNPs Enzimatik Olmayan Glikoz Biyosensörünün Girişim Çalışmaları.....	82
4.2.16.	KGE/p(ThBN)/AuNPs Enzimatik Olmayan Glikoz Biyosensörünün Gerçek Örneğe Uygulama Çalışmaları.....	84
4.2.17.	KGE/p(ThBN)/AuNPs Enzimatik Olmayan Glikoz Biyosensörünün Kararlılık Çalışması.....	85
4.2.18.	KGE/p(ThBN)/AuNPs Enzimatik Olmayan Glikoz Biyosensörünün Teşhis Sınırı (TS), Tayin Alt Sınırı (TAS) ve Hassaslığının Belirlenmesi.....	86
4.3.	EDOTBN Polimer Tabanlı Elektrokimyasal Glikoz Biyosensörü Çalışmaları...	86
4.3.1.	EDOTBN Polimerinin KGE Yüzeyinde Elektrokimyasal Sentezi.....	86
4.3.2.	AuNP'lerin KGE Yüzeyine Biriktirilmesi.....	87
4.3.3.	KGE/p(EDOTBN)/AuNP Modifiye Elektrotlara GOx Enziminin İmmobilizasyonu.....	88
4.3.4.	Modifiye Elektrotların Yüzey Morfolojisinin İncelenmesi.....	89
4.3.5.	KGE/p(EDOTBN)/AuNPs/GOx Enzimatik Glikoz Biyosensörünün Glikoza Karşı Elektrokatalitik Yanıtlarının Döngüsel Voltammetri Yöntemi ile İncelenmesi.....	90
4.3.6.	KGE/p(EDOTBN)/AuNPs/GOx Enzimatik Glikoz Biyosensörünün Optimizasyon Çalışmaları.....	91
	KGE Elektrot Tipinin Belirlenmesi.....	91
	EDOTBN Polimerinin Elektrot Üzerindeki Kalınlığı.....	92
	Destek Elektrolit Çözeltisinin pH Değerinin Belirlenmesi.....	93
	GOx Enziminin İmmobilizasyon Süresi.....	94
	Tarama Hızı.....	95
4.3.7	KGE/p(EDOTBN)/AuNPs/GOx Enzimatik Glikoz Biyosensörünün Çalışma Aralığının Belirlenmesi.....	96
4.3.8.	KGE/p(EDOTBN)/AuNPs/GOx Enzimatik Glikoz Biyosensörünün Girişim Çalışmaları.....	97
4.3.9.	KGE/p(EDOTBN)/AuNPs/GOx Enzimatik Glikoz Biyosensörünün Gerçek Örneğe Uygulama Çalışması.....	99
4.3.10.	KGE/p(EDOTBN)/AuNPs/GOx Enzimatik Glikoz Biyosensörünün Kararlılık Çalışması.....	100
4.3.11.	KGE/p(EDOTBN)/AuNPs/GOx Enzimatik Glikoz Biyosensörünün Teşhis Sınırı (TS), Tayin Alt Sınırı (TAS) ve Hassaslığının Belirlenmesi.....	101
4.3.12.	KGE/p(EDOTBN)/AuNPs Enzimatik Olmayan Glikoz Biyosensörünün Glikoza Karşı Elektrokatalitik Yanıtlarının Döngüsel Voltammetri Yöntemi ile İncelenmesi.....	101

4.3.13.	KGE/p(EDOTBN)/AuNPs Enzimatik Olmayan Glikoz	102
	Biyosensörünün Optimizasyon Çalışmaları.....	
	KGE Elektrot Tipinin Belirlenmesi.....	103
	EDOTBN Polimerinin Elektrot Üzerindeki Kalınlığı.....	104
	AuNP'lerin Elektrokimyasal Biriktirilmesi.....	105
	Tarama Hızı.....	106
4.3.14.	KGE/p(EDOTBN)/AuNPs Enzimatik Olmayan Glikoz	107
	Biyosensörünün Çalışma Aralığının Belirlenmesi.....	
4.3.15.	KGE/p(EDOTBN)/AuNPs Enzimatik Olmayan Glikoz	108
	Biyosensörünün Girişim Çalışmaları.....	
4.3.16.	KGE/p(EDOTBN)/AuNPs Enzimatik Olmayan Glikoz	110
	Biyosensörünün Gerçek Örneğe Uygulama Çalışmaları.....	
4.3.17.	KGE/p(EDOTBN)/AuNPs Enzimatik Olmayan Glikoz	111
	Biyosensörünün Kararlılık Çalışması.....	
4.3.18.	KGE/p(EDOTBN)/AuNPs Enzimatik Olmayan Glikoz	112
	Biyosensörünün Teşhis Sınırı (TS), Tayin Alt Sınırı (TAS) ve Hassaslığının Belirlenmesi.....	
BEŞİNCİ BÖLÜM		113
SONUÇ ve ÖNERİLER		
KAYNAKÇA		119
ÖZGEÇMİŞ		I

SİMGELER VE KISALTMALAR

HOMO	En yüksek dolu moleküler orbital
LUMO	En düşük boş moleküler orbital
E _g	Bant boşluğu
Fc	Ferrosen
E _{onset_{red}}	En yüksek potansiyel (ingirgenme)
E _{onset_{ox}}	En yüksek potansiyel (yükseltgenme)
IUPAC	Uluslararası Temel ve Uygulamalı Kimya Birliği
FTIR	Fourier dönüşümlü kızılötesi spektroskopisi
DNA	Deoksiribonükleik asit
CTN	Karbon nanotüp
AuNP	Altın nano paritkül
TS- LOD	Teşhis sınırı
TAS- LOQ	Tayin alt sınırı
SD	Standart sapma
WHO	Dünya Sağlık Örgütü
FAD	Flavin adenin dinükleotit
MOF	Metal organik çerçeve
MAF	Metal azolat çerçeve
GO _x	Glikoz oksidaz
GDH	Glikoz dehidrogenaz
PBS	Fosfat tampon çözelti
NEG	Enzimatik olmayan glikoz
XPS	X- ışını fotoelektron spektroskopisi
GA	Glutaraldehit
KGE	Kalem grafit elektrot
TLC	İnce tabana kromatografisi
DCM	Diklorometan
ACN	Asetonitril
NMR	Nükleer manyetik rezonans
CV	Döngüsel voltammetri
SEM	Taramalı elektron mikroskobu

TABLULAR DİZİNİ

Tablo No	Tablo Adı	Sayfa No
Tablo 1	KGE/p(ThBN)/AuNPs/GOx biyosensörünün gerçek örnek çalışma sonuçları	74
Tablo 2	KGE/p(ThBN)/AuNPs biyosensörünün gerçek örnek çalışma sonuçları	85
Tablo 3	KGE/p(EDOTBN)/AuNPs/GOx biyosensörünün gerçek örnek çalışma sonuçları	100
Tablo 4	KGE/p(EDOTBN)/AuNPs biyosensörünün gerçek örnek çalışma sonuçları	111
Tablo 5	Elde edilen biyosensörlerin optimizasyon ve performans etkileri	115
Tablo 6	Elde edilen biyosensörlerin literatürdeki diğer enzimatik glikoz biyosensörleri ile karşılaştırılması	117
Tablo 7	Elde edilen biyosensörlerin literatürdeki diğer enzimatik olmayan glikoz biyosensörleri ile karşılaştırılması	118

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil No	Şekil Adı	Sayfa No
Şekil 1	Konjuge çift bağ	2
Şekil 2	Yaygın kullanılan konjuge polimer yapıları	3
Şekil 3	Band boşluğu kuramı	5
Şekil 4	Biyosensörlerin genel şeması. Transdüser (A), biyolojik tanıma elemanı (B), numune (C)	9
Şekil 5	Biyosensörlerin sınıflandırılması	10
Şekil 6	Tipik biyosensör kurulumu (Hendry et al., 1990).	11
Şekil 7	Farklı nesil elektrokimyasal glikoz biyosensörlerinin çalışma prensibi	19
Şekil 8	Glikoz oksidazın reaksiyon mekanizması	19
Şekil 9	Enzimatik glikoz biyosensörünün çalışma prensibi	21
Şekil 10	Pletcher tarafından önerilen bitişik adsorpsiyon bölgeleri ile eşmerkezli adsorpsiyon teorisinin bir örneği. C ₁ : hemiasetalik karbon atomu. R: glikoz molekülünün diğer kısımları	23
Şekil 11	M* indirgeyici metal adsorpsiyon bölgesidir ve M[OH] _{ads} yükseltgeyici olarak absorbe edilen hidroksit radikalidir. Bu şekil, metal elektrot yüzeyinde hem yükseltgenme hem de indirgenme süreçlerin nasıl katalize edildiğini göstermektedir.	24
Şekil 12	Glikoz biyosensörü (A) ve PTTzFr/PEDOT elektrokromik cihazın şematik gösterimi	26
Şekil 13	Glikoz biyosensörünün hazırlanma aşamaları	27
Şekil 14	GCE/OOPy-nanoAu/GOx modifiye elektrotunun 1-20 mM arasında değişen glikoz konsantrasyonlarında döngüsel voltammogramı ve glikoz konsantrasyonuna karşı oksijenin indirgenme pik akım değerleri grafiği	28
Şekil 15	GCE/OOPy-nanoAu/GOx modifiye elektrotun artarda 1 mM glikoz ilave edildiğinde hidrodinamik amperometrik yanıtları grafiği	29

Şekil 16	Biyosensörün cevabı: (a) zamana karşı indirgenme akımı (b) glikoz konsantrasyonuna karşı indirgenme akımı grafiği	30
Şekil 17	Glikoz biyosensörünün şematik gösterimi	31
Şekil 18	Tasarlanan glikoz biyosensörünün şematik gösterimi	31
Şekil 19	Ni-NPs/Ppy ₍₁₎ /GRE biyosensörünün kalibrasyon eğrisi	32
Şekil 20	Altın nanopartikül modifiye edilmiş transdüser tasarımının şematik gösterimi	33
Şekil 21	Glikoz algılama mekanizması A- elektrot üzerinde doğrudan glikoz yükseltgenmesi, B- GOx-FAD ve polyCz arasında doğrudan boşluk aktarımı, C- poly-Fe/GOx elektrotu üzerinde H ₂ O ₂ tabanlı mekanizma	34
Şekil 22	ThBN monomerinin sentez adımları	39
Şekil 23	EDOTBN monomerinin sentez adımları	41
Şekil 24	p(ThBN) tabanlı enzimatik glikoz biyosensörünün şematik gösterimi	44
Şekil 25	p(ThBN) tabanlı enzimatik olmayan glikoz biyosensörünün şematik gösterimi	44
Şekil 26	p(EDOTBN) tabanlı enzimatik glikoz biyosensörünün şematik gösterimi	46
Şekil 27	p(EDOTBN) tabanlı enzimatik olmayan glikoz biyosensörünün şematik gösterimi	47
Şekil 28	ThBN monomerinin IR spektrumu	55
Şekil 29	ThBN monomerinin ¹ H NMR spektrumu	56
Şekil 30	ThBN monomerinin CV voltammogramı	57
Şekil 31	EDOTBN monomerinin IR spektrumu	58
Şekil 32	EDOTBN monomerinin ¹ H NMR spektrumu	59
Şekil 33	EDOTBN monomerinin CV voltammogramı	60
Şekil 34	KGE yüzeyi üzerine ThBN monomerinin elektropolimerizasyonu (0,1 M (1:1) DCM-ACN LiClO ₄ , 100 mV/s)	61
Şekil 35	KGE/p(ThBN) yüzeyine AuNP'lerin biriktirilmesi (0,02 M, pH 7,0 PBS, 50 mV/s)	62
Şekil 36	Sem görüntüleri; KGE (a), KGE/p(ThBN) (b), KGE/P(ThBN)/AuNPs (c) ve KGE/p(ThBN)/AuNPs/GOx (d)	64

Şekil 37	KGE/p(ThBN)/AuNPs/GOx biyosensörünün modifiye adımlarının glikoza karşı yanıtı (pH 7,0 0,1 M PBS, 100 mV/s)	65
Şekil 38	KGE/p(ThBN)/AuNPs/GOx biyosensörünün farklı uç tipleri için glikoza karşı yanıtı (pH 7,0 0,1 M PBS, 100 mV/s)	66
Şekil 39	KGE/p(ThBN)/AuNPs/GOx biyosensörünün farklı p(ThBN) döngü sayısı için glikoza karşı yanıtı (pH 7,0 0,1 M PBS, 100 mV/s)	67
Şekil 40	KGE/p(ThBN)/AuNPs/GOx biyosensörünün, PBS çözeltisinin farklı pH değerlerinin glikoza karşı yanıtı (100 mV/S, 0,1 M PBS)	68
Şekil 41	KGE/p(ThBN)/AuNPs/GOx biyosensörünün GOx enziminde farklı sürelerde immobilizasyonu için glikoza karşı yanıtı (pH 6,5 0,1 M PBS, 100 mV/s)	69
Şekil 42	KGE/p(ThBN)/AuNPs/GOx biyosensörünün değişen tarama hızları için glikoza karşı yanıtı (a) ve tarama hızına karşı akım grafiği (pH 6,5 0,1 M PBS)	70
Şekil 43	KGE/p(ThBN)/AuNPs/GOx biyosensörünün karekök tarama hızına karşı pik akımı (a) ve log tarama hızına karşı log pik akımı (b) grafikleri (pH 6,5 0,1 M PBS)	70
Şekil 44	KGE/p(ThBN)/AuNPs/GOx biyosensörünün çalışma aralığı (pH 6,5 0,1 M PBS)	71
Şekil 45	KGE/p(ThBN)/AuNPs/GOx biyosensörünün girişim çalışmaları a) fruktoz, b) galaktoz, c) glutamik asit, d)L-askorbik asit, e) sakkaroz, f) sitrik asit, g) ürik asit (pH 6,5 0,1 M PBS)	73
Şekil 46	KGE/p(ThBN)/AuNPs/GOx biyosensörünün gerçek örnek derişimine karşılık akım grafiği (pH 6,5 0,1 M PBS, 100 mV/s; a: dekstroz b: vişne suyu)	74
Şekil 47	KGE/p(ThBN)/AuNPs/GOx biyosensörünün kararlılık grafiği	75
Şekil 48	KGE/p(ThBN)/AuNPs biyosensörünün modifiye adımlarının glikoza karşı yanıtı (0,1 M NaOH, 100 mV/s)	76
Şekil 49	KGE/p(ThBN)/AuNPs biyosensörünün farklı uç tipleri için glikoza karşı yanıtı (0,1 M NaOH, 100 mV/s)	78
Şekil 50	KGE/p(ThBN)/AuNPs biyosensörünün farklı p(ThBN) döngü sayısı için glikoza karşı yanıtı (0,1 M NaOH, 100 mV/s)	79
Şekil 51	KGE/p(ThBN)/AuNPs biyosensörünün farklı AuNPs döngü sayısı için glikoza karşı yanıtı (0,1 M NaOH, 100 mV/s)	80
Şekil 52	KGE/p(ThBN)/AuNPs biyosensörünün değişen tarama hızları için glikoza karşı yanıtı (a) ve tarama hızına karşı akım grafiği (0,1 M NaOH)	81
Şekil 53	KGE/p(ThBN)/AuNPs biyosensörünün karekök tarama hızına karşı pik akımı (a) ve log tarama hızına karşı log pik akımı (b) grafikleri (0,1 M NaOH)	81
Şekil 54	KGE/p(ThBN)/AuNPs biyosensörünün çalışma aralığı (0,1 M NaOH)	82

Şekil 55	KGE/p(ThBN)/AuNPs biyosensörünün girişim çalışmaları a) fruktoz, b) galaktoz, c) glutamik asit, d)L-askorbik asit, e) sakkaroz, f) sitrik asit, g) ürik asit (0,1 M NaOH)	84
Şekil 56	KGE/p(ThBN)/AuNPs biyosensörünün gerçek örnek derişimine karşılık akım grafiği (0,1 M NaOH, 100 mV/s; a: dekstroz b: vişne suyu)	85
Şekil 57	KGE/p(ThBN)/AuNPs biyosensörünün kararlılık grafiği	86
Şekil 58	KGE yüzeyi üzerine EDOTBN monomerinin elektropolimerizasyonu (0,1 M (1:1) DCM-ACN LiClO ₄ , 100 mV/s)	87
Şekil 59	KGE yüzeyi üzerine EDOTBN monomerinin elektropolimerizasyonu (0,1 M (1:1) DCM-ACN LiClO ₄ , 100 mV/s)	88
Şekil 60	Sem görüntüleri; KGE (a), KGE/p(EDOTBN) (b), KGE/P(EDOTBN)/AuNPs (c) ve KGE/p(EDOTBN)/AuNPs/GOx (d)	89
Şekil 61	KGE/p(EDOTBN)/AuNPs/GOx biyosensörünün modifiye adımlarının glikoza karşı yanıtı (pH 7,0 0,1 M PBS, 100 mV/s)	90
Şekil 62	KGE/p(EDOTBN)/AuNPs/GOx biyosensörünün farklı uç tipleri için glikoza karşı yanıtı (pH 7,0 0,1 M PBS, 100 mV/s)	92
Şekil 63	KGE/p(EDOTBN)/AuNPs/GOx biyosensörünün farklı p(EDOTBN) döngü sayısı için glikoza karşı yanıtı (pH 7,0 0,1 M PBS, 100 mV/s)	93
Şekil 64	KGE/P(EDOTBN)/AuNPs/GOx biyosensörünün, PBS çözeltilsinin farklı pH değerlerinin glikoza karşı yanıtı (100 mV/S, 0,1 M PBS)	94
Şekil 65	KGE/p(EDOTBN)/AuNPs/GOx biyosensörünün GOx enziminde farklı sürelerde immobilizasyonu için glikoza karşı yanıtı (pH 6,5 0,1 M PBS, 100 mV/s)	95
Şekil 66	KGE/p(EDOTBN)/AuNPs/GOx biyosensörünün değişen tarama hızları için glikoza karşı yanıtı (a) ve tarama hızına karşı akım grafiği (pH 6,5 0,1 M PBS)	96
Şekil 67	KGE/p(EDOTBN)/AuNPs/GOx biyosensörünün karekök tarama hızına karşı pik akımı (a) ve log tarama hızına karşı log pik akımı (b) grafikleri (pH 6,5 0,1 M PBS)	96
Şekil 68	KGE/p(EDOTBN)/AuNPs/GOx biyosensörünün çalışma aralığı (pH 6,5 0,1 M PBS)	97
Şekil 69	KGE/p(EDOTBN)/AuNPs/GOx biyosensörünün girişim çalışmaları a) fruktoz, b) galaktoz, c) glutamik asit, d)L-askorbik asit, e) sakkaroz, f) sitrik asit, g) ürik asit (pH 6,5 0,1 M PBS)	99
Şekil 70	KGE/p(EDOTBN)/AuNPs/GOx biyosensörünün gerçek örnek derişimine karşılık akım grafiği (pH 6,5 0,1 M PBS, 100 mV/s; a: dekstroz b: vişne suyu)	100
Şekil 71	KGE/p(EDOTBN)/AuNPs/GOx biyosensörünün kararlılık grafiği	101
Şekil 72	KGE/p(EDOTBN)/AuNPs biyosensörünün modifiye adımlarının glikoza karşı yanıtı (0,1 M NaOH, 100 mV/s)	102

Şekil 73	KGE/p(EDOTBN)/AuNPs biyosensörünün farklı uç tipleri için glikoza karşı yanıtı (0,1 M NaOH, 100 mV/s)	103
Şekil 74	KGE/p(EDOTBN)/AuNPs biyosensörünün farklı p(ThBN) döngü sayısı için glikoza karşı yanıtı (0,1 M NaOH, 100 mV/s)	104
Şekil 75	KGE/p(EDOTBN)/AuNPs biyosensörünün farklı AuNPs döngü sayısı için glikoza karşı yanıtı (0,1 M NaOH, 100 mV/s)	105
Şekil 76	KGE/p(EDOTBN)/AuNPs biyosensörünün değişen tarama hızları için glikoza karşı yanıtı (a) ve tarama hızına karşı akım grafiği (0,1 M NaOH)	106
Şekil 77	KGE/p(EDOTBN)/AuNPs biyosensörünün karekök tarama hızına karşı pik akımı (a) ve log tarama hızına karşı log pik akımı (b) grafikleri (0,1 M NaOH)	107
Şekil 78	KGE/p(EDOTBN)/AuNPs biyosensörünün çalışma aralığı (0,1 M NaOH)	108
Şekil 79	KGE/p(EDOTBN)/AuNPs biyosensörünün girişim çalışmaları a) fruktoz, b) galaktoz, c) glutamik asit, d)L-askorbik asit, e) sakkaroz, f) sitrik asit, g) ürik asit (0,1 M NaOH)	110
Şekil 80	KGE/p(EDOTBN)/AuNPs biyosensörünün gerçek örnek derişimine karşılık akım grafiği (0,1 M NaOH, 100 mV/s; a: dekstroz b: vişne suyu)	111
Şekil 81	KGE/p(EDOTBN)/AuNPs biyosensörünün kararlılık grafiği	112

BİRİNCİ BÖLÜM

GİRİŞ

Konjuge polimerler, yoğun fiziksel ve spektroskopik özellikleri nedeniyle malzeme kimyası alanında merak uyandıran bir malzeme sınıfıdır (Pal vd., 2019). Konjuge polimerler, polimer zinciri boyunca konjuge π elektronlarının varlığından dolayı üstün elektrokimyasal özellikler sergiler. 1977'den bu yana, kimyasal ve fiziksel özelliklerinden kaynaklanan çeşitlilikleri nedeniyle büyük ilgi görerek, çeşitli alanlarda kullanılmaktadır. Sahip oldukları dinamik, kimyasal, elektriksel ve fiziksel doğası sebebiyle, sensörlerin ve biyosensörlerin parametrelerini önemli ölçüde iyileştirebilmektedir. Elektrot üzerine konjuge polimerlerin kaplanması, enzimin elektrot yüzeyinde etkin bir şekilde immobilizasyonu için iyi bir alternatiftir.

Şeker hastalığı (diyabet), dünyada çok sayıda insan ölümüne ve sakatlığa neden olan kronik hastalıklardan biridir. Diyabet vakalarının yaygınlaşması nedeniyle insan kanı, gıda, ilaç gibi farklı numunelerde glikoz tespiti ve takibine olan talep artmıştır. Glikoz sensörleri, biyosensör araştırması ve uygulaması açısından bir başarı öyküsüdür.

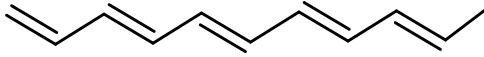
1.1. Konjuge Polimer

Polimerler, doğrusal zincirler, dallı zincirler vb. gibi çeşitli mikro yapılar üretmek için çeşitli şekillerde birbirine bağlanabilen daha küçük moleküllerden (monomerler) oluşan uzun zincirli makromoleküllerdir (Camacho-Cruz vd., 2022). Letheby tarafından 1862 yılında iletken polimer olarak elektropolimerizasyon yolu ile sülfürik asit ortamında kısmen iletken bir malzeme olan polianilini oluşturduğu çalışmasına kadar, çoğu polimerik malzeme yalıtkan olarak bilinmekteydi (Letheby, 1862). Ancak poliasetilen, bu yeni araştırma alanını fiilen başlatan iletken polimerdir (Feast et al., 1996). 1974 yılında Shirakawa ve arkadaşları, Ziegler-Natta katalizörü kullanarak gümüş renginde poliasetilen filmler hazırlamıştır (Ito vd., 1974). 1977 yılında ise, Shirakawa, MacDiarmid ve Heeger, bu asetilen filmlerin klor, brom, iyot buharına tutularak yükseltgendiğinde, iletkenliklerinin 10^9 kat arttığını keşfetmiştir. Halojen ile yapılan bu işleme doplama adını vermişler ve poliasetilenin doplanmış formunun

iletkenliğini 10^5 S/m olarak bulmuşlardır (Hideki Shirakawa vd., 1977). Bu çalışmalarından dolayı Shirakawa, MacDiarmid ve Heeger 2001 yılında Kimya alanında Nobel ödülü almışlardır (Heeger, Alan J. ; MacDiarmid, Alan G. ; Shirakawa, 1974). Konjuge polimerler, konjuge poliasetilen polimerinin özelliklerinin 1977'de tanımlanmasından bu yana büyük ilgi görmüş ve birçok iletken polimer geliştirilmiştir. (Long vd., 2019). En çok araştırılan polimerler poliasetilen, polianilin, polipirol, politiyofen, polifenilen sülfür, polifenilen vinilen ve türevleri olmuştur. Bu malzemelerin ve diğer benzerlerinin birçok türevi de rapor edilmiştir.

1.1.1. Konjuge Polimerlerin Yapısı ve İletkenlik kuramı

Polimerlerin elektronik iletkenlik gösterebilmesi için, polimer ana zincirinde elektron taşıyan konjuge çift bağların bulunması gerekir. Konjuge polimerler, polimer zinciri boyunca konjuge π elektronlarının varlığından dolayı üstün elektrokimyasal özellikler sergiler (Qiu vd., 2020). Yaygın kullanılan konjuge polimer yapıları Şekil 1'de verilmiştir.



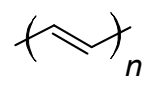
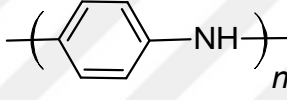
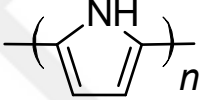
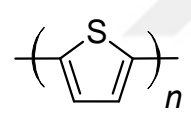
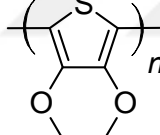
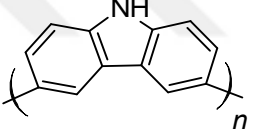
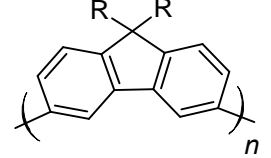
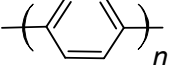
Şekil 1. Konjuge çift bağ

Konjugasyon yüksek derecede iletkenlik için tek başına yeterli olmadığından, konjuge çift bağlı polimerlerin iletkenliği dop işlemi ile artırılır. Bu işlem ile polimer örgüsünde artı yüklü boşluklar oluşturmak amacıyla, polimer yapısına iletkenliği sağlayacak olan elektronlar verilir veya elektronlar alınır. İletken polimerlerde iletkenliğin nasıl sağlandığı şu şekilde açıklanabilir. Artı yüklü boşluğa başka bir yerden atlayan elektron, geldiği yerde de artı yüklü boşluk oluşturacaktır. Bu işlemler artarda zincir boyunca veya zincirler arasında yinelenerek elektrik iletilir. Konjuge polimer dop işlemi yapıldığında yükseltgeniyorsa, yükseltgen doping (p- doplama) eğer indirgeniyorsa indirgen doping (n-doplama) yapılmış demektir. Polimerler aşağıdaki yöntemlerle doplanabilir:

- Gazlı doping

- Çözelti dopingi
- Elektrokimyasal doping
- Self doping
- Radyasyona bağlı doping ve
- İyon değişimi dopingi.

Bu yöntemlerden ilk üç teknik, kolaylık ve düşük maliyet nedeniyle yaygın olarak kullanılmaktadır. Gazlı doping işleminde polimerler, vakum altında dopantın buharlarına maruz bırakılır. Çözelti dopingi, tüm doping ürünlerinin çözünür olduğu bir çözücünün kullanımını içerir.

		
poliasetilen	polianilin	polipirol
		
politiyofen	poli3,4-etilendioksitiyofen	polikarbazol
		
polifloren		poliparafenilen

Şekil 2. Yaygın kullanılan konjuge polimer yapıları

Elektriği, elektronik yolla ileten iletken polimerlerde iletkenlik mekanizması henüz tam olarak aydınlatılamamıştır. İletkenliğin açıklamasına yönelik kuramlardan biri band kuramıdır. Bağ oluşumu sırasında iki yeni enerji düzeyi ortaya çıkar. Bunlar iki elektronun bulunduğu bağ enerji düzeyi (bağ orbitali- HOMO) ve boş olan antibağ enerji düzeyidir (antibağ orbitali- LUMO). Bağ enerji düzeyindeki elektronlar, ışık veya ısı etkisiyle yeterli

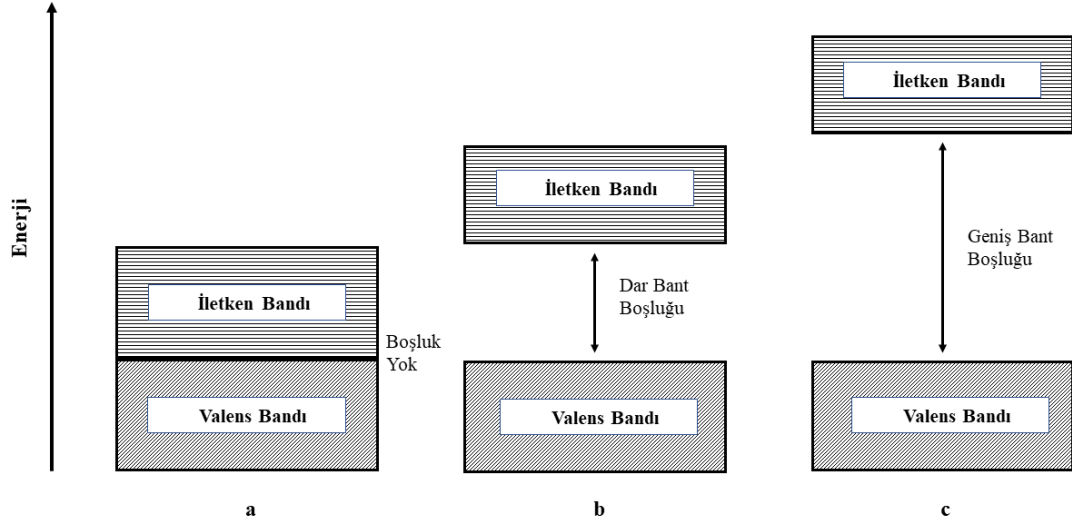
enerji olarak daha yüksek enerjili antibağ enerji düzeyine çıkabilirler. Daha karmaşık moleküller arasındaki bağ oluşumu da aynı şekildedir. Moleküle her yeni atom katılmasında, molekülün elektronik yapısına yeni bir bağ ve antibağ enerji düzeyi eklenir (Guo vd., 2013).

Molekül büyüklüğü arttıkça bağ orbitallerinin sayısı artar ve orbital enerji düzeyleri arasında fark azalır. Bir noktada birbirinden net ayrılmış enerji düzeyleri yerine sürekli görünümdeki bir enerji bandı oluşur. Bu banda, valens bandı veya bağ bandı denir. (Stubbs vd., 1993). Bağ bandı oluşumuna benzer şekilde sayıları sonsuza yaklaşan antibağ orbitalleri de başka bir enerji bandı oluşturur. Bu bağ iletenlik bandı olarak adlandırılır. Valens bandı ile iletkenlik bandı arasındaki aralığa band boşluğu, bu boşluğun geçilmesi için gerekli enerjiye ise band eşik enerjisi adı verilir (Şekil 3) Bant boşluğu büyüklüğü ve HOMO ve LUMO enerji seviyelerinin enerji konumları, belirli bir konjuge polimerin elektriksel özelliklerini belirlemek için en önemli özelliklerdir, (Cheng vd., 2009; Feng vd., 2015). HOMO, LUMO ve bant boşluğu değerleri şu denklemlerle hesaplanmaktadır.

$$HOMO = -e [E_{onset_{ox}} - E_{\frac{1}{2}}(Fc) - 4,8] \quad (1.1)$$

$$LUMO = -e [E_{onset_{red}} - E_{\frac{1}{2}}(Fc) - 4,8] \quad (1.2)$$

$$E_g = HOMO - LUMO \quad (1.3)$$



Şekil 3. Band boşluğu kuramı

1.1.2. Konjuge Polimerlerin Sentezi

Konjuge polimerleri sentezlemek için tek bir yöntem yoktur. Konjuge polimerler, Witting, Horner ve Grignard reaksiyonlarını, polikondenzasyon proseslerini ve metal katalizli polimerizasyon tekniklerini içeren konvansiyonel ve spesifik yolları içeren standart polimerizasyon metotları kullanılarak sentezlenebilir. İletken polimerler aşağıdaki tekniklerden herhangi biri ile sentezlenebilir:

- Kimyasal polimerizasyon
- Elektrokimyasal polimerizasyon
- Fotokimyasal elektropolimerizasyon
- Metatez polimerizasyonu
- Konsantre emülsiyon polimerizasyonu
- İnküzyon polimerizasyonu
- Katı- hal polimerizasyonu
- Plazma polimerizasyonu
- Piroliz

- Çözünür öncü polimer hazırlanması

Yukarıdaki kategoriler arasında, elektrot kullanmadan gerçekleştirildiğinden, kimyasal polimerizasyon konjuge polimer sentezlemek için en çok kullanılan yöntemlerden biridir. Kimyasal polimerizasyonu (oksidatif bağlanma), monomerlerin bir katyon radikaline oksidasyonu ve bunların dikasyon formunu oluşturmak üzere birleştirilmesi takip eder ve bu işlemin tekrarı polimeri oluşturur. Konjuge polimerlerin tüm sınıfları bu teknikle sentezlenebilir (Kumar ve Sharma, 1998).

Elektrokimyasal sentez, basitliği ve tekrarlanabilirliği nedeniyle elektriksel olarak iletken polimerlerin hazırlanmasında hızla tercih edilen genel yöntem haline gelmektedir (Friend vd., 1999). Elektropolimerizasyon yoluyla bir elektrolit çözeltisinin varlığında ilgili monomerin anodik oksidasyonu ile çalışan bir elektrot yüzeyi üzerinde elektronik olarak iletken polimer filmler elde edilmektedir. Potansiyostatik (sabit potansiyel, kronoamperometri), galvanostatik (sabit akım, kronopotansiyometri) ve potansiyodinamik (potansiyel tarama, yani döngüsel voltammetri) yöntemleri dahil olmak üzere farklı elektrokimyasal teknikler kullanılabilir (Roncali, 1992; Yuan ve Remita, 2022),.

1.1.3. Konjuge Polimerlerin Kullanım Alanları

Konjuge polimerler, özelliklerinin 1977'den bu yana büyük ilgi görmüştür. Kimyasal ve fiziksel özelliklerinden kaynaklanan çeşitlilikleri nedeniyle çeşitli alanlarda kullanılabilirler. Molekül içindeki delokalize π elektronlarından dolayı, elektriksel iletkenlik, düşük iyonizasyon potansiyeli, düşük optik geçiş enerjisi, absorbans ve ışık emisyonu gibi benzersiz özelliklere sahiptir. Son yirmi yılda, pH'ı değiştirerek, uygun fonksiyonel grupları dahil ederek veya biyolojik olarak aktif molekülleri değiştirerek fiziksel veya kimyasal olarak modifiye edilebilen polimerik malzemeler bilim adamlarının büyük ilgisini çekmiştir (Spychalska vd., 2020). Kontrol edilebilir elektriksel iletkenlik, nano yapıları şekiller (filmler, nanoteller, nanopartiküller) ve düşük maliyetli- yüksek verimli sentez gibi özel özelliklerinden (Naveen vd., 2017) dolayı, ışık yayan cihazlar (Alsahhi vd., 2011; Xian

Yu, 2011), renkli ekranlar, ince film transistörler (Michinobu vd., 2011; T. W. Lee vd., 2013) ve güneş pillerinin (Cheng vd., 2009; Günes vd., 2007), tasarımında kullanılmıştır (Heeger, 2001). Genel olarak, iletken polimerler, yaygın çözücüler içinde çözünmezdir. Konjuge polimer nanokompozitlerin hazırlanması, hibrit malzemeye bir tür işlenebilirlik (kolloidal stabilite veya mekanik mukavemet) sağlamak ve bu malzemelerin uygulamalarını genişletmek için umut verici bir yoldur. Ayrıca, kimyasal orijin ve dahil edilen malzemelerin özel özellikleri, ortaya çıkan nanokompozitlere yeni özellikler katmaktadır (Ates ve Sarac, 2009).

Polimerler, çözelti, jel, kendiliğinden birleştirilmiş nanopartikül, film veya katı formda olabilir, bu nedenle kontrollü ilaç ve gen salınımı, kataliz, tespit etme ve görüntüleme ve kendi kendini onaran malzemelerde kullanılabilir. Polimer tabanlı akıllı malzemeler, düşük moleküler ağırlıklarının aksine, yapısal kararlılık, su içinde dağılma, biyouyumluluk, işleme kolaylığı ve algılama cihazlarıyla entegrasyon açısından birtakım avantajlara sahiptir (Hu ve Liu, 2010). Konjuge polimerlerin dinamik, kimyasal, elektriksel ve fiziksel doğası, sensörlerin ve biyosensörlerin parametrelerini önemli ölçüde iyileştirebilir.

Bu cihazların yapımındaki anahtar konu, HOMO ve LUMO orbitallerinin uygun dağılımı ile sağlanabilen uygun elektriksel iletken özelliklere sahip malzemelerin kullanılmasıdır (Tomczykova ve Plonska-Brzezinska, 2019).

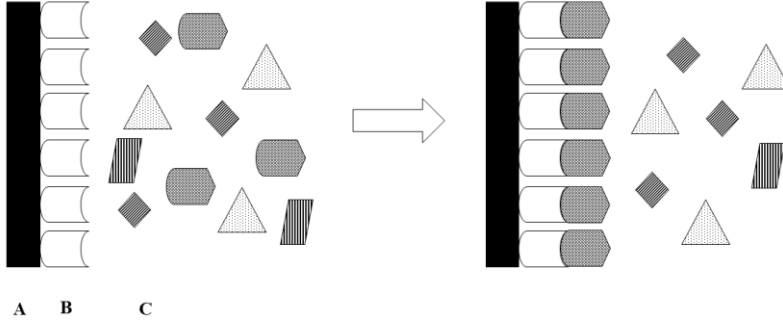
1.2. Biyosensör

Uzun bir süre insanlar toksik türlere karşı biyolojik bir tepkiyi kontrol ediyordu. Kışın telef olan balık yığınları veya yazın sararan yapraklar, su veya toprak kirleticilerinin canlılar için potansiyel tehlikenin işaretleri olarak yorumlanmıştır. On dokuzuncu yüzyılda kanaryalar kömür madenlerinde biriken karbon monoksit, metan ve diğer zararlı gazlarla zehirlenmeyi önlemek için erken uyarı sistemleri olarak kömür madenciliğinde kullanılmaktaydı. Yakın zamana kadar, davranışsal veya fenotipik bozukluklar, çevresel etki değerlendirmesinde kimyasal tehlikelerin biyolojik göstergeleri olarak kabul ediliyordu.

Toksik türlerin yanı sıra, tıbbi teşhis ve diğer benzer alanlarda yiyecek ve içeceklerin test edilmesinde biyolojik tepki başarıyla uygulanmıştır. Tat, koku vb. temelli biyolojik endikasyonlar çok hassas olduklarından, şüphesiz analitik sistemlerin ortak gereksinimlerini karşılamamaktadır.

Sensör kelimesi, algılamak anlamına gelen Latince sentire kelimesinden gelmektedir (Usher, 1985). Günümüz yaşamında sensörler, biyotipten güvenlik ekipmanlarına kadar hayati bir rol oynamakta ve çevremizdeki değişiklikleri tespit edip uyarma konusunda büyük görev üstlenmektedir (Elkordy, 2013). Biyosensör, Uluslararası Temel ve Uygulamalı Kimya Birliği (IUPAC) tarafından, bir dönüştürme elemanı ile doğrudan uzamsal temasta tutulan bir biyolojik tanıma elemanı (biyokimyasal reseptör) kullanarak spesifik nicel veya yarı nicel analitik bilgi sağlayabilen bağımsız entegre bir cihaz olarak tanımlanır (Rodriguez-Mozaz Maria Lopez de Alda Damià Barceló, 2006; Thévenot vd., 2001). Biyosensör kavramını ilk ortaya atılması, 1960'ların başında biyosensörler üzerinde çalışan ve teşhiste önemli olan bir ölçüm olan glikoz oksidaz enzimi ile glikoz konsantrasyonu ölçümü için ve diyabet hastalarında karbonhidrat metabolizması bozukluklarının tedavisi için bir "enzim elektrotu" geliştiren Dr. Leland C. Clark'a aittir (Clark ve Lyons, 1962).

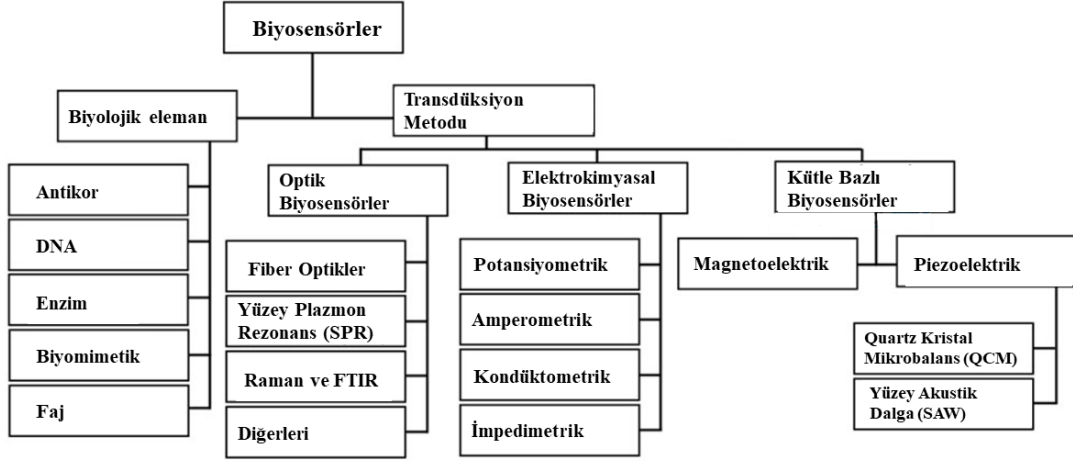
Biyosensörler, son derece hassas teşhis ve izleme yetenekleri nedeniyle sağlık, tıp bilimi, tarım, çevresel izleme, gıda ve biyogüvenlik alanlarındaki sayısız uygulama için çok önemlidir. Hedef analitler, iletken malzemelerden yapılan transdüserlere bağlanan antikorlar, hücreler, reseptörler ve aptamerler gibi biyolojik algılama elemanlarının yardımıyla tespit edilir (Yoon ve Jang, 2009). Hedef analitin kantitatif analizi, analit ile dönüştürücülere bağlı biyolojik element arasındaki moleküler tanıma süreçlerinin elektriksel olmayan bir alandan bir elektrik sinyaline seçici olarak dönüştürülmesiyle elde edilir (Chung vd., 2020; S. Cho ve Lee, 2020). Biyosensörlerin genel şeması Şekil 4'de gösterilmektedir.



Şekil 4. Biyosensörlerin genel şeması. Transdüser (A), biyolojik tanıma elemanı (B), numune (C)

Bir biyosensör, canlı bir vücutta meydana gelen kimyasal reaksiyonları kullanır, bu kimyasal reaksiyonların hemen hepsi seçicidir ve belirli kimyasal maddelere özgüdür. Bu yüksek seçicilik, biyosensörlerin geleneksel fiziksel sensörlerle aynı kavramlar kullanılarak geliştirildiğini gösterir.

Biyosensörlerin en sık kullanılan sınıflandırması, genel bir tanıma uygun olarak Şekil 5'te gösterilmiştir.



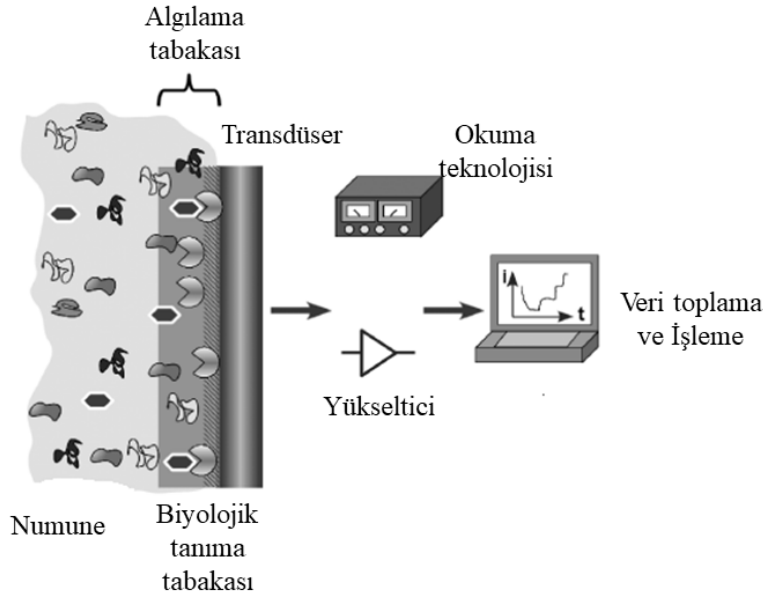
Şekil 5. Biyosensörlerin sınıflandırılması

1.2.1. Elektrokimyasal Biyosensörler

Biyosensör sınıflandırmasına benzer şekilde, biyosensörleri enzim ve afinite biyosensörleri arasında ayırmak mümkündür. Davranışlarındaki temel fark, sinyalin doğasıyla ilgilidir; enzim sensörleri, kinetik analiz yöntemlerine aittir. Sinyal, reaksiyonun ilk dakikalarında maksimum olan ve daha sonra azalan substrat dönüşüm oranını yansıtır. Afinite biyosensörleri, antijen-antikor veya DNA proteini gibi tersinir biyokimyasal etkileşimlerden yararlanır (Evtugyn, 2014).

Elektrokimyasal biyosensörün işlevselliği, analitleri tespit etmek için kullanılan biyomoleküllere, elektronik eşleşmeye (yani biyomolekül-dönüştürücü arayüzü) ve biyokimyasal reaksiyonu ölçülebilir bir elektrik sinyaline (analog veya dijital) dönüştürmek için kullanılan elektronik devre tasarımına bağlıdır. Birçok elektrokimyasal biyosensör, reseptör ve hedef moleküller arasındaki bağlanma aktivitesini tespit etmek için akım ve voltaj ölçümlerini baz alır. Hedef analit prob tarafından yakalandığında, biyosensör

dönüştürücünün empedans gibi elektriksel özellikleri değişecektir. Tipik bir biyosensör kurulumu Şekil 6’da gösterilmiştir.



Şekil 6. Tipik biyosensör kurulumu (Hendry vd., 1990).

Elektrokimyasal yöntemler, biyosensörler oluşturmak için çekici bir metodolojidir. Bunlar, kontrollü elektron transferi yoluyla çözeltildeki monomerlerden ince polimerik filmlerin oluşturulmasına izin vererek, bir elektrot üzerinde elektropolimerizasyonun mümkün olmasıyla ek bir avantaj sağlar. Bu tür filmler hem biyolojik elementlerin hareketsizleştirilmesi için hem de analit konsantrasyonuna bağlı bir sinyal üretmek için elektron transferinin kullanılabildiği biyosensörün temel sinyal iletim işlemi için kullanılabilir. Elektrokimyasal tabanlı biyosensörler, ticarileştirilen en eski biyosensör türlerindedir. Buna en güzel örnek, diyabet hastalarının kan şekeri düzeylerini izlemek için geliştirilen glikoz sensörüdür (Knopf ve Bassi, 2006).

1.2.2. Enzimatik Biyosensörler

Enzimatik biyosensörler (enzim sensörleri veya enzim elektrotları olarak da adlandırılır), bir dönüştürücünün yüzey katmanında uygulanan enzimleri kullanır. Bir enzim sensörü, yüksek hassasiyet ve seçiciliğe sahip enzimler aracılığıyla çeşitli kimyasal maddeleri algılamaktadır.

Biyolojik tanıma elemanının seçimi, yeni bir biyosensör tasarımı geliştirirken alınan çok önemli bir karardır. Örneğin, belirli bir biyosensör için uygun bir redoks enzimi için kriterlerin tanımlanması önemlidir. En önemlisi, enzimin ilgili analit ile seçici olarak reaksiyona girmesi gerekir. Enzimin, biyosensörün çalışma ve saklama koşulları altında stabil olması ve uzun vadeli stabilite sağlaması gerekir. Enzimin kimyasal yapısının, redoks medyatörleri ile kimyasal modifikasyon, bağlanma veya immobilizasyon matrisi ile çapraz bağlama için ek işlevselliklerin eklenmesi avantajlıdır. (Hendry vd., 1990).

Biyosensör yapısında enzim kullanmanın avantajlar şu şekilde sıralanabilir:

- Mol bazında yüksek katalitik aktivite sergilerler.
- Enzimler substratlar için yüksek seçiciliğe sahiptir.
- Enzimatik biyokataliz elde etmek için gereken itici güç olan redoks potansiyeli, genellikle enzimin substratı ile çok yakındır. Bu nedenle, biyosensörler orta düzeyde potansiyelerde çalışabilir.
- Birçok durumda enzimler transdüser yüzeylerine immobilize edildiğinde, enzim stabilitesinin iyileştiği tespit edilmiştir (Bowers, 1982).

İmmobilizasyon Teknikleri

İmmobilizasyon, bir biyoalgılama sisteminin hazırlanması sırasında biyoaktivitenin korunması ile biyomoleküllerin fiziksel olarak sabitlenmesidir. Biyolojik bir materyalin

çözelti halinde ömrü kısa olduğundan, biyomoleküller uygun bir matriste sabitlenmelidir. Bu işlem, biyosensörün biyolojik özelliklerini korurken performansını artırmak için önemlidir. Enzim aktivitesini korumak dolayısıyla biyosensörün raf ömrünü artırmak için çeşitli immobilizasyon yöntemleri geliştirilmiştir.

Fiziksel Adsorpsiyon, en basit immobilizasyon yöntemidir. Van der Waals kuvvetleri, iyonik ve hidrojen bağ etkileşimleri gibi kuvvetler elektrostatiktir, ancak hidrofobik bağ diğerlerine kıyasla önemli olabilir. Bu etkileşimler çok zayıftır ancak yeterli immobilizasyonu sağlamaktadır (Strike vd., 1997).

Tutuklama, biyolojik materyallerin elektrot yüzeyindeki üç boyutlu ağa sabitlenmesiyle sağlanan immobilizasyon tekniğidir. Oldukça basit ve kolaydır. Biyomolekül, bazı kimyasalların varlığında bir çözelti içinde çözüldükten sonra, istenen fazın oluşması için bir ağı içine kafeslenir (Zaborsky, 1973).

Kovalent bağlanma, avantajlı olduğu için çok kullanılan bir yöntemdir. Destek matrisi üzerinde NH_2 , COOH gibi aktif fonksiyonel gruplar ile enzim arasında kovalent bağ oluşturulur. Enzim ve destek matrisi arasındaki kovalent bağlanma, enzim bazlı biyosensörlerin uzun ömür ve yüksek operasyonel stabilitesini oluşturmak için tercih edilir (Scouten vd., 1995).

Moleküller arası çapraz bağlanma, biyomoleküller, destek matrisi ile çapraz bağlama yoluyla çapraz bağ veya kovalent bağ oluşturur. Bu yöntemle kompakt protein yapısı elde edilir ve enzimin sızması sınırlandırılır (Âbert Ervin Gyurcsa Ânyi vd., 1999).

1.3. Biyosensör Tasarımında Konjuge Polimerler

Konjuge polimerlerin dinamik kimyasal, elektriksel ve fiziksel özellikleri, kimyasal ve biyolojik sensörlerin performans parametrelerini iyileştirebilir (Balint vd., 2014). Poli (3, 4 etilendioksitiyofen) polistiren sülfonat (PEDOT: PSS), polianilin (PANI) ve polipirol (PPy), içsel iletken özelliklerinden dolayı biyosensörlerin imalatında yaygın olarak kullanılmaktadır. Organik polimerlerde elde edilen yüksek elektriksel iletkenlik, sentetik metallerin sentezine yön vermiştir (Long vd., 2019).

Organik konjuge polimerlerin önemli uygulama alanlarından biri de biyosensörlerdir. Elektrot üzerine konjuge polimerlerin kaplanması, enzimin elektrot yüzeyinde etkin bir şekilde immobilizasyonu için iyi bir alternatiftir. Konjuge polimerler, yüksek konjugasyonları ve güçlü π - π^* etkileşimleri nedeniyle enzimin immobilizasyonuna katkıda bulunur. Aynı zamanda sulu çözeltilerdeki biyolojik moleküllerle uyumlulukları, yüksek elektriksel iletkenlikleri ve yük taşıma yetenekleri ile sinyallerin hızlı iletimini sağlayarak biyosensörlerin performansını artırırlar. Elektrot yüzeyi üzerine konjuge polimer kaplandıktan sonra, güçlü konjugasyon ve hidrofobik etkileşimler yoluyla bir çapraz bağlayıcı varlığında, glikoz tayini için yüksek hassasiyet ve seçiciliğe sahip bir biyosensör elde edilebilir (Tan ve Baycan, 2022).

1980'den beri politiyofen, kimyasal ve optik sensörler, ışık yayan diyotlar ve ekranlar, fotovoltaj cihazlar, moleküler cihazlar, DNA tespiti, polimer elektronik ara bağlantılar, güneş pilleri ve transistörler gibi çevresel ve termal olarak kararlı konjuge polimer malzemeler arasında yaygın olarak kullanılmaktadır (Liu ve Liu, 2009).

Bir politiyofen (PT) türevidir olan poli(3,4-etilendioksitiyofen) (PEDOT), diğer iletken polimerlere kıyasla küçük bant aralığı, iyi optik özellikleri ve yüksek elektrik iletkenliği nedeniyle pratik uygulamalar için olağanüstü bir iletken polimerdir. PEDOT, fosfat tamponlarında mükemmel elektroaktivite sergiler, bu da onu biyosensör uygulamaları için,

özellikle immobilizasyon prosesleri için enzim matrislerinde ideal hale getirir (Park vd., 2008; S. Lee ve Gleason, 2015).

1.4. Biyosensör Tasarımında Nanoyapılar

Nanoteknoloji bilim üzerinde muazzam bir etkiye sahip olmuştur ve olmaya da devam etmektedir. Nanoteknolojinin sunduğu avantajlar ve yeni olanaklar çok çeşitlidir. Nanoteknolojiden bahsederken, tipik olarak yapıların en az bir boyutun 100 nm altı aralığında olduğu varsayılmaktadır. Malzemeler, yığın malzemedan nanometrik boyutlara küçültüldüklerinde yeni özellikler sergilerler. Bu özellikler hassas bir şekilde ayarlanabilir, böylece belirli bir amaç için optimize edilmiş tanımlanmış yapıların ve malzemelerin üretilmesine izin verilir. Bu sebeple, nanomalzemeler ve kavramlar biyosensör geliştirmede çokça kullanılmıştır (Pumera vd., 2007).

Nanoteknolojiyi biyosensörlere uygulamanın görünüşte en zorlu görevi, nanomalzemeleri biyosensör mimarisine değer katmadan kullanmak değil, gerçekten “nano özelliklerden” yararlanmaktır. Biyosensör araştırmaları alanında, saf malzeme özelliklerine ek olarak nanoyapıların bazı özellikleri de önem kazanmaktadır. Örneğin nanometrik yapılarda difüzyon uzunlukları çok kısalmakta ve dolayısıyla kütle taşınımı oldukça verimli olmaktadır. Birçok biyosensör tasarımında kütle aktarımı çok önemli olduğundan, nanometrik yapıların kullanılmasından sensör performansında bir artış veya en azından bir değişiklik beklenebilir. Altın nanoparçacıklar (Tan ve Baycan, 2022), karbon nanotüpler (CNT'ler) (Wu vd., 2013), manyetik nanoparçacıklar (Liang vd., 2017) ve kuantum noktaları (Weiß vd., 2015) gibi çeşitli nanomalzemeler, benzersiz fiziksel, kimyasal, mekanik, manyetik ve optik özellikleri ile biyosensörlerin algılama hassasiyetini ve özgüllüğünü önemli ölçüde artırmaktadır (Zhang vd., 2009).

Farklı nanomalzeme türleri arasında, metal nanopartiküller içinden özellikle AuNP'ler, yüksek X-ışını absorpsiyon katsayısı, sentetik kullanım kolaylığı, partikülün fizikokimyasal özellikleri üzerinde hassas kontrol sağlanması, tiyollere, disülfidlere ve

aminlere güçlü bağlanma afinitesi, benzersiz ayarlanabilir optik ve farklı elektronik özellikleri ve çevresel kararlılıkları sebebiyle farklı bilim alanlarından büyük ilgi görmüştür (Elahi vd., 2018; Pandey vd., 2008).

1.5. Biyosensörlerin Performans Kriterleri

Etkili bir biyosensör, yüksek hassasiyet, iyi seçicilik, hızlı yanıt/kurtarma süresi, döngü kararlılığı ve düşük sıcaklıklarda çalışma yeteneği gibi birkaç önemli özellik sergiler (Sun vd., 2016). Performansı yüksek bir biyosensör elde etmek için, optimize edilmesi gereken birçok faktör vardır. Hazırlanan biyosensörün ekonomik olması, seçici olması, geniş ölçüm aralığına sahip olması, tayin sınırının düşük olması, kararlı olması ve kullanım ömrünün uzun olması, performans açısından önemlidir.

Seçicilik en önemli parametrelerden biridir ve hazırlanan biyosensör, sadece istenilen maddeye karşı seçici olmalıdır. Bu kriteri sağlamak için uygulama aşamasında girişim çalışmaları gerçekleştirilir. Hedef analitin farklı konsantrasyonlarında elde edilen akımderişim eğrilerinden elde edilen doğrusal aralık, biyosensörün çalışma aralığıdır. İdeal bir biyosensörün geniş bir ölçüm aralığında olması hedeflenir. Kararlılık hazırlanan biyosensörün kullanım ömrünü belirtmektedir. Biyosensörün kararlılığı, ısı, nem, enzim aktivitesi, destek matrisinin özellikleri, pH gibi fiziksel ve kimyasal parametrelerden etkilenmektedir. İdeal biyosensörün kararlı olması istenir. Validasyon (geçerlilik) parametreleri arasında, biyosensörler için teşhis sınırı ve tayin alt sınırının belirlenmesi önemlidir.

Teşhis Sınırı (TS, Limit of Detection-LOD), analizi yapılan örneğin teşhis edildiği fakat kantitatif sınırlar içinde girmeyen en düşük derişimidir.

$$LOD = 3.SD/m \quad (1.4)$$

Denklem (1.4)'e göre, “SD”, düşük derişimdeki analit çöztisinin akım değerlerinin standart sapmasını “m” ise, kalibrasyon eşitliğinin eğim değerini ifade etmektedir.

Tayin Alt Sınırı (TAS, Limit of Quantification-LOQ), analizi yapılan örneğin kabul edilebilir düzeyde kesin ve doğru olarak miktarının tayin edilebileceği doğrusallık sınırları içine girmeyen veya doğrusallığın en alt derişimini oluşturan düzeyidir.

$$LOQ = 10.SD/m \quad (1.5)$$

Denklem (1.5)'e göre, “SD”, düşük derişimdeki analit çöztisinin akım değerlerinin standart sapmasını “m” ise, kalibrasyon eşitliğinin eğim değerini ifade etmektedir.

1.6. Glikoz Biyosensörleri

Şeker hastalığı (diyabet), dünyada çok sayıda insan ölümüne ve sakatlığa neden olan kronik hastalıklardan biridir. Dünya Sağlık Örgütü (WHO) verilerine göre günümüzde yaklaşık 422 milyon diyabet hastası bulunmakta ve bu sayıya her gün yeni vakalar eklenmektedir. 2045 yılında ise, hasta sayısının 700 milyona ulaşacağı tahmin edilmektedir. Diyabet vakalarının yaygınlaşması nedeniyle insan kanı, gıda, ilaç gibi farklı numunelerde glikoz tespiti ve takibine olan talep artmıştır (N. H. Cho vd., 2018; Xun, 2021).

Glikoz sensörleri, biyosensör araştırması ve uygulaması açısından bir başarı öyküsüdür. Glikoz biyosensörlerinin kullanımı düşük maliyetli, güvenilir ve duyarlıdır. Bu özelliklerinden dolayı glikoz sensörleri üzerine yapılan araştırmalar oldukça popülerdir. Bu nedenle glikoz biyosensörleri biyosensör endüstrisinde yaklaşık %85'lik bir paya sahiptir (J. Wang, 2008).

İlk glikoz sensörü, glikozun kendiliğinden glukonik aside hidrolize edilen glukonolaktone biyokatalitik yükseltgenmesine dayanıyordu. Bu reaksiyonu hızlandıran

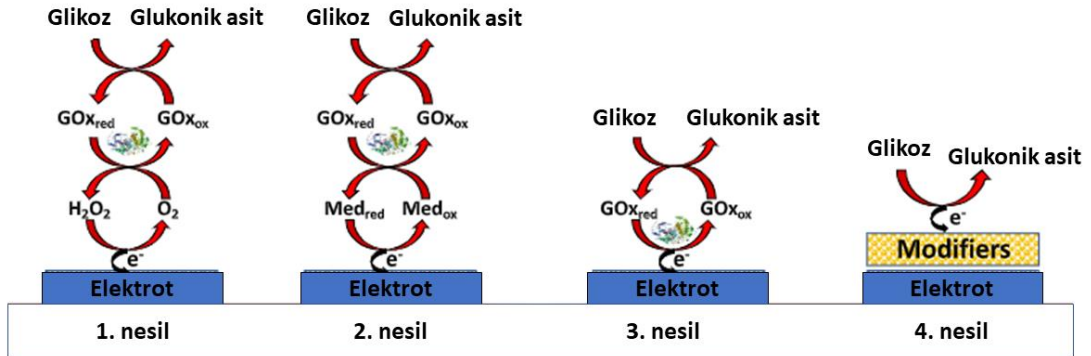
glikoz oksidaz, diğerkarbonhidratların varlığında glikozun ölçülmesine izin veren yüksek bir substrat spesifikliğı uygular.

Birinci nesil enzim bazlı amperometrik glikoz biyosensörlerinde, GOx enzimi ve FAD rejenerasyonu için Medox (fizyolojik elektron alıcısı) olarak O₂ kullanılmaktadır. Bu nesil biyosensörler, O₂ tüketimini veya H₂O₂ oluşumunu ölçmektedir. Biyosensör yanıtı, reaksiyon ortamındaki O₂ konsantrasyonu ile doğrudan ilişkilidir. Dolayısıyla biyosensörlerin glikoz duyarlılığı ortamdaki O₂ konsantrasyonu ile sınırlı kalmaktadır. Bu dezavantajın üstesinden gelmek için, birinci nesil biyosensörlerde yapay elektron alıcıları kullanılarak ikinci nesil glikoz biyosensörleri ortaya çıkmıştır.

İkinci nesil enzim bazlı amperometrik glikoz biyosensörlerinde, düşük yükseltgenme potansiyeline sahip yapay elektron alıcılarını kullanılmaktadır. Bu algılama sistemi, elektronların substrattan FADH₂'ye aktarılması, ardından FADH₂'den elektronların aktarılmasıyla Med_{ox}'un Med_{red}'e dönüştürülmesi ve elektronların yapay araçlardan elektrota taşınması basamaklarını içerir.

Üçüncü nesil enzim bazlı amperometrik glikoz biyosensörleri, araçların yokluğunda enzimin elektrota doğrudan bağlanması ilkesine dayanır. Bu sistem, redoks enzimleri ile elektriksel olarak bağlanan elektrotlarda etkilidir (Chen vd., 2013).

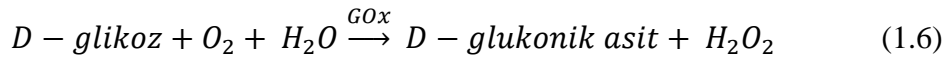
1., 2. ve 3. nesil glikoz glikozun tespiti için büyük ilgi görmüştür. Yeni teknolojiler, enzimsiz veya 4. nesil glikoz sensörleri olarak adlandırılan yeni bir glikoz sensörleri sınıfına yol açmıştır. Bugüne kadar, nanoyapılı metaller, alaşımlar, metal oksitler, metal sülfürler, MOF (metal organik çerçeve)'lar ve MAF (metal azolat çerçeve)'lar ile modifiye edilmiş elektrotlara dayalı glikozun enzimatik olmayan tespiti hakkında çok sayıda çalışma mevcuttur. Daha çok alkali ortamda verimli çalışan bu biyosensörlerle birlikte, Pt, Au ve bunların kompozitlerine dayalı nanoyapılar da, nötr pH'ta glikozun oksidasyonu için yüksek katalitik aktivite göstermektedir (Adeel vd., 2020). Farklı nesil elektrokimyasal glikoz biyosensörlerinin çalışma prensibi Şekil 7'de verilmiştir.



Şekil 7. Farklı nesil elektrokimyasal glikoz biyosensörlerinin çalışma prensibi

1.6.1. Enzimatik Glikoz Biyosensörleri

Enzim elektrotlarının kullanımı ilk kez 1962 yılında rapor edilmiştir. (Clark ve Lyons, 1962). O tarihten bu yana, Denklem (1.6) gösterildiği gibi glukonik asit üretmek için glikozun yükseltgenmesini kataliz eden GOx'a dayalı amperometrik, potansiyometrik ve impedimetrik veya kondüktometrik glikoz biyosensörleri üzerinde kapsamlı bir araştırma yapılmıştır (Rahman vd., 2010).

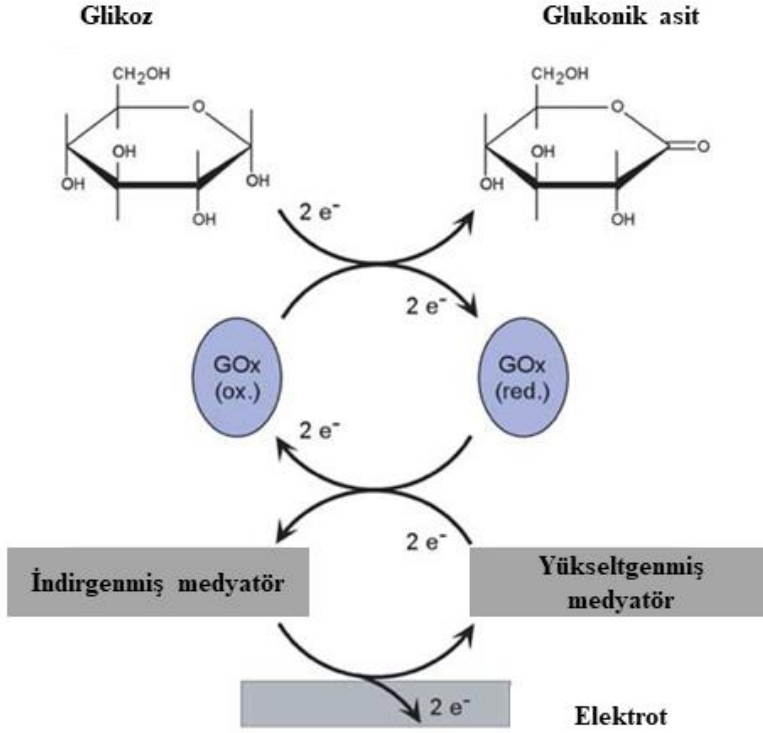


Şekil 8. Glikoz oksidazın reaksiyon mekanizması

İdeal bir glikoz sensörünün geliştirilmesi biyosensör endüstrisi için önemli bir konudur. Elektrokimyasal yöntemler (Quintero-Jaime vd., 2021), kolorimetri (Tran vd.,

2020), kondüktometri (Dzyadevich vd., 1998), optik yöntemler (Corres vd., 2008) ve floresan spektroskopisi (del Barrio vd., 2016) gibi yeni glikoz biyosensörleri oluşturmak için çok sayıda süreç ve metodoloji geliştirilmiştir. Bunlar arasında, elektrokimyasal glikoz sensörleri, yenilmez hassasiyetleri ve seçicilikleri nedeniyle son 40 yılda en çok ilgiyi çekmiştir. Ek olarak, elektrokimyasal teknikler daha düşük tespit limiti, daha hızlı tepki süresi, daha iyi uzun vadeli kararlılık ve ucuzluk gösterir.

Enzimatik glikoz biyosensörleri genellikle iki oksidoredüktaza dayanır: Glikoz oksidaz (GOx) ve Glikoz dehidrojenaz (GDH). Bu iki enzim alt sınıfına dayalı elektrokimyasal glikoz biyosensörleri kapsamlı bir şekilde çalışılmıştır. Enzimin elektrot yüzeyinde en verimli şekilde immobilizasyonu, biyosensörün algılama performansını iyileştirir (J. Wang, 2008). Bu nedenle elektrot yüzeyinde enzimin etkin immobilizasyonu çok önemli bir adımdır. İmmobilizasyon işlemi kovalent bağlama, fiziksel adsorpsiyon veya farklı substrat malzemeleri kullanılarak gerçekleştirilir (Buber vd., 2017). GOx'un biyosensörler için biyolojik tanıma elemanı olarak başarısı, yalnızca substrat glikozunun ve enzim performansının öneminden değil, aynı zamanda olağanüstü yüksek stabilitesinden ve nispeten düşük fiyatından kaynaklanmaktadır (Hendry vd., 1990).



Şekil 9. Enzimatik glikoz biosensörünün çalışma prensibi

1.6.2. Enzimatik Olmayan (Non-enzimatik) Glikoz Biosensörleri

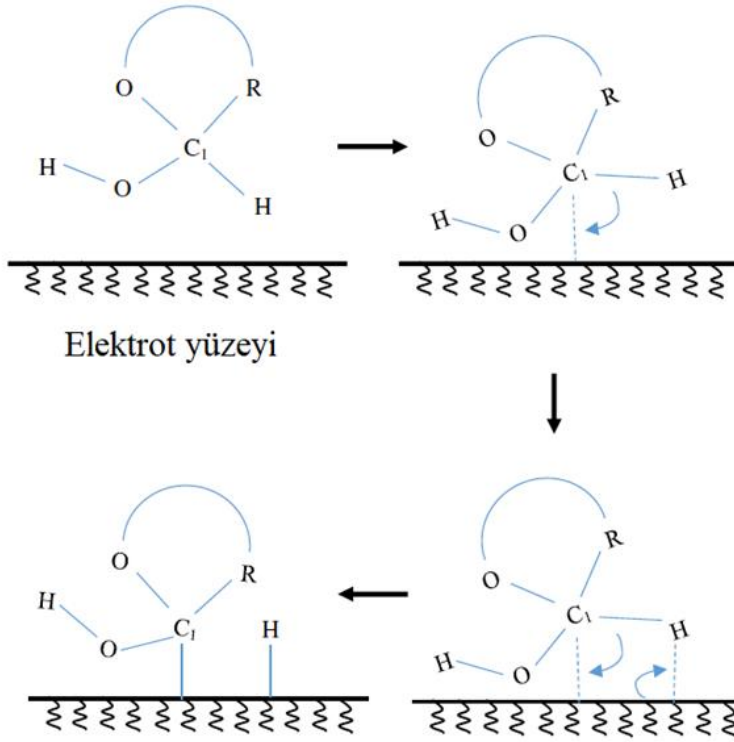
Üçüncü nesil sensörleri gelişme göstermesine rağmen, sıcaklık, nem, girişim gibi etkilerden dolayı enzim aktivitesinin sınırlanmasından muzdariptir. Ayrıca, kalın enzim tabakasından dolayı elektron transferinin engellendiği durumlar da meydana gelmiştir. Üçüncü nesil, enzim bazlı glikoz sensörleriyle ilgili problemler, araştırmacıları enzimsiz algılamayı keşfetmeye yönlendirdi. Bu, glikozun doğrudan elektrot yüzeyinde oksitlenmesine izin veren enzimatik olmayan glikoz (NEG) sensörlerinin geliştirilmesine yol açmıştır. NEG sensörleri, dördüncü nesil glikoz sensörü teknolojisini oluşturur (Toghil ve Compton, 2010).

Biyosensör yapısında enzim kullanmanın dezavantajları şu şekilde sıralanabilir:

- Enzimler oldukça büyük moleküllerdir. Bu nedenle, enzimin aktif alanındaki toplam katalitik (hacim) yoğunluğu düşüktür (Calabrese Barton vd., 2004).
- Genellikle enzimin aktif bölgesi, çevreleyen protein kabuğunun içine gömülür. Bu nedenle, doğrudan elektron transferi genellikle mümkün değildir ve yapay redoks araçları gereklidir.
- Enzimlerin sınırlı bir ömrü vardır ve bu nedenle biyosensörler yalnızca sınırlı bir uzun vadeli kararlılık sergiler.

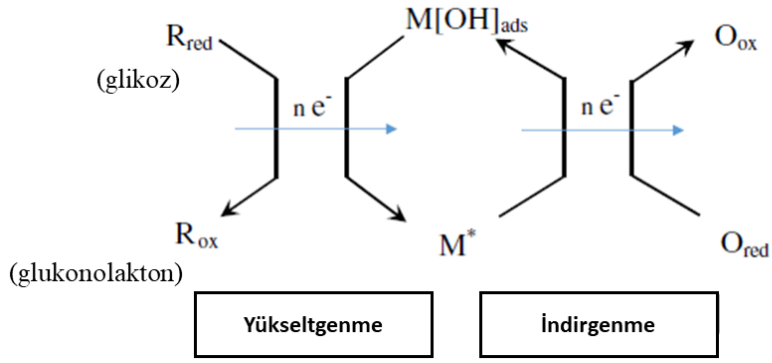
Elektrot yüzeyinde bulunan elektrokatalizörler, glikoz oksidasyon hızını ve dolayısıyla tespitini etkileyen ana faktörlerdir. Geleneksel sensörlerde GOx gibi enzim, katalizör olarak kullanılırken NEG sensörlerinde elektrot yüzeyindeki atomların kendileri elektrokatalizör görevi görmektedir. Mekanizma ile ilgili önerilen iki ana model vardır.

Önerilen ilk model, aktifleştirilmiş kemisorpsiyon modeli olarak bilinir. Yükseltgenme işleminin, glikoz molekülünün elektrot yüzeyinde adsorpsiyonu yoluyla başlatıldığına inanılmaktadır. Bu, glikoz molekülünün, elektrokatalizörlerin yükseltgenmeye yardımcı olduğu elektrot yüzeyi ile bir bağ oluşturmasını sağlar. Aynı zamanda, karbona bağlı olan glikoz molekülündeki hidrojen atomu (Şekil 10) çıkarılmıştır. Çıkarılan bu hidrojen atomu, bağlı glikoza bitişik bir bölgede elektrot yüzeyi ile bağlanır. Metal elektrot üzerindeki glikoz molekülünün yükseltgenme durumundaki bir değişiklik, glikoz-metal etkileşiminde bir değişiklik ile sonuçlanır. Böylece glikoz-metal bağ gücünü düşürür ve bu durum da glikoz molekülünün desorpsiyonu ile sonuçlanır. Elektrot yüzeyi ve glikoz molekülleri, elektrokatalitik işlemde bağlarını oluşturup kopardıkları için, hem adsorpsiyon (bağ oluşturma) hem de desorpsiyon (bağ kırma) işlemleri için elverişli olduğundan, orta kuvvette bir bağ olması istenir (Pletcher, 1984).



Şekil 10. Pletcher tarafından önerilen bitişik adsorpsiyon bölgeleri ile eşmerkezli adsorpsiyon teorisinin bir örneği. C₁: hemiasetalik karbon atomu. R: glikoz molekülünün diğer kısımları

IHOAM (Sulu Oksit Adatom Aracısı) modeli olarak bilinen ikinci model, Burke tarafından önerilmiştir. Burke orijinal olarak bu modeli elektrot yüzeyinde düşük kafes stabilizasyonu ve artırılmış reaktiviteye sahip aktif metal atomları olduğu gözlemine dayanarak formüle etmiştir. Bu atomlar, elektrot yüzeyinde glikozun yükseltgenmesine aracılık ettiğine inanılan, bir sulu oksit olan OH_{ads} tabakasının oluştuğu bir ön-katmanlı oksidasyon aşamasına tabi tutulur (Burke, 1994). Şekil 11 IHOAM modelinin şematik bir gösterimini göstermektedir. Bu modellerin her ikisi de inceleme altında olmasına rağmen, farklı elektrot malzemeleri için glikozun oksidasyonunu açıklamak için hala kullanılmaktadır (Tian vd., 2014).



Şekil 11. M^* indirgeyici metal adsorpsiyon bölgesidir ve $M[OH]_{ads}$ yükseltgeyici olarak absorbe edilen hidroksit radikalidir. Bu şekil, metal elektrot yüzeyinde hem yükseltgenme hem de indirgenme süreçlerin nasıl katalize edildiğini göstermektedir.

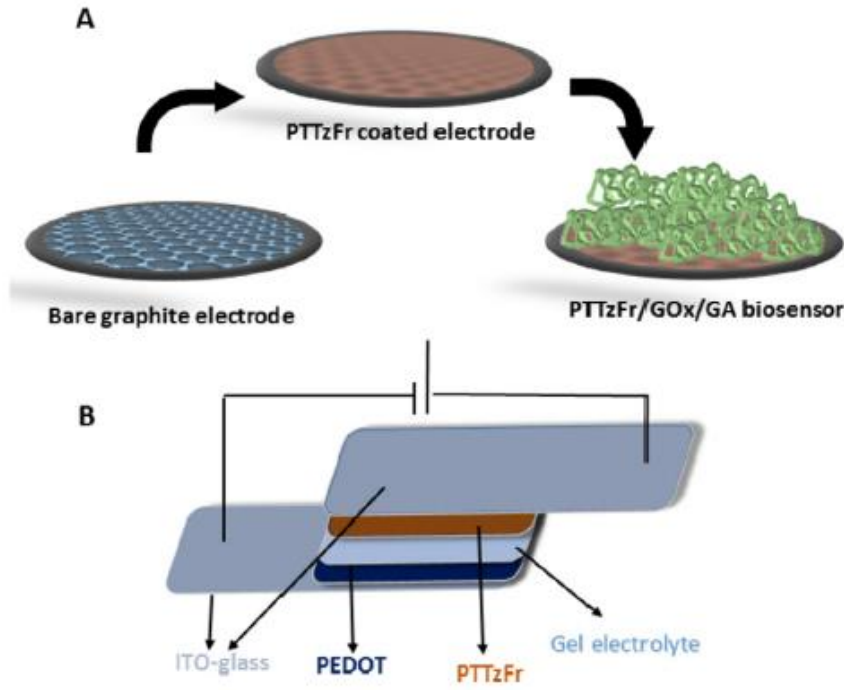
İKİNCİ BÖLÜM

KURAMSAL ÇERÇEVE/ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

2.1. Enzimatik ve Enzimatik Olmayan (Non-enzimatik) Glikoz Biyosensörü Çalışmalarının Literatür Özeti

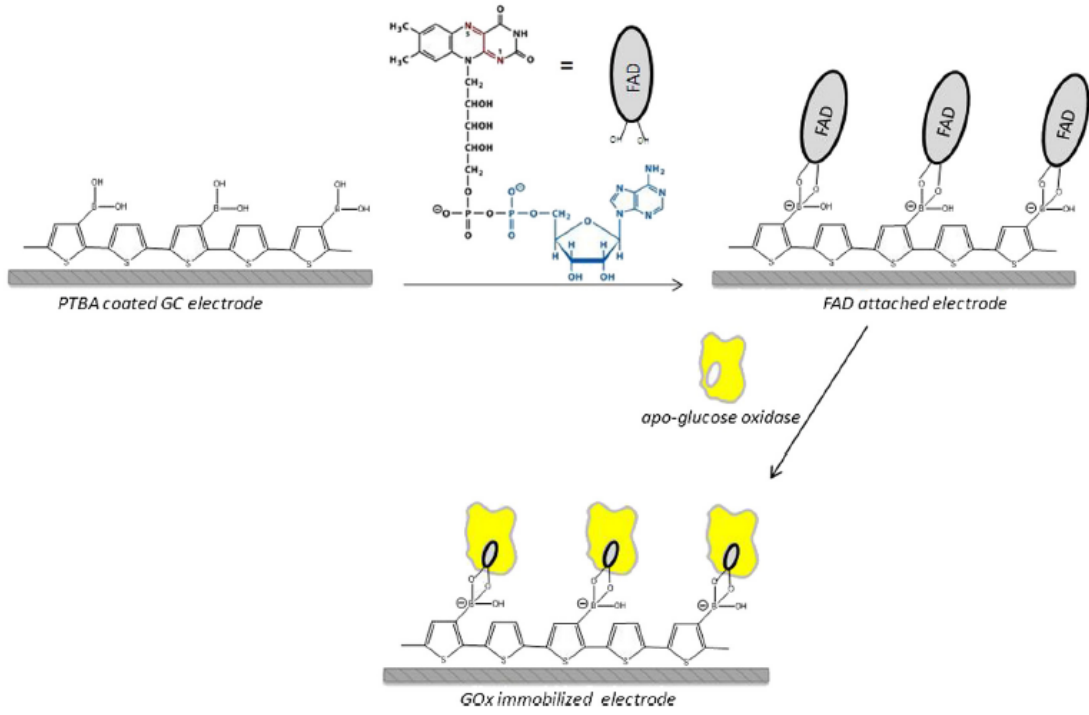
Literatürde, konjuge polimer tabanlı biyosensörler üzerine çalışmalar mevcuttur. Bu biyosensör çalışmaları, enzimatik veya enzimatik olmayan şekilde, farklı çalışma metotları kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

Soylemez vd., (2019) çalışmalarında, Poli(2,5-di(furan-2 yl)thiazolo[5,4-d]thiazole) (PTTzFr) polimerini döngüsel voltametri ile elde etmişlerdir. Polimer yapı, donör olarak furan birimini ve akseptör olarak tiazolotiyazol birimini taşımaktadır. PTTzFr filmi, bir ITO kaplı cam üzerinde elde edilmiş ve elektrokimyasal ve optoelektronik özellikleri araştırılmış ve glikoz analizi amacıyla glikoz biyosensöründe kullanılmıştır. Optoelektronik cihaz uygulaması, poli(3,4-etilendioksitiyofen) (PEDOT) ile ikili tip elektrokromik cihaz (ECD) oluşturularak gerçekleştirilmiştir. Biyosensör uygulaması, polimer film grafit elektrot yüzeyi üzerine kaplanmış ve glikoz oksidaz enziminin immobilizasyonu ile gerçekleştirilmiştir. Elde edilen biyosensör, içerde glikoz tayini için uygulanmış ve optimize edilmiş koşullar altında, algılama sınırı $12,8 \times 10^{-3}$ mM ve hassasiyet değeri $65,44 \mu\text{AmM}^{-1}\text{cm}^{-2}$ olarak belirlenmiştir.



Şekil 12. Glikoz biyosensörü (A) ve PTTzFr/PEDOT elektrokromik cihazın şematik gösterimi

Şenel vd., (2013) biyosensör çalışmalarını, poli(tiyofen-3-boronik asit) (PTBA) polimeri üzerine glikoz oksidaz enzimi immobilizasyonu yaparak gerçekleştirmişlerdir. Tiyofen (Th) ve tiyofen-3-boronik asitin (TBA) farklı monomer oranları ile elektrokimyasal polimerizasyonu ile boronik asit ile fonksiyonlandırılmış politiyofen tabakası elde edilmiştir. GOx ile oluşturulmuş çalışma elektrotu, hidrojen peroksitin indirgenmesi ve oksidasyonuna yönelik olarak da elektrokatalitik aktiviteler sergilemiştir. PTBA/FAD/GOx biyosensörü, 0,5- 18 mM'lik geniş bir konsantrasyon aralığında (0,9952 korelasyon katsayısı) yüksek hassasiyet (2,14 mA/mM) ve daha düşük tepki süresi (~5 s) ile +0,4 V'ta glikoz için iyi performans göstermiştir. Ayrıca biyosensörlerin uygulanan potansiyel, pH, sıcaklık, elektroaktif girişim, stabilite ve tekrar kullanılabilirlik etkileri tartışılmıştır.

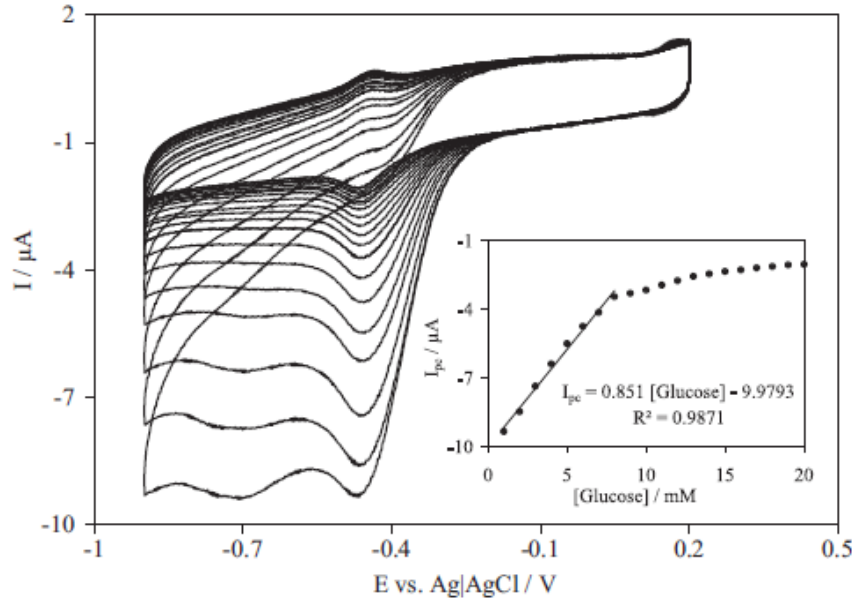


Şekil 13. Glikoz biyosensörünün hazırlanma aşamaları

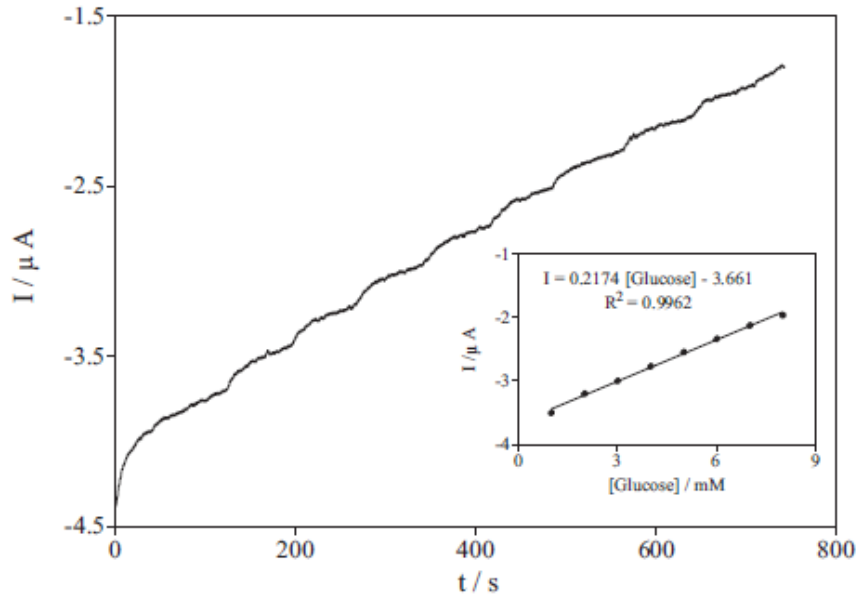
Miao vd., (2015) çalışmalarında, elektrokimyasal biriktirilmiş altın nanoparçacık-polivinilpirolidon-polianilin (AuNP PVP-PANI) nanokompozitlerine dayalı bir glikoz biyosensörü tasarlayıp, biyosensörün performansı üzerine çalışmışlardır. Nanokompozitler, anilin, PVP ve AuNP'lerden oluşan homojen üç bileşenli bir çözelti içinde bir camı karbon elektrot (GCE) üzerinde elektrokimyasal olarak biriktirilmiştir. Daha sonra glikoz oksidaz (GOx), nafyon kullanılarak, hazırlanan AuNP-PVP-PANI nanokompozitleri üzerine immobilize edilmiştir. Nafyon/GOx/AuNP-PVP-PANI ile modifiye edilmiş GCE'nin elektrokimyasal ve elektrokatalitik özellikleri araştırılmıştır. 0,05 mM ile 2,25 mM arasında geniş bir lineer aralık, $1,0 \times 10^{-5}$ M (S/N = 3) düşük algılama sınırı ve $9,62 \mu\text{A mM}^{-1} \text{cm}^{-2}$ yüksek hassasiyet ile iyi elektrokatalitik performanslar sergilediği görülmüş ve iyi bir stabilite ve tekrarlanabilirliğe sahip bu sensör, insan serum örneklerinde glikoz tespiti için test edilmiştir.

Haghighi ve Tabrizi, (2013) çalışmalarında, aşırı oksitlenmiş bir polipirol (OOPPy) filmi, camı bir karbon elektrot (GCE) üzerine elektrokimyasal olarak biriktirilmiştir. Daha

sonra bu elektrot (GCE/OOPy) Au nanoparçacıklar ile modifiye edilmiş ve üzerine GOx enziminin immobilizasyonu sağlanmıştır. Modifiye elektrotları karakterize etmek için döngüsel voltammetri, elektrokimyasal empedans spektroskopisi (EIS) ve taramalı elektron mikroskobu (SEM) kullanılmıştır. Tasarlanan bu glikoz biyosensörü, döngüsel voltammetri ve amperometri yöntemleri kullanılarak 1- 8 mM arasındaki konsantrasyon değerlerinde glikozu tespit edebildiği belirtilmiştir.

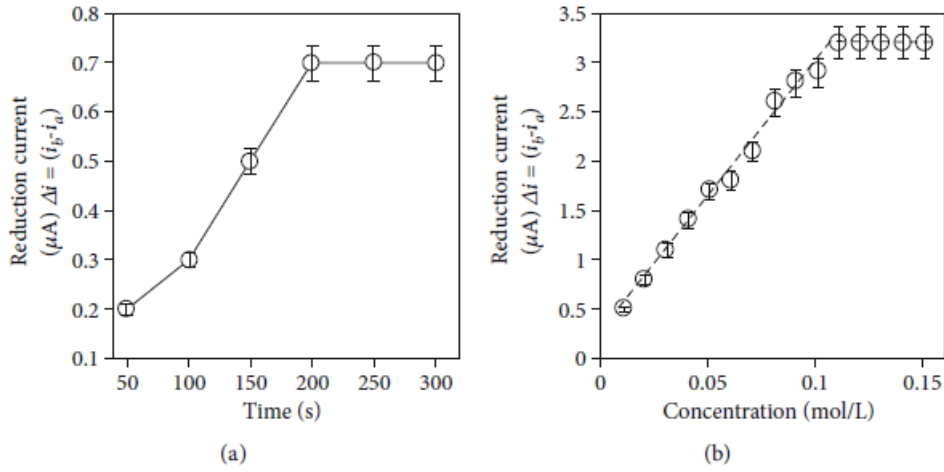


Şekil 14. GCE/OOPy-nanoAu/GOx modifiye elektrotunun 1-20 mM arasında değişen glikoz konsantrasyonlarında döngüsel voltammogramı ve glikoz konsantrasyonuna karşı oksijenin indirgenme pik akım değerleri grafiği



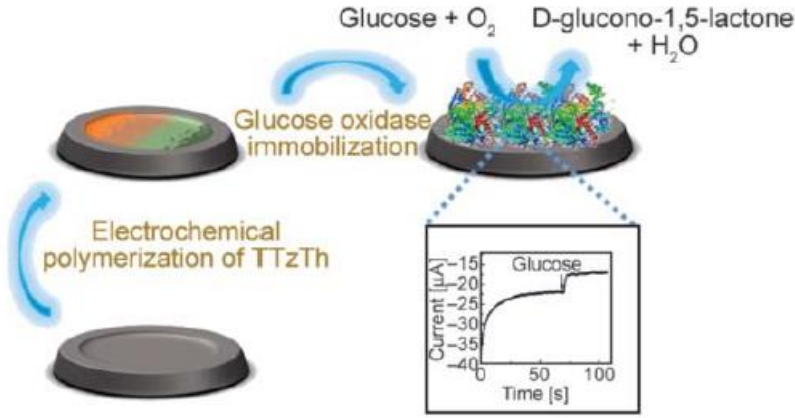
Şekil 15. GCE/OOPy-nanoAu/GOx modifiye elektrotun artarda 1 mM glikoz ilave edildiğinde hidrodinamik amperometrik yanıtları grafiği

Neupane vd., (2021) çalışmalarında, grafit elektrot üzerinde elektrokimyasal olarak biriktirilmiş polianilin (PANI) filmi kullanılarak kolay, düşük maliyetli ve hassas enzim bazlı bir amperometrik sensör tasarlamışlardır. PANI, döngüsel voltammetri (CV) ile 1,0 M hidroklorik asit (HCl) içinde 0,2 M anilin sulu bir çözeltisinde biriktirilmiş ve PANI filminin yüzey morfolojisi ve kompozisyon karakterizasyonu, taramalı elektron mikroskobu (SEM), X-ışını fotoelektron spektroskopisi (XPS) ve Fourier-dönüştürülmüş kızılötesi (FTIR) spektroskopisi ile gerçekleştirilmiştir. PANI filminde glikoz oksidaz (GOX) enziminin potansiyostatik immobilizasyonu, 0,75V'de gerçekleştirilmiştir. Hazırlanan sensörün glikoz konsantrasyonu yanıtı, amperometrik olarak hidrojen peroksit (H_2O_2) tespitine göre incelenmiştir. Doğrusal aralık 0,01- 0,1 M olarak belirlenmiş, yüksek tekrarlanabilirlik ile 4 dakikada stabil bir akım yanıtı elde edilmiştir.



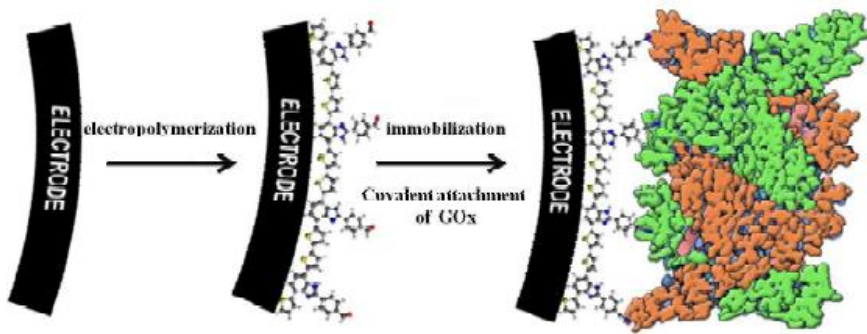
Şekil 16. Biyosensörün cevabı: (a) zamana karşı indirgenme akımı (b) glikoz konsantrasyonuna karşı indirgenme akımı grafiği

Soylemez vd., (2019)'in bir diğer çalışmasında, donör akseptör tipi monomerler 2,5 di(tiofen-2-il)tiyazolo[5,4-d]tiyazol (TTzTh) ve 2,5 bis(3-metiltiofen-2-il)tiyazolo[5, 4-d]tiyazol (TTzMTh) sentezlenmiş ve elektrokimyasal ve optoelektronik özellikleri araştırılmıştır. Glikoz oksidaz (GOx), daha önce konjuge polimerin bir filmi olan PTTzTh ile elektropolimerizasyon yoluyla modifiye edilmiş bir grafit elektrot üzerine sabitlenmiştir. Sensör, optimize edilmiş koşullar altında geniş bir doğrusal aralık (0,05– 2,0 mM), iyi hassasiyet (36,32 μA/(mM·cm²) ve düşük algılama limiti (LOD) (0,075 mM) göstermiş ve biyosensörün doğruluğu glikoz tespiti için iki farklı içecek kullanılarak başarıyla test edilmiştir.



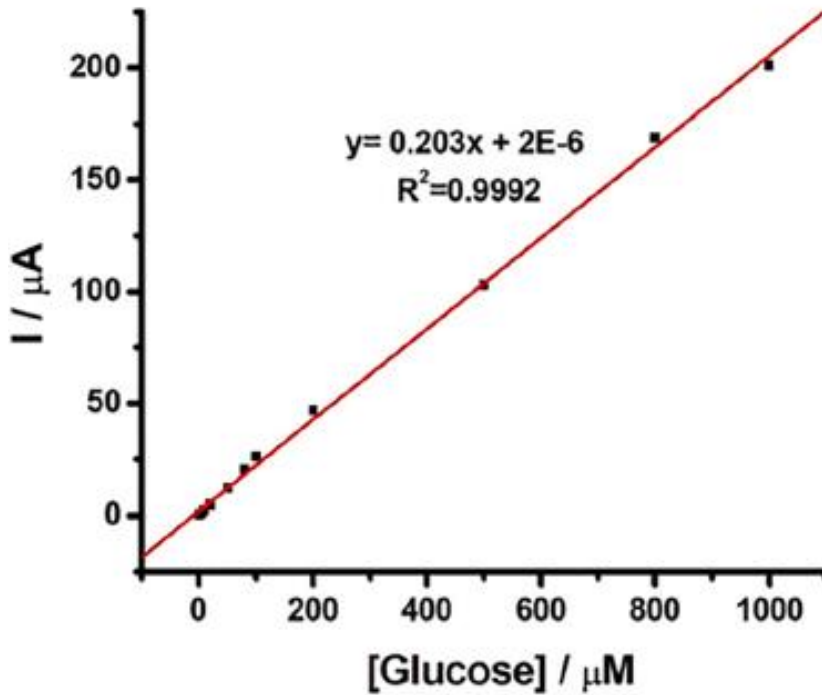
Şekil 17. Glikoz biosensörünün şematik gösterimi

Uzun vd., (2013) çalışmalarında, 4-(4,7 di(thiophen-2-yl)-1Hbenzo[d]imidazol-2-yl)benzaldehyde (BIBA) monomerini tasarlayarak sentezlemişlerdir. Bu monomerin elektropolimerizasyonundan sonra elektrokimyasal ve spektroeletrokimyasal özellikleri detaylı olarak incelenmiştir. Biosensörü çalışmaları için glikoz oksidaz (GOx) enzimi, polimer kaplı grafit elektrot üzerinde glutaraldehit (GA) yardımıyla enzim olarak immobilize edilmiş ve immobilizasyon aşamasında, enzimin serbest amino grupları ile polimerin aldehit grubu arasında bir imin bağı oluşmuştur. Optimize edilmiş biosensör, 0,02 mM ile 1,20 mM arasında iyi bir doğrusallık ve 2,29 μ M'lik bir alt algılama sınırı (LOD) gösterir. K_m^{app} ve I_{max} kinetik parametreleri sırasıyla 0,94 mM ve 10,91 μ olarak belirlenmiştir. Elde edilen bu biosensör, insan kan serumu örnekleri için test edilmiştir.



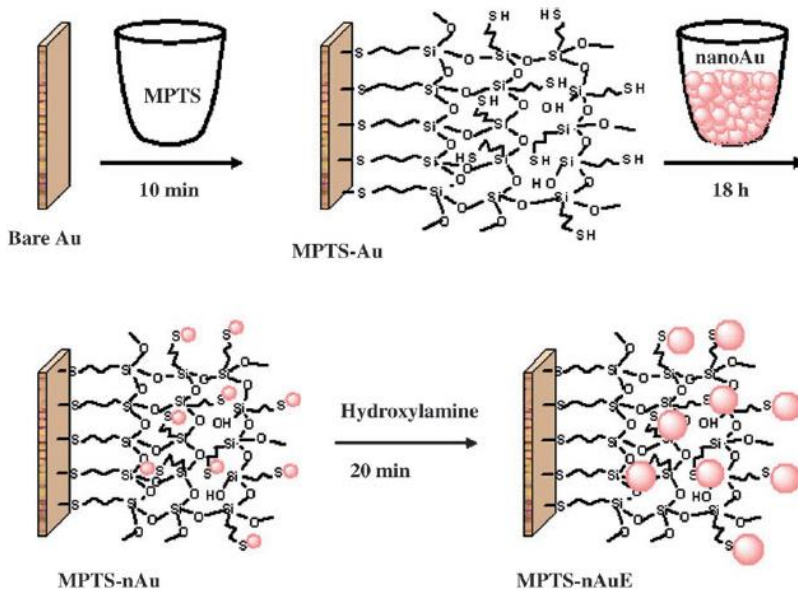
Şekil 18. Tasarlanan glikoz biosensörünün şematik gösterimi

Emir vd., (2021) çalışmalarında, nikel nanopartikülleri (Ni-NPler) ve pirol monomerinin (Ppy) 1 döngü elektropolimerizasyonu ile hazırlanan biyomimetik-kompozit ile modifiye edilmiş bir grafit çubuk elektrota (GRE) dayalı enzimatik olmayan elektrokatalitik amperometrik glikoz biyosensörünü (Ni-NPs/Ppy₍₁₎/GRE) rapor etmişlerdir. GRE'nin modifikasyonu sırasında, pirolün elektropolimerizasyonu ve Ni-NP'lerin GRE yüzeyine elektrokimyasal biriktirilmesi potansiyel döngü ile gerçekleştirilmiştir. Ni-NPs/Ppy₍₁₎/GRE elektrotunun yüzey morfolojisi, atomik kuvvet mikroskobu ve taramalı elektron mikroskobu tabanlı görüntüleme ile değerlendirilmiş ve elektrotların elektrokimyasal karakterizasyonu, elektrokimyasal empedans spektroskopisi ve döngüsel voltametri ile yapılmıştır. Amperometrik glikoz algılaması, sabit +450 mV'de Ni-NPs/Ppy₍₁₎/GRE ile 0,10 mol L⁻¹ NaOH'de Ag/AgCl elektrot potansiyeli ile gerçekleştirilmiştir. Teşhis sınırı 0,4 µmol L⁻¹, hassasiyet, 2873 µA mmol⁻¹ L cm⁻² olarak bulunmuştur. Doğrusal çalışma aralığı 1,0 ve 1000 µmol L⁻¹ olarak belirlenmiştir. Ni-NPs/Ppy₍₁₎/GRE tabanlı sensörün uygulanabilirliği, gerçek numunelerdeki glikoz konsantrasyonlarının belirlenmesiyle kanıtlanmıştır.



Şekil 19. Ni-NPs/Ppy₍₁₎/GRE biyosensörünün kalibrasyon eğrisi

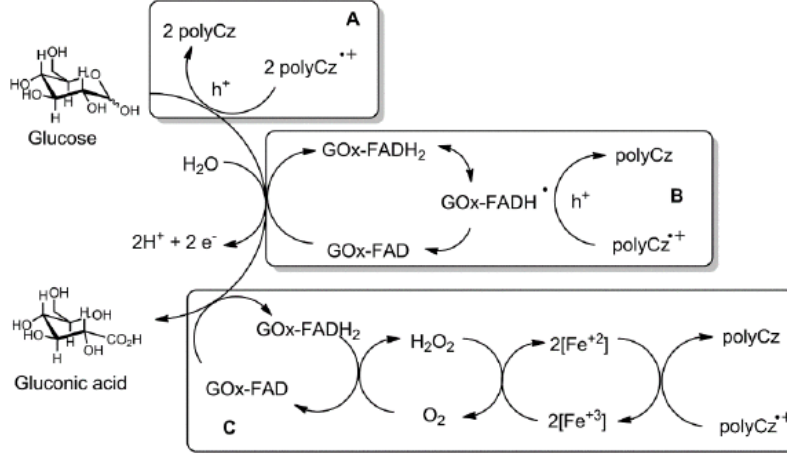
Kumar Jena ve Retna Raj, (2006) çalışmalarında, sol-jel süreçleri kullanılarak elde edilen üç boyutlu (3B) bir silikat ağı üzerinde kendi kendine birleştirilen altın (Au) nanoparçacıkları kullanarak glikozun saptanması için enzimatik olmayan bir elektrokimyasal yöntem raporlamışlardır. Au nanopartiküller, herhangi bir enzim veya redoks aracısının yokluğunda fosfat tampon çözeltisinde (pH 9,2) daha düşük pozitif potansiyelde (0,16 V) glikoz oksidasyonunu verimli bir şekilde kataliz etmiştir. Au nanoparçacıkla modifiye edilmiş transdüser (MPTS-nAuE), glikozun amperometrik algılanması için başarıyla kullanılmış ve 50 nm'lik bir teşhis sınırı ile iyi bir hassasiyet göstermiştir. Bu dönüştürücü 0-8 mm aralığında glikoza doğrusal olarak yanıt verdi ve transdüserin duyarlılığının $0,179 \text{ nAcm}^{-2}\text{nm}^{-1}$ olduğu bulunmuştur. Bu dönüştürücü için iyi bir tekrarlanabilirlik ve uzun süreli depolama ve çalışma kararlılığı gözlemlenmiştir.



Şekil 20. Altın nanopartikül modifiye edilmiş transdüser tasarımının şematik gösterimi

Bagdžiūnas ve Palinauskas (2020), çalışmalarında, organik yarı iletken polimer olarak polikarbazölü elektrokimyasal olarak sentezlemiş ve çalışma elektrotunda biriktirmişlerdir. Polikarbazölün yapı ve yarı iletken özellikleri teorik ve deneysel olarak analiz edilerek kanıtlanmıştır. Bu elektrokimyasal sistemler için, $14 \mu\text{A cm}^{-2} \text{mM}^{-1}$

maksimum hassasiyet, 5 mM'ye kadar geniş bir doğrusal tespit aralığı ve yaklaşık 0,2 mM minimum algılama sınırı elde edilmiştir. Bu çalışmada, glikozun enzimatik olmayan yükseltgenmesi ve indirgenmesi ile ilgili elektrokimyasal mekanizmaya odaklanılmıştır.



Şekil 21. Glikoz algılama mekanizması A- elektrot üzerinde doğrudan glikoz yükseltgenmesi, B- GOx-FAD ve polyCz arasında doğrudan boşluk aktarımı, C- poly-Fe/GOx elektrotu üzerinde H₂O₂ tabanlı mekanizma

ÜÇÜNCÜ BÖLÜM

ARAŞTIRMA YÖNTEMİ/MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler

Monomer sentez çalışmaları için kullanılan kimyasallar, diklorometan (CH_2Cl_2 , %99,9, 84,93 g/mol, d:1,332 g/ml) VWR Chemicals firmasından, kloroform (CHCl_3 , 119 g/mol, d:1,474 g/ml), asetonitril (CH_3CN , %99,9, 41,05 g/mol, d:0,781 g/ml) ve etanol ($\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$, $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$, 46,07 g/mol, d: 0,789 g/cm³) Carlo Erba firmasının, 4- Bromo-1,8-naftalik anhidrit ($\text{C}_{12}\text{H}_5\text{BrO}_3$, 277,07 g/mol), tetrakis (trifenilfosfin) paladyum(0) ($\text{Pd}(\text{P}(\text{C}_6\text{H}_5)_3)_4$, 1155,56 g/mol), piridin ($\text{C}_5\text{H}_5\text{N}$, %99,9, 79,1 g/mol, d: 0,978 g/cm³), toluen (C_7H_8 , %99,8, 92,4 g/mol, d: 0,865 g/ml) hidroklorik asit (HCl , %37, 36,46 g/mol) hekzan (C_6H_{14} , ≥ 95 , 86,18 g/mol, d:0,66 g/ml), çinko asetat ($\text{ZnC}_4\text{H}_6\text{O}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 219,51 g/mol), tiyofen-2-boronik asit pinacol ester ($\text{C}_{10}\text{H}_{15}\text{BO}_2\text{S}$, 210,1 g/mol) ve potasyum karbonat (K_2CO_3 , ≥ 99 , 138,21 g/mol) Sigma Aldrich firmasının, 3,6-dibromobenzendiamin ($\text{C}_6\text{H}_6\text{Br}_2\text{N}_2$, %95, 265,93 g/mol) ABCR firmasının, Bis (trifenilfosfin) paladyum (II) diklorit ($\text{C}_{36}\text{H}_{30}\text{Cl}_2\text{P}_2\text{Pd}$, ≥ 98 , 701,89 g/mol) Matrix Scientific firmasının, kolon kromatografisi için kullanılan silika jel 60 (0,063-0,200 mm) Isolab firmasının, di-n-heksilamin ($\text{C}_{12}\text{H}_{27}\text{N}$, ≥ 98 , 185,355 g/mol, d:0,8g/ml) Thermo Fisher Scientific firmasının ürünleri kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

Biyosensör uygulama çalışmaları için kullanılan kimyasallar, D(+)glikoz ($\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$, 180,16 g/mol), glikoz oksidaz (*Aspergillus Niger*'den elde edilmiş, 100000-250000 unit/g), glutaraldehit ($\text{OHC}(\text{CH}_2)_3\text{CHO}$, 100,12 g/mol, Grade II 25% H_2O), sitrik asit ($\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7$, $\geq 99,5$, 192,12 g/mol), D(+) galaktoz ($\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$, ≥ 99 , 180,16 g/mol), ürik asit ($\text{C}_5\text{H}_4\text{N}_4\text{O}_3$, ≥ 99 , 168,11 g/mol), L-glutamik asit ($\text{C}_5\text{H}_9\text{NO}_4$, %99, 169,11 g/mol), D(+) sakkaroz ($\text{C}_{12}\text{H}_{22}\text{O}_{11}$, 342,3 g/mol) ve potasyum klorür (KCl , %99-100,5, 74,55 g/mol) Sigma Aldrich firmasının, Au standart çözeltisi (HAuCl_4 , 1003 ± 3 $\mu\text{g/mL}$, d: 1,019 g/mL, %10 HCl) SCP Science firmasının, lityum perklorat (LiClO_4 , 106,4 g/mol) Acros Organics firmasının, fruktoz ($\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$, 180,16 g/mol), potasyum klorür (KCl , %99,0-100,5, 74,55 g/mol), L(+)-askorbik asit ($\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_6$, %99, 176,12 g/mol) ve sodyum hidroksit (NaOH , ≥ 98 , 40 g/mol)

Merck firmasının, sodyum fosfat monobazik dihidrat ($\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, ≥ 98 , 156,01 g/mol) ve sodyum fosfat dibazik dihidrat ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, $\geq 99,5$, 177,99 g/mol) AFG Bioscience firmasının ürünleri kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Argon ve oksijen gazları, Kavas Gaz firmasından tedarik edilmiştir.

Elde edilen glikoz biyosensörlerinin gerçek örnek çalışmaları için kullanılan vişne suyu (Dooy, 0,743 M) yerel bir marketten ve dekstroz çözeltisi (0,2525 M) bir eczaneden tedarik edilmiştir.

3.2. Kullanılan Cihaz ve Ekipmanlar

Monomer sentez çalışmalarında, IKA C-MAG marka ısıtıcılı manyetik karıştırıcı, IKA VWR marka döner buharlaştırıcı (rotary evaporator), Sartorius marka hassas terazi, Medisson marka ultrasonik banyo kullanılmıştır. Deney süreçlerinin takibi için, Fuji marka UV lamba standı, Merck marka TLC (ince tabaka kromatografisi) silika jel alüminyum tabaka (60 F254), Isotherm marka kapiler tüpler kullanılmıştır.

Monomerlerin karakterizasyonu ve biyosensör uygulama çalışmaları, klasik üçlü elektrot yöntemi ile elektrokimyasal çalışma ünitesi olarak BioLogic marka SP-50 model potansiyostat kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Karşılaştırma elektrotu olarak Ag/Ag^+ (çap: 0,4 mm, uzunluk: 8,0 cm) ve Ag/AgCl (doğun KCl), yardımcı elektrot olarak Pt tel (çap: 0,5mm, uzunluk: 8,5 cm) kullanılmıştır. Çalışma elektrotu olarak kullanılan kalem grafit elektrotlar, değişen karbon ve kil içeriklerine göre Tombow Mono Lead marka 2H, HB, 2B (çap: 0,5 mm, uzunluk: 6,0 cm) kalem uçlarıdır. Numune transferi için TreffLab marka (10-100 μl) ve Isolab marka (1-5 ml) otomatik pipetler kullanılmıştır. Hazırlanan çözeltilerin pH değerlerinin ayarlanması için, Hanna HI 221 pH metre cihazı kullanılmıştır.

^1H -NMR analizleri Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Bilim ve Teknoloji Uygulama ve Araştırma Merkezi'nde (ÇOBİLTUM), JEOL marka ECX-400 model cihazda gerçekleştirilmiş olup, SEM analizleri İzmir Kâtip Çelebi Üniversitesi Merkezi Araştırma

Laboratuvarı Uygulama ve Araştırma Merkezi'nde, Carl Zeiss marka, 300 VP model cihaz ile gerçekleştirilmiştir. FTIR analizleri ise, Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Kimya Mühendisliği Bölümünde bulunan Agilent marka, Cary 630 model cihaz ile gerçekleştirilmiştir.

3.3. Kullanılan Çözeltilerin Hazırlanması

3.3.1. Monomer Sentezi ve Karakterizasyonunda Kullanılan Çözeltilerin Hazırlanması

1- Derişik K_2CO_3 çözeltisinin hazırlanması: 11,2 g K_2CO_3 tartılarak 10 ml H_2O içinde çözünmesi ile hazırlanmıştır. (K_2CO_3 çözünürlüğü: 112 g/100 mL (20°C))

2- $C_6H_{14}-CHCl_3$ (1:4) (v/v) çözeltisinin hazırlanması: İnce tabaka kolon kromatografisi yönteminde hareketli faz olarak kullanılan hekzan- kloroform çözeltisi için 0,5 ml hekzan ve 2 ml kloroform çözücü tankına eklenmiştir.

3- Derişik HCl- H_2O (1:4) (v/v) çözeltisinin hazırlanması: Monomer sentezinin sonlandırma işleminde, 200 ml soğuk su içine 50 ml derişik HCL eklenerek çözelti hazırlanmıştır.

4- 0,1 M $LiClO_4$ DCM-ACN (1:1) (v/v) elektrolit çözeltisinin hazırlanması: 100 ml'lik balon joje içine, molekül ağırlığı 106,4 g/mol olan $LiClO_4$ 'ten 1,0604g tartılarak eklenmiş, üzerine her ikisi de 50 ml olacak şekilde DCM ve ACN eklenerek çözelti hazırlanmıştır.

3.3.2. Enzimatik ve Enzimatik Olmayan Biyosensör Uygulamalarında Kullanılan Çözeltilerin Hazırlanması

1- 0,1 M Fosfat tampon çözeltisinin (PBS; Phosphate buffer solution) hazırlanması ve farklı pH değerlerinde ayarlanması: 0,1 M için, 7,80 g $NaH_2PO_4 \cdot 2H_2O$, 8,9 g $Na_2HPO_4 \cdot 2H_2O$, 2 g NaOH ve 3,725 g KCl bir miktar suda çözülüp, balon jodede son hacim

olan 500 ml'ye saf su ile tamamlanmıştır. pH düzenlemesi için kullanılan 0,1 M KCl içeren seyreltik HCl çözeltisi için 4,10 ml HCl çözeltisinden (d: 1,18 g/ml, %37'lik) ve 3,73 g KCl alınarak balon jodede son hacim olan 500 ml'ye saf su tamamlanmıştır. Bu iki çözelti kullanılarak, istenilen pH değeri pH metre kullanılarak ayarlanmıştır.

2- 0,02 M KCl içeren 0,02 M PBS çözeltisinin hazırlanması: 0,02 M için, 0,78 g $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 0,89 g $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 0,2 g NaOH ve 0,4656 g KCl bir miktar suda çözülüp, balon jodede son hacim olan 500 ml'ye saf su ile tamamlanmıştır. pH düzenlemesi için kullanılan 0,02 M KCl içeren seyreltik HCl çözeltisi için 0,513 ml HCl çözeltisinden (d: 1,18 g/ml, %37'lik) ve 0,466 g KCl alınarak balon jodede son hacim olan 500 ml'ye saf su tamamlanmıştır. Bu iki çözelti kullanılarak, istenilen pH değeri pH metre kullanılarak ayarlanmıştır.

3- 0,1 M NaOH çözeltisinin hazırlanması: 2 gr NaOH alınıp, 500 ml'lik balon jode içine aktarılarak saf su ile son hacme tamamlanmıştır.

4- 0,2 M Au^{+3} çözeltisinin hazırlanması: HAuCl_4 standart çözeltisinden (d:1,016 g/ml, %10 HCl, 5,077 mM) 400 μl alınıp, 0,02 M KCl içeren 0,02 M PBS (pH: 7,0) ile 10 ml'ye tamamlanmıştır.

5- %1 GA içeren GOx çözeltisinin hazırlanması: 3 mg GOx enzimi ve toplam hacmin %1'ini GA oluşturacak şekilde 10 μl GA alınarak, pH değeri 7,0 olan 0,1 M PBS çözeltisi ile 1 ml'ye tamamlanmıştır. Enzim çözeltisi kullanılmadığı zamanlarda sıcaklığın -18°C olduğu ortamda saklanmıştır.

6- 0,1 M glikoz stok çözeltisinin hazırlanması: 0,18016 g glikoz ($\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$) alınarak, saf su ile 10 ml'ye tamamlanmıştır. Farklı derişimlerdeki glikoz çözeltileri ise, Seyreltme denklemi ($M_1 \cdot V_1 = M_2 \cdot V_2$; M_1 : istenen çözelti derişimi, V_1 : istenen çözelti hacmi, M_2 : stok çözelti hacmi, V_2 : stok çözelti hacmi) ile hesaplamalar yapılarak hazırlanmıştır.

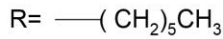
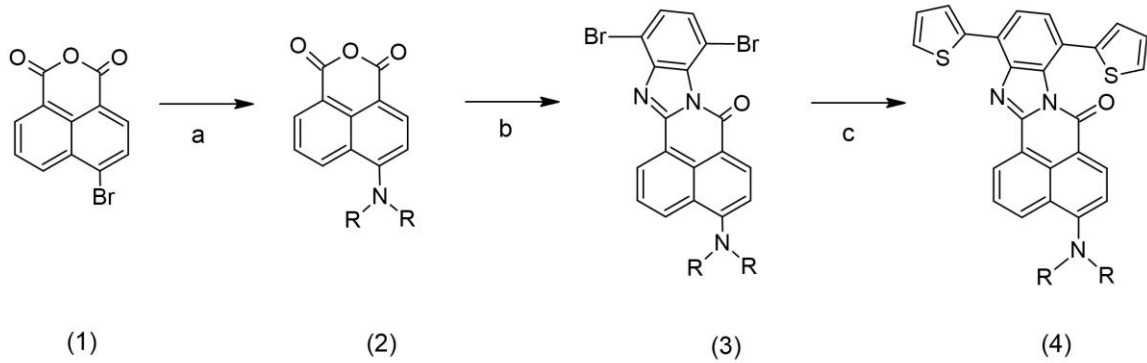
7- Girişim çalışması için kullanılan maddelerin çözeltilerinin hazırlanması: Bu çalışma için kullanılan maddelerin her biri, derişimi 0,1 M, son hacmi saf su ile 10 ml'ye tamamlanacak şekilde hazırlanmıştır. Bunun için girişim maddelerinden tartılan miktarlar şu şekildedir; fruktoz: 0,180 g, galaktoz: 0,180 g, glutamik asit: 0,169 g, L-askorbik asit: 0,176 g, sakkaroz: 0,342 g, sitrik asit: 0,192g, ürik asit: 0,168g'dır.

8- Gerçek örnek çalışması için kullanılan maddelerin çözeltilerinin hazırlanması: Gerçek örnek çözeltilerinin derişim değerleri, ürün paketlerinin üzerinde, üreticinin belirttiği değerler göz önüne alınarak hesaplanmıştır. Tedarik edilen vişne suyunun derişimi 0,929 M, dekstroz çözeltisinin ise, 0,2525 M'dır. 0,02 M vişne suyu için 2,1528 ml (215,2 µl) alınıp saf su ile 10 ml'ye tamamlanmış, 0,02 M dekstroz çözeltisi için 7,9207 ml (792,07 µl) alınıp saf su ile 10 ml'ye tamamlanmış, 0,001 M vişne suyu için 1,0764 ml (10,76 µl) alınarak saf su ile 10 ml'ye tamamlanmış, 0,001 M dekstroz çözeltisi için 3,9603 ml (39,6 µl) alınıp saf su ile 10 ml'ye tamamlanmış, 0,002 M dekstroz çözeltisi için 7,92 ml (79,2 µl) alınıp saf su ile 10 ml'ye tamamlanmıştır.

3.4. Monomerlerin Sentezi

3.4.1. 4-(diheksilamino)9,12- di(tiyofen-2 il)-7H-benzo[de]benzo[4,5]imidazo [2,1-a]izokunolin-7- one (ThBN) Monomerinin Sentezi

ThBN monomerinin sentezi üç adımda gerçekleştirilmiştir. Bu adımlar Şekil 22'de gösterilmiştir.



a) di-n-hekzilamin, piridin, 120°C; b) 3,6-Dibromobenzen-1,2-diamin, piridin, ZnC₄H₆O₄, 120°C; c) Tiyofen-2-boronik asit pinakol ester, toluen, K₂CO₃/H₂O, Pd(PPh₃)₄, 120°C

Şekil 22. ThBN monomerinin sentez adımları

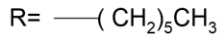
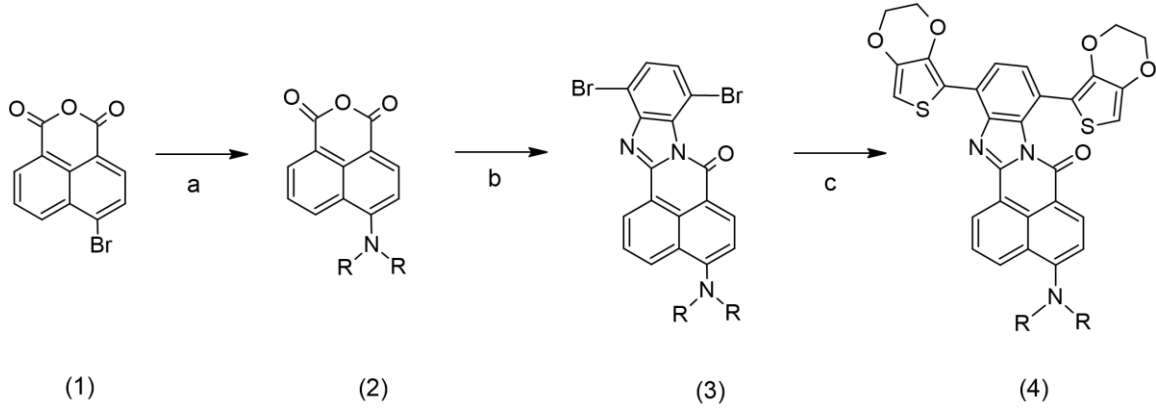
İlk adımda, 4-Bromo-1,8-naftalik anhidrit (1) (2 g, 7,218 mmol), di-n-hekzilamin (2,20 ml, 9,2829 mmol) ve 30 ml piridin, 50 ml hacmindeki bir reaksiyon balonuna eklenerek 120 °C sıcaklıkta deney başlatılmıştır. Sonlandırma işleminde, elde edilen ürün, soğuk su-HCl karışımı içine dökülerek süzümüştür. Nihai çözeltili, ekstraksiyon yöntemi ile DCM-H₂O karışımı ile ayrılmıştır. Saf madde (4-dihekzil 1,8 naftalik anhidrit), (0,8153 g, verim: %29,64) hareketli fazın kloroform olduğu kolon kromatografisi yöntemi ile elde edilmiştir.

İkinci adımda, 4-dihekzil 1,8 naftalik anhidrit (2) (0,1 g, 0,262 mmol) ve 3,6-dibromobenzen-1,2 diamin (0,068 g, 0,255 mmol) ve 15 ml piridin 50 ml hacmindeki bir reaksiyon balonuna eklenerek 120 °C sıcaklıkta geri soğutucu altında deney başlatılmış ve ZnC₄H₆O₄ (0,00477 g, 0,025 mmol) eklenmiştir. Sonlandırma işleminde, elde edilen ürün, soğuk su-HCl karışımı içine dökülerek süzümüştür. Nihai çözeltili, ekstraksiyon yöntemi ile DCM-H₂O karışımı ile ayrılmıştır. Saf madde (9,12-dibromo-4-(dihekzilamino)-7H benzo[de]benzo[4,5]imidazo[2,1-a]izokinolin-7-one), hareketli fazın kloroform-hekzan (4:1) olduğu kolon kromatografisi yöntemi ile elde edilmiştir. (4:1) (0,13 g, verim: %81,25).

Üçüncü adım Suzuki reaksiyonu ile gerçekleşmiştir. Bu adımda, 9,12-dibromo-4-(dihekzilamino)-7H benzo[de]benzo[4,5]imidazo[2,1-a]izokinolin-7-one (3) (0,13g; 0,212 mmol) ve tiyofen-2-boronik asit pinakol ester (0,111 g; 0,528 mmol) 20 ml toluen ve 5 ml konsantre K₂CO₃/H₂O 50 ml hacimli reaksiyon balonu içine konularak, argon gazı ortamında ve geri akış altında 120°C'de deney başlatılmıştır. Ardından tetrakis (trifenilfosfin) paladyum (0) (Pd(PPh₃)₄) (0,012g; 0,01 mmol) katalizörü eklenmiştir. Turuncu renkte olan saf madde (4) (4-(dihekzilamino)9,12-di(tiyofen-2 il)-7H-benzo[de]benzo[4,5]imidazo[2,1-a]izokinolin-7- one) (ThBN), hareketli fazın kloroform olduğu kolon kromatografisi yöntemi ile elde edilmiştir (0,033 g; verim: %21,15).

3.4.2. 4-(dihegzilamino)-9,12-bis(2,3-dihidrotiyeno[3,4-b][1,4]dioksin-5-yl)-7H-benzo[de]benzo[4,5]imidazo[2,1-a]izoknolin-7-one (EDOTBN) Monomerinin Sentezi

EDOTBN monomerinin sentezi üç adımda gerçekleştirilmiştir. Bu adımlar Şekil 23'de gösterilmiştir.



a) di-*n*-hegzilamin, piridin, 120°C; b) 3,6-Dibromobenzen-1,2-diamin, piridin, ZnC₄H₆O₄, 120°C; c) tribütil(2,3,-dihidrotiyeno[3,4-b][1,4] dioksin-5-yl)stanan, toluen, C₃₆H₃₀Cl₂P₂Pd, 120°C

Şekil 23. EDOTBN monomerinin sentez adımları

Sentez çalışmasının ilk iki adımı ThBN monomerinin sentezi ile aynıdır. Üçüncü adım Still reaksiyonu ile gerçekleşmiştir. Bu adımda, 9,12-dibromo-4-(dihegzilamino)-7H benzo[de]benzo[4,5]imidazo[2,1-a]izokinolin-7-one (3) (0,12 g; 0,195 mmol) ve tribütil (2,3-dihidrotiyeno [3,4-b] [1,4] dioksin-5-yl) stanan (0, 338mg; 0,528 mmol) ve 20 ml toluen, 50 ml hacimli reaksiyon balonu içine konularak, argon gazı ortamında ve geri akış altında 120°C'de deney başlatılmıştır. Ardından Bis (trifenilfosfin) paladyum (II) diklorit (C₃₆H₃₀Cl₂P₂Pd, 11 mg; 0,0156 mmol) katalizörü eklenmiştir. Koyu kahverengi renkte olan saf madde (4) 4-(dihegzilamino)-9,12-bis(2,3-dihidrotiyeno[3,4-b][1,4]dioksin-5-yl)-7H-benzo[de]benzo[4,5]imidazo[2,1-a]izoknolin-7-one (EDOTBN), hareketli fazın kloroform olduğu kolon kromatografisi yöntemi ile elde edilmiştir (0,025 g; verim: %17,36).

3.4.3. ThBN ve EDOTBN Monomerlerinin Karakterizasyonu

Fourier dönüşümlü kızılötesi (FTIR) spektroskopisi ile katı, sıvı ve çözelti halindeki organik bileşiklerin yapılarındaki fonksiyonel gruplar, iki bileşiğin aynı olup olmadığı, yapıdaki bağların durumu, bağlanma yerleri ve yapının aromatik ya da alifatik olup olmadığı belirlenebilir. Elde edilen moleküllerin IR analizi Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Kimya Mühendisliği Bölümünde bulunan Agilent marka, Cary 630 model cihaz ile gerçekleştirilmiştir.

¹H-NMR spektroskopisi bir molekül hakkında fiziksel, kimyasal ve yapısal bilgi edinmek için kullanılan başlıca tekniklerden biridir. Elde edilen moleküllerin ¹H NMR analizi Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Bilim ve Teknoloji Uygulama ve Araştırma Merkezi'nde (ÇOBİLTUM), JEOL marka ECX-400 model cihazda gerçekleştirilmiştir. Analizler, CHCl₃-d (dötero kloroform) varlığında gerçekleştirilmiş, iç standart olarak TMS (tetrametil silan) kullanılmıştır.

Voltammetri, yükseltgenebilen ve/veya indirgenebilen elektroaktif inorganik ve organik maddelerin çeşitli ortamdaki çözeltilerinden uygun deney şartlarında elde edilen akım şiddeti-potansiyel eğrilerinin (voltammogramların) özelliklerini inceleyen ve değerlendiren analiz tekniğidir. Elde edilen moleküllerin CV analizi için elektrokimyasal çalışma ünitesi olarak BioLogic marka SP-50 model potansiyostat kullanılmıştır ve ThBN molekülünün HOMO ve LUMO değerleri hesaplanmıştır.

3.5. p(ThBN) ve AuNP Modifiye KGE'lerin Hazırlanışı, GOx İmmobilizasyonu, Modifiye Elektrotların Elektrokimyasal Özelliklerinin ve Yüzey Morfolojilerinin İncelenmesi

3.5.1. ThBN Polimerinin KGE Yüzeyinde Elektrokimyasal Sentezi

Modifiye KGE'lerin hazırlanması, üçlü elektrot sistemi kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Elektrolit çözelti olarak 0,1 M ACN-DCM (1:1) (v/v) LiClO₄, karşıt elektrot olarak Pt tel, yardımcı elektrot olarak Ag/Ag⁺ e

lektrot kullanılmıştır. Çalışma hücresi içine 5 ml elektrolit, 1x10⁻³ M olacak şekilde ThBN monomeri ilave edilerek çözünmesi sağlanmış ve -0,3- +1,2 V aralığında, 100mV/s tarama hızında döngüsel voltammogramları alınarak elektropolimerizasyon işlemi gerçekleştirilmiştir.

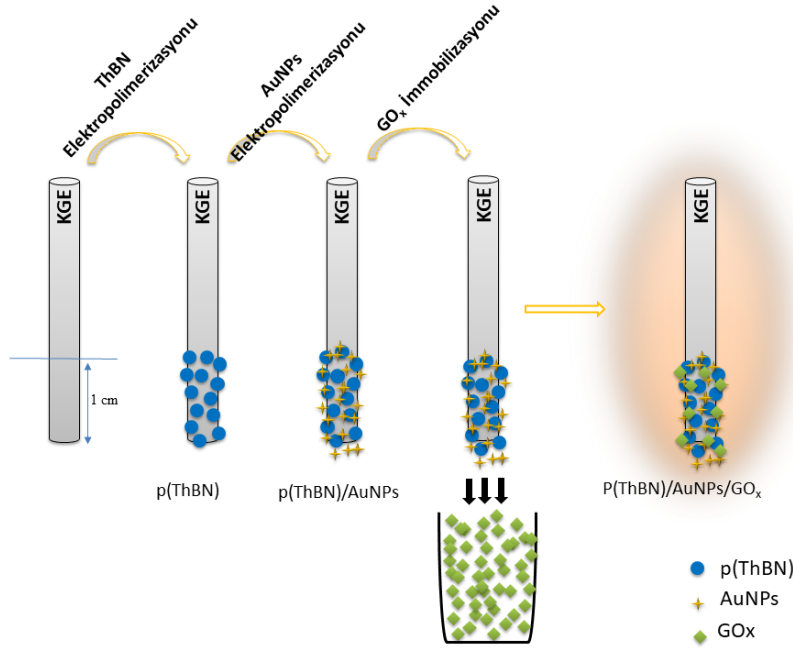
3.5.2. AuNPlerin KGE Yüzeyine Elektrokimyasal Biriktirilmesi

Yalın KGE, ThBN polimeri ile modifiye edildikten sonra, AuNP ile elektropolimerizasyon işlemi gerçekleştirilmiştir. Bu işlem, üçlü elektrot sisteminde, hazırlanmış olan 0,2 M Au⁺³ çözeltisi içinde KGE/p(ThBN) modifiye elektrotu üzerine -0,85- +0,1 V aralığında 50 mV/s tarama hızında döngüsel voltammogramları alınarak elektropolimerizasyon işlemi gerçekleştirilmiştir.

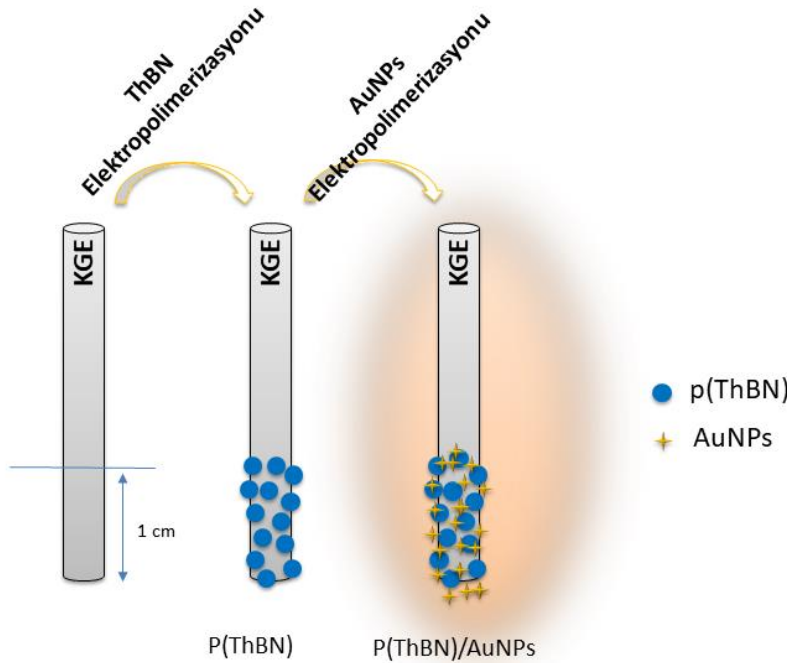
3.5.3. p(ThBN) ve AuNP Modifiye Elektrotlara GOx Enziminin İmmobilizasyonu

Elde edilmiş olan modifiye elektrotu KGE/p(ThBN)/AuNPs, enzimatik glikoz biyosensörü uygulama çalışmalarında kullanılmak üzere, %1 GA içeren GOx çözeltisi içine batırılarak, enzimin modifiye elektrot üzerine immobilize olması sağlanmıştır. İmmobilizasyon işlemi, sıcaklığın +4°C olduğu ortamda gerçekleşmiş ve immobilizasyon işlemi sonrasında modifiye edilmiş elektrot aynı ortamda kurumaya bırakılmıştır. Enzim çözeltisi kullanıldıktan sonra, sıcaklığın -18 °C olduğu ortamda saklanmaya devam edilmiştir.

Yalın KGE elektrot üzerine enzimatik ve enzimatik olmayan glikoz biyosensör uygulaması için adım adım modifiye işlemleri Şekil 24 ve Şekil 25’de gösterilmiştir.



Şekil 24. p(ThBN) tabanlı enzimatik glikoz biyosensörünün şematik gösterimi



Şekil 25. p(ThBN) tabanlı enzimatik olmayan glikoz biyosensörünün şematik gösterimi

3.5.4. Modifiye Elektrotların Yüzey Morfolojilerinin İncelenmesi

KGE üzerine modifiye işlemleri sonrası elde edilen her elektrotun (yalın KGE, KGE/p(ThBN), KGE/p(ThBN)/AuNPs, KGE/p(ThBN)/AuNPs/GOx) SEM analizleri yaptırılmış olup, bu analizler İzmir Kâtip Çelebi Üniversitesi Merkezi Araştırma Laboratuvarı Uygulama ve Araştırma Merkezi'nde, Carl Zeiss marka, 300 VP model cihaz ile gerçekleştirilmiştir.

3.6. p(EDOTBN) ve AuNP Modifiye KGE'lerin Hazırlanışı, GOx İmmobilizasyonu, Modifiye Elektrotların Elektrokimyasal Özelliklerinin ve Yüzey Morfolojilerinin İncelenmesi

3.6.1. EDOTBN Polimerinin KGE Yüzeyinde Elektrokimyasal Sentezi

Modifiye KGE'lerin hazırlanması, üçlü elektrot sistemi kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Elektrolit çözelti olarak 0,1 M ACN-DCM (1:1) (v/v) LiClO₄, karşıt elektrot olarak Pt tel, yardımcı elektrot olarak Ag/Ag⁺ elektrot kullanılmıştır. Çalışma hücresi içine 5 ml elektrolit, 1x10⁻³ M olacak şekilde EDOTBN monomeri ilave edilerek çözünmesi sağlanmış ve -0,4- +0,8 V aralığında, 100mV/s tarama hızında potansiyele karşılık akımın döngüsel voltammogramları alınarak elektropolimerizasyon işlemi gerçekleştirilmiştir.

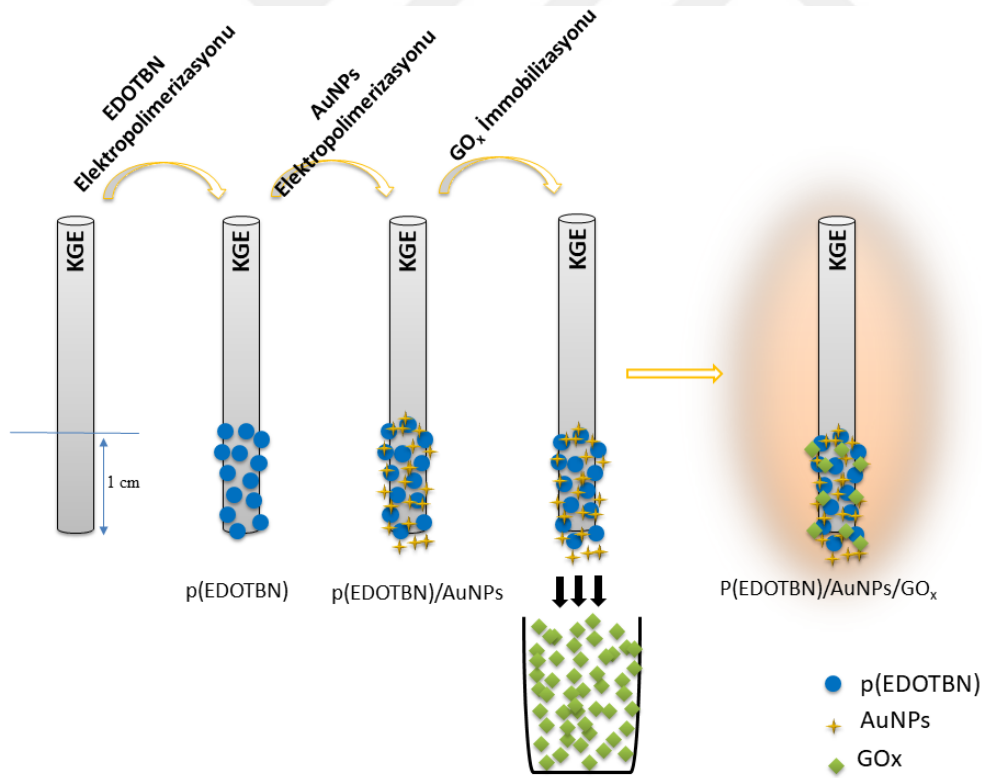
3.6.2. AuNPlerin KGE Yüzeyine Elektrokimyasal Biriktirilmesi

Yalın KGE, EDOTBN polimeri ile modifiye edildikten sonra, AuNP ile elektrobiriktirme işlemi gerçekleştirilmiştir. Bu işlem, üçlü elektrot sisteminde, hazırlanmış olan 0,2 M Au⁺³ çözeltisi içinde KGE/p(EDOTBN) modifiye elektrotu üzerine -0,85- +0,1 V aralığında 50 mV/s tarama hızında döngüsel voltammogramları alınarak elektropolimerizasyon işlemi gerçekleştirilmiştir.

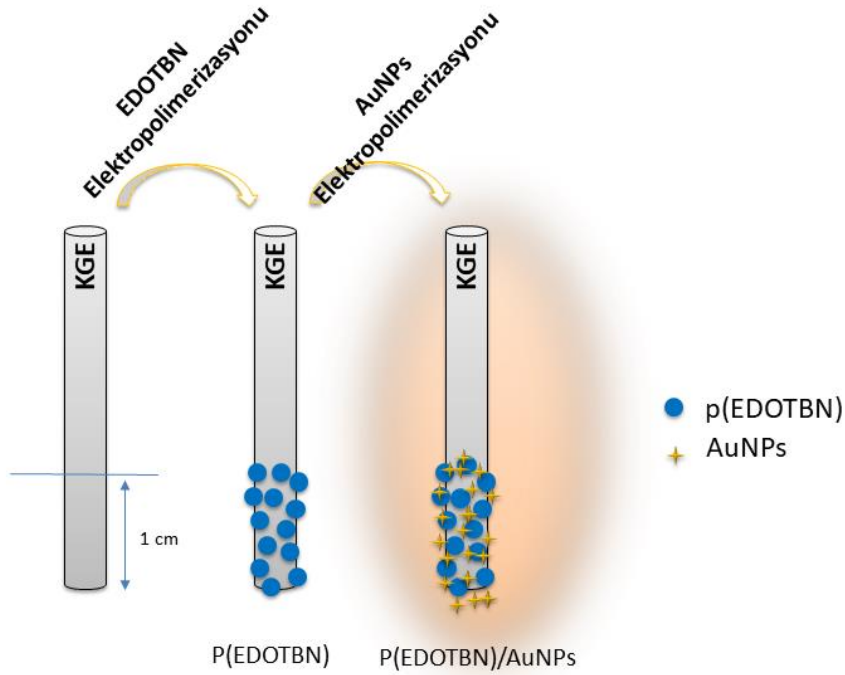
3.6.3. p(EDOTBN) ve AuNP Modifiye Elektrotlara GOx Enziminin İmmobilizasyonu

Elde edilmiş olan modifiye elektrotu KGE/p(EDOTBN)/AuNPs, enzimatik glikoz biyosensörü uygulama çalışmalarında kullanılmak üzere, %1 GA içeren GOx çözeltisi içine batırılarak, enzimin modifiye elektrot üzerine immobilize olması sağlanmıştır. İmmobilizasyon işlemi, sıcaklığın +4°C olduğu ortamda gerçekleşmiş ve immobilizasyon işlemi sonrasında modifiye edilmiş elektrot aynı ortamda kurumaya bırakılmıştır. Enzim çözeltisi kullanıldıktan sonra, sıcaklığın -18 °C olduğu ortama saklanmaya devam edilmiştir.

Yalın KGE elektrotun adım adım modifiye işlemleri aşağıdaki şekilde gösterilmiştir.



Şekil 26. p(EDOTBN) tabanlı enzimatik glikoz biyosensörünün şematik gösterimi



Şekil 27. p(EDOTBN) tabanlı enzimatik olmayan glikoz biyosensörünün şematik gösterimi

3.6.4. Modifiye Elektrotların Yüze Morfolojilerinin İncelenmesi

KGE üzerine modifiye işlemleri sonrası elde edilen her elektrotun (yaln KGE, KGE/p(EDOTBN), KGE/p(EDOTBN)/AuNPs, KGE/p(EDOTBN)/AuNPs/GOx) SEM analizleri yaptırılmış olup, bu analizler İzmir Kâtip Çelebi Üniversitesi Merkezi Araştırma Laboratuvarı Uygulama ve Araştırma Merkezi'nde, Carl Zeiss marka, 300 VP model cihaz ile gerçekleştirilmiştir.

3.7. ThBN Polimer Tabanlı Elektrokimyasal Glikoz Biyosensörü Çalışmaları

3.7.1. KGE/p(ThBN)/AuNPs/GOx Enzimatik Glikoz Biyosensörünün Glikoza Karşı Elektrokatalitik Yanıtlarının Döngüsel Voltammetri Yöntemi ile İncelenmesi

KGE/p(ThBN)/AuNPs/GOx enzimatik glikoz biyosensörünün oluşmasında her bir modifiye işleminin O_2 'nin indirgenme potansiyeline (V) bağlı olarak glikoza karşı verdiği akım (mA) yanıtları incelenmiştir. Bu işlemler karşıt elektrotun Pt tel, yardımcı elektrotun Ag/AgCl olduğu üçlü elektrot sistemi ile gerçekleştirilmiş olup, çalışma hücrelerinde destek elektrolit çözeltisi olarak pH 7,0 0,1 M PBS kullanılmıştır. 5 dk boyunca O_2 ile doyurulmuş

elektrolit çözelti içinde, -1,2- +1,0 V aralığında, tarama hızının 100 mV/s olduğu koşullarda döngüsel voltammogramlar alınmıştır. Ortamdaki oksijenin tüketimine bağlı olarak O₂'nin indirgenme pik akımına ait azalma ve pik potansiyeli izlenmiştir. Döngüsel voltammogramlar incelendiğinde, glikoza karşı optimum yanıtı alabilmek adına, kullanılan KGE elektrotun tipi, destek elektrolit çözeltisinin pH değeri, p(ThBN)'nin elektrot üzerindeki kalınlığı, KGE/p(ThBN)/AuNPs modifiye elektrotun GOx enzimi içinde immobilizasyon süresinin optimizasyon çalışmaları yapılmıştır. Tarama hızınının 50 mV/s den başlayarak 500 mV/s'ye kadar alınan döngüsel voltammogramlarından yola çıkılarak akım türü belirlenmiştir. Optimizasyon işlemlerinden sonra, farklı glikoz derişimlerine (1x10⁻¹⁰ M, 0,1 M) karşılık alınan döngüsel voltammogramlar ile, biyosensörün çalışma aralığı oluşturulmuştur.

3.7.2. Enzimatik Glikoz Biyosensörünün Girişim Çalışmaları

Optimize edilmiş KGE/p(ThBN)/AuNPs/GOx biyosensörünün girişim çalışmaları, üçlü elektrot sistemi ile, 2 mM glikoz çözeltisine karşı girişim çalışmalarında 1:100 oranında olacak şekilde girişimci maddeler kullanılmıştır. Kullanılan girişimci maddeler fruktoz, galaktoz, L-glutamik asit, L- Askorbik asit, sakkaroz, sitrik asit ve ürik asittir. Hazırlanan girişimci maddelerin çözeltileri çalışma hücresine eklendikten sonra döngüsel voltammogramları kaydedilmiştir.

3.7.3. Enzimatik Glikoz Biyosensörünün Gerçek Örneğe Uygulama Çalışması

Optimize edilmiş KGE/p(ThBN)/AuNPs/GOx biyosensörünün glikoz tespiti için, gerçek örnek olarak dekstroz çözeltisi ve vişne suyu kullanılmıştır. Destek elektrolit çözeltisi içine, biyosensörün tespit edilen çalışma aralığı içinde bulunan bir derişim değerinde gerçek örnek eklenerek döngüsel voltammogramı alınmış, onun üzerine, yine biyosensörün tespit edilen çalışma aralığı içinde bulunan farklı derişim değerlerinde glikoz çözeltisi eklenerek döngüsel voltammogramları alınmaya devam edilmiştir. Gerçek örnek çalışmaları üç tekrarlı olarak yapılmış, örnekteki glikoz miktarı, standart katma yöntemi uygulanarak hesaplanmıştır.

3.7.4. Enzimatik Glikoz Biyosensörünün Kararlılık Çalışması

KGE/p(ThBN)/AuNPs/GOx biyosensörünün kararlılık testleri optimize edilmiş koşullarda, 0,1 M glikoz çözeltisinden 100 µl alınarak, 5 ml'lik destek elektrolit çözeltisine eklenmesi ile gerçekleştirilmiştir. Çalışma, her hafta, haftanın belirlenen aynı gününde yapılmıştır. Kararlılık çalışması üç tekrarlı olarak gerçekleştirilerek döngüsel voltammogramları kaydedilmiştir.

3.7.5. KGE/p(ThBN)/AuNPs Enzimatik Olmayan Glikoz Biyosensörünün Glikoza Karşı Elektrokatalitik Yanıtlarının Döngüsel Voltammetri Yöntemi ile İncelenmesi

KGE/p(ThBN)/AuNPs enzimatik olmayan glikoz biyosensörünün oluşmasında her bir modifiye işleminin glikozun yükseltgenme potansiyeline (V) bağlı olarak verdiği akım yanıtları (mA) incelenmiştir. Bu işlemler karşıt elektrotun Pt tel, yardımcı elektrotun Ag/AgCl olduğu üçlü elektrot sistemi ile gerçekleştirilmiş olup, çalışma hücrelerinde destek elektrolit çözeltisi olarak 0,1 M NaOH kullanılmıştır. 5 dk boyunca O₂ ile doyurulmuş elektrolit çözelti içinde, -0,65- +0,2 V aralığında, tarama hızının 100 mV/s olduğu koşullarda döngüsel voltammogramlar alınmıştır. Glikozun yükseltgenme pik potansiyeli ve pik akımı izlenmiştir. Döngüsel voltammogramlar incelendiğinde, glikoza karşı optimum yanıt alabilmek adına, kullanılan KGE elektrotun tipi, p(ThBN) elektrot üzerindeki kalınlığı ve AuNP'lerin farklı döngü sayılarında elektrokimyasal olarak biriktirilmesine ait optimizasyon çalışmaları yapılmıştır. Tarama hızının 50 mV/s den başlayarak 500 mV/s'ye kadar alınan döngüsel voltammogramlarından yola çıkılarak akım türü belirlenmiştir. Optimizasyon işlemlerinden sonra, farklı glikoz derişimlerine (1x10⁻¹⁰ M, 0,1 M) karşılık alınan döngüsel voltammogramlar ile, biyosensörün çalışma aralığı oluşturulmuştur.

3.7.6. Enzimatik Olmayan Glikoz Biyosensörünün Girişim Çalışmaları

Optimize edilmiş KGE/p(ThBN)/AuNPs biyosensörünün girişim çalışmaları, üçlü elektrot sistemi ile, 2 mM glikoz çözeltisine karşı girişim çalışmalarında 1:100 oranında olacak şekilde girişimci maddeler kullanılmıştır. Kullanılan girişimci maddeler fruktoz, galaktoz, L-glutamik asit, L- Askorbik asit, sakkaroz, sitrik asit ve ürik asittir. Hazırlanan girişimci maddelerin çözeltileri çalışma hücresine eklendikten sonra döngüsel voltammogramları kaydedilmiştir.

3.7.7. Enzimatik Olmayan Glikoz Biyosensörünün Gerçek Örneğe Uygulama Çalışması

Optimize edilmiş KGE/p(ThBN)/AuNPs biyosensörünün glikoz tespiti için, gerçek örnek olarak dekstroz çözeltisi ve vişne suyu kullanılmıştır. Destek elektrolit çözeltisi içine, biyosensörün tespit edilen çalışma aralığı içinde bulunan bir derişim değerinde gerçek örnek eklenerek döngüsel voltammogramı alınmış, onun üzerine, yine biyosensörün tespit edilen çalışma aralığı içinde bulunan farklı derişim değerlerinde glikoz çözeltisi eklenerek döngüsel voltammogramları alınmaya devam edilmiştir. Gerçek örnek çalışmaları üç tekrarlı olarak yapılmış, örnekteki glikoz miktarı, standart katma yöntemi uygulanarak hesaplanmıştır.

3.7.8. Enzimatik Olmayan Glikoz Biyosensörünün Kararlılık Çalışması

KGE/p(ThBN)/AuNPs biyosensörünün kararlılık testleri optimize edilmiş koşullarda, 0,1 M glikoz çözeltisinden 100 µl alınarak, 5 ml'lik destek elektrolit çözeltisine eklenmesi ile gerçekleştirilmiştir. Çalışma, her hafta, haftanın belirlenen aynı gününde yapılmıştır. Kararlılık çalışması üç tekrarlı olarak gerçekleştirilerek döngüsel voltammogramları kaydedilmiştir.

3.8. EDOTBN Polimer Tabanlı Elektrokimyasal Glikoz Biyosensörü Çalışmaları

3.8.1. KGE/p(EDOTBN)/AuNPs/GOx Enzimatik Glikoz Biyosensörünün Glikoza Karşı Elektrokatalitik Yanıtlarının Döngüsel Voltammetri Yöntemi ile İncelenmesi

KGE/p(EDOTBN)/AuNPs/GOx enzimatik glikoz biyosensörünün oluşmasında her bir modifiye işleminin O₂'nin indirgenme potansiyeline (V) bağlı olarak glikoza karşı verdiği akım (mA) yanıtları incelenmiştir. Bu işlemler karşıt elektrotun Pt tel, yardımcı elektrotun Ag/AgCl olduğu üçlü elektrot sistemi ile gerçekleştirilmiş olup, çalışma hücrelerinde destek elektrolit çözeltisi olarak pH 7,0 PBS kullanılmıştır. 5 dk boyunca O₂ ile doyurulmuş destek elektrolit çözelti içinde, -1,2- +1,0 V aralığında, tarama hızının 100 mV/s olduğu koşullarda döngüsel voltammogramlar alınmıştır. Ortamdaki oksijenin tüketimine bağlı olarak O₂'nin indirgenme pik akımına ait azalma ve pik potansiyeli izlenmiştir. Döngüsel voltammogramlar incelendiğinde, glikoza karşı optimum yanıtı alabilmek adına, kullanılan KGE elektrotun tipi, destek elektrolit çözeltisinin pH değeri, p(EDOTBN)'nin elektrot üzerindeki kalınlığı, KGE/p(EDOTBN)/AuNPs modifiye elektrotun GOx enzimi içinde immobilizasyon süresinin optimizasyon çalışmaları yapılmıştır. Tarama hızının 50 mV/s den başlayarak 500 mV/s'ye kadar alınan döngüsel voltammogramlarından yola çıkılarak akım türü belirlenmiştir. Optimizasyon işlemlerinden sonra, farklı glikoz derişimlerine (1x10⁻¹⁰ M, 0,1 M) karşılık alınan döngüsel voltammogramlar ile, biyosensörün çalışma aralığı oluşturulmuştur.

3.8.2. Enzimatik Glikoz Biyosensörünün Girişim Çalışmaları

Optimize edilmiş KGE/p(EDOTBN)/AuNPs/GOx biyosensörünün girişim çalışmaları, üçlü elektrot sistemi ile, 2 mM glikoz çözeltisine karşı girişim çalışmalarında 1:100 oranında olacak şekilde girişimci maddeler kullanılmıştır. Kullanılan girişimci maddeler fruktoz, galaktoz, L-glutamik asit, L- Askorbik asit, sakkaroz, sitrik asit ve ürik asittir. Hazırlanan girişimci maddelerin çözeltileri çalışma hücrelerine eklendikten sonra döngüsel voltammogramları kaydedilmiştir.

3.8.3. Enzimatik Glikoz Biyosensörünün Gerçek Örneğe Uygulama Çalışması

Optimize edilmiş KGE/p(EDOTBN)/AuNPs/GOx biyosensörünün glikoz tespiti için, gerçek örnek olarak dekstroz çözeltisi ve vişne suyu kullanılmıştır. Destek elektrolit çözeltisi içine, biyosensörün tespit edilen çalışma aralığı içinde bulunan bir derişim değerinde gerçek örnek eklenerek döngüsel voltammogramı alınmış, onun üzerine, yine biyosensörün tespit edilen çalışma aralığı içinde bulunan farklı derişim değerlerinde glikoz çözeltisi eklenerek döngüsel voltammogramları alınmaya devam edilmiştir. Gerçek örnek çalışmaları üç tekrarlı olarak yapılmış, örnekteki glikoz miktarı, standart katma yöntemi uygulanarak hesaplanmıştır.

3.8.4. Enzimatik Glikoz Biyosensörünün Kararlılık Çalışması

KGE/p(EDOTBN)/AuNPs/GOx biyosensörünün kararlılık testleri optimize edilmiş koşullarda, 0,1 M glikoz çözeltisinden 100 µl alınarak, 5 ml'lik destek elektrolit çözeltisine eklenmesi ile gerçekleştirilmiştir. Çalışma, her hafta, haftanın belirlenen aynı gününde yapılmıştır. Kararlılık çalışması üç tekrarlı olarak gerçekleştirilerek döngüsel voltammogramları kaydedilmiştir.

3.8.5. KGE/p(EDOTBN)/AuNPs Enzimatik Olmayan Glikoz Biyosensörünün Glikoza Karşı Elektrokatalitik Yanıtlarının Döngüsel Voltammetri Yöntemi ile İncelenmesi

KGE/p(EDOTBN)/AuNPs enzimatik olmayan glikoz biyosensörünün oluşmasında her bir modifiye işleminin glikozun yükseltgenme potansiyeline (V) bağlı olarak verdiği akım yanıtları (mA) incelenmiştir. Bu işlemler karşıt elektrotun Pt tel, yardımcı elektrotun Ag/AgCl olduğu üçlü elektrot sistemi ile gerçekleştirilmiş olup, çalışma hücresinde destek elektrolit çözeltisi olarak 0,1 M NaOH kullanılmıştır. 5 dk boyunca O₂ ile doyurulmuş destek elektrolit çözelti içinde, -0,65- +0,2 V aralığında, tarama hızının 100 mV/s olduğu koşullarda döngüsel voltammogramlar alınmıştır. Glikozun yükseltgenme pik potansiyeli ve pik akımı izlenmiştir. Döngüsel voltammogramlar incelendiğinde, glikoza karşı optimum yanıtı

alabilmek adına, kullanılan KGE elektrotun tipi, p(EDOTBN) elektrot üzerindeki kalınlığı ve AuNP'lerin farklı döngü sayılarında elektrokimyasal olarak biriktirilmesine ait optimizasyon çalışmaları yapılmıştır. Tarama hızının 50 mV/s den başlayarak 500 mV/s'ye kadar alınan döngüsel voltammogramlarından yola çıkılarak akım türü belirlenmiştir. Optimizasyon işlemlerinden sonra, farklı glikoz (1×10^{-10} M, 0,1 M) karşılık alınan döngüsel voltammogramlar ile biyosensörün çalışma aralığı oluşturulmuştur.

3.8.6. Enzimatik Olmayan Glikoz Biyosensörünün Girişim Çalışmaları

Optimize edilmiş KGE/p(EDOTBN)/AuNPs biyosensörünün girişim çalışmaları, üçlü elektrot sistemi ile, 2 mM glikoz çözeltisine karşı girişim çalışmalarında 1:100 oranında olacak şekilde girişimci maddeler kullanılmıştır. Kullanılan girişimci maddeler fruktoz, galaktoz, L-glutamik asit, L- Askorbik asit, sakkaroz, sitrik asit ve ürik asittir. Hazırlanan girişimci maddelerin çözeltileri çalışma hücresine eklendikten sonra döngüsel voltammogramları kaydedilmiştir.

3.8.7. Enzimatik Olmayan Glikoz Biyosensörünün Gerçek Örneğe Uygulama Çalışması

Optimize edilmiş KGE/p(EDOTBN)/AuNPs biyosensörünün glikoz tespiti için, gerçek örnek olarak dekstroz çözeltisi ve vişne suyu kullanılmıştır. Destek elektrolit çözeltisi içine, biyosensörün tespit edilen çalışma aralığı içinde bulunan bir derişim değerinde gerçek örnek eklenerek döngüsel voltammogramı alınmış, onun üzerine, yine biyosensörün tespit edilen çalışma aralığı içinde bulunan farklı derişim değerlerinde glikoz çözeltisi eklenerek döngüsel voltammogramları alınmaya devam edilmiştir. Gerçek örnek çalışmaları üç tekrarlı olarak yapılmış, örnekteki glikoz miktarı, standart katma yöntemi uygulanarak hesaplanmıştır.

3.8.8. Enzimatik Olmayan Glikoz Biyosensörünün Kararlılık Çalışması

KGE/p(EDOTBN)/AuNPs biyosensörünün kararlılık testleri optimize edilmiş koşullarda, 0,1 M glikoz çözeltisinden 100 µl alınarak, 5 ml'lik destek elektrolit çözeltisine eklenmesi ile gerçekleştirilmiştir. Çalışma, her hafta, haftanın belirlenen aynı gününde yapılmıştır. Kararlılık çalışması üç tekrarlı olarak gerçekleştirilerek döngüsel voltammogramları kaydedilmiştir.



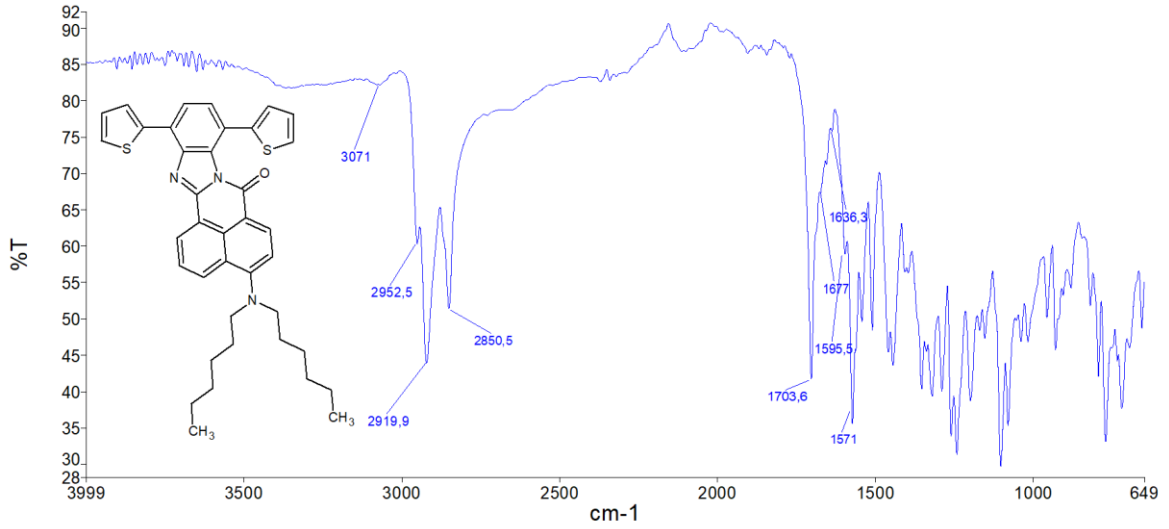
DÖRDÜNCÜ BÖLÜM

ARAŞTIRMA BULGULARI

4.1. Monomerlerin Karakterizasyonu

4.1.1. ThBN Monomerinin Karakterizasyonu

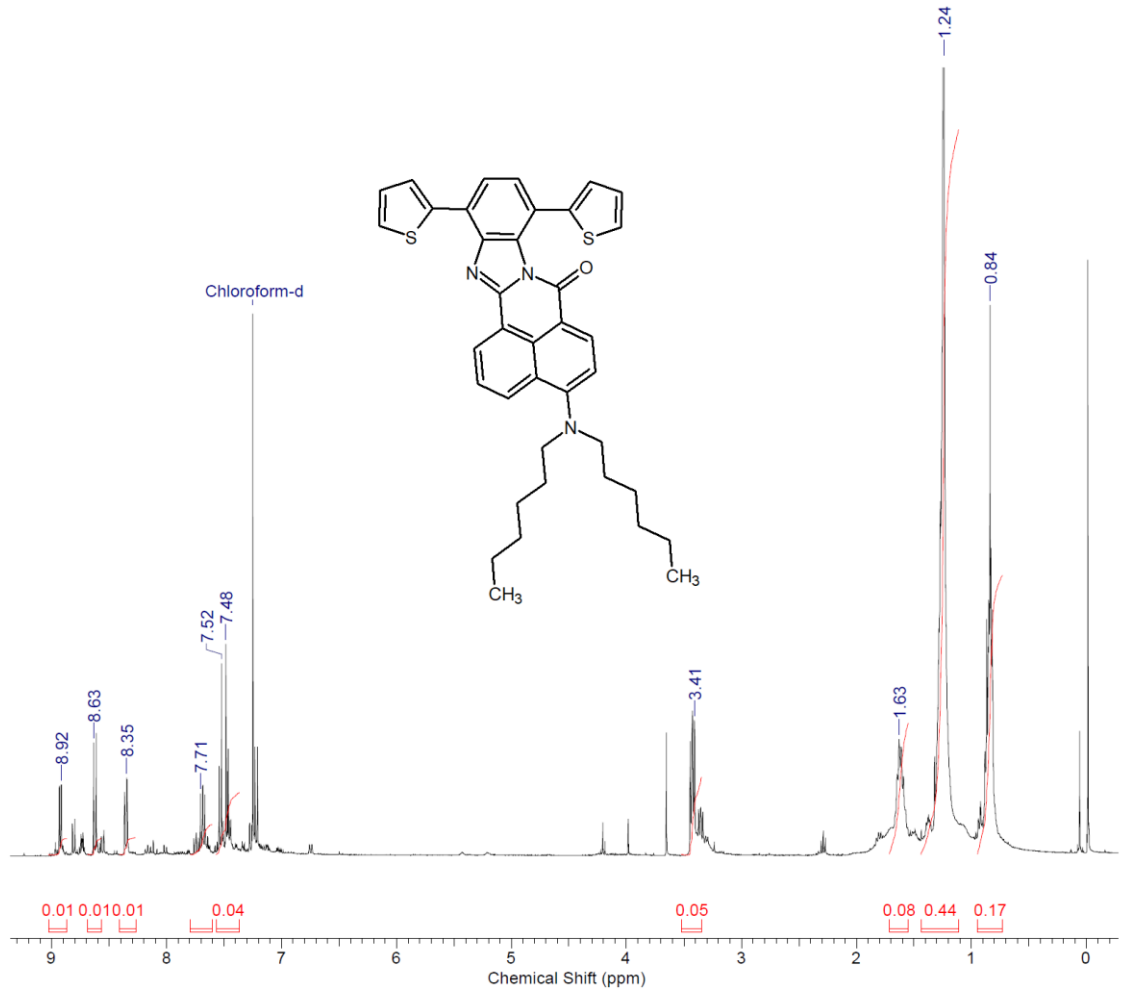
Saf olarak turuncu renkte elde edilen (4-(diheksilamino)9,12-di(tiyofen-2 il)-7H-benzo[de]benzo[4,5]imidazo[2,1-a]izokunolin-7- one) (ThBN) monomerinin Fourier dönüşümlü kızılötesi spektrometresi ile analizi sonucunda elde edilen grafik Şekil 28’de verilmiştir.



Şekil 28. ThBN monomerinin IR spektrumu

FT-IR (cm⁻¹): (C-H aromatic) 3071, (C-H aliphatic) 2952, 2919, 2850; (C=O) 1707; (C=N) 1636; (C=C fenil) 1595, 1571.

ThBN monomeri hakkında yapısal bir bilgi edinmek için kullanılan başlıca tekniklerden biri olan ¹H NMR spektroskopisine ait analiz grafiği Şekil 29 ‘da verilmiştir.



Şekil 29. ThBN monomerinin ¹H NMR spektrumu

¹H NMR (CHCl₃-d): δ ppm, δ 8.92(1H, Ar-Ha), 8.80-8.73 (1H, Ar-Hb), 8.63(1H, Ar-Hd), 8.35(2H, Ar-He), 8.12- 8.01(1H, Ar-He), 7.66 (2H, S-CH=CH-), 7.51 (1H, N-CH=CH-), 7.47(2H, S-C=CH-), 7.27(Kloroform-d), 7.25(2H, S-CH=CH-), 3.41(4H, N-CH₂-), 1.63 (4H, N-CH₂-CH₂), 1.24(12H, N-CH₂-CH₂-CH₂-CH₂-CH₃), 0.83(6H, -CH₃), 0.06(TMS).

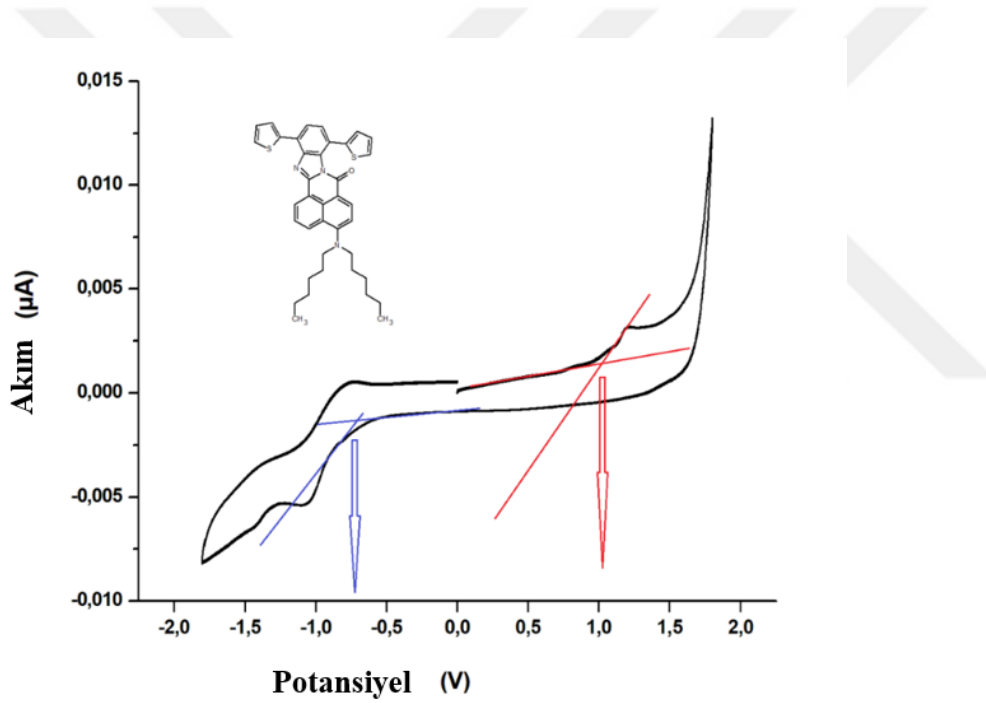
ThBN monomerinin ¹H-NMR sonucuna göre, aromatik yapıdaki 13 proton, 8,92 ile 7,25 ppm arasında gözlenmiştir. N-CH₂ ve N-CH₂-CH₂ için alifatik protonlar sırasıyla 3,41 ve 1,63 ppm'de 4 proton olarak gözlenirken, N-CH₂-CH₂-CH₂-CH₂-CH₃ için 12 protonla 1,24 ppm'de gözlenmiştir. Alifatik metil protonları ise, 0,84 ppm'de 6 proton olarak gözlenmiştir. 0,06 ppm değerinde olan pik, TMS (tetrametil silan) referans pikidir. Elde edilen bu sonuçlar, ThBN monomerinin başarılı bir şekilde sentezlendiğini göstermektedir.

Yükseltgenebilen ve/veya indirgenebilen elektroaktif organik madde olan ThBN monomerinin 0,1 M (1:1) ACN-DCM LiClO₄ çözeltisi içinde, -1,8- +1,8V potansiyel aralığında elde edilen akım şiddeti-potansiyel eğrisi (voltammogram) Şekil 30'da verilmiştir. Bu voltammogram incelenerek, ThBN monomerinin HOMO ve LUMO değerleri bulunarak, bant boşluğu değeri -1,8 olarak hesaplanmıştır.

$$E_{\text{onset(red)}} = -0,75\text{V}$$

$$E_{\text{onset(ox)}} = 1,05\text{ V}$$

$$E_g = -1,8\text{ eV}$$

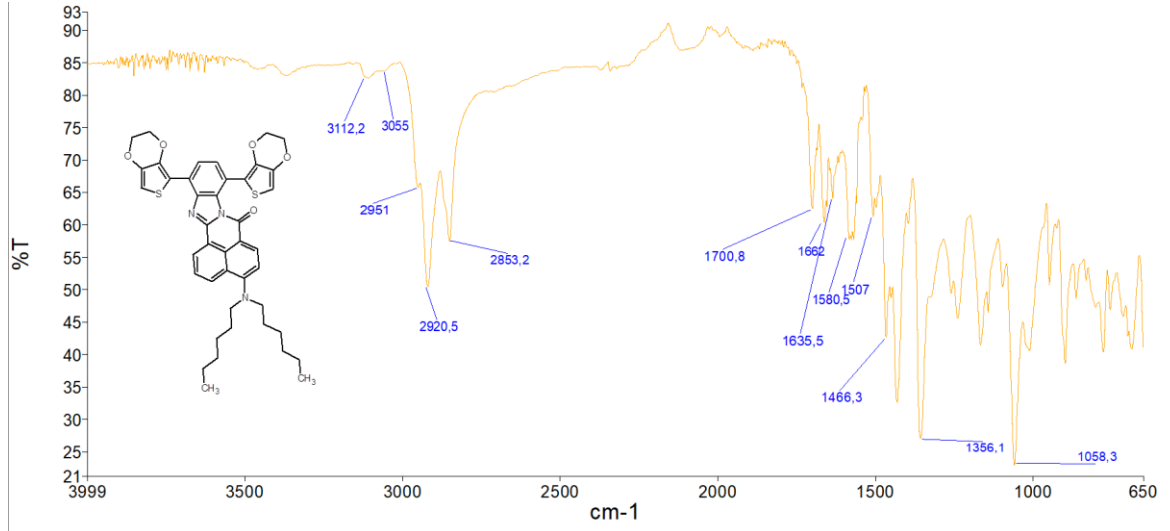


Şekil 30. ThBN monomerinin CV voltammogramı

4.1.2. EDOTBN Monomerinin Karakterizasyonu

Koyu kahverengi renkte elde edilen 4-(dihegzilamino)-9,12-bis(2,3-dihidrotyeno[3,4-b][1,4]dioksin-5-yl)-7H-benzo[de]benzo[4,5]imidazo[2,1-a]izoknolin-7-

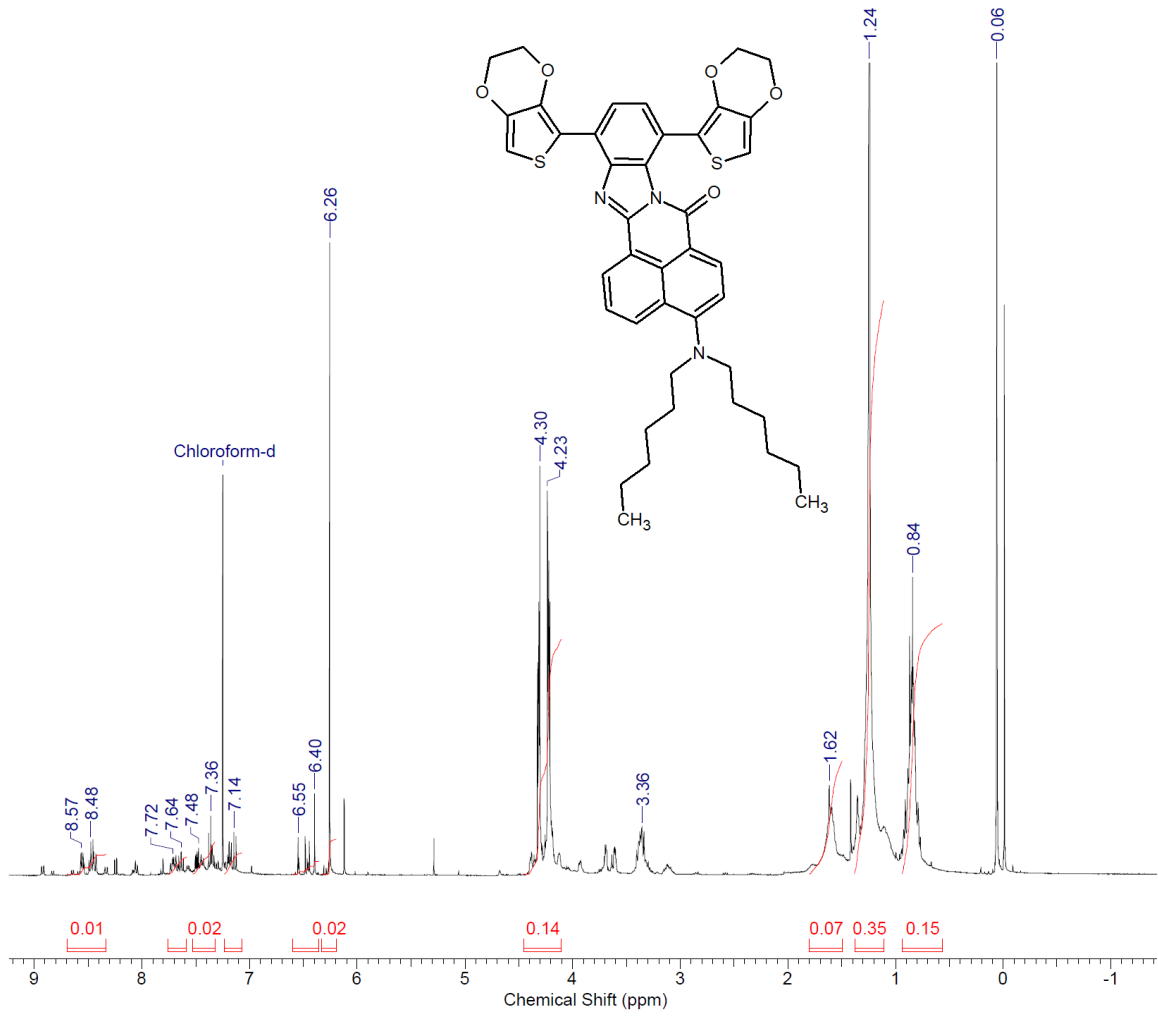
one (EDOTBN) monomerinin, Fourier dönüşümlü kızılötesi spektrometresi ile analizi sonucunda elde edilen grafik Şekil 31’de verilmiştir.



Şekil 31. EDOTBN monomerinin IR spektrumu

FT-IR (cm⁻¹): (C-H aromatic) 3112, 3055 (C-H aliphatic) 2951, 2920, 2853; (C=O) 1700; (C=C) 1662; (C-O) 1058.

EDOTBN monomeri hakkında yapısal bir bilgi edinmek için kullanılan başlıca tekniklerden biri olan ¹H NMR spektroskopisine ait analiz grafiği Şekil 32 ‘de verilmiştir.



Şekil 32. EDOTBN monomerinin ^1H NMR spektrumu

^1H NMR ($\text{CHCl}_3\text{-d}$): δ ppm, δ 8.94(1H, Ar-Ha), 8.57 (1H, Ar-Hb), 8.48(1H, Ar-Hd), 8.30(2H, Ar-He), 8.10- 8.05(1H, Ar-He), 7.72 (2H, S-CH=CH-), 7.64 (1H, N-CH=CH-), 7.48 (2H, S-C=CH-), 7.27(Kloroform-d), 7.36(2H, S-CH=CH-), 6.26 (8H, O-CH₂-CH₂-) 3.36(4H, N-CH₂-), 1.62 (4H, N-CH₂-CH₂), 1.24(12H, N-CH₂-CH₂-CH₂-CH₂-CH₃), 0.84(6H, -CH₃), 0.06 (TMS).

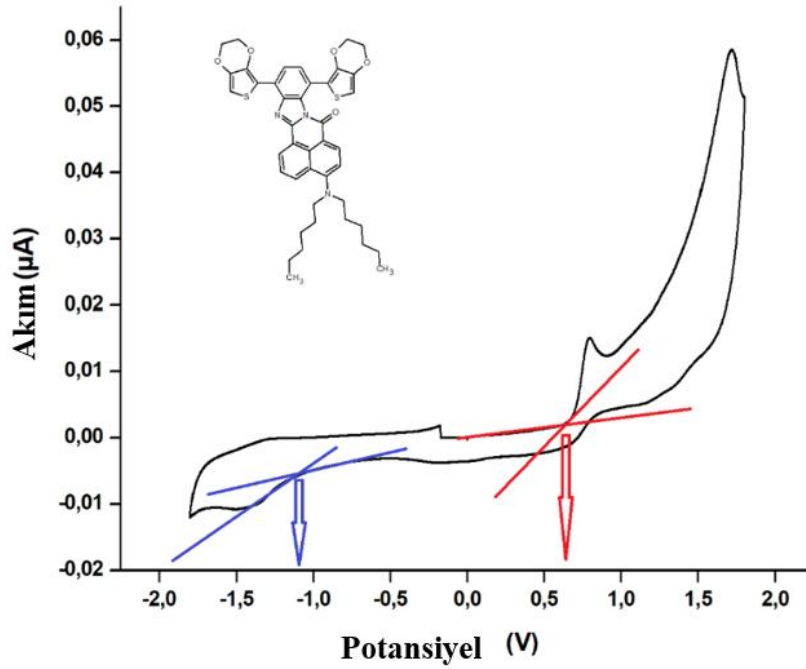
EDOTBN monomerinin ^1H -NMR sonucuna göre, aromatik yapıdaki 13 proton, 8,94 ile 7,36 ppm arasında gözlenmiştir. N-CH₂ ve N-CH₂-CH₂ için alifatik protonlar sırasıyla 3,36 ve 1,62 ppm'de 4 proton olarak gözlenirken, N-CH₂-CH₂-CH₂-CH₂-CH₃ için 12 protonla 1,24 ppm'de gözlenmiştir. Alifatik metil protonları ise, 0,84 ppm'de 6 proton olarak gözlenmiştir. O-CH₂-CH₂ için 8 protonla 6.26 ppm'de gözlenmiştir. 0,06 ppm değerinde olan pik, TMS (tetrametil silan) referans pikidir. Elde edilen bu sonuçlar, EDOTBN monomerinin başarılı bir şekilde sentezlendiğini göstermektedir.

Yükseltgenen ve/veya indirgenen elektroaktif organik madde olan EDOTBN monomerinin 0,1 M (1:1) ACN-DCM LiClO₄ çözeltisi içinde, -1,8- +1,8V potansiyel aralığında elde edilen akım şiddeti-potansiyel eğrisi (voltammogram) Şekil 33'te verilmiştir. Bu voltammogram incelenerek, EDOTBN monomerinin HOMO ve LUMO değerleri bulunarak, bant boşluğu değeri -1,8 olarak bulunmuştur.

$$E_{\text{onset(red)}} = -1,1\text{V}$$

$$E_{\text{onset(ox)}} = 0,65\text{V}$$

$$E_g = -1,75\text{ eV}$$

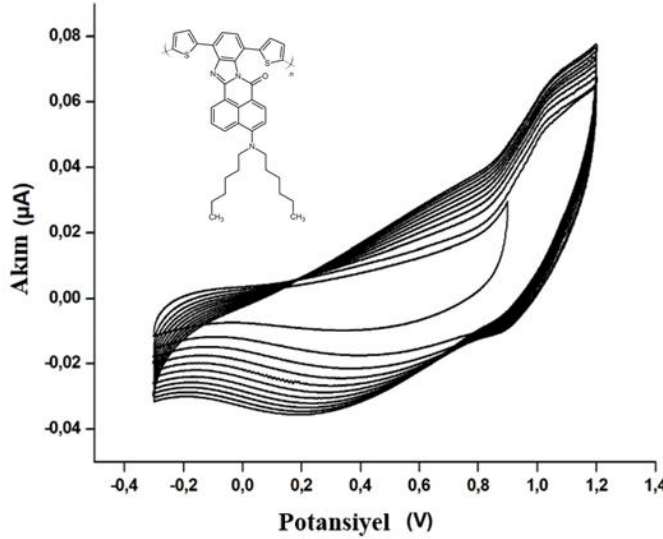


Şekil 33. EDOTBN monomerinin CV voltammogramı

4.2. ThBN Polimer Tabanlı Elektrokimyasal Glikoz Biyosensörü Çalışmaları

4.2.1. ThBN Polimerinin KGE Yüzeyinde Elektrokimyasal Sentezi

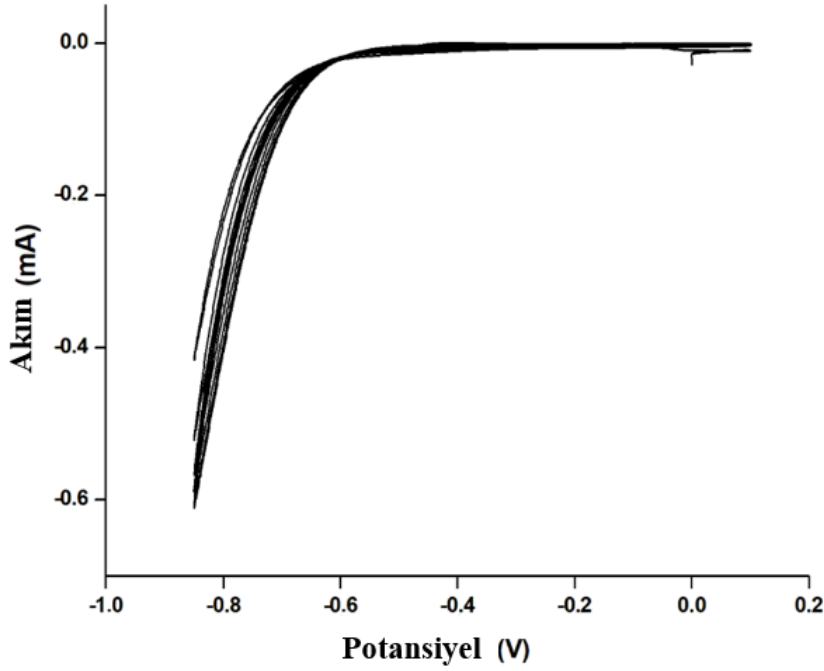
ThBN monomeri, KGE yüzey üzerinde elektropolimerizasyon yolu ile polimerleştirilmiştir. Elektropolimerizasyon işlemi, üçlü elektrot sistemi ile 0,1 M (1:1) ACN-DCM LiClO₄ çözeltisi içinde gerçekleştirilmiştir. Karşıt elektrot olarak Pt tel, yardımcı elektrot olarak Ag/Ag⁺ kullanılmıştır. Bu işleme başlamadan, 1x10⁻³ mM olacak şekilde ThBN monomeri eklenmiş elektrolit çözeltisinden 2 dk boyunca argon gazı geçirilmiştir. Döngüsel voltammogramlar, 100mV/s tarama hızında, -0,3- +1,2 V aralığında gerçekleştirilmiştir. ThBN monomerinin elektropolimerizasyonuna ait döngüsel voltammogramlar Şekil 34'te verilmiştir. İlk döngüden son döngüye kadar artış gösteren anodik ve katodik akımların artması, ThBN monomerinin KGE yüzeyinde polimerleşerek biriktiğinin göstergesidir.



Şekil 34. KGE yüzeyi üzerine ThBN monomerinin elektropolimerizasyonu (0,1 M (1:1) DCM-ACN LiClO₄, 100 mV/s)

4.2.2. AuNP'lerin KGE Yüzeyine Biriktirilmesi

AuNP'lerin KGE/p(ThBN) yüzeyi üzerine modifiye işlemi, elektrobiriktirme yöntemi ile yapılmıştır. Polimer ile modifiye edilmiş yalın KGE'nin, 0,2 M Au⁺³ çözeltisi içinde gerçekleştirilmiştir. Çözelti içinden 2 dk boyunca argon gazı geçirildikten sonra, -0,85- +0,1V aralığında 5 döngü şeklinde döngüsel voltammogramları kaydedilmiştir. İlk döngüden sonra döngüye doğru artan katodik akımlar, AuNP'lerin elektrokimyasal yolla biriktiğinin göstergesidir. AuNP modifikasyonuna ait voltammogramlar Şekil 35'te verilmiştir.



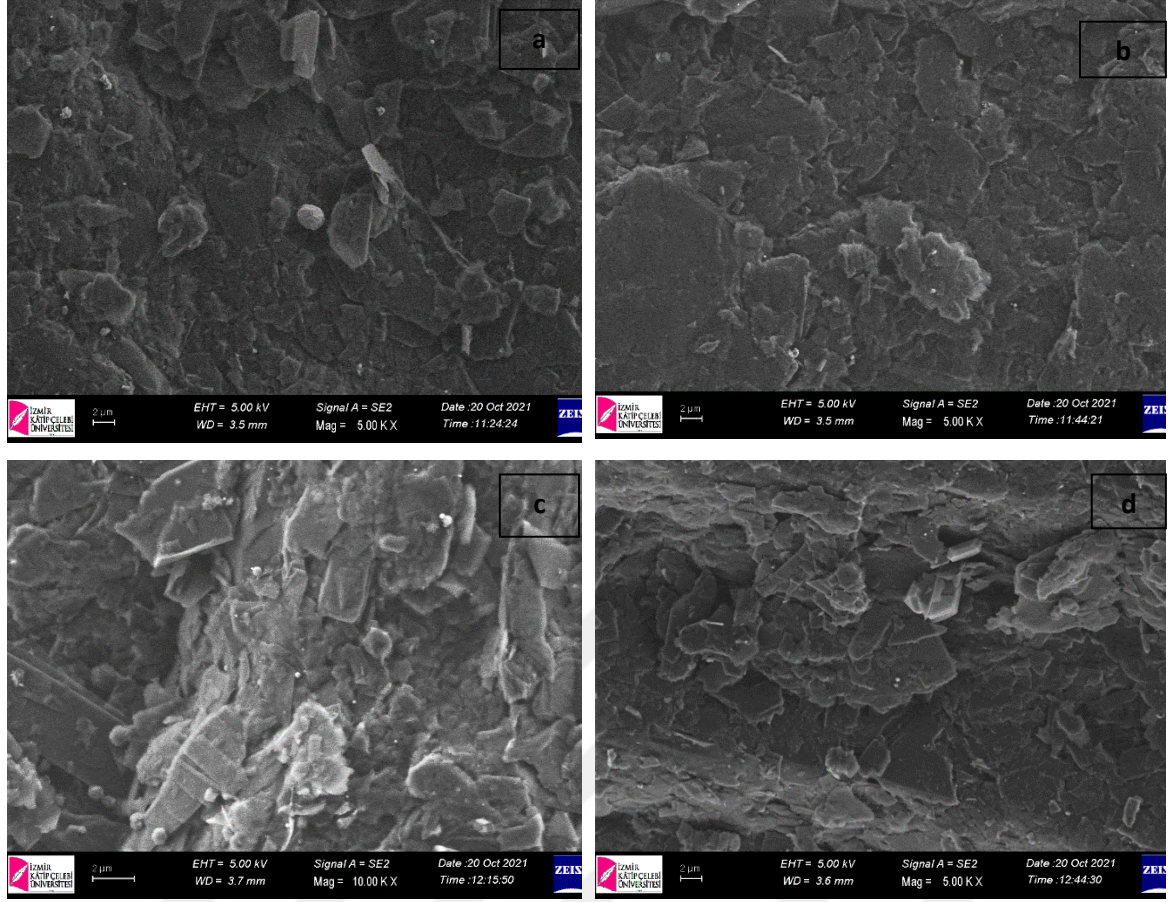
Şekil 35. KGE/p(ThBN) yüzeyine AuNP'lerin biriktirilmesi (pH 7,0 PBS, 50 mV/s)

4.2.3. KGE/p(ThBN)/AuNP Modifiye Elektrotlara GOx Enziminin İmmobilizasyonu

ThBN ve AuNP'ler ile modifiye edilmiş elektrot, %1 GA içeren GOx çözeltisi içine batırılarak, enzimin immobilize olması sağlanmıştır. İmmobilizasyon işlemi, sıcaklığın +4°C olduğu ortamda gerçekleşmiş ve immobilizasyon işlemi sonrasında modifiye edilmiş elektrot aynı ortamda enzim immobilizasyon süresi ile eşit sürede kurumaya bırakılmıştır.

4.2.4. Modifiye Elektrotların Yüzey Morfolojisinin İncelenmesi

Modifiye elektrotların yüzey morfolojilerinin incelenmesi SEM görüntüleri üzerinden yapılmıştır. SEM görüntüleri incelendiğinde, KGE üzerindeki P(ThBN) katmanlarının düzgün olduğu, AuNP'lerin, KGE/p(ThBN) modifiye elektrot üzerinde küreler şeklinde biriktiği gözlenmiştir. GOx immobilizasyonunun etkisi, p(ThBN)/AuNPs/GOx elektrotunun üzerinde AuNP'lerin kaybolduğu ve GOx'un yüzeyde daha küçük katmanlar halinde tutulmuş olmasıyla gözlenmiştir. Bu değerlendirme sonucunda, SEM görüntüleri KGE/p(ThBN)/AuNPs/GOx modifiye elektrotun her aşamasının elektrot yüzeyi üzerine başarılı bir şekilde kaplandığını kanıtlamaktadır.

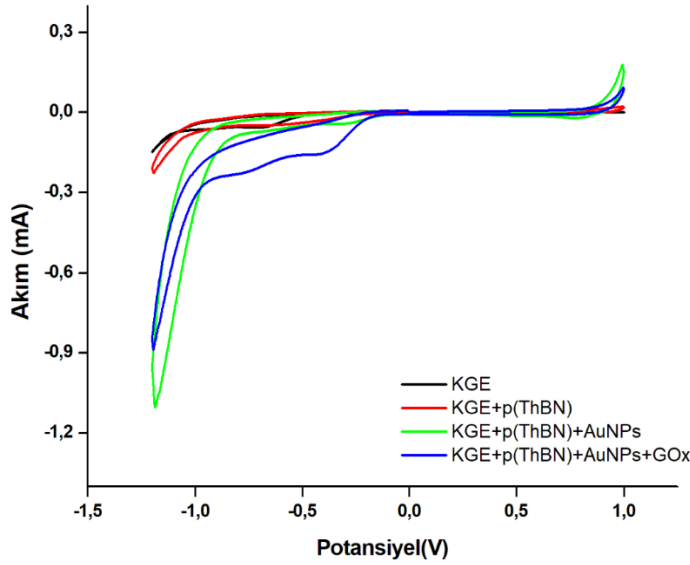


Şekil 36. Sem görüntüleri; KGE (a), KGE/p(ThBN) (b), KGE/P(ThBN)/AuNPs (c) ve KGE/p(ThBN)/AuNPs/GOx (d)

4.2.5. KGE/p(ThBN)/AuNPs/GOx Enzimatik Glikoz Biyosensörünün Glikoza Karşı Elektrokatalitik Yanıtlarının Döngüsel Voltammetri Yöntemi ile İncelenmesi

KGE/p(ThBN)/AuNPs/GOx biyosensörünün her modifiye edilme aşamasının glikoza karşı yanıtının voltammogramları Şekil 37’de gösterilmektedir. Tüm ölçümler üçlü elektrot sisteminde, karşıt elektrotun Pt tel, yardımcı elektrotun Ag/AgCl olduğu, pH 7,0 PBS çözeltisi içinde gerçekleştirilmiştir. Ölçüm öncesinde destek elektrolit çözeltisi 5 dk boyunca O₂ gazı ile doyurulmuştur. 2 mM glikoza karşılık modifiye elektrotların 100 mv/s tarama hızında döngüsel voltammogramları alınmıştır. Yalın KGE’de oksijenin indirgenme piki -0,53 V iken, KGE/p(ThBN)/AuNPs/GOx biyosensörünün -0,48’dir. Aynı zamanda sabit potansiyelde KGE/p(ThBN)/AuNPs/GOx biyosensörünün akım şiddetinin de yüksek

olduğu görülmüştür. Bu sonuçlar, elde edilen biyosensörün glikoza karşı yanıtının olduğunu göstermektedir. Glikoza karşı yanıtı iyileştirmek için, optimizasyon çalışmaları gerçekleştirilmiş olup, optimum yanıt belirlenerek en uygun biyosensör koşulları belirlenmiştir.



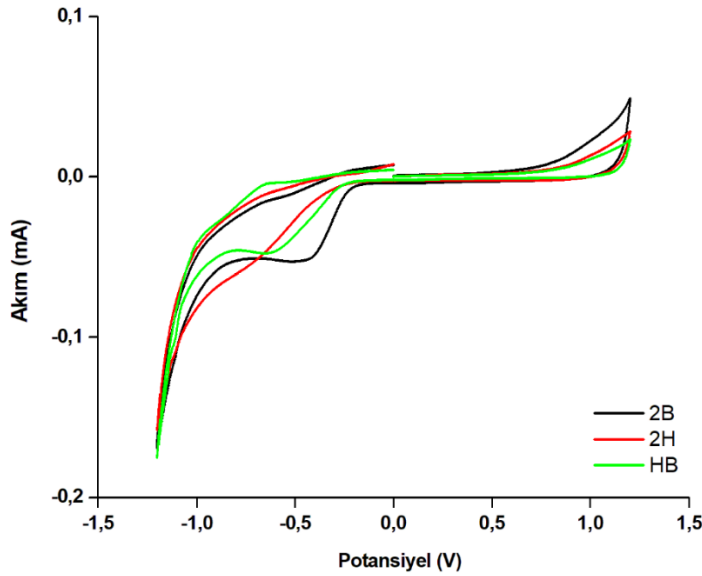
şekil 37. KGE/p(ThBN)/AuNPs/GOx biyosensörünün modifiye adımlarının glikoza karşı yanıtı (pH 7,0 PBS, 100 mV/s)

4.2.6. KGE/p(ThBN)/AuNPs/GOx Enzimatik Glikoz Biyosensörünün Optimizasyon alışmaları

KGE/p(ThBN)/AuNPs/GOx enzimatik glikoz biyosensöründen glikoza karşı optimum yanıtı alabilmek adına, kullanılan KGE elektrotun tipi, destek elektrolit çözeltisinin pH değeri, p(ThBN)'nin elektrot üzerindeki kalınlığı, KGE/p(ThBN)/AuNPs modifiye elektrotun GOx enzimi içinde immobilizasyon süresinin optimizasyon çalışmaları yapılmıştır. Tarama hızının 50 mV/s den başlayarak 500 mV/s'ye kadar alınan döngüsel voltammogramlarından yola çıkılarak akım türü belirlenmiştir.

KGE Elektrot Tipinin Belirlenmesi

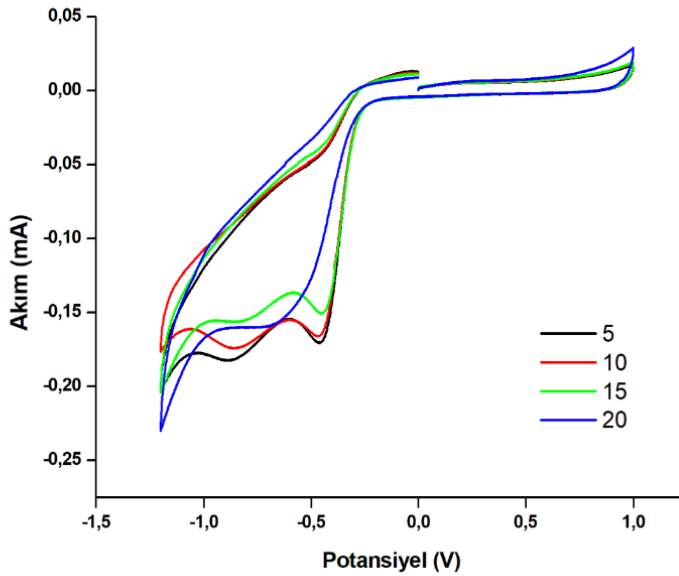
Çalışma elektrotu olarak kullanılan, değişen karbon ve kil içeriklerine göre sınıflandırılmıştır. Bu çalışmada kullanılan kalem grafit elektrotlar, 2H, HB, 2B tip (çap: 0,5 mm, uzunluk: 6,0 cm) kalem uçlarıdır. Gerçekleştirilen çalışmalar, optimize edilecek olan uç tipleri üzerine 5 döngü p(ThBN) modifiye edilmiş ve 30 dk GOx enzimi ile immobilize edilerek, 30 dk boyunca kurutulacak şekilde pH 7,0 PBS çözeltisi içinde gerçekleştirilmiştir. Şekil 38'den de görülmektedir ki, karbon içeriği daha yüksek olan 2B tip ucun üçlü elektrot sisteminde PBS destek elektrolit çözeltisi içinde O₂'nin indirgenmesine bağlı olarak, KGE/p(ThBN)/AuNPs/GOx biyosensörünün 0,2 mM glikoza karşı göstermiş olduğu -0,48V potansiyeldeki akım şiddeti en yüksektir. Daha sonra yapılan optimizasyon çalışmalarının tümünde, çalışma elektrotu olarak 2B tip kalem ucu kullanılmıştır.



Şekil 38. KGE/p(ThBN)/AuNPs/GOx biyosensörünün farklı uç tipleri için glikoza karşı yanıtı (pH 7,0 PBS, 100 mV/s)

ThBN Polimerinin Elektrot Üzerindeki Kalınlığı

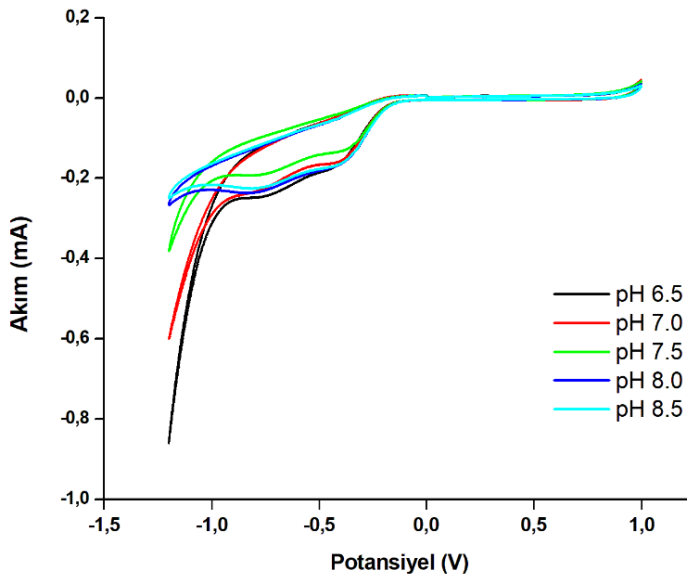
Elektrot üzerinde ThBN polimerinin kalınlığı, ThBN monomerinin çalışma elektrotu üzerinde farklı döngü sayılarında elektropolimerizasyonu ile değişmektedir. Optimum kalınlık belirlemede, 2B tip çalışma elektrotları üzerine 5, 10, 15, 20 döngü ThBN monomeri elektropolimerizasyonu yapılmıştır. Modifiye elektrotlar 30 dk GOx enzimi ile immobilize edilerek, 30 dk boyunca kurutulmuştur. Ölçümler, 5 dk boyunca O₂ gazı ile doyurulmuş pH 7,0 PBS çözeltisi içinde gerçekleştirilmiştir. O₂'nin indirgenmesine bağlı olarak, ThBN monomerinin 5 döngü şeklinde gerçekleştirilen elektropolimerizasyonu ile KGE/p(ThBN)/GOx biyosensörünün 0,2 mM glikoza karşı göstermiş olduğu -0,48V potansiyeldeki akım şiddeti en yüksektir. Daha sonra yapılan optimizasyon çalışmalarının tümünde, ThBN monomerinin elektropolimerizasyonu 5 döngü şeklinde yapılmıştır.



Şekil 39. KGE/p(ThBN)/AuNPs/GOx biyosensörünün farklı p(ThBN) döngü sayısı için glikoza karşı yanıtı (pH 7,0 PBS, 100 mV/s)

Destek Elektrolit Çözeltisinin pH Değerinin Belirlenmesi

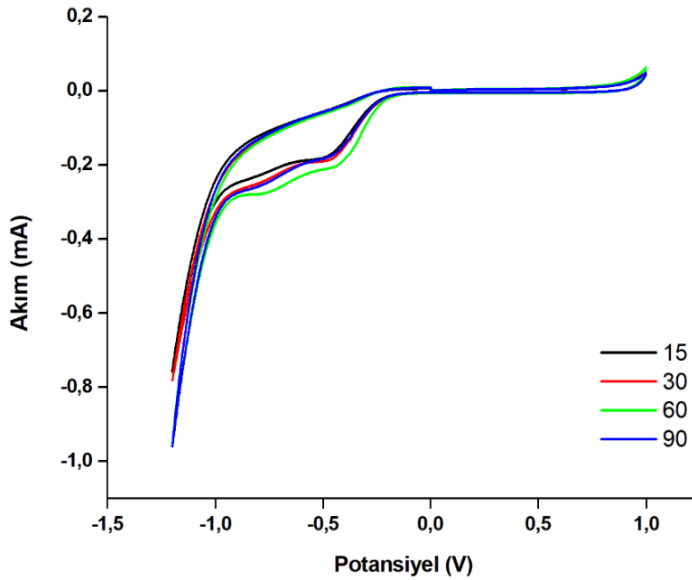
0,1 M PBS destek çözeltisinin pH değerini ayarlamak için 1 M KCl içeren seyreltik HCl çözeltisi kullanılmıştır. İncelenen pH değer aralığı 6,5 ile 8,5 arasında değişmiştir. Gerçekleştirilen çalışmalar, 2B uç tipi üzerine 5 döngü p(ThBN) ve 5 döngü AuNPs modifiye edilmiş, 30 dk GOx enzimi ile immobilize edilerek, 30 dk boyunca kurutulacak şekilde gerçekleştirilmiştir. pH değerinin 6,5 olduğu durumda, O₂'nin indirgenmesine bağlı olarak, KGE/p(ThBN)/AuNPs/GOx biyosensörünün 0,2 mM glikoza karşı göstermiş olduğu -0,48V'daki akış şiddetinin en yüksek olduğu belirlenmiştir. Daha sonra yapılan çalışmalarda, pH 6,5 0,1 M PBS destek elektrolit çözeltisi kullanılmıştır.



Şekil 40. KGE/P(ThBN)/AuNPs/GOx biyosensörünün, PBS çözeltisinin farklı pH değerlerinin glikoza karşı yanıtı (100 mV/S, 0,1 M PBS)

GOx Enziminin İmmobilizasyon Süresi

GOx enziminin immobilizasyon süresini belirlemek için 2B tip çalışma elektrotu, 5 döngü p(ThBN), 5 döngü AuNPs ile modifiye edilmiş, pH 6,5 PBS destek elektrolit çözeltisi içinde ölçümler gerçekleştirilmiştir. Modifiye elektrotların enzim immobilizasyon süresi 15, 30, 60, 90 dk olarak değişmiş ve immobilizasyon süresi kadar kuruma süresi uygulanmıştır. O₂'nin indirgenmesine bağlı olarak, 60 dk GOx enzimi ile immobilize edilmiş KGE/p(ThBN)/AuNPs/GOx biyosensörünün 0,2 mM glikoza karşı göstermiş olduğu -0,48V'daki akış şiddetinin en yüksek olduğu belirlenmiştir.

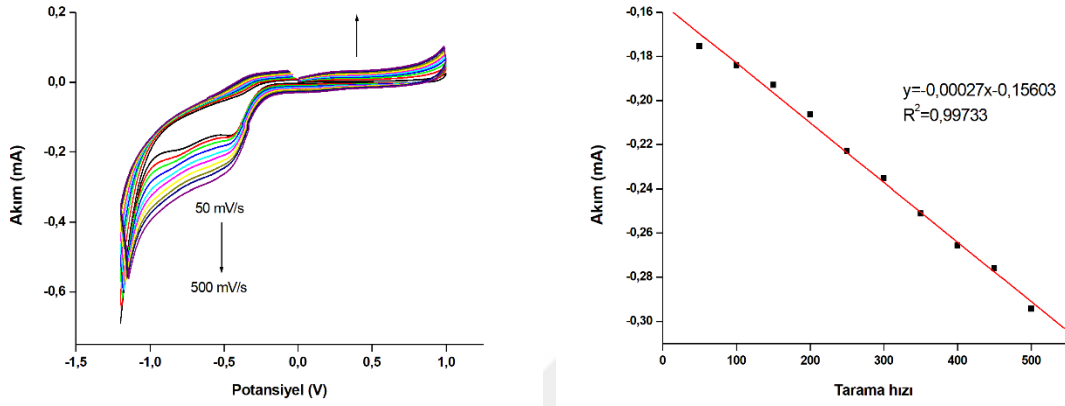


Şekil 41. KGE/p(ThBN)/AuNPs/GOx biyosensörünün GOx enziminde farklı sürelerde immobilizasyonu için glikoza karşı yanıtı (pH 6,5 PBS, 100 mV/s)

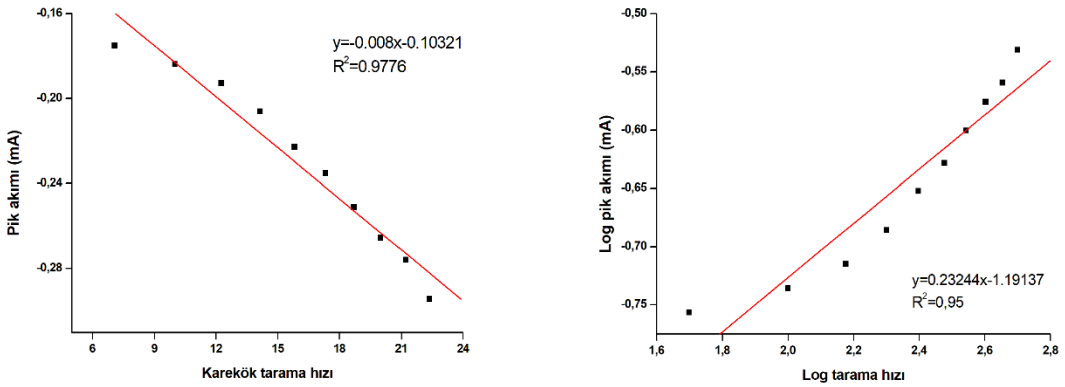
Tarama Hızı

Optimize edilmiş KGE/p(ThBN)/AuNPs/GOx biyosensörünün pH 6,5 PBS çözeltisi içinde 0,2 mM glikoza karşılık tarama hızına karşılık pik akımlarını incelemek için 50mV-500mV arasında değişen tarama hızlarında döngüsel voltammogramları kaydedilmiştir. Elde edilen voltammogramlardan pik akımlarının tarama hızının karekökü ile doğrusal olarak değişmesi ve log pik akımı ve log tarama hızı grafiğinin eğiminin 0,75'ten küçük olması

akımın difüzyon kontrollü olduğunu göstermektedir. Difüzyon kontrollü akış türleri için normal teknikler kullanılır.



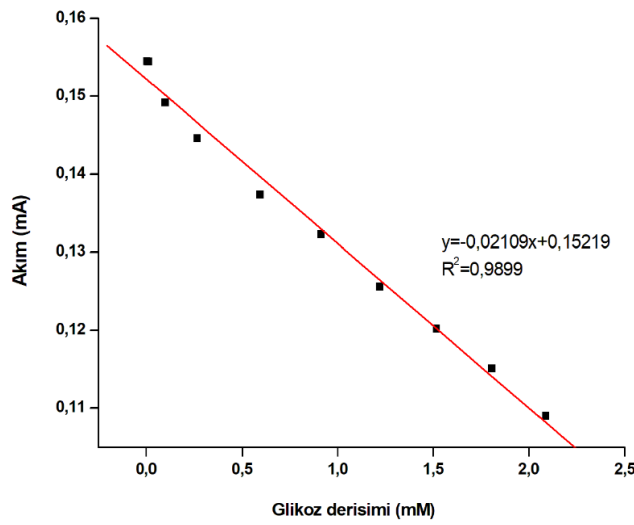
Şekil 42. KGE/p(ThBN)/AuNPs/GOx biyosensörünün değişen tarama hızları için glikoza karşı yanıtı (a) ve tarama hızına karşı akım grafiği (pH 6,5 PBS)



Şekil 43. KGE/p(ThBN)/AuNPs/GOx biyosensörünün karekök tarama hızına karşı pik akımı (a) ve log tarama hızına karşı log pik akımı (b) grafikleri (pH 6,5 PBS)

4.2.7. KGE/p(ThBN)/AuNPs/GOx Enzimatik Glikoz Biyosensörünün Çalışma Aralığının Belirlenmesi

KGE/p(ThBN)/AuNPs/GOx biyosensörünün optimizasyon işlemleri sonrasında (1×10^{-10} M, 0,1 M) aralığındaki glikoz derişimlerinde pH 6,5 PBS destek elektrolit çözeltisi içinde, -1,2- +1,0V aralığında döngüsel voltammogramları alınmıştır. Döngüsel voltammogramlardan -0,48 V potansiyele karşılık alınan pik akım değerleri grafiğe geçirilerek ile, biyosensörün çalışma aralığı oluşturulmuştur. KGE/p(ThBN)/AuNPs/GOx biyosensörünün çalışma aralığı $2,975 \times 10^{-3}$ mM – 2,087 mM olarak belirlenmiştir.

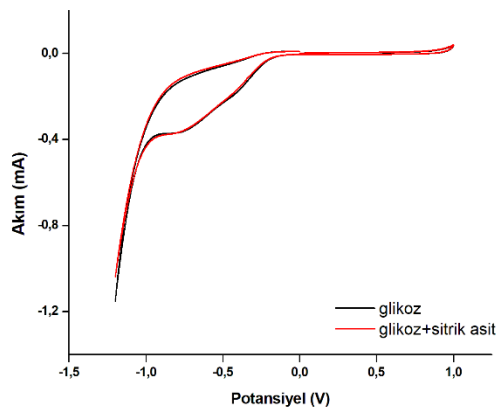
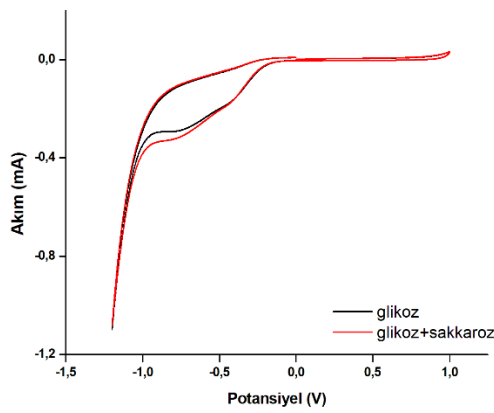
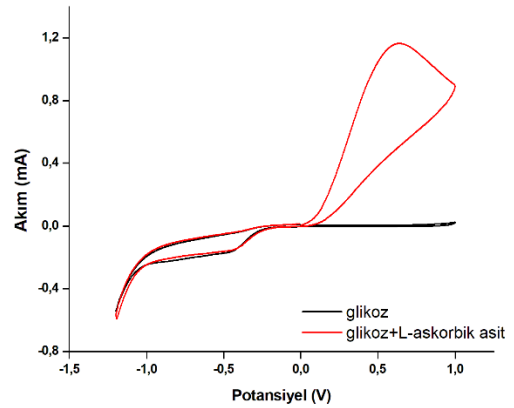
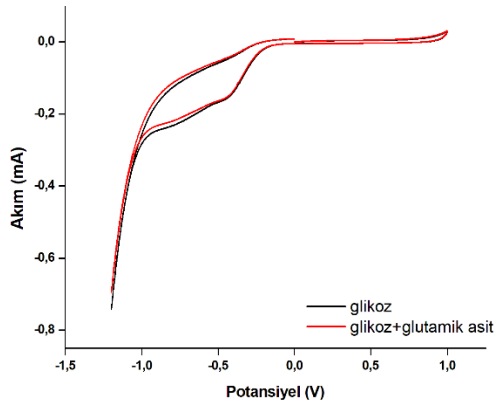
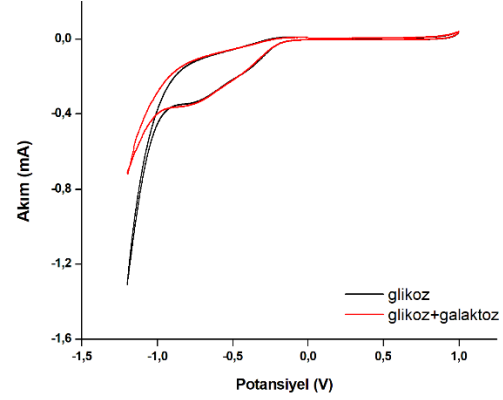
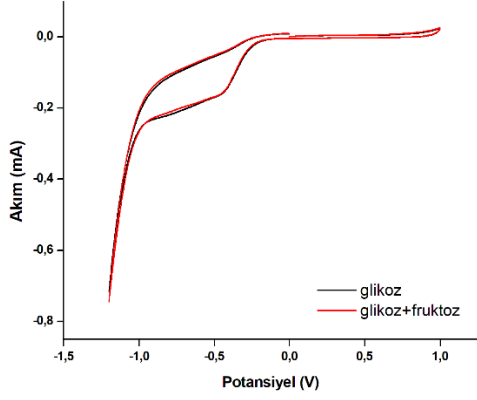


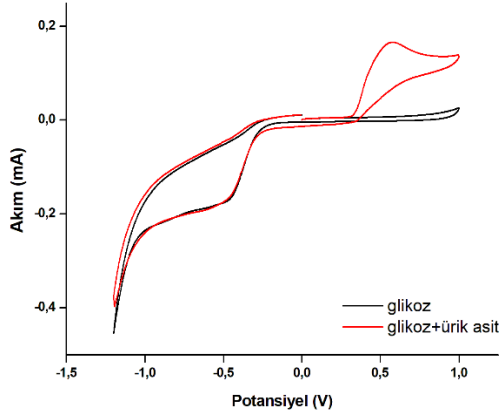
Şekil 44. KGE/p(ThBN)/AuNPs/GOx biyosensörünün çalışma aralığı (pH 6,5 PBS)

4.2.8. KGE/p(ThBN)/AuNPs/GOx Enzimatik Glikoz Biyosensörünün Girişim Çalışmaları

KGE/p(ThBN)/AuNPs/GOx biyosensörünün girişim çalışmaları, üçlü elektrot sistemi ile, O₂ ile doyurulmuş pH 6,5 PBS çözeltisi içinde gerçekleştirilmiştir. 2 mM glikoz çözeltisine karşı girişim çalışmalarında 1:100 oranında olacak şekilde girişimci maddeler kullanılmıştır. Kullanılan girişimci maddeler fruktoz, galaktoz, L-glutamik asit, L- askorbik asit, sakkaroz, sitrik asit ve ürik asittir. Hazırlanan girişimci maddelerin çözeltileri çalışma hücresine eklendikten sonra döngüsel voltammogramları kaydedilmiştir. Döngüsel

voltammogramlar incelendiğinde, L-askorbik asit ve ürik asitin girişim yaptığı belirlenmiştir.

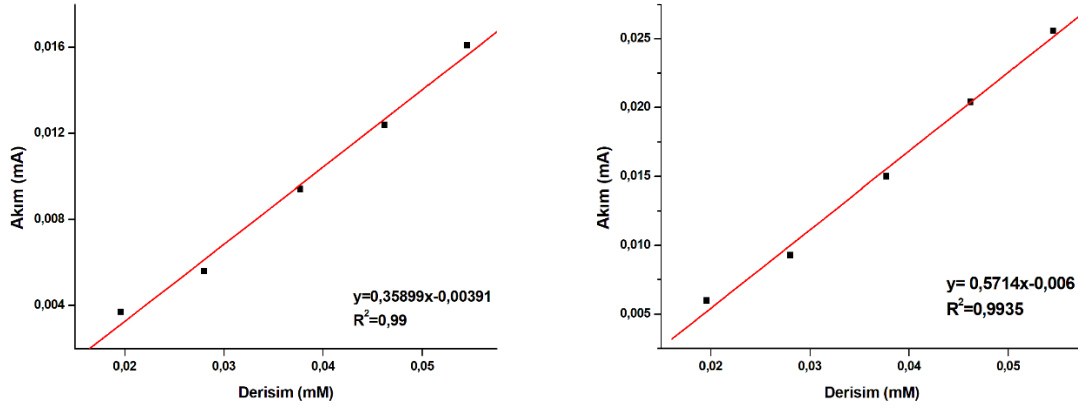




Şekil 45. KGE/p(ThBN)/AuNPs/GOx biyosensörünün girişim çalışmaları a) fruktoz, b) galaktoz, c) glutamik asit, d)L-askorbik asit, e) sakkaroz, f) sitrik asit, g) ürik asit (pH 6,5 PBS)

4.2.9. KGE/p(ThBN)/AuNPs/GOx Enzimatik Glikoz Biyosensörünün Gerçek Örneğe Uygulama Çalışması

Optimize edilmiş KGE/p(ThBN)/AuNPs/GOx biyosensörünün gerçek örnek uygulamalarında dekstroz çözeltisi ve vişne suyu kullanılmıştır. Destek elektrolit çözeltisi içine, biyosensörün tespit edilen çalışma aralığı içinde bulunan bir derişim değerinde gerçek örnek eklenerek döngüsel voltammogramı alınmış, onun üzerine, yine biyosensörün tespit edilen çalışma aralığı içinde bulunan farklı derişim değerlerinde glikoz çözeltisi eklenerek döngüsel voltammogramları alınmaya devam edilmiştir. Gerçek örnek çalışmaları üç tekrarlı olarak yapılmış, örnekteki glikoz miktarı, standart katma yöntemi uygulanarak hesaplanmıştır.



Şekil 46. KGE/p(ThBN)/AuNPs/GOx biyosensörünün gerçek örnek derişimine karşılık akım grafiği (pH 6,5 PBS, 100 mV/s; a: dekstroz b: vişne suyu)

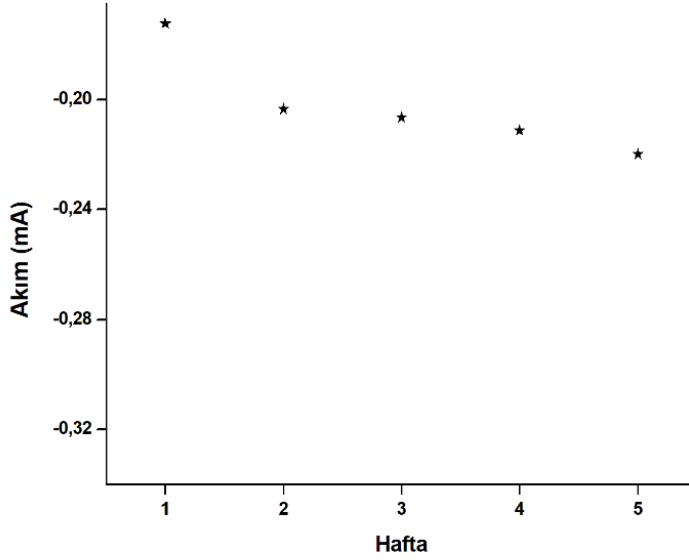
Tablo 1

KGE/p(ThBN)/AuNPs/GOx biyosensörünün gerçek örnek çalışma sonuçları

Gerçek örnek	Hesaplanan derişim değeri (mM)	Standart katma yöntemi ile bulunan derişim değeri (mM)
Dekstroz çözeltisi	0,01	0,0108 ± 0,00018
Vişne suyu	0,01	0,0105 ± 0,0003

4.2.10. KGE/p(ThBN)/AuNPs/GOx Enzimatik Glikoz Biyosensörünün Kararlılık Çalışması

KGE/p(ThBN)/AuNPs/GOx biyosensörünün kararlılık testleri optimize edilmiş koşullarda, 0,1 M glikoz çözeltisinin 100 µl destek elektrolit çözeltisine eklenmesi ile gerçekleştirilmiştir. Testler, her hafta, haftanın belirlenen aynı gününde yapılmıştır. Kararlılık çalışması üç tekrarlı olarak gerçekleştirilerek döngüsel voltammogramları kaydedilmiştir. 5 hafta boyunca KGE/p(ThBN)/AuNPs/GOx biyosensörü kararlılığını sürdürmüştür.



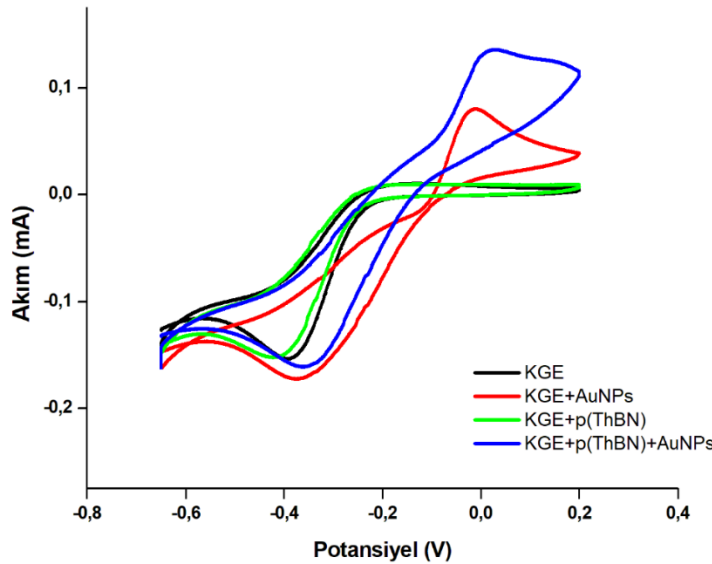
Şekil 47. KGE/p(ThBN)/AuNPs/GOx biyosensörünün kararlılık grafiği

4.2.11. KGE/p(ThBN)/AuNPs/GOx Enzimatik Glikoz Biyosensörünün Teşhis Sınırı (TS), Tayin Altı Sınırı (TAS) ve Hassaslığının Belirlenmesi

GPE/ThBN/AuNPs/GOx biyosensörünün teşhis sınırı, $3.s/m$, tayin alt sınırı ise $10.s/m$ formülleri ile hesaplanmıştır. Formüllerde bulunan s , standart sapmayı, m ise, biyosensörün çalışma aralığı denkleminin eğim değerini göstermektedir. Bu bilgiler doğrultusunda, TS (LOD): $0,003045 \text{ mM}$ ve TAS (LOQ): $0,010151 \text{ mM}$ olarak bulunmuştur. GPE/ThBN/AuNPs/GOx biyosensörünün hassaslığı ise $132,2642 \mu\text{A}/\text{mM}\cdot\text{cm}^2$ 'dir.

4.2.12. KGE/p(ThBN)/AuNPs Enzimatik Olmayan Glikoz Biyosensörünün Glikoza Karşı Elektrokatalitik Yanıtlarının Döngüsel Voltammetri Yöntemi ile İncelenmesi

KGE/p(ThBN)/AuNPs biyosensörünün her modifiye edilme aşamasının glikoza karşı yanıtının voltammogramları Şekil 48’de gösterilmektedir. Tüm ölçümler üçlü elektrot sisteminde, karşıt elektrotun Pt tel, yardımcı elektrotun Ag/AgCl olduğu, 0,1 M NaOH çözeltisi içinde gerçekleştirilmiştir. Ölçüm öncesinde destek elektrolit çözeltisi 5 dk boyunca O₂ gazı ile doyurulmuştur. 0,4 mM glikoza karşılık modifiye elektrotların 100 mv/s tarama hızında döngüsel voltammogramları alınmıştır. 0,01 V sabit potansiyelde yalnız KGE’de glikozun yükseltgenme piki 0,01 V iken, KGE/p(ThBN)/AuNPs biyosensörünün 0,14’tür. Bu sonuçlar, elde edilen biyosensörün glikoza karşı yanıtının olduğunu göstermektedir. Glikoza karşı yanıtı iyileştirmek için, optimizasyon çalışmaları gerçekleştirilmiş olup, optimum yanıt belirlenerek en uygun biyosensör koşulları belirlenmiştir.



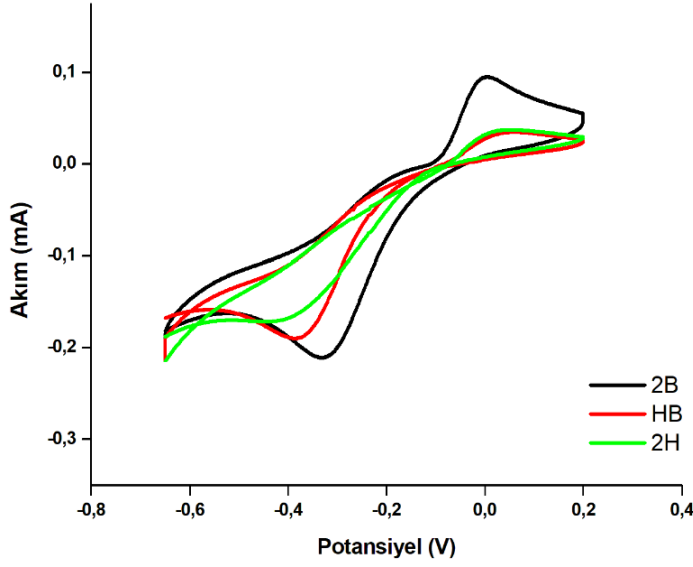
Şekil 48. KGE/p(ThBN)/AuNPs biyosensörünün modifiye adımlarının glikoza karşı yanıtı (0,1 M NaOH, 100 mV/s)

4.2.13. KGE/p(ThBN)/AuNPs Enzimatik Olmayan Glikoz Biyosensörünün Optimizasyon Çalışmaları

KGE/p(ThBN)/AuNPs/GOx enzimatik olmayan glikoz biyosensöründen glikoza karşı optimum yanıtı alabilmek adına, kullanılan KGE elektrotun tipi, p(ThBN)'nin elektrot üzerindeki kalınlığı ve AuNP'lerin farklı döngü sayılarında elektrokimyasal olarak biriktirilmesine ait optimizasyon çalışmaları yapılmıştır. Tarama hızının 50 mV/s den başlayarak 500 mV/s'ye kadar alınan döngüsel voltammogramlarından yola çıkılarak akım türü belirlenmiştir.

KGE Elektrot Tipinin Belirlenmesi

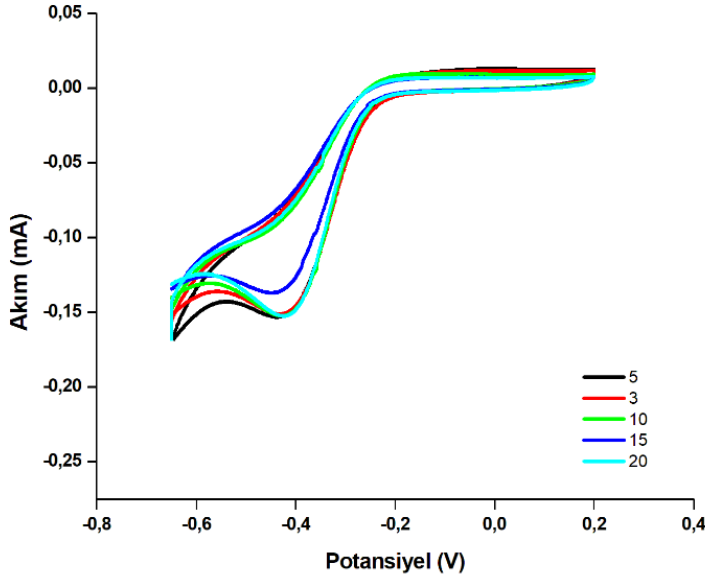
Çalışma elektrotu olarak kullanılan kalem uçlar, değişen karbon ve kil içeriklerine göre sınıflandırılmıştır. Bu çalışmada kullanılan kalem grafit elektrotlar, 2H, HB, 2B tip (çap: 0,5 mm, uzunluk: 6,0 cm) kalem uçlarıdır. Gerçekleştirilen çalışmalar, optimize edilecek olan uç tipleri üzerine 5 döngü p(ThBN) ve 5 döngü AuNPs modifiye edilmiş ve 0,1 M NaOH çözeltisi içinde gerçekleştirilmiştir. Şekil 49'dan de görülmektedir ki, karbon içeriği daha yüksek olan 2B tip ucun üçlü elektrot sisteminde 0,1 M NaOH destek elektrolit çözeltisi içinde glikozun yükseltgenmesine bağlı olarak, KGE/p(ThBN)/AuNPs biyosensörünün 0,4 mM glikoza karşı göstermiş olduğu +0,07 V potansiyeldeki akım şiddeti en yüksektir. Daha sonra yapılan optimizasyon çalışmalarının tümünde, çalışma elektrotu olarak 2B tip kalem ucu kullanılmıştır.



Şekil 49. KGE/p(ThBN)/AuNPs biyosensörünün farklı uç tipleri için glikoza karşı yanıtı (0,1 M NaOH, 100 mV/s)

ThBN Polimerinin Elektrot Üzerindeki Kalınlığı

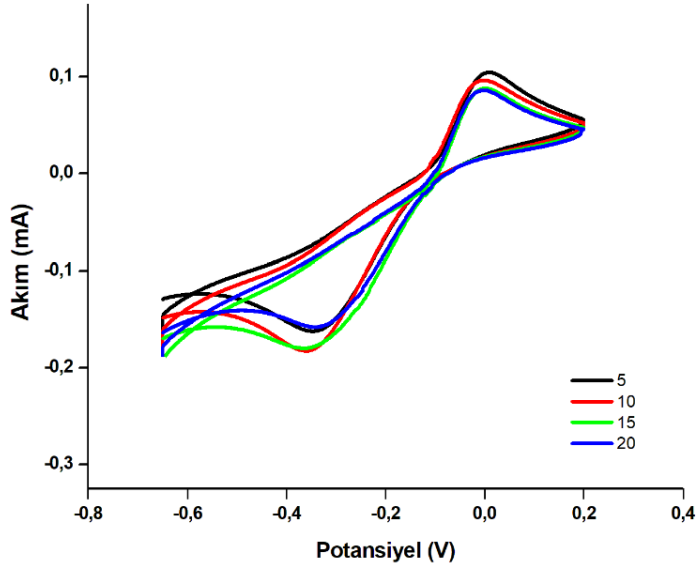
Elektrot üzerinde ThBN polimerinin kalınlığı, ThBN monomerinin çalışma elektrotu üzerinde farklı döngü sayılarında elektropolimerizasyonu ile değişmektedir. Optimum kalınlık belirlemede, 2B tip çalışma elektrotları üzerine 3, 5, 10, 15, 20 döngü ThBN monomeri elektropolimerizasyonu yapılmıştır. Ölçümler, 5 dk boyunca O₂ gazı ile doyurulmuş 0,1 M NaOH çözeltisi içinde gerçekleştirilmiştir. Glikozun yükseltgenmesine bağlı olarak, ThBN monomerinin 5 döngü şeklinde gerçekleştirilen elektropolimerizasyonu ile KGE/p(ThBN) biyosensörünün 0,2 mM glikoza karşı göstermiş olduğu +0,07 V potansiyeldeki akım şiddeti en yüksektir. Daha sonra yapılan optimizasyon çalışmalarının tümünde, ThBN monomerinin elektropolimerizasyonu 5 döngü şeklinde yapılmıştır.



Şekil 50. KGE/p(ThBN)/AuNPs biyosensörünün farklı p(ThBN) döngü sayısı için glikoza karşı yanıtı (0,1 M NaOH, 100 mV/s)

AuNP'lerin Elektrokimyasal Biriktirilmesi

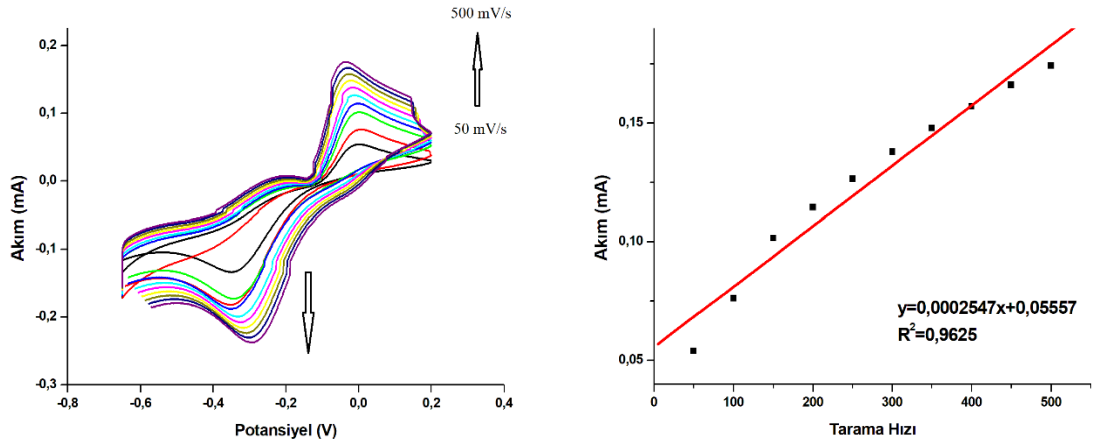
Elektrobiriktirme yöntemi ile AuNP'lerin KGE/p(ThBN) yüzeyi üzerine modifiye işlemi, 0,2 M Au⁺³ çözeltisi içinde gerçekleştirilmiştir. Çözelti içinden 2 dk boyunca argon gazı geçirildikten sonra, -0,85- +0,1V aralığında 5, 10, 15, 20 döngü şeklinde döngüsel voltammogramları kaydedilmiştir. Glikozun yükseltgenmesine bağlı olarak, ThBN monomerinin 5 döngü şeklinde gerçekleştirilen elektropolimerizasyonu ile KGE/p(ThBN) biyosensörünün 0,2 mM glikoza karşı göstermiş olduğu +0,07V potansiyeldeki akım şiddeti en yüksektir. AuNP modifikasyonuna ait voltammogramlar Şekil 51'de verilmiştir.



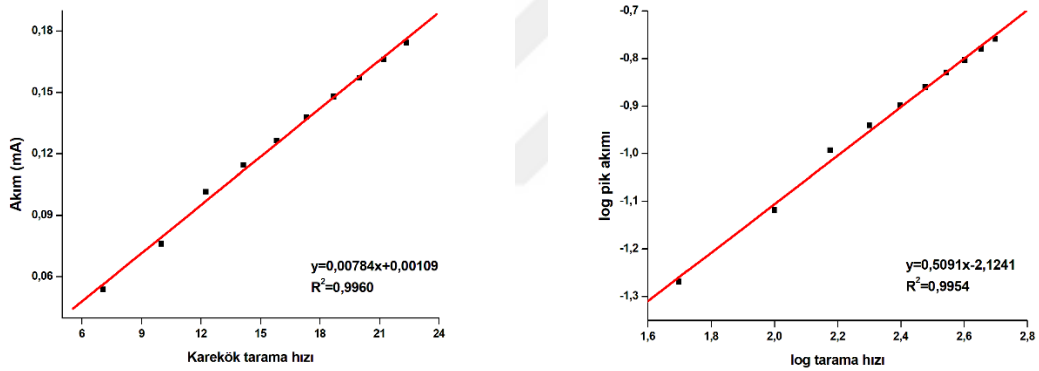
Şekil 51. KGE/p(ThBN)/AuNPs biyosensörünün farklı AuNPs döngü sayısı için glikoza karşı yanıtı (0,1 M NaOH, 100 mV/s)

Tarama Hızı

Optimize edilmiş KGE/p(ThBN)/AuNPs biyosensörünün 0,1 M NaOH çözeltisi içinde 0,2 mM glikoza karşılık tarama hızına karşılık pik akımlarını incelemek için 50mV-500mV arasında değişen tarama hızlarında döngüsel voltammogramları kaydedilmiştir. Elde edilen voltammogramlardan pik akımlarının tarama hızının karekökü ile doğrusal olarak değişmesi ve log pik akımı ve log tarama hızı grafiğinin eğiminin 0,75'ten küçük olması akımın difüzyon kontrollü olduğunu göstermektedir. Difüzyon kontrollü akış türleri için normal teknikler kullanılır.



Şekil 52. KGE/p(ThBN)/AuNPs biyosensörünün değişen tarama hızları için glikoza karşı yanıtı (a) ve tarama hızına karşı akım grafiği (0,1 M NaOH)

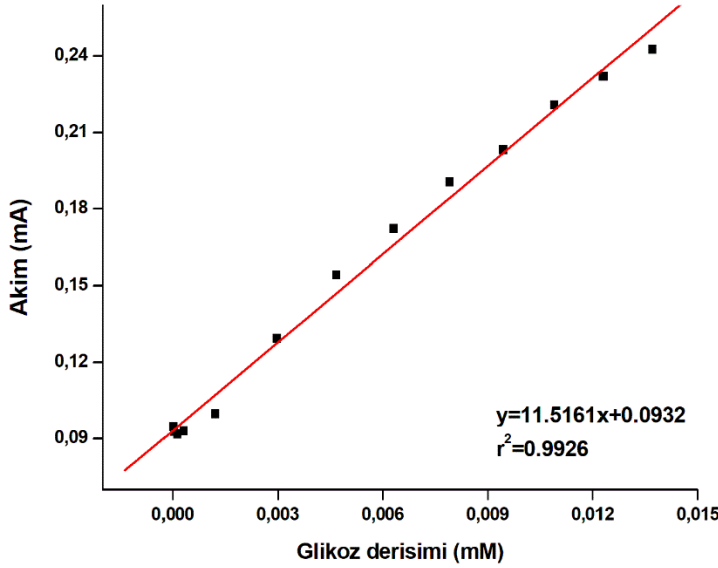


Şekil 53. KGE/p(ThBN)/AuNPs biyosensörünün karekök tarama hızına karşı pik akımı (a) ve log tarama hızına karşı log pik akımı (b) grafikleri (0,1 M NaOH)

4.2.14. KGE/p(ThBN)/AuNPs Enzimatik Olmayan Glikoz Biyosensörünün Çalışma Aralığının Belirlenmesi

KGE/p(ThBN)/AuNPs biyosensörünün optimizasyon işlemleri sonrasında 1×10^{-10} M, 0,1 M aralığındaki glikoz derişimlerinde pH 0,1 M NaOH destek elektrolit çözeltisi içinde, -0,65- +0,2 V aralığında döngüsel voltammogramları alınmıştır. Döngüsel voltammogramlardan +0,07 V potansiyele karşılık alınan pik akım değerleri grafiğe

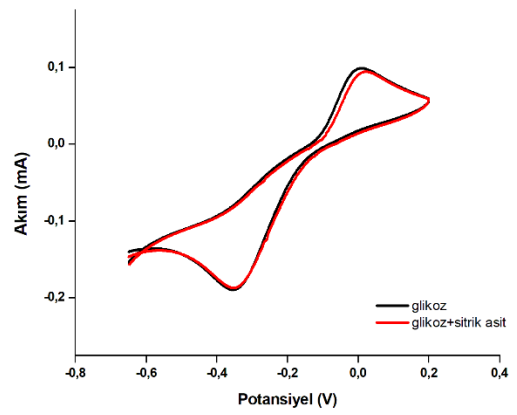
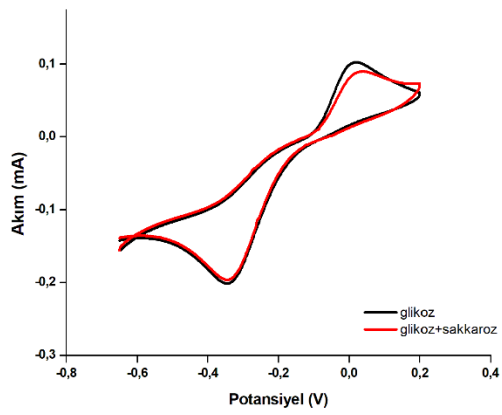
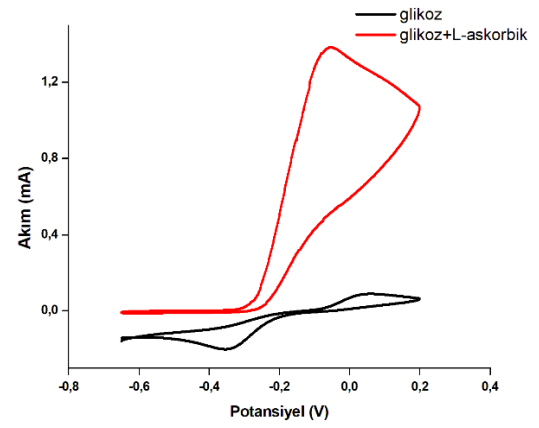
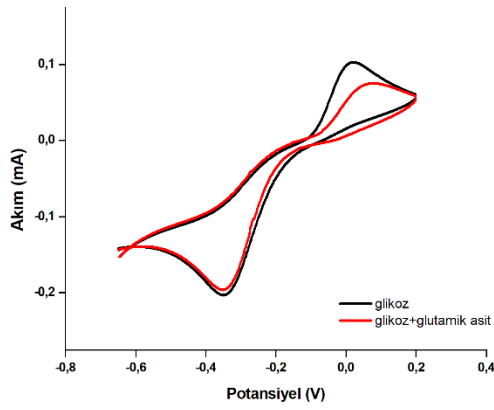
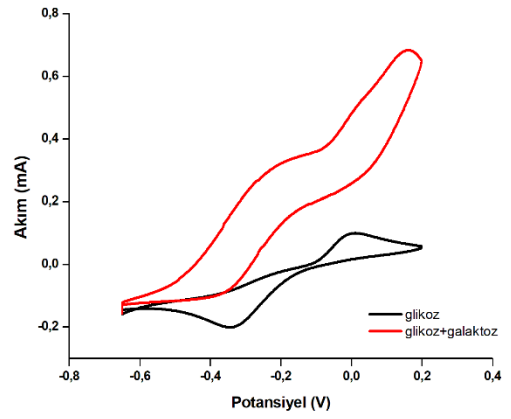
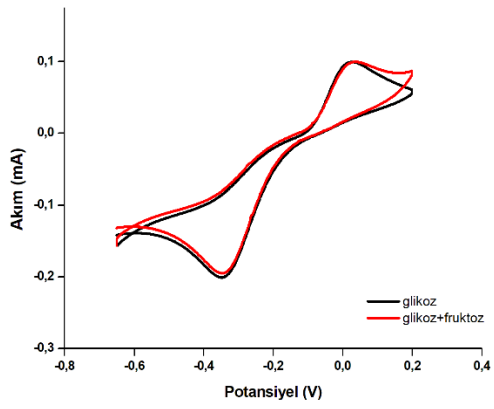
geçirilerek ile biyosensörün çalışma aralığı oluşturulmuştur. KGE/p(ThBN)/AuNPs biyosensörünün çalışma aralığı $1,153 \times 10^{-2} - 13,7$ mM olarak belirlenmiştir.

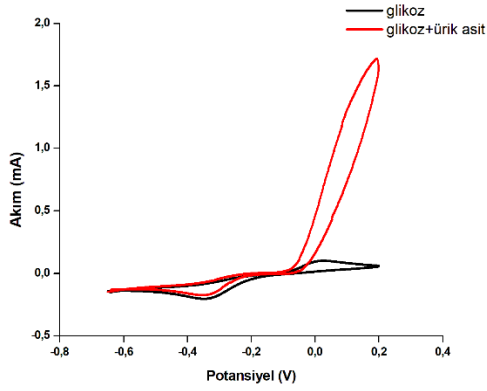


Şekil 54. KGE/p(ThBN)/AuNPs biyosensörünün çalışma aralığı (0,1 M NaOH)

4.2.15. KGE/p(ThBN)/AuNPs Enzimatik Olmayan Glikoz Biyosensörünün Girişim Çalışmaları

KGE/p(ThBN)/AuNPs biyosensörünün girişim çalışmaları, üçlü elektrot sistemi ile, O_2 ile doyurulmuş 0,1 M NaOH çözeltisi içinde gerçekleştirilmiştir. 2 mM glikoz çözeltisine karşı girişim çalışmalarında 1:100 oranında olacak şekilde girişimci maddeler kullanılmıştır. Kullanılan girişimci maddeler fruktoz, galaktoz, L-glutamik asit, L- askorbik asit, sakkaroz, sitrik asit ve ürik asittir. Hazırlanan girişimci maddelerin çözeltileri çalışma hücrelerine eklendikten sonra döngüsel voltammogramları kaydedilmiştir. Döngüsel voltammogramlar incelendiğinde, galaktoz, glutamik asit, L-askorbik asit ve ürik asitin girişim yaptığı belirlenmiştir.

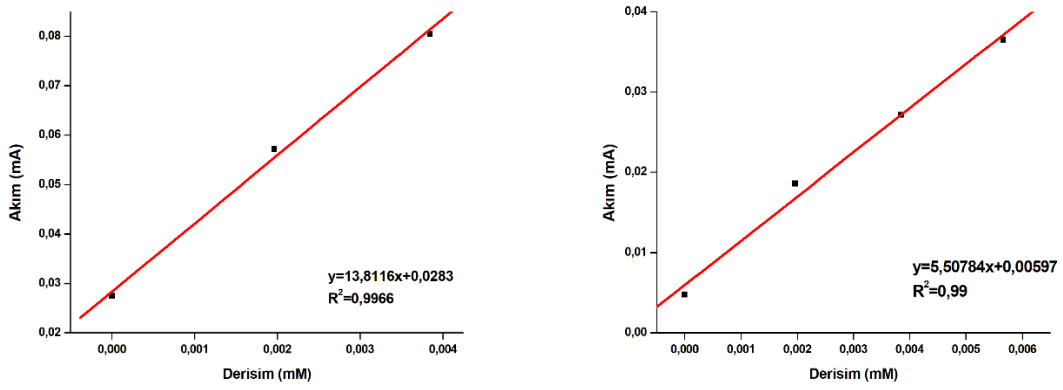




Şekil 55. KGE/p(ThBN)/AuNPs biyosensörünün girişim çalışmaları a) fruktoz, b) galaktoz, c) glutamik asit, d)L-askorbik asit, e) sakkaroz, f) sitrik asit, g) ürik asit (0,1 M NaOH)

4.2.16. KGE/p(ThBN)/AuNPs Enzimatik Olmayan Glikoz Biyosensörünün Gerçek Örneğe Uygulama Çalışmaları

Optimize edilmiş KGE/p(ThBN)/AuNPs biyosensörünün gerçek örnek uygulamalarında dekstroz çözeltisi ve vişne suyu kullanılmıştır. Destek elektrolit çözeltisi içine, biyosensörün tespit edilen çalışma aralığı içinde bulunan bir derişim değerinde gerçek örnek eklenerek döngüsel voltammogramı alınmış, onun üzerine, yine biyosensörün tespit edilen çalışma aralığı içinde bulunan farklı derişim değerlerinde glikoz çözeltisi eklenerek döngüsel voltammogramları alınmaya devam edilmiştir. Gerçek örnek çalışmaları üç tekrarlı olarak yapılmış, örnekteki glikoz miktarı, standart katma yöntemi uygulanarak hesaplanmıştır.



Şekil 56. KGE/p(ThBN)/AuNPs biyosensörünün gerçek örnek derişimine karşılık akım grafiği (0,1 M NaOH, 100 mV/s; a: dekstroz b: vişne suyu)

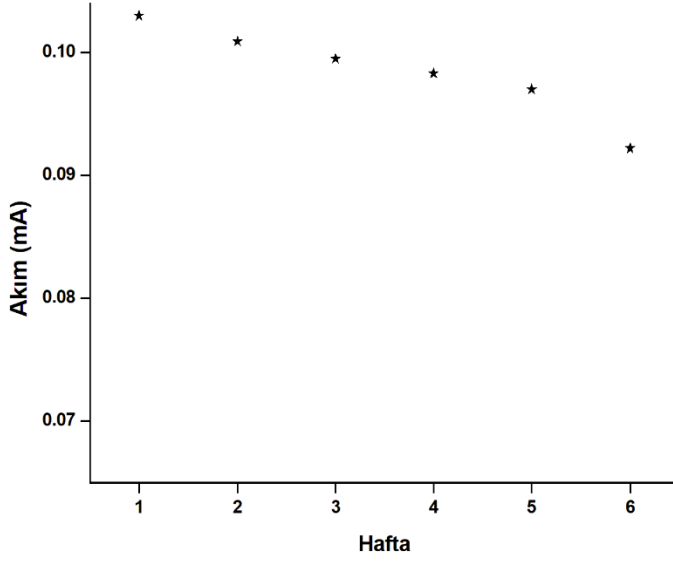
Tablo 2

KGE/p(ThBN)/AuNPs biyosensörünün gerçek örnek çalışma sonuçları

Gerçek örnek	Hesaplanan derişim değeri (mM)	Standart katma yöntemi ile bulunan derişim değeri (mM)
Dekstroz çözeltisi	0,002	0,00204 ± 0,00018
Vişne suyu	0,001	0,0108 ± 0,0003

4.2.17. KGE/p(ThBN)/AuNPs Enzimatik Olmayan Glikoz Biyosensörünün Kararlılık Çalışması

KGE/p(ThBN)/AuNPs biyosensörünün kararlılık testleri optimize edilmiş koşullarda, 0,1 M glikoz çözeltisinden 100 µl alınarak, 5 ml'lik destek elektrolit çözeltisine eklenmesi ile gerçekleştirilmiştir. Testler, her hafta, haftanın belirlenen aynı gününde yapılmıştır. Kararlılık çalışması üç tekrarlı olarak gerçekleştirilerek döngüsel voltammogramları kaydedilmiştir. 6 hafta boyunca KGE/p(ThBN)/AuNPs biyosensörü kararlılığını sürdürmüştür.



Şekil 57. KGE/p(ThBN)/AuNPs biyosensörünün kararlılık grafiği

4.2.18. KGE/p(ThBN)/AuNPs Enzimatik Olmayan Glikoz Biyosensörünün Teşhis Sınırı (TS), Tayin Altı Sınırı (TAS) ve Hassaslığının Belirlenmesi

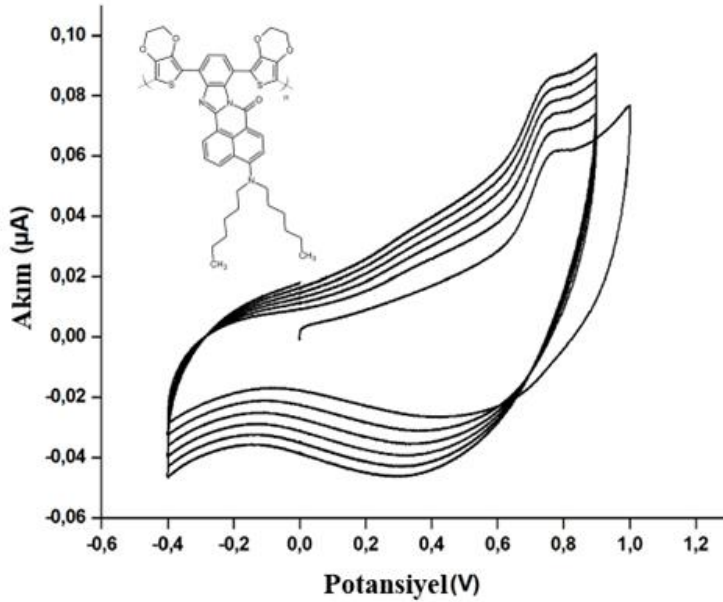
GPE/ThBN/AuNPs biyosensörünün teşhis sınırı, 3.s/m, tayin alt sınırı ise 10.s/m formülleri ile hesaplanmıştır. Formüllerde bulunan s, standart sapmayı, m ise, biyosensörün çalışma aralığı denkleminin eğim değerini göstermektedir. Bu bilgiler doğrultusunda, TS (LOD): 0,004488 mM ve TAS (LOQ): 0,014961 mM olarak bulunmuştur. GPE/ThBN/AuNPs biyosensörünün hassaslığı ise $72,327 \mu\text{A}/\text{mM}\cdot\text{cm}^2$ 'dir.

4.3. EDOTBN Polimer Tabanlı elektrokimyasal Glikoz Biyosensörü Çalışmaları

4.3.1. EDOTBN Polimerinin KGE Yüzeyinde Elektrokimyasal Sentezi

EDOTBN monomeri, KGE yüzey üzerinde elektropolimerizasyon yolu ile polimerleştirilmiştir. Elektropolimerizasyon işlemi, üçlü elektrot sistemi ile 0,1 M (1:1) ACN-DCM LiClO₄ çözeltisi içinde gerçekleştirilmiştir. Karşıt elektrot olarak Pt tel,

yardımcı elektrot olarak Ag/Ag⁺ kullanılmıştır. Elektropolimerizasyon işlemine başlamadan, 1×10^{-3} mM olacak şekilde EDOTBN monomeri eklenmiş elektrolit çözeltisinden 2 dk boyunca argon gazı geçirilmiştir. Döngüsel voltammogramlar, 100mV/s tarama hızında, -0,4- +0,8 V aralığında gerçekleştirilmiştir. EDOTBN monomerinin elektropolimerizasyonuna ait döngüsel voltammogramlar Şekil 58’de verilmiştir. İlk döngüden son döngüye kadar artış gösteren anodik ve katodik akımların artması, EDOTBN monomerinin KGE yüzeyinde polimerleşerek biriktiğinin göstergesidir.

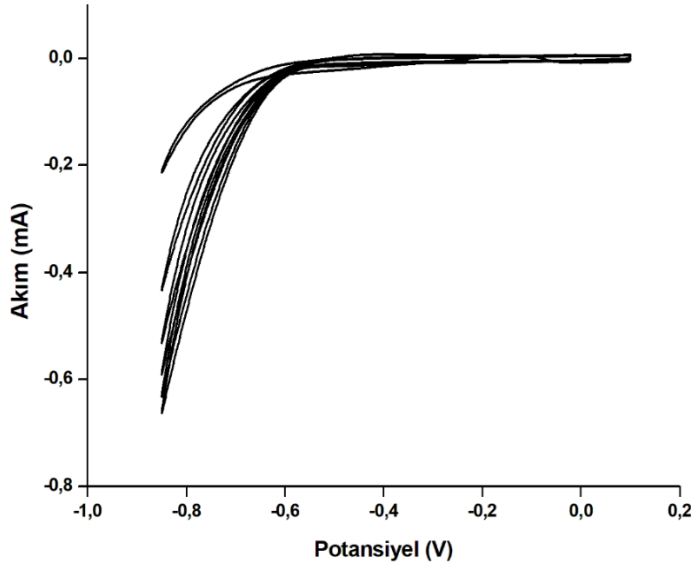


Şekil 58. KGE yüzeyi üzerine EDOTBN monomerinin elektropolimerizasyonu (0,1 M (1:1) DCM-ACN LiClO₄, 100 mV/s)

4.3.2. AuNP’lerin KGE Yüzeyine Biriktirilmesi

AuNP’lerin KGE/p(EDOTBN) yüzeyi üzerine modifiye işlemi, elektrobiriktirme yöntemi ile yapılmıştır. Polimer ile modifiye edilmiş yalın KGE’nin, 0,2 M Au⁺³ çözeltisi içinde gerçekleştirilmiştir. Çözelti içinden 2 dk boyunca argon gazı geçirildikten sonra, -0,85 - +0,1V aralığında 5 döngü şeklinde döngüsel voltammogramları kaydedilmiştir. İlk

döngüden sonra döngüye doğru artan katodik akımlar, AuNP'lerin elektrokimyasal yolla biriktiğinin göstergesidir. AuNP modifikasyonuna ait voltammogramlar Şekil 59'da verilmiştir.



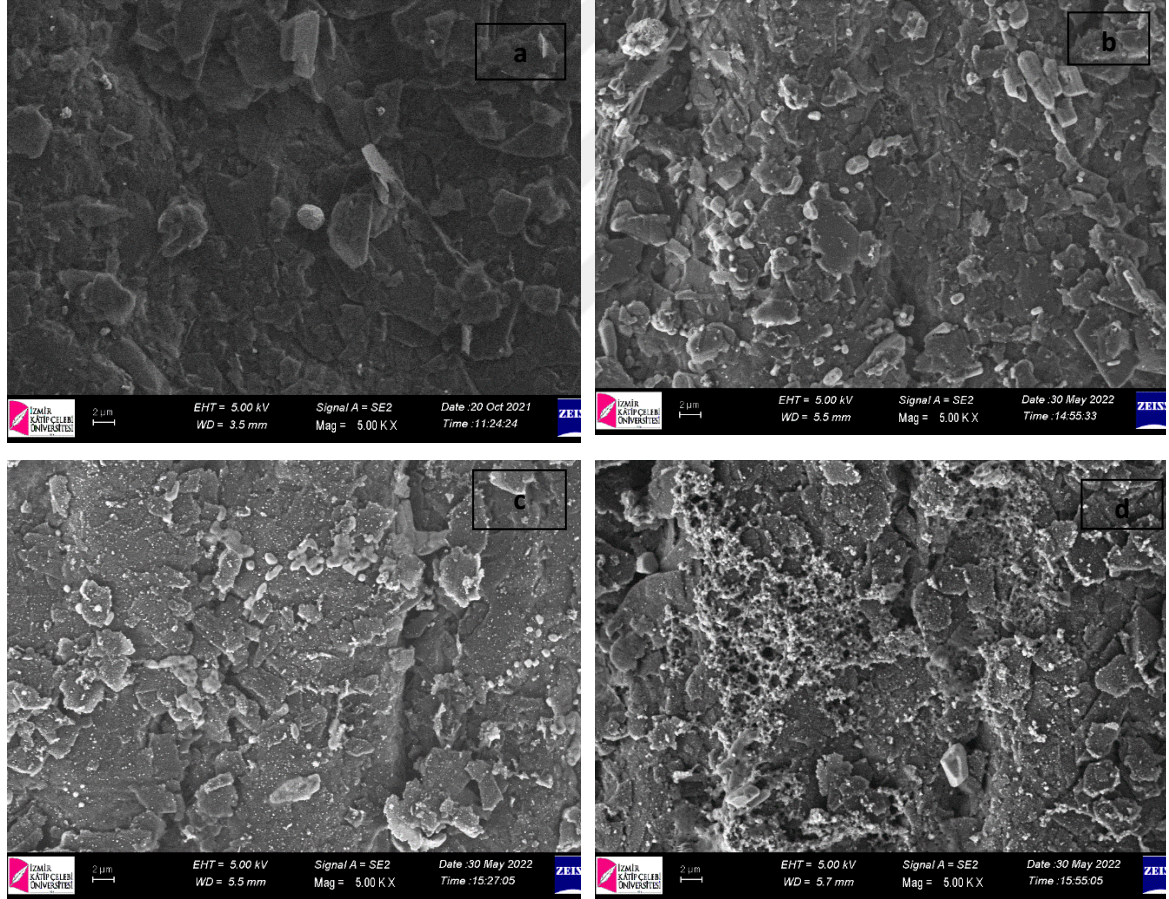
Şekil 59. KGE yüzeyi üzerine EDOTBN monomerinin elektropolimerizasyonu (0,1 M (1:1) DCM-ACN LiClO₄, 100 mV/s)

4.3.3. KGE/p(EDOTBN)/AuNP Modifiye Elektrotlara GOx Enziminin İmmobilizasyonu

EDOTBN ve AuNP'ler ile modifiye edilmiş elektrot, %1 GA içeren GOx çözeltisi içine batırılarak, enzimin immobilize olması sağlanmıştır. İmmobilizasyon işlemi, sıcaklığın +4°C olduğu ortamda gerçekleşmiş ve immobilizasyon işlemi sonrasında modifiye edilmiş elektrot aynı ortamda enzim immobilizasyon süresi ile eşit sürede kurumaya bırakılmıştır.

4.3.4. Modifiye Elektrotların Yüzey Morfolojisinin İncelenmesi

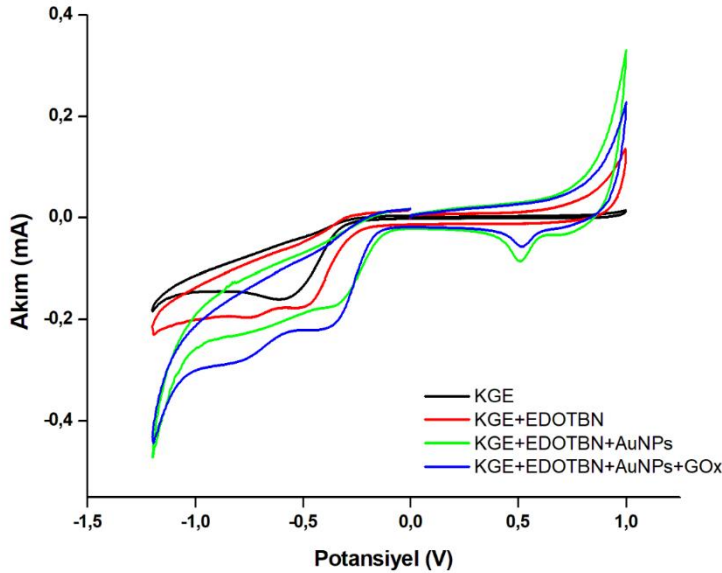
Modifiye elektrotların yüzey morfolojilerinin incelenmesi SEM görüntüleri üzerinden yapılmıştır. SEM görüntüleri incelendiğinde, KGE üzerindeki P(EDOTBN) katmanlarının düzgün olduğu, AuNP'lerin, KGE/p(EDOTBN) modifiye elektrot üzerinde küreler şeklinde biriktiği gözlenmiştir. GOx immobilizasyonunun etkisi, p(EDOTBN)/AuNPs/GOx elektrotunun üzerinde AuNP'lerin kaybolduğu ve GOx'un yüzeyde daha küçük katmanlar halinde tutulmuş olmasıyla gözlenmiştir. Bu değerlendirme sonucunda, SEM görüntüleri KGE/p(EDOTBN)/AuNPs/GOx modifiye elektrotun her aşamasının elektrot yüzeyi üzerine başarılı bir şekilde kaplandığını kanıtlamaktadır.



Şekil 60. Sem görüntüleri; KGE (a), KGE/p(EDOTBN) (b), KGE/P(EDOTBN)/AuNPs (c) ve KGE/p(EDOTBN)/AuNPs/GOx (d)

4.3.5. KGE/p(EDOTBN)/AuNPs/GOx Enzimatik Glikoz Biyosensörünün Glikoza Karşı Elektrokatalitik Yanıtlarının Döngüsel Voltammetri Yöntemi ile İncelenmesi

KGE/p(EDOTBN)/AuNPs/GOx biyosensörünün her modifiye edilme aşamasının glikoza karşı yanıtının voltammogramları Şekil 61’de gösterilmektedir. Tüm ölçümler üçlü elektrot sisteminde, karşıt elektrotun Pt tel, yardımcı elektrotun Ag/AgCl olduğu, pH 7,0 PBS çözeltisi içinde gerçekleştirilmiştir. Ölçüm öncesinde destek elektrolit çözeltisi 5 dk boyunca O₂ gazı ile doyurulmuştur. 0,2 mM glikoza karşılık modifiye elektrotların 100 mv/s tarama hızında döngüsel voltammogramları alınmıştır. Yalın KGE’de oksijenin indirgenme piki -0,51 V iken, KGE/p(EDOTBN)/AuNPs/GOx biyosensörünün -0,48’dir. Aynı zamanda sabit potansiyelde KGE/p(EDOTBN)/AuNPs/GOx biyosensörünün akım şiddetinin de yüksek olduğu görülmüştür. Bu sonuçlar, elde edilen biyosensörün glikoza karşı yanıtının olduğunu göstermektedir. Glikoza karşı yanıtı iyileştirmek için, optimizasyon çalışmaları gerçekleştirilmiş olup, optimum yanıt belirlenerek en uygun biyosensör koşulları belirlenmiştir.



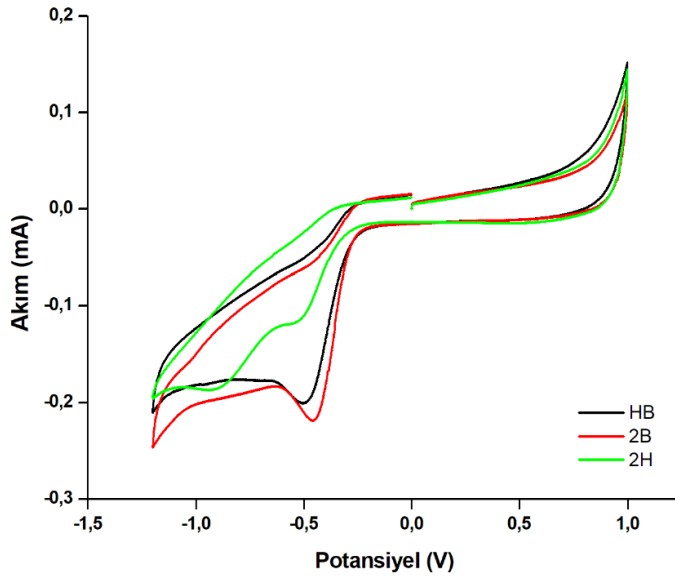
Şekil 61. KGE/p(EDOTBN)/AuNPs/GOx biyosensörünün modifiye adımlarının glikoza karşı yanıtı (pH 7,0 PBS, 100 mV/s)

4.3.6. KGE/p(EDOTBN)/AuNPs/GOx Enzimatik Glikoz Biyosensörünün Optimizasyon Çalışmaları

KGE/p(EDOTBN)/AuNPs/GOx enzimatik glikoz biyosensöründen glikoza karşı optimum yanıtı alabilmek adına, kullanılan KGE elektrotun tipi, destek elektrolit çözeltisinin pH değeri, p(ThBN)'nin elektrot üzerindeki kalınlığı, KGE/p(EDOTBN)/AuNPs modifiye elektrotun GOx enzimi içinde immobilizasyon süresinin optimizasyon çalışmaları yapılmıştır. Tarama hızının 50 mV/s den başlayarak 500 mV/s'ye kadar alınan döngüsel voltammogramlarından yola çıkılarak akım türü belirlenmiştir.

KGE Elektrot Tipinin Belirlenmesi

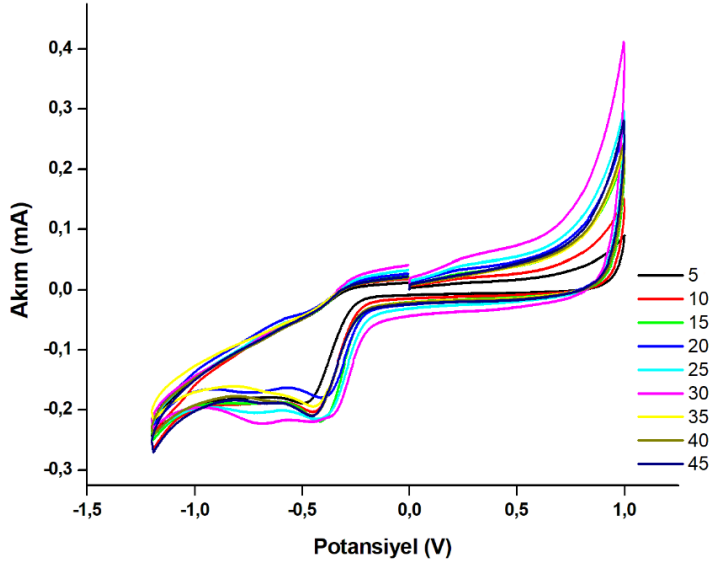
Çalışma elektrotu olarak kullanılan, değişen karbon ve kil içeriklerine göre sınıflandırılmıştır. Bu çalışmada kullanılan kalem grafit elektrotlar, 2H, HB, 2B tip (çap: 0,5 mm, uzunluk: 6,0 cm) kalem uçlarıdır. Gerçekleştirilen çalışmalar, optimize edilecek olan uç tipleri üzerine 5 döngü p(EDOTBN) modifiye edilmiş ve 30 dk GOx enzimi ile immobilize edilerek, 30 dk boyunca kurutulacak şekilde pH 7,0 PBS çözeltisi içinde gerçekleştirilmiştir. Şekil 62'den de görülmektedir ki, karbon içeriği daha yüksek olan 2B tip ucun üçlü elektrot sisteminde PBS destek elektrolit çözeltisi içinde O₂'nin indirgenmesine bağlı olarak, KGE/p(EDOTBN)/AuNPs/GOx biyosensörünün 0,2 mM glikoza karşı göstermiş olduğu -0,48V potansiyeldeki akım şiddeti en yüksektir. Daha sonra yapılan optimizasyon çalışmaların tümünde, çalışma elektrotu olarak 2B tip kalem ucu kullanılmıştır.



Şekil 62. KGE/p(EDOTBN)/AuNPs/GOx biyosensörünün farklı uç tipleri için glikoza karşı yanıtı (pH 7,0 PBS, 100 mV/s)

EDOTBN Polimerinin Elektrot Üzerindeki Kalınlığı

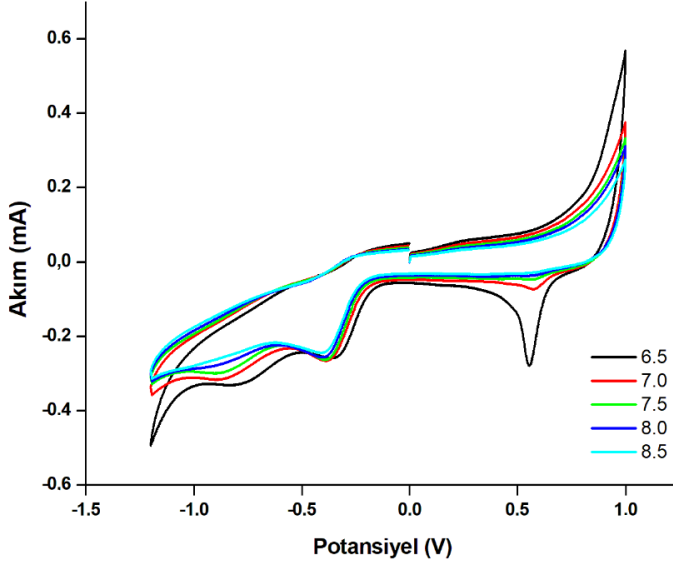
Elektrot üzerinde EDOTBN polimerinin kalınlığı, EDOTBN monomerinin çalışma elektrotu üzerinde farklı döngü sayılarında elektropolimerizasyonu ile değişmektedir. Optimum kalınlık belirlemede, 2B tip çalışma elektrotları üzerine 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40,45 döngü EDOTBN monomeri elektropolimerizasyonu yapılmıştır. Modifiye elektrotlar 30 dk GOx enzimi ile immobilize edilerek, 30 dk boyunca kurutulmuştur. Ölçümler, 5 dk boyunca O₂ gazı ile doyurulmuş pH 7,0 PBS çözeltisi içinde gerçekleştirilmiştir. O₂'nin indirgenmesine bağlı olarak, EDOTBN monomerinin 5 döngü şeklinde gerçekleştirilen elektropolimerizasyonu ile KGE/p(EDOTBN)/GOx biyosensörünün 0,2 mM glikoza karşı göstermiş olduğu -0,48V potansiyeldeki akım şiddeti en yüksektir. Daha sonra yapılan optimizasyon çalışmalarının tümünde, ThBN monomerinin elektropolimerizasyonu 30 döngü şeklinde yapılmıştır.



Şekil 63. KGE/p(EDOTBN)/AuNPs/GOx biyosensörünün farklı p(EDOTBN) döngü sayısı için glikoza karşı yanıtı (pH 7,0 PBS, 100 mV/s)

Destek Elektrolit Çözeltisinin pH Değerinin Belirlenmesi

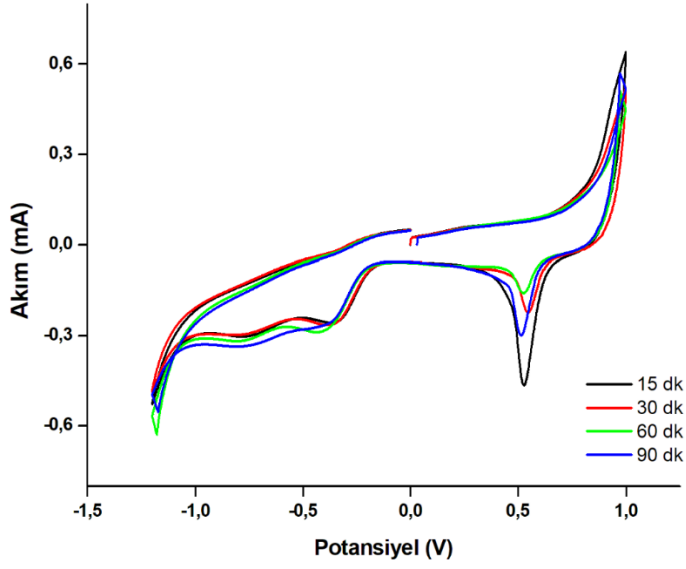
0,1 M PBS destek çözeltisinin pH değerini ayarlamak için 1 M KCl içeren seyreltik HCl çözeltisi kullanılmıştır. İncelenen pH değer aralığı 6,5 ile 8,5 arasında değişmiştir. Gerçekleştirilen çalışmalar, 2B uç tipi üzerine 5 döngü p(EDOTBN) ve 5 döngü AuNPs modifiye edilmiş, 30 dk GOx enzimi ile immobilize edilerek, 30 dk boyunca kurutulacak şekilde gerçekleştirilmiştir. pH değerinin 6,5 olduğu durumda, O₂'nin indirgenmesine bağlı olarak, KGE/p(EDOTBN)/AuNPs/GOx biyosensörünün 0,2 mM glikoza karşı göstermiş olduğu -0,48V'daki akış şiddetinin en yüksek olduğu belirlenmiştir. Daha sonra yapılan çalışmalarda, pH 6,5 0,1 M PBS destek elektrolit çözeltisi kullanılmıştır.



Şekil 64. KGE/P(EDOTBN)/AuNPs/GOx biyosensörünün, PBS çözeltisinin farklı pH değerlerinin glikoza karşı yanıtı (100 mV/S, 0,1 M PBS)

GOx Enziminin İmmobilizasyon Süresi

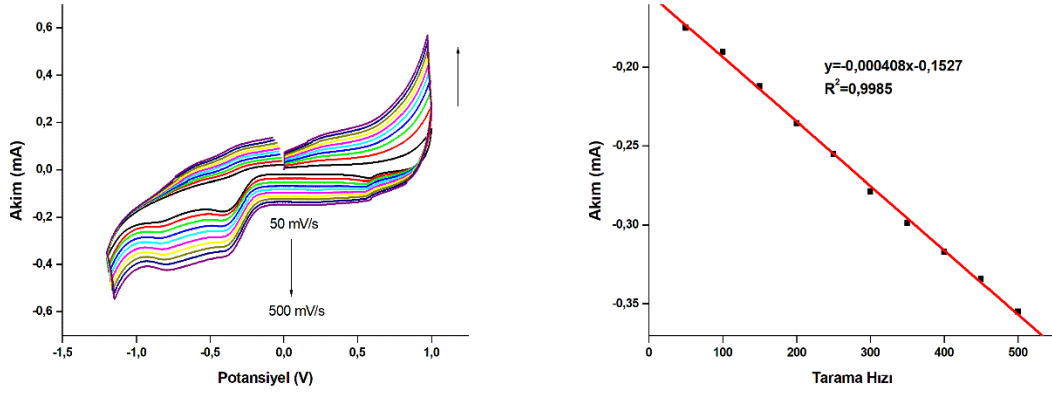
GOx enziminin immobilizasyon süresini belirlemek için 2B tip çalışma elektrotu, 5 döngü p(EDOTBN), 5 döngü AuNPs ile modifiye edilmiş, pH 6,5 PBS destek elektrolit çözeltisi içinde ölçümler gerçekleştirilmiştir. Modifiye elektrotların enzim immobilizasyon süresi 15, 30, 60, 90 dk olarak değişmiş ve immobilizasyon süresi kadar kuruma süresi uygulanmıştır. O₂'nin indirgenmesine bağlı olarak, 60 dk GOx enzimi ile immobilize edilmiş KGE/p(EDOTBN)/AuNPs/GOx biyosensörünün 0,2 mM glikoza karşı göstermiş olduğu -0,48V'daki akış şiddetinin en yüksek olduğu belirlenmiştir.



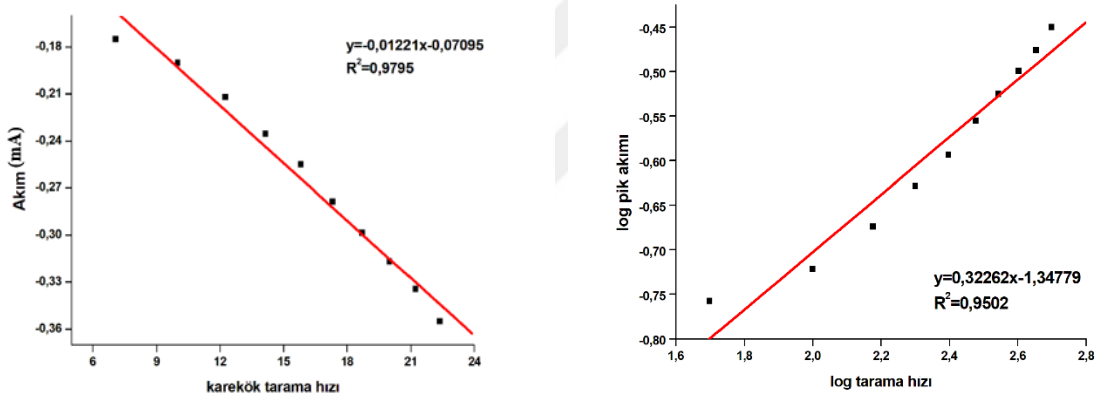
Şekil 65. KGE/p(EDOTBN)/AuNPs/GOx biyosensörünün GOx enziminde farklı sürelerde immobilizasyonu için glikoza karşı yanıtı (pH 6,5 PBS, 100 mV/s)

Tarama Hızı

Optimize edilmiş KGE/p(EDOTBN)/AuNPs/GOx biyosensörünün pH 6,5 0,1 M PBS çözeltisi içinde 0,2 mM glikoza karşılık tarama hızına karşılık pik akımlarını incelemek için 50mV- 500mV arasında değişen tarama hızlarında döngüsel voltammogramları kaydedilmiştir. Elde edilen voltammogramlardan pik akımlarının tarama hızının karekökü ile doğrusal olarak değişmesi ve log pik akımı ve log tarama hızı grafiğinin eğiminin 0,75'ten küçük olması akımın difüzyon kontrollü olduğunu göstermektedir. Difüzyon kontrollü akış türleri için normal teknikler kullanılır.



Şekil 66. KGE/p(EDOTBN)/AuNPs/GOx biyosensörünün değişen tarama hızları için glikoza karşı yanıtı (a) ve tarama hızına karşı akım grafiği (pH 6,5 PBS)

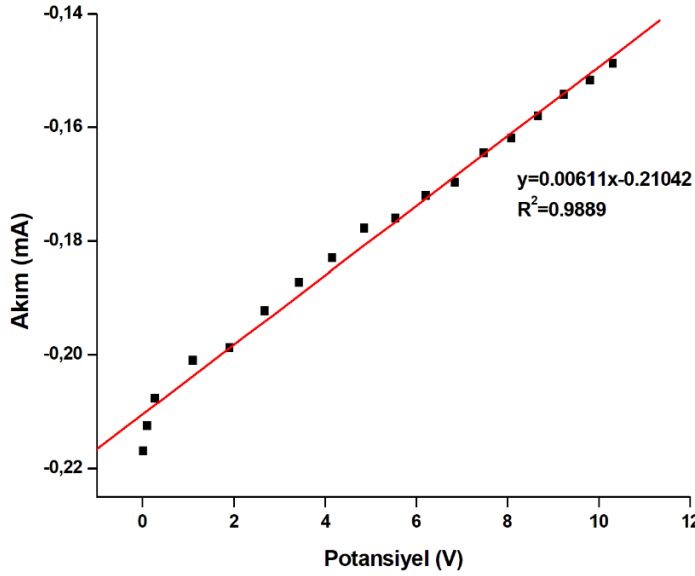


Şekil 67. KGE/p(EDOTBN)/AuNPs/GOx biyosensörünün karekök tarama hızına karşı pik akımı (a) ve log tarama hızına karşı log pik akımı (b) grafikleri (pH 6,5 PBS)

4.3.7. KGE/p(EDOTBN)/AuNPs/GOx Enzimatik Glikoz Biyosensörünün Çalışma Aralığının Belirlenmesi

KGE/p(EDOTBN)/AuNPs/GOx biyosensörünün optimizasyon işlemleri sonrasında 1×10^{-10} M, 0,1 M aralığındaki glikoz derişimlerinde pH 6,5 PBS destek elektrolit çözeltisi içinde, -1,2- +1,0V aralığında döngüsel voltammogramları alınmıştır. Döngüsel voltammogramlardan -0,48 V potansiyele karşılık alınan pik akım değerleri grafiğe

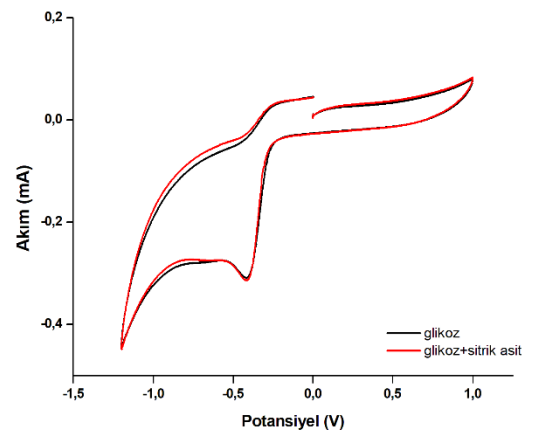
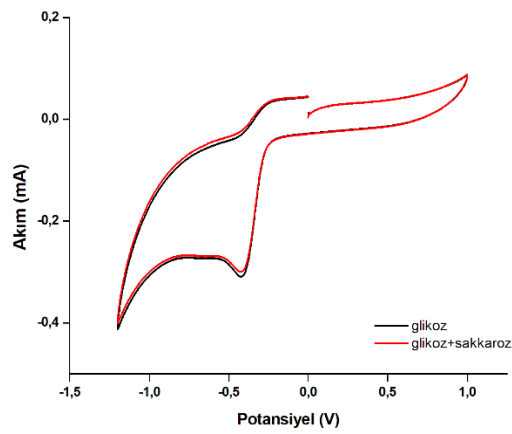
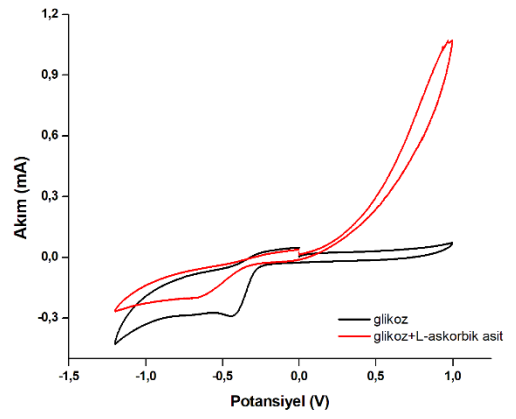
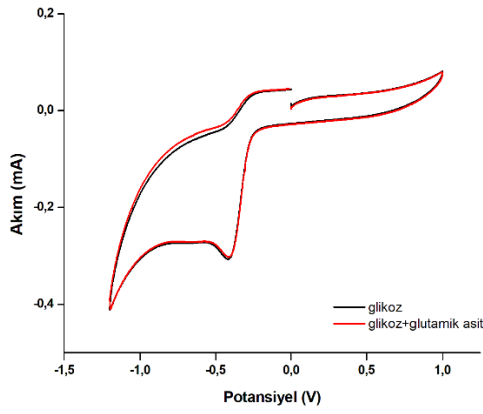
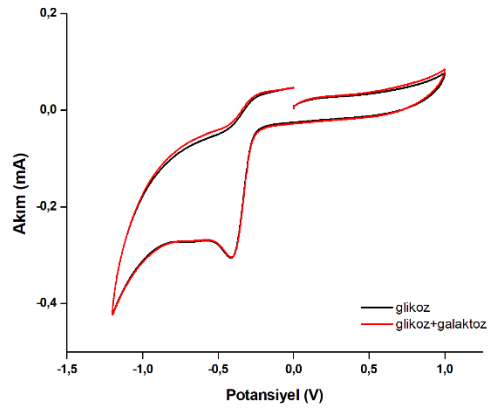
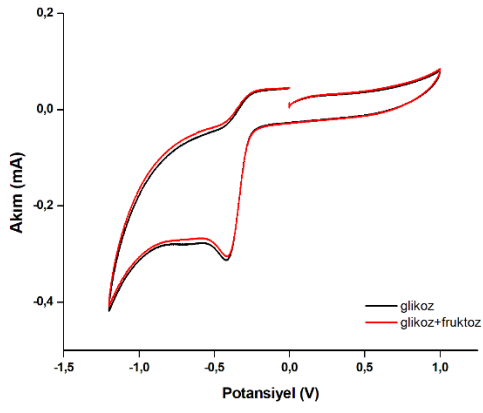
geçirilerek ile biyosensörün çalışma aralığı oluşturulmuştur. KGE/p(EDOTBN)/AuNPs/GOx biyosensörünün çalışma aralığı $1,169 \times 10^{-2}$ mM- 10 mM olarak belirlenmiştir.

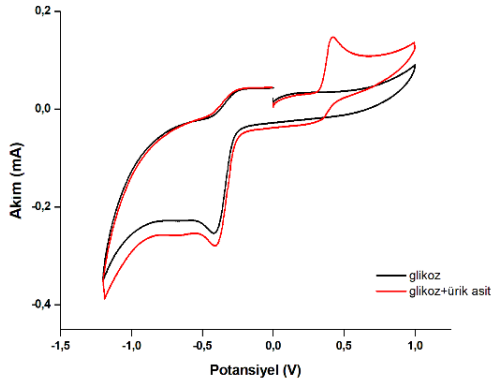


Şekil 68. KGE/p(EDOTBN)/AuNPs/GOx biyosensörünün çalışma aralığı (pH 6,5 PBS)

4.38. KGE/p(EDOTBN)/AuNPs/GOx Enzimatik Glikoz Biyosensörünün Girişim Çalışmaları

KGE/p(EDOTBN)/AuNPs/GOx biyosensörünün girişim çalışmaları, üçlü elektrot sistemi, O₂ ile doyurulmuş pH 6,5 PBS çözeltisi içinde gerçekleştirilmiştir. 2 mM glikoz çözeltisine karşı girişim çalışmalarında 1:100 oranında olacak şekilde girişimci maddeler kullanılmıştır. Kullanılan girişimci maddeler fruktoz, galaktoz, L-glutamik asit, L- askorbik asit, sakkaroz, sitrik asit ve ürik asittir. Hazırlanan girişimci maddelerin çözeltileri çalışma hücrelerine eklendikten sonra döngüsel voltammogramları kaydedilmiştir. Döngüsel voltammogramlar incelendiğinde, L-askorbik asit ve ürik asitin girişim yaptığı belirlenmiştir.

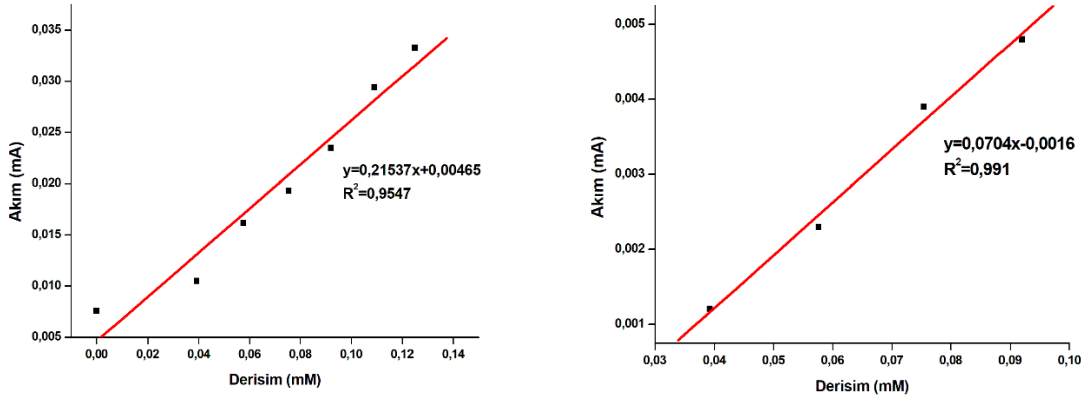




Şekil 69. KGE/p(EDOTBN)/AuNPs/GOx biyosensörünün girişim çalışmaları a) fruktoz, b) galaktoz, c) glutamik asit, d)L-askorbik asit, e) sakkaroz, f) sitrik asit, g) ürik asit (pH 6,5 PBS)

4.3.9. KGE/p(EDOTBN)/AuNPs/GOx Enzimatik Glikoz Biyosensörünün Gerçek Örneğe Uygulama Çalışması

Optimize edilmiş KGE/p(EDOTBN)/AuNPs biyosensörünün gerçek örnek uygulamalarında dekstroz çözeltisi ve vişne suyu kullanılmıştır. Destek elektrolit çözeltisi içine biyosensörün tespit edilen çalışma aralığı içinde bulunan bir derişim değerde gerçek örnek eklenerek döngüsel voltammogramı alınmış, onun üzerine, yine biyosensörün tespit edilen çalışma aralığı içinde bulunan farklı derişim değlerinde glikoz çözeltisi eklenerek döngüsel voltammogramları alınmaya devam edilmiştir. Gerçek örnek çalışmaları üç tekrarlı olarak yapılmış, örnekteki glikoz miktarı, standart katma yöntemi uygulanarak hesaplanmıştır.



Şekil 70. KGE/p(EDOTBN)/AuNPs/GOx biyosensörünün gerçek örnek derişimine karşılık akım grafiği (pH 6,5 PBS, 100 mV/s; a: dekstroz b: vişne suyu)

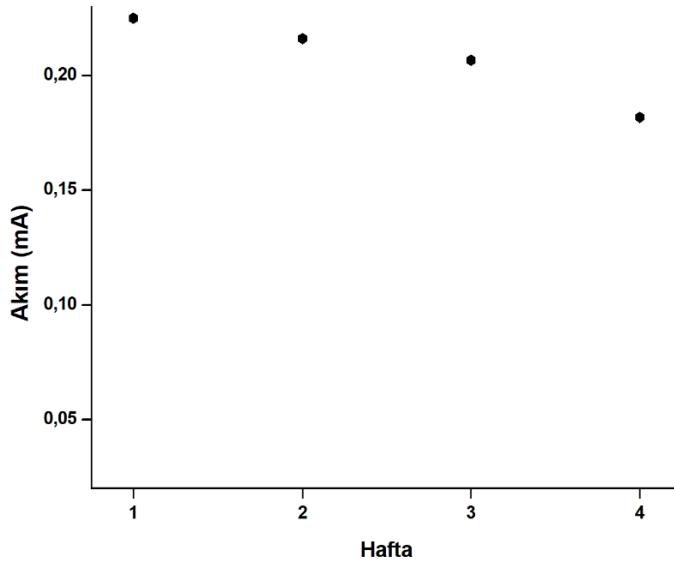
Tablo 3

KGE/p(EDOTBN)/AuNPs/GOx biyosensörünün gerçek örnek çalışma sonuçları

Gerçek örnek	Hesaplanan derişim değeri (mM)	Standart katma yöntemi ile bulunan derişim değeri (mM)
Dekstroz çözeltisi	0,020	0,021 ± 0,003
Vişne suyu	0,020	0,022 ± 0,0018

4.3.10. KGE/p(EDOTBN)/AuNPs/GOx Enzimatik Glikoz Biyosensörünün Kararlılık Çalışması

KGE/p(EDOTBN)/AuNPs/GOx biyosensörünün kararlılık testleri optimize edilmiş koşullarda, 0,1 M glikoz çözeltisinden 100 µl alınarak, 5 ml'lik destek elektrolit çözeltisine eklenmesi ile gerçekleştirilmiştir. Testler, her hafta, haftanın belirlenen aynı gününde yapılmıştır. Kararlılık çalışması üç tekrarlı olarak gerçekleştirilerek döngüsel voltammogramları kaydedilmiştir. 4 hafta boyunca KGE/p(EDOTBN)/AuNPs/GOx biyosensörü kararlılığını sürdürmüştür.



Şekil 71. KGE/p(EDOTBN)/AuNPs/GOx biyosensörünün kararlılık grafiği

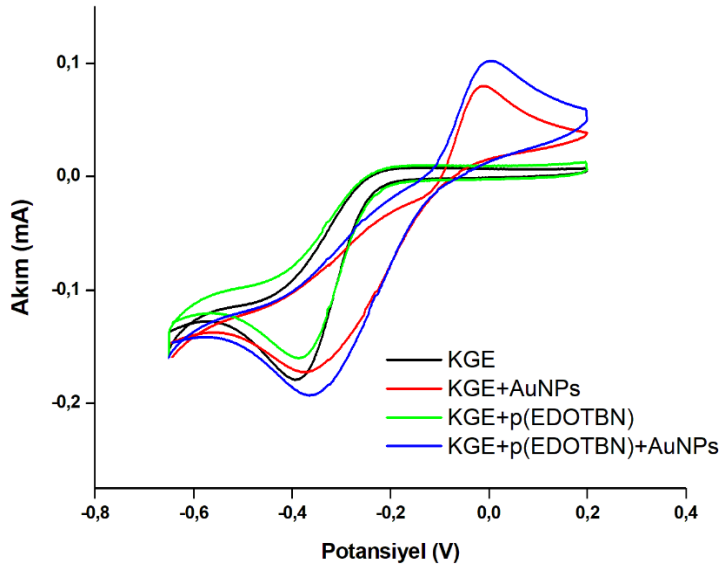
4.3.11. KGE/p(EDOTBN)/AuNPs/GOx Enzimatik Glikoz Biyosensörünün Teşhis Sınırı (TS), Tayin Altı Sınırı (TAS) ve Hassaslığının Belirlenmesi

GPE/EDOTBN/AuNPs biyosensörünün teşhis sınırı, 3.s/m, tayin alt sınırı ise 10.s/m formülleri ile hesaplanmıştır. Formüllerde bulunan s, standart sapmayı, m ise, biyosensörün çalışma aralığı denkleminin eğim değerini göstermektedir. Bu bilgiler doğrultusunda, TS (LOD): 0,008461 mM ve TAS (LOQ): 0,028204 mM olarak bulunmuştur. GPE/ThBN/AuNPs/GOx biyosensörünün hassaslığı ise, 38,365 $\mu\text{A}/\text{mM}\cdot\text{cm}^2$ 'dir.

4.3.12. KGE/p(EDOTBN)/AuNPs Enzimatik Olmayan Glikoz Biyosensörünün Glikoza Karşı Elektrokatalitik Yanıtlarının Döngüsel Voltammetri Yöntemi ile İncelenmesi

KGE/p(EDOTBN)/AuNPs biyosensörünün her modifiye edilme aşamasının glikoza karşı yanıtının voltammogramları Şekil 72' de gösterilmektedir. Tüm ölçümler üçlü elektrot

sisteminde, karşıt elektrotun Pt tel, yardımcı elektrotun Ag/AgCl olduğu, 0,1 M NaOH çözeltisi içinde gerçekleştirilmiştir. Ölçüm öncesinde destek elektrolit çözeltisi 5 dk boyunca O₂ gazı ile doyurulmuştur. 0,4 mM glikoza karşılık modifiye elektrotların 100 mv/s tarama hızında döngüsel voltammogramları alınmıştır. 0,01 V sabit potansiyelde yalnız KGE’de glikozun yükseltgenme piki 0,07 V iken, KGE/p(EDOTBN)/AuNPs biyosensörünün 0,12’dir. Bu sonuçlar, elde edilen biyosensörün glikoza karşı yanıtının olduğunu göstermektedir. Glikoza karşı yanıtı iyileştirmek için, optimizasyon çalışmaları gerçekleştirilmiş olup, optimum yanıt belirlenerek en uygun biyosensör koşulları belirlenmiştir.



Şekil 72. KGE/p(EDOTBN)/AuNPs biyosensörünün modifiye adımlarının glikoza karşı yanıtı (0,1 M NaOH, 100 mV/s)

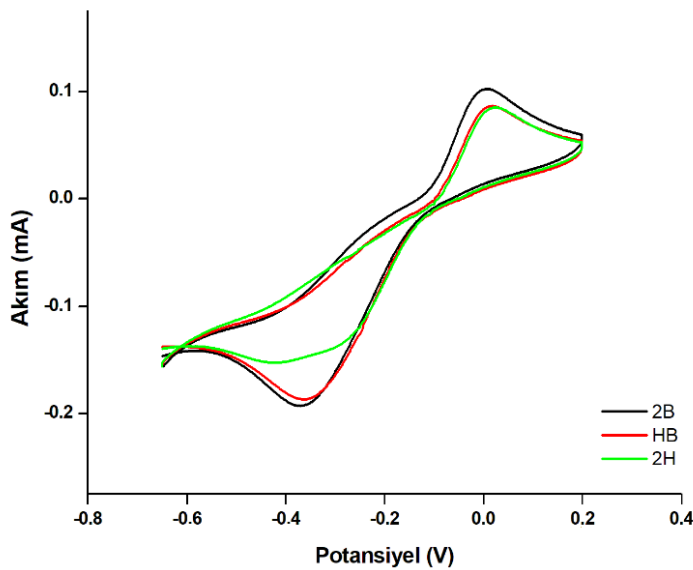
4.3.13. KGE/p(EDOTBN)/AuNPs Enzimatik Olmayan Glikoz Biyosensörünün Optimizasyon Çalışmaları

KGE/p(EDOTBN)/AuNPs/GOx enzimatik olmayan glikoz biyosensöründen glikoza karşı optimum yanıtı alabilmek adına, kullanılan KGE elektrotun tipi, p(EDOTBN)’nin elektrot üzerindeki kalınlığı ve AuNP’lerin farklı döngü sayılarında elektrokimyasal olarak

biriktirilmesine ait optimizasyon çalışmaları yapılmıştır. Tarama hızının 50 mV/s den başlayarak 500 mV/s'ye kadar alınan döngüsel voltammogramlarından yola çıkılarak akım türü belirlenmiştir.

KGE Elektrot Tipinin Belirlenmesi

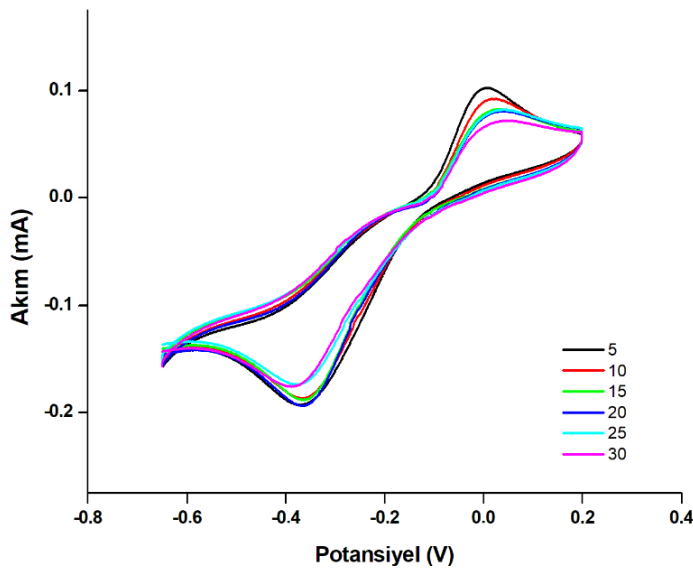
Çalışma elektrotu olarak kullanılan, değişen karbon ve kil içeriklerine göre sınıflandırılmıştır. Bu çalışmada kullanılan kalem grafit elektrotlar, 2H, HB, 2B tip (çap: 0,5 mm, uzunluk: 6,0 cm) kalem uçlarıdır. Gerçekleştirilen çalışmalar, optimize edilecek olan uç tipleri üzerine 5 döngü p(EDOTBN) ve 5 döngü AuNPs modifiye edilmiş ve 0,1 M NaOH çözeltisi içinde gerçekleştirilmiştir. Şekil 73'den de görülmektedir ki, karbon içeriği daha yüksek olan 2B tip ucun üçlü elektrot sisteminde 0,1 M NaOH destek elektrolit çözeltisi içinde glikozun yükseltgenmesine bağlı olarak, KGE/p(EDOTBN)/AuNPs biyosensörünün 0,4 mM glikoza karşı göstermiş olduğu +0,07 V potansiyeldeki akım şiddeti en yüksektir. Daha sonra yapılan optimizasyon çalışmalarının tümünde, çalışma elektrotu olarak 2B tip kalem ucu kullanılmıştır.



Şekil 73. KGE/p(EDOTBN)/AuNPs biyosensörünün farklı uç tipleri için glikoza karşı yanıtı (0,1 M NaOH, 100 mV/s)

EDOTBN Polimerinin Elektrot Üzerindeki Kalınlığı

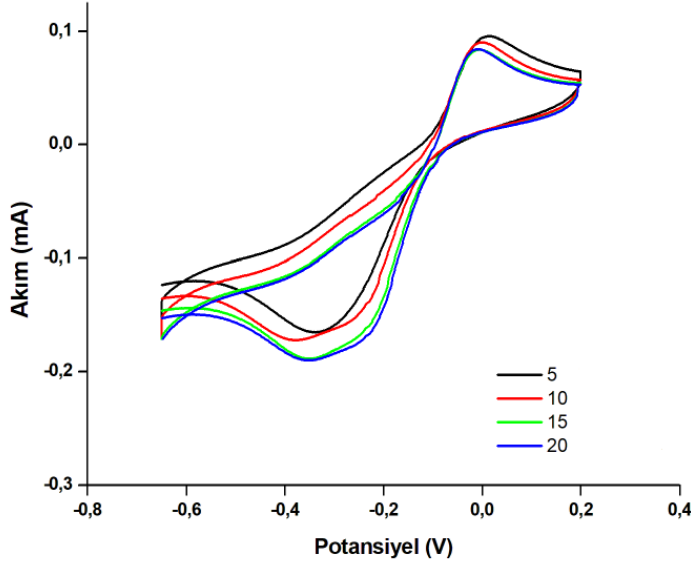
Elektrot üzerinde EDOTBN polimerinin kalınlığı, EDOTBN monomerinin çalışma elektrotu üzerinde farklı döngü sayılarında elektropolimerizasyonu ile değişmektedir. Optimum kalınlık belirlemede, 2B tip çalışma elektrotları üzerine 3, 5, 10, 15, 20 döngü ThBN monomeri elektropolimerizasyonu yapılmıştır. Ölçümler, 5 dk boyunca O₂ gazı ile doyurulmuş 0,1 M NaOH çözeltisi içinde gerçekleştirilmiştir. Glikozun yükseltgenmesine bağlı olarak, EDOTBN monomerinin 5 döngü şeklinde gerçekleştirilen elektropolimerizasyonu ile KGE/p(EDOTBN) biyosensörünün 0,2 mM glikoza karşı göstermiş olduğu +0,01V potansiyeldeki akım şiddeti en yüksektir. Daha sonra yapılan optimizasyon çalışmalarının tümünde, EDOTBN monomerinin elektropolimerizasyonu 5 döngü şeklinde yapılmıştır.



Şekil 74. KGE/p(EDOTBN)/AuNPs biyosensörünün farklı p(ThBN) döngü sayısı için glikoza karşı yanıtı (0,1 M NaOH, 100 mV/s)

AuNP'lerin Elektrokimyasal Biriktirilmesi

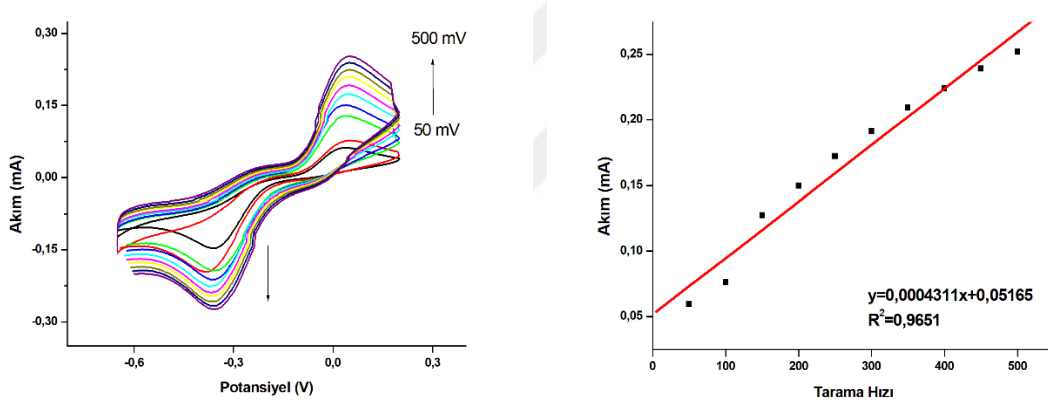
Elektrobiriktirme yöntemi ile AuNP'lerin KGE/p(EDOTBN) yüzeyi üzerine modifiye işlemi, 0,2 M Au⁺³ çözeltisi içinde gerçekleştirilmiştir. Çözelti içinden 2 dk boyunca argon gazı geçirildikten sonra, -0,85- +0,1V aralığında 5, 10, 15, 20 döngü şeklinde döngüsel voltammogramları kaydedilmiştir. Glikozun yükseltgenmesine bağlı olarak, EDOTBN monomerinin 5 döngü şeklinde gerçekleştirilen elektropolimerizasyonu ile KGE/p(EDOTBN) biyosensörünün 0,2 mM glikoza karşı göstermiş olduğu +0,07V potansiyeldeki akım şiddeti en yüksektir. AuNP modifikasyonuna ait voltammogramlar Şekil 75'de verilmiştir.



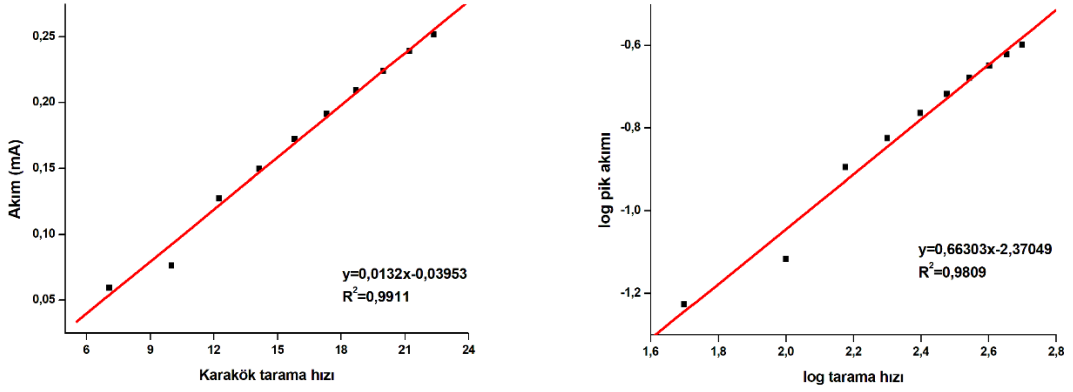
Şekil 75. KGE/p(EDOTBN)/AuNPs biyosensörünün farklı AuNPs döngü sayısı için glikoza karşı yanıtı (0,1 M NaOH, 100 mV/s)

Tarama Hızı

Optimize edilmiş KGE/p(EDOTBN)/AuNPs biyosensörünün 0,1 M NaOH çözeltisi içinde 0,2 mM glikoza karşılık tarama hızına karşılık pik akımlarını incelemek için 50mV-500mV arasında değişen tarama hızlarında döngüsel voltammogramları kaydedilmiştir. Elde edilen voltammogramlardan pik akımlarının tarama hızının karekökü ile doğrusal olarak değişmesi ve log pik akımı ve log tarama hızı grafiğinin eğiminin 0,75'ten küçük olması akımın difüzyon kontrollü olduğunu göstermektedir. Difüzyon kontrollü akış türleri için normal teknikler kullanılır.



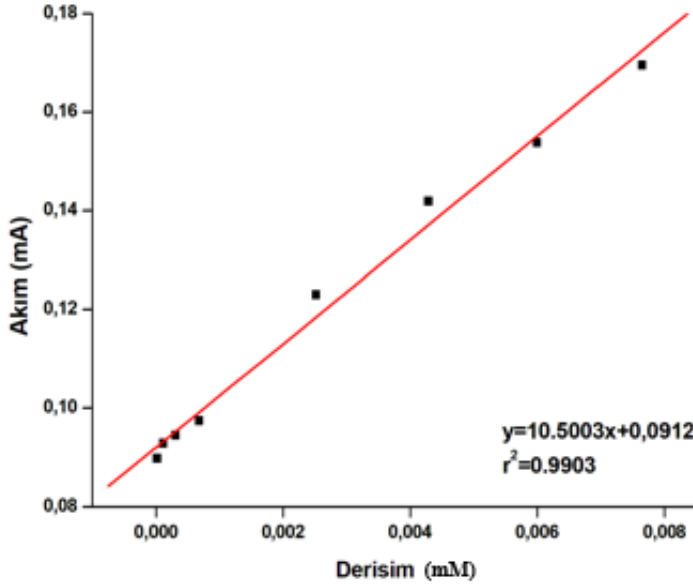
Şekil 76. KGE/p(EDOTBN)/AuNPs biyosensörünün değişen tarama hızları için glikoza karşı yanıtı (a) ve tarama hızına karşı akım grafiği (0,1 M NaOH)



Şekil 77. KGE/p(EDOTBN)/AuNPs biyosensörünün karekök tarama hızına karşı pik akımı (a) ve log tarama hızına karşı log pik akımı (b) grafikleri (0,1 M NaOH)

4.3.14. KGE/p(EDOTBN)/AuNPs Enzimatik Olmayan Glikoz Biyosensörünün Çalışma Aralığının Belirlenmesi

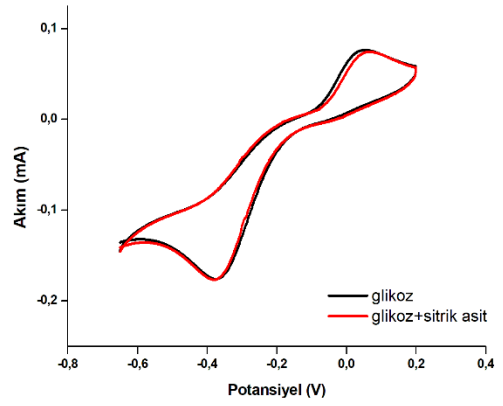
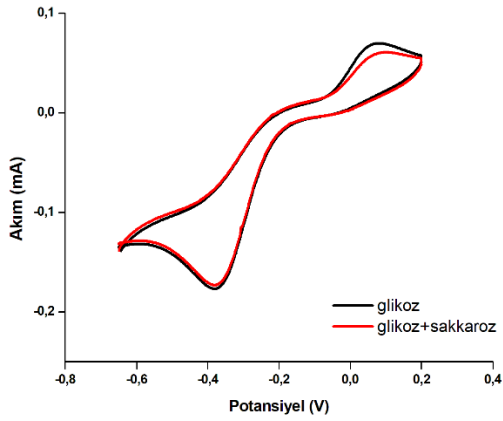
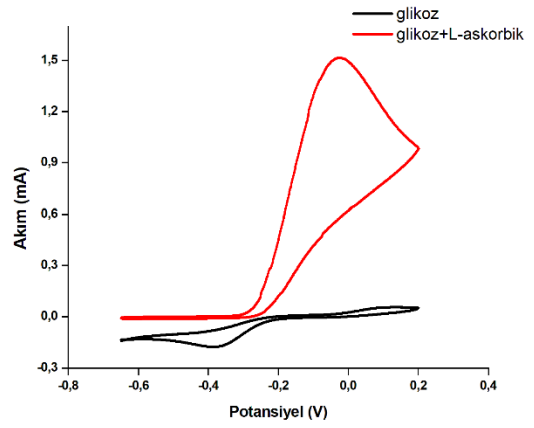
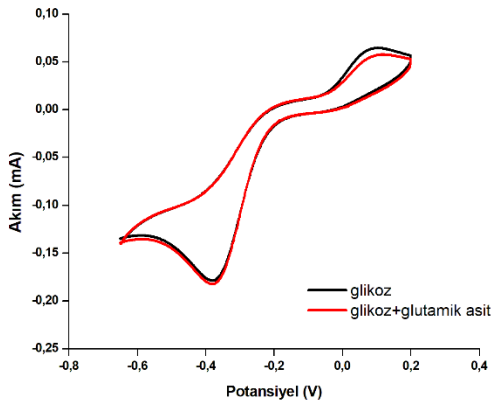
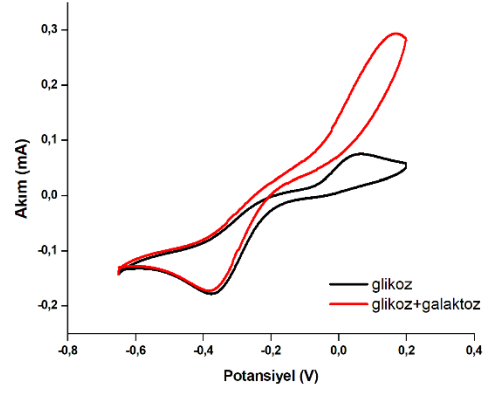
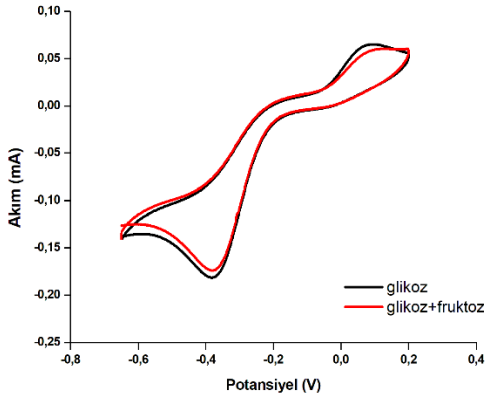
KGE/p(EDOTBN)/AuNPs biyosensörünün optimizasyon işlemleri sonrasında 1×10^{-10} M, 0,1 M aralığındaki glikoz derişimlerinde pH 0,1 M NaOH destek elektrolit çözeltisi içinde, -0,65- +0,2 V aralığında döngüsel voltammogramları alınmıştır. Döngüsel voltammogramlardan -0,48 V potansiyele karşılık alınan pik akım değerleri grafiğe geçirilerek ile biyosensörün çalışma aralığı oluşturulmuştur. KGE/p(EDOTBN)/AuNPs biyosensörünün çalışma aralığı 2×10^{-2} - 7,649 mM olarak belirlenmiştir.

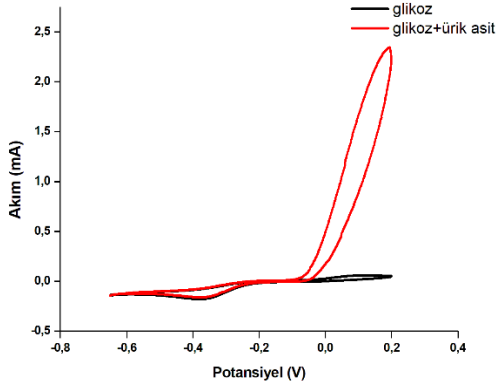


Şekil 78. KGE/p(EDOTBN)/AuNPs biyosensörünün çalışma aralığı (0,1 M NaOH)

4.3.15. KGE/p(EDOTBN)/AuNPs Enzimatik Olmayan Glikoz Biyosensörünün Girişim Çalışmaları

KGE/p(EDOTBN)/AuNPs biyosensörünün girişim çalışmaları, üçlü elektrot sistemi ile, O₂ ile doyurulmuş 0,1 M NaOH çözeltisi içinde gerçekleştirilmiştir. 2 mM glikoz çözeltisine karşı girişim çalışmalarında 1:100 oranında olacak şekilde girişimci maddeler kullanılmıştır. Kullanılan girişimci maddeler fruktoz, galaktoz, L-glutamik asit, L- askorbik asit, sakkaroz, sitrik asit ve ürik asittir. Hazırlanan girişimci maddelerin çözeltileri çalışma hücresine eklendikten sonra döngüsel voltammogramları kaydedilmiştir. Döngüsel voltammogramlar incelendiğinde, galaktoz, glutamik asit, L-askorbik asit ve ürik asitin girişim yaptığı belirlenmiştir.

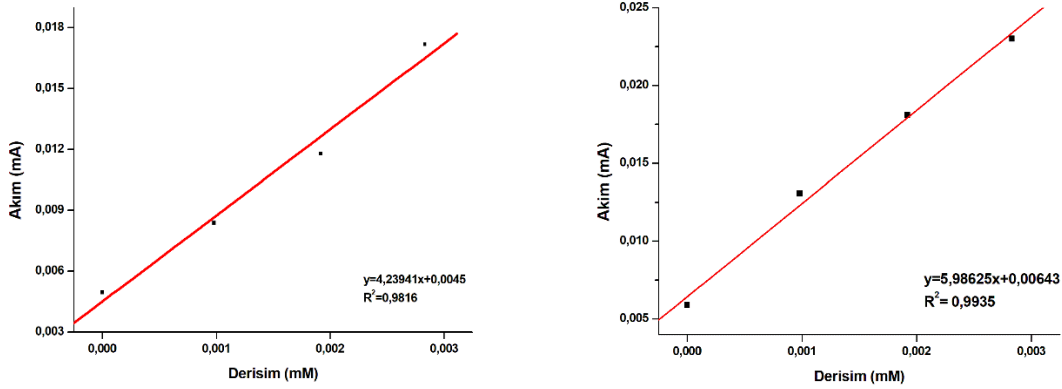




Şekil 79. KGE/p(EDOTBN)/AuNPs biyosensörünün girişim çalışmaları a) fruktoz, b) galaktoz, c) glutamik asit, d)L-askorbik asit, e) sakkaroz, f) sitrik asit, g) ürik asit (0,1 M NaOH)

4.3.16. KGE/p(EDOTBN)/AuNPs Enzimatik Olmayan Glikoz Biyosensörünün Gerçek Örneğe Uygulama Çalışmaları

Optimize edilmiş KGE/p(EDOTBN)/AuNPs biyosensörünün gerçek örnek uygulamalarında dekstroz çözeltisi ve vişne suyu kullanılmıştır. Destek elektrolit çözeltisi içine biyosensörün tespit edilen çalışma aralığı içinde bulunan bir derişim değerinde gerçek örnek eklenerek döngüsel voltammogramı alınmış, onun üzerine, yine biyosensörün tespit edilen çalışma aralığı içinde bulunan farklı derişim değerlerinde glikoz çözeltisi eklenerek döngüsel voltammogramları alınmaya devam edilmiştir. Gerçek örnek çalışmaları üç tekrarlı olarak yapılmış, örnekteki glikoz miktarı, standart katma yöntemi uygulanarak hesaplanmıştır.



Şekil 80. KGE/p(EDOTBN)/AuNPs biyosensörünün gerçek örnek derişimine karşılık akım grafiği (0,1 M NaOH, 100 mV/s; a: dekstroz b: vişne suyu)

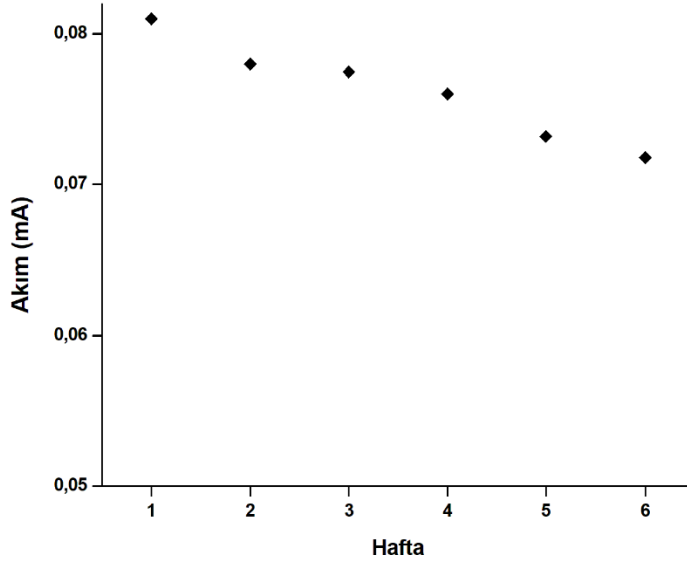
Tablo 4

KGE/p(EDOTBN)/AuNPs biyosensörünün gerçek örnek çalışma sonuçları

Gerçek örnek	Hesaplanan derişim değeri (mM)	Standart katma yöntemi ile bulunan derişim değeri (mM)
Dekstroz çözeltilisi	0,001	0,00106 ± 0,0013
Vişne suyu	0,001	0,00107 ± 0,00002

4.3.17. KGE/p(EDOTBN)/AuNPs Enzimatik Olmayan Glikoz Biyosensörünün Kararlılık Çalışması

KGE/p(EDOTBN)/AuNPs biyosensörünün kararlılık testleri optimize edilmiş koşullarda, 0,1 M glikoz çözeltilisinden 100 µl alınarak, 5 ml'lik destek elektrolit çözeltilisine eklenmesi ile gerçekleştirilmiştir. Testler, her hafta, haftanın belirlenen aynı gününde yapılmıştır. Kararlılık çalışması üç tekrarlı olarak gerçekleştirilerek döngüsel voltammogramları kaydedilmiştir. 6 hafta boyunca KGE/p(EDOTBN)/AuNPs biyosensörü kararlılığını sürdürmüştür.



Şekil 81. KGE/p(EDOTBN)/AuNPs biyosensörünün kararlılık grafiği

4.3.18. KGE/p(EDOTBN)/AuNPs Enzimatik Olmayan Glukoz Biyosensörünün Teşhis Sınırı (TS), Tayin Altı Sınırı (TAS) ve Hassaslığının Belirlenmesi

GPE/EDOTBN/AuNPs biyosensörünün teşhis sınırı, $3.s/m$, tayin alt sınırı ise $10.s/m$ formülleri ile hesaplanmıştır. Formüllerde bulunan s , standart sapmayı, m ise, biyosensörün çalışma aralığı denkleminin eğim değerini göstermektedir. Bu bilgiler doğrultusunda, TS (LOD): $0,02138 \text{ mM}$ ve TAS (LOQ): $0,07126 \text{ Mm}$ olarak bulunmuştur. GPE/EDOTBN/AuNPs biyosensörünün hassaslığı ise $66,038 \mu\text{A}/\text{mM}\cdot\text{cm}^2$ 'dir.

BEŞİNCİ BÖLÜM BÖLÜM

SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu tez çalışmasının amacı, malzeme kimyası alanında merak uyandıran bir malzeme sınıfı olan konjuge polimerler tabanlı, biyosensör endüstrisinde yaklaşık %85'lik bir paya sahip olmasıyla birlikte, diyabet vakalarının yaygınlaşması nedeniyle insan kanı, gıda, ilaç gibi farklı numunelerde glikoz tespiti ve takibine artan talep doğrultusunda, düşük maliyetli, güvenilir ve duyarlı glikoz biyosensörleri tasarlamaktır.

Sentezlenen monomerlerin karakterizasyonu Fourier dönüşümlü kızılötesi spektrometresi (FTIR), Nükleer manyetik rezonans (^1H NMR) spektroskopisi ve elektrokimyasal çalışma ünitesinde döngüsel voltammetri (CV) yöntemi ile yapılmıştır. CV ölçümlerinden yararlanılarak HOMO ve LUMO değerleri hesaplanmış ve bant boşluğu değeri bulunmuştur. ThBN için 1,8 eV değeri bulunurken EDOTBN için bu değer 1,75 eV'tur.

İlk defa literatüre kazandırılan ve elektrokimyasal polimerizasyon yoluyla elde edilen poli-4-(dihegzilamino)-9,12-bis(2,3-dihidrotyeno[3,4-b][1,4]dioksin-5-yl)-7H-benzo[de]benzo[4,5]imidazo[2,1-a]izoknolin-7-one p(EDOTBN) ve poli-4-(dihegzilamino)9,12-di(tiyofen-2 il)-7H-benzo[de]benzo[4,5]imidazo [2,1-a]izokunolin-7-one p(ThBN) polimerler tabanlı olacak şekilde her ikisinin de enzimatik ve enzimatik olmayan (non-enzimatik) glikoz biyosensör uygulamaları gerçekleştirilmiştir.

Biyosensör uygulamalarının tümü üçlü elektrot sisteminde, döngüsel voltammetri (CV) yöntemi ile gerçekleştirilmiştir. Enzimatik glikoz biyosensörleri için optimizasyon parametreleri olarak, çalışma elektrotunun belirlenmesi, tampon çözeltinin pH değerinin belirlenmesi, polimerin elektrot yüzeyinde tarama sayısının belirlenmesi, tarama hızı ve çalışma elektrotunun fiziksel adsorpsiyon yöntemi ile enzim immobilizasyon süresi belirlenirken, enzimatik olmayan (non-enzimatik) glikoz biyosensörleri için çalışma elektrotunun belirlenmesi, polimerin elektrot yüzeyinde tarama sayısının belirlenmesi, AuNP'lerin elektrot yüzeyinde tarama sayısı ve tarama hızı belirlenerek ideal biyosensörler

elde edilmiştir. Elde edilen modifiye elektrotların yüzey karakterizasyonları taramalı elektron mikroskobu ile gerçekleştirilmiştir. Bu görüntüler, elektrot üzerine yapılan her modifikasyon işleminin sağlıklı bir şekilde gerçekleştiğini gösterir niteliktedir.

Optimum koşullarda elde edilen bu biyosensörlerin, performans kriteri olarak doğrusal çalışma aralığı ile birlikte, teşhis sınırı (TS-LOD), tayin alt sınırı (TAS-LOQ) ve hassaslık değerleri belirlenmiştir. Konjuge polimer tabanlı enzimatik glikoz biyosensörlerinin, enzimatik olmayan glikoz biyosensörlerine göre daha geniş doğrusal çalışma aralığına sahip olduğu belirlenmiştir.

Girişim çalışmalarında sitrik asit, fruktoz, L-askorbik asit, sakkaroz, galaktoz, glutamik asit, ürik asit kullanılmıştır. Konjuge polimer tabanlı enzimatik glikoz biyosensörlerinde L-askorbik asit ve ürik asit girişim yaparken, enzimatik olmayan glikoz biyosensörlerinde galaktoz, glutamik asit, L-askorbik asit ve ürik asitin girişim yaptığı belirlenmiştir. Bu sonuçlar, enzimatik glikoz biyosensörlerinin biyoalgılama materyali olarak enzim kullanılmasından dolayı daha seçici olduğunu göstermektedir.

Yapılan tüm bu çalışmaların sonucunda, elde edilen biyosensörler gerçek örnekler üzerinde test edilmiş ve elde edilen sonuçlara göre biyosensörün başarılı bir şekilde çalıştığı tespit edilmiştir. Yapılan çalışmalardan elde edilen sonuçlar özet şekilde Tablo 5’de, elde edilen biyosensörlerin literatürdeki diğer enzimatik ve enzimatik olmayan glikoz biyosensörleri ile karşılaştırılması Tablo 6 ve 7’de verilmiştir.

Tablo 5

Elde edilen biyosensörlerin optimizasyon ve performans etkileri

<i>Optimizasyon Şartları</i>	<i>Konjuge Polimer Tabanlı Enzimatik Biyosensörler</i>		<i>Konjuge Polimer Tabanlı Enzimatik Olmayan Biyosensörler</i>	
	p(ThBN) tabanlı	p(EDOTBN) tabanlı	p(ThBN) tabanlı	p(EDOTBN) tabanlı
Elektrot tipi	2B	2B	2B	2B
Polimer Döngü Sayısı	5	30	5	5
AuNPs Döngü Sayısı	5	5	5	5
Tampon Çözelti ve pH Değeri	pH 7,0 PBS pH 6,5	pH 7,0 PBS pH 6,5	0,1 M NaOH	0,1 M NaOH
Enzim İmmobilizasyon Süresi	60	60	-	-
Akım Türü	Difüzyon kontrollü akım	Difüzyon kontrollü akım	Difüzyon kontrollü akım	Difüzyon kontrollü akım
Çalışma aralığı	$2,975 \cdot 10^{-3}$ - 2,087 mM	$1,169 \cdot 10^{-2}$ - 10 mM	$1,153 \cdot 10^{-2}$ - 13,7 mM	$2,10^{-2}$ - 7,649 mM
Teşhis Sınırı (TS-LOD)	0,003045 mM	0,008461 mM	0,004488 mM	0,02138 mM

Tayin Sınırı (TAS-LOQ)	Altı	0,010151 mM	0,028204 mM	0,014961 mM	0,07126 mM
Hassaslık		0,1322642 mA/mM·cm ²	0,038365 mA/mM·cm ²	0,072327 mA/mM·cm ²	0,066038 mA/mM·cm ²
Girişim yapan maddeler		L-askorbik asit, ürük asit	L-askorbik asit, ürük asit	galaktoz, glutamik asit, L-askorbik asit ve ürik asit	galaktoz, glutamik asit, L-askorbik asit ve ürik asit
Gerçek örnek		Dekstroz, vişne suyu	Dekstroz, vişne suyu	Dekstroz, vişne suyu	Dekstroz, vişne suyu
Kararlılık		5 hafta	4 hafta	6 hafta	6 hafta

Tablo 6

Elde edilen biyosensörlerin literatürdeki diğer enzimatik glikoz biyosensörleri ile karşılaştırılması

Modifiye elektrot	Doğrusal aralık (mM)	TS (mM)	Kararlılık	Hassaslık (µA/mM·cm²)	Referans
AuNP-PVP-PANI	0,05 – 2,25	0,01	RE	9,62	(Miao vd., 2015)
Os-RP	0-10	RE	RE	16,5	(Deng vd., 2013)
PPyCOOH/PPy	1,0x10 ⁻⁶ - 10,0x10 ⁻³	0,63	RE	33,6	(Jiang vd., 2012)
TBT	0,25-1x10 ⁻⁶	0,03	>2	RE	(Ekiz vd., 2010)
PTBA	0,5-18	0,21	20 gün	2,14	(Şenel vd., 2013)
OOPY/AuNPs	1,0-8,0	0,5	2 hafta	0,21	(Haghighi ve Tabrizi, 2013)
PHCQE/AuNPs	0,75-3,125	0,017	6 hafta	0,13	(Tan ve Baycan, 2020)
PENDI-AuNPs	0,9x10 ⁻³ -0,33	0,0407	7 hafta	0,172	(Tan ve Baycan, 2022)

p(ThBN)- AuNPs	2,975x10 ⁻³ - 2,087	0,0304	5 hafta	132,264	Bu çalışma
p(EDOTBN)- AuNPs	1,169x10 ⁻² - 10	0,08461	4 hafta	38,365	Bu çalışma

Kısaltmalar: RE, rapor edilmemiş; TS, teşhis sınırı

Tablo 7

Elde edilen biyosensörlerin literatürdeki diğer enzimatik olmayan glikoz biyosensörleri ile karşılaştırılması

Modifiye elektrot	Doğrusal aralık (mM)	TS (mM)	Kararlılık	Hassaslık (µA/mM.cm ²)	Referans
Ti-MG/SPCE	2- 8	RE	RE	0,017	(Saraffidabad vd., 2020)
NiHCF/GC	5x10 ⁻⁶ – 2,5x 10 ⁻³	0,0012	2 hafta	16,5	(G. Wang vd., 2013)
NiCa-PANI NWs	1,0x10 ⁻⁶ -10,0x10 ⁻³	0,01-0,12	4 hafta	0,1564	(Ameen vd., 2016)
Nafion/ZnO/MWNT/GC	0,7-31	0,5	RE	67,38	(Baby ve Ramaprabhu, 2011)
RGOs-Cu ₂ O	0,01-6	0,05x10 ⁻³	RE	185,0	(Zhou vd., 2014)
CS-PPy-TiO ₂	1,0-9,0	62	RE	254,4	(Jeong vd., 2021)
Ni-ND/BDD	0,2x10 ⁻³ -1,05	0,05x10 ⁻³	RE	120	(Dai vd., 2016)
p(ThBN)- AuNPs	1,153.10 ⁻² - 13,7	4,488x 10 ⁻³	6 hafta	72,327	Bu çalışma
p(EDOTBN)- AuNPs	2,10 ⁻² - 7,649	0,02138	6 hafta	66,038	Bu çalışma

Kısaltmalar: RE, rapor edilmemiş; TS, teşhis sınırı

KAYNAKÇA

- Âbert Ervin Gyurcsa Ânyi, R., Ân Va Âgfo Èldi, Z., Âra To Âth, K., & Âza Nagy, G. (n.d.). *Fast Response Potentiometric Acetylcholine Biosensor*.
- Adeel, M., Rahman, M. M., Caligiuri, I., Canzonieri, V., Rizzolio, F., & Daniele, S. (2020). Recent advances of electrochemical and optical enzyme-free glucose sensors operating at physiological conditions. *Biosensors and Bioelectronics*, *165*. <https://doi.org/10.1016/J.BIOS.2020.112331>
- Alsalmi, M. S., Alam, J., Dass, L. A., & Raja, M. (2011). Recent Advances in Conjugated Polymers for Light Emitting Devices. *Int. J. Mol. Sci*, *12*, 2036–2054. <https://doi.org/10.3390/ijms12032036>
- Ameen, S., Akhtar, M. S., & Shin, H. S. (2016). Nanocages-augmented aligned polyaniline nanowires as unique platform for electrochemical non-enzymatic glucose biosensor. *Applied Catalysis A: General*, *517*, 21–29. <https://doi.org/10.1016/J.APCATA.2016.02.023>
- Ates, M., & Sarac, A. S. (2009). Conducting polymer coated carbon surfaces and biosensor applications. *Progress in Organic Coatings*, *66*(4), 337–358. <https://doi.org/10.1016/j.porgcoat.2009.08.014>
- Baby, T. T., & Ramaprabhu, S. (2011). Non-enzymatic amperometric glucose biosensor from zinc oxide nanoparticles decorated multi-walled carbon nanotubes. *Journal of Nanoscience and Nanotechnology*, *11*(6), 4684–4691. <https://doi.org/10.1166/jnn.2011.4198>
- Bagdziūnas, G., & Palinauskas, D. (n.d.). *Supporting Information for Poly(9H-carbazole) as a Organic Semiconductor for Enzymatic and Non-Enzymatic Glucose Sensors*. www.mdpi.com/journal/biosensors
- Balint, R., Cassidy, N. J., & Cartmell, S. H. (2014). Conductive polymers: Towards a smart biomaterial for tissue engineering. *Acta Biomaterialia*, *10*(6), 2341–2353. <https://doi.org/10.1016/J.ACTBIO.2014.02.015>
- Bowers, L. D. (1982). Immobilized enzymes in chemical analysis. *Trends in Analytical Chemistry*, *1*(8), 191–198. [https://doi.org/10.1016/0165-9936\(82\)80066-6](https://doi.org/10.1016/0165-9936(82)80066-6)

- Buber, E., Yuzer, A., Soylemez, S., Kesik, M., & Toppare, L. (2017). Construction and amperometric biosensing performance of a novel platform containing carbon nanotubes-zinc phthalocyanine and a conducting polymer. *International Journal of Biological Macromolecules*, *96*, 61–69. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2016.12.020>
- Burke, L. D. (1994). Premonolayer oxidation and its role in electrocatalysis. *Electrochimica Acta*, *39*(11–12), 1841–1848. [https://doi.org/10.1016/0013-4686\(94\)85173-5](https://doi.org/10.1016/0013-4686(94)85173-5)
- Calabrese Barton, S., Gallaway, J., & Atanassov, P. (2004). *Enzymatic Biofuel Cells for Implantable and Microscale Devices*. <https://doi.org/10.1021/cr020719k>
- Camacho-Cruz, L. A., Velazco-Medel, M. A., Lugo-González, J. C., & Bucio, E. (2022). Conducting Polymers: An Introduction. *Conducting Polymers: Chemistries, Properties and Biomedical Applications*, 1–14. <https://doi.org/10.1201/9781003205418-1/CONDUCTING-POLYMERS-LUIS-CAMACHO-CRUZ-MARLENE-VELAZCO-MEDEL-JOS>
- Chen, C., Xie, Q., Yang, D., Xiao, H., Fu, Y., Tan, Y., & Yao, S. (2013). *Recent advances in electrochemical glucose biosensors: a review*. *3*, 4473. <https://doi.org/10.1039/c2ra22351a>
- Cheng, Y.-J., Yang, S.-H., & Hsu, C.-S. (n.d.). *Synthesis of Conjugated Polymers for Organic Solar Cell Applications*. <https://doi.org/10.1021/cr900182s>
- Cho, N. H., Shaw, J. E., Karuranga, S., Huang, Y., da Rocha Fernandes, J. D., Ohlrogge, A. W., & Malanda, B. (2018). IDF Diabetes Atlas: Global estimates of diabetes prevalence for 2017 and projections for 2045. *Diabetes Research and Clinical Practice*, *138*, 271–281. <https://doi.org/10.1016/j.diabres.2018.02.023>
- Cho, S., & Lee, J. S. (2020). Recent development of morphology controlled conducting polymer nanomaterial-based biosensor. *Applied Sciences (Switzerland)*, *10*(17). <https://doi.org/10.3390/app10175889>
- Chung, Y. J., Kim, J., & Park, C. B. (2020). Photonic Carbon Dots as an Emerging Nanoagent for Biomedical and Healthcare Applications. *ACS Nano*, *14*, 6470–6497. <https://doi.org/10.1021/acsnano.0c02114>
- Clark, L. C., & Lyons, C. (1962). Electrode Systems for Continuous Monitoring in Cardiovascular Surgery. *Annals of the New York Academy of Sciences*, *102*(1), 29–45.

<https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.1962.tb13623.x>

- Corres, J. M., Sanz, A., Arregui, F. J., Matías, I. R., & Roca, J. (2008). Fiber optic glucose sensor based on bionanofilms. *Sensors and Actuators, B: Chemical*, *131*(2), 633–639. <https://doi.org/10.1016/J.SNB.2007.12.057>
- Dai, W., Li, M., Gao, S., Li, H., Li, C., Xu, S., Wu, X., & Yang, B. (2016). Fabrication of Nickel/nanodiamond/boron-doped diamond electrode for non-enzymatic glucose biosensor. *Electrochimica Acta*, *187*, 413–421. <https://doi.org/10.1016/J.ELECTACTA.2015.11.085>
- del Barrio, M., Cases, R., Cebolla, V., Hirsch, T., de Marcos, S., Wilhelm, S., & Galbán, J. (2016). A reagentless enzymatic fluorescent biosensor for glucose based on upconverting glasses, as excitation source, and chemically modified glucose oxidase. *Talanta*, *160*, 586–591. <https://doi.org/10.1016/J.TALANTA.2016.07.062>
- Deng, H., Shen, W., & Gao, Z. (2013). An interference-free glucose biosensor based on an anionic redox polymer-mediated enzymatic oxidation of glucose. *ChemPhysChem*, *14*(10), 2343–2347. <https://doi.org/10.1002/CPHC.201200961>
- Dzyadevich, S. V., Arkhipova, V. N., Soldatkin, A. P., El'Skaya, A. V., & Shul'Ga, A. A. (1998). Glucose conductometric biosensor with potassium hexacyanoferrate(III) as an oxidizing agent. *Analytica Chimica Acta*, *374*(1), 11–18. [https://doi.org/10.1016/S0003-2670\(98\)00401-2](https://doi.org/10.1016/S0003-2670(98)00401-2)
- Ekiz, F., Yuksel, M., Balan, A., Timur, S., & Toppare, L. (2010). Electrochemical Polymerization of (2-Dodecyl-4, 7-di (thiophen-2-yl)-2H-benzo[d][1,2,3] triazole): A Novel Matrix for Biomolecule Immobilization. *Macromolecular Bioscience*, *10*(12), 1557–1565. <https://doi.org/10.1002/MABI.201000185>
- Elahi, N., Kamali, M., & Baghersad, M. H. (2018). Recent biomedical applications of gold nanoparticles: A review. *Talanta*, *184*, 537–556. <https://doi.org/10.1016/J.TALANTA.2018.02.088>
- Elkordy, A. A. (2013). Applications of Calorimetry in a Wide Context - Differential Scanning Calorimetry, Isothermal Titration Calorimetry and Microcalorimetry. *Applications of Calorimetry in a Wide Context - Differential Scanning Calorimetry, Isothermal Titration Calorimetry and Microcalorimetry*. <https://doi.org/10.5772/2898>

- Emir, G., Dilgin, Y., Ramanaviciene, A., & Ramanavicius, A. (2021). Amperometric nonenzymatic glucose biosensor based on graphite rod electrode modified by Ni-nanoparticle/polypyrrole composite. *Microchemical Journal*, *161*(October 2020), 105751. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2020.105751>
- Evtugyn, G. (2014). Biosensors: Essentials. In *Biosensors: Essentials* (Vol. 84). <http://link.springer.com/10.1007/978-3-642-40241-8>
- Feast, W. J., Tsibouklis, J., Pouwer, K. L., Groenendaal, L., & Meijer, E. W. (1996). Synthesis, processing and material properties of conjugated polymers. *Polymer*, *37*(22), 5017–5047. [https://doi.org/10.1016/0032-3861\(96\)00439-9](https://doi.org/10.1016/0032-3861(96)00439-9)
- Feng, X., Cheng, H., Pan, Y., & Zheng, H. (2015). Development of glucose biosensors based on nanostructured graphene-conducting polyaniline composite. *Biosensors and Bioelectronics*, *70*, 411–417. <https://doi.org/10.1016/J.BIOS.2015.03.046>
- Friend, R. H., Gymer, R. W., Holmes, A. B., Burroughes, J. H., Marks, R. N., Taliani, C., Bradley, D. D. C., Dos Santos, D. A., Brédas, J. L., Lögdlund, M., & Salaneck, W. R. (1999). Electroluminescence in conjugated polymers. *Nature*, *397*(6715), 121–128. <https://doi.org/10.1038/16393>
- Günes, S., Neugebauer, H., & Sariciftci, N. S. (2006). *Conjugated Polymer-Based Organic Solar Cells*. <https://doi.org/10.1021/cr050149z>
- Guo, X., Baumgarten, M., & Müllen, K. (2013). Designing π -conjugated polymers for organic electronics. *Progress in Polymer Science*, *38*(12), 1832–1908. <https://doi.org/10.1016/J.PROGPOLYMSCI.2013.09.005>
- Haghighi, B., & Tabrizi, M. A. (2013). Direct electron transfer from glucose oxidase immobilized on an overoxidized polypyrrole film decorated with Au nanoparticles. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, *103*, 566–571. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2012.11.010>
- Heeger, Alan J. ; MacDiarmid, Alan G. ; Shirakawa, H. (1974). Advanced Information - The Nobel Prize in Chemistry 2000. *Nobel Media AB 2019*, 1–16. <https://doi.org/10.1007/978-1-84996-290-2>
- Heeger, A. J. (2000). *Semiconducting and Metallic Polymers: The Fourth Generation of Polymeric Materials* †. <https://doi.org/10.1021/jp011611w>

- Hendry, S. P., Higgins, I. J., & Bannister, J. V. (1990). Amperometric biosensors. In *Journal of Biotechnology* (Vol. 15, Issue 3). [https://doi.org/10.1016/0168-1656\(90\)90029-B](https://doi.org/10.1016/0168-1656(90)90029-B)
- Hideki Shirakawa, B., Louis, E. J., Macdiarmid, A. G., W A N K Chiang, C. H., & HEEGERT, A. J. (1977). *Synthesis of Electrically Conducting Organic Polymers : Halogen Derivatives of Polyacetylene, (CH)*.
- Hu, J., & Liu, S. (n.d.). *Responsive Polymers for Detection and Sensing Applications: Current Status and Future Developments*. <https://doi.org/10.1021/ma1005815>
- Ito, T., Shirakawa, H., & Ikeda, S. (1974). Simultaneous Polymerization and Formation of Polyacetylene Film on The Surface of Concentrated Soluble Ziegler-Type Catalyst Solution. *J Polym Sci Part A-1 Polym Chem*, 12(1), 11–20. <https://doi.org/10.1002/POL.1974.170120102>
- Jeong, H., Yoo, J., Park, S., Lu, J., Park, S., & Lee, J. (2021). *Non-Enzymatic Glucose Biosensor Based on Highly Pure TiO₂ Nanoparticles*. <https://doi.org/10.3390/bios11050149>
- Jiang, H., Zhang, A., Sun, Y., Ru, X., Ge, D., & Shi, W. (2012). Poly(1-(2-carboxyethyl)pyrrole)/polypyrrole composite nanowires for glucose biosensor. *Electrochimica Acta*, 70, 278–285. <https://doi.org/10.1016/J.ELECTACTA.2012.03.064>
- Knopf, G. K., & Bassi, A. S. (2006). Smart Biosensor Technology. In *Smart Biosensor Technology*. <https://doi.org/10.1201/9781420019506>
- Kumar, D., & Sharma, R. C. (1998). Advances in conductive polymers. *European Polymer Journal*, 34(8), 1053–1060. [https://doi.org/10.1016/S0014-3057\(97\)00204-8](https://doi.org/10.1016/S0014-3057(97)00204-8)
- Kumar Jena, B., & Retna Raj, C. (n.d.). *Enzyme-Free Amperometric Sensing of Glucose by Using Gold Nanoparticles*. <https://doi.org/10.1002/chem.200501051>
- Lee, S., & Gleason, K. K. (2015). Enhanced optical property with tunable band gap of cross-linked PEDOT copolymers via oxidative chemical vapor deposition. *Advanced Functional Materials*, 25(1), 85–93. <https://doi.org/10.1002/ADFM.201402924>
- Lee, T. W., Lee, D. H., Shin, J., Cho, M. J., & Choi, D. H. (2013). Naphthodithiophene-diketopyrrolopyrrole-based donor-acceptor alternating π -conjugated polymers for

- organic thin-film transistors. *Journal of Polymer Science, Part A: Polymer Chemistry*, 51(24), 5280–5290. <https://doi.org/10.1002/POLA.26960>
- Letheby, H. (1862). XXIX.—On the production of a blue substance by the electrolysis of sulphate of aniline. *Journal of the Chemical Society*, 15(0), 161–163. <https://doi.org/10.1039/JS8621500161>
- Liang, Y.-C., Chang, L., Qiu, W., Kolhatkar, A. G., Vu, B., Kourentzi, K., Lee, T. R., Zu, Y., Willson, R., Litvinov, D., Lindquist, N., Wittenberg, N., & Oh, S.-H. (n.d.). *Ultrasensitive Magnetic Nanoparticle Detector for Biosensor Applications*. <https://doi.org/10.3390/s17061296>
- Liu, R., & Liu, Z. (2009). Polythiophene: Synthesis in aqueous medium and controllable morphology. *Chinese Science Bulletin*, 54(12), 2028–2032. <https://doi.org/10.1007/s11434-009-0217-0>
- Long, J. J., Benoudjit, A. M., Arris, F. A., Ali, F., & Wan Salim, W. W. A. (2019). Polymers in biosensors. *Multifaceted Protocol in Biotechnology*, 151–165. https://doi.org/10.1007/978-981-13-2257-0_13
- Miao, Z., Wang, P., Zhong, A. M., Yang, M., Xu, Q., Hao, S., & Hu, X. (2015). Development of a glucose biosensor based on electrodeposited gold nanoparticles-polyvinylpyrrolidone-polyaniline nanocomposites. *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 756, 153–160. <https://doi.org/10.1016/j.jelechem.2015.08.025>
- Michinobu, T., Osako, H., Seo, C., Murata, K., Mori, T., & Shigehara, K. (2011). Multicolor emission and thin film transistor properties of 1,8-diethynylcarbazole-based conjugated copolymers. *Polymer*, 52(25), 5756–5763. <https://doi.org/10.1016/J.POLYMER.2011.10.028>
- Naveen, M. H., Gurudatt, N. G., & Shim, Y. B. (2017). Applications of conducting polymer composites to electrochemical sensors: A review. *Applied Materials Today*, 9, 419–433. <https://doi.org/10.1016/J.APMT.2017.09.001>
- Neupane, S., Bhusal, S., Subedi, V., Nakarmi, K. B., Gupta, D. K., Yadav, R. J., & Yadav, A. P. (2021). Preparation of an Amperometric Glucose Biosensor on Polyaniline-Coated Graphite. *Journal of Sensors*, 2021. <https://doi.org/10.1155/2021/8832748>
- Pal, S., Roy, D., Mondal, M. K., & Chowdhury, P. (2019). Synthesis of water-soluble

- conjugated polymer, poly(N-3-sulfopropylaniline) and the study of its glucose sensing property. *Journal of Polymer Research*, 26(2), 1–9. <https://doi.org/10.1007/s10965-018-1691-3>
- Pandey, P., Datta, M., & Malhotra, B. D. (2008). Analytical Letters Prospects of Nanomaterials in Biosensors Prospects of Nanomaterials in Biosensors. *Prospects of Nanomaterials in Biosensors*, 41(2), 159–209. <https://doi.org/10.1080/00032710701792620>
- Park, J., Kim, H. K., & Son, Y. (2008). Glucose biosensor constructed from capped conducting microtubules of PEDOT. *Sensors and Actuators, B: Chemical*, 133(1), 244–250. <https://doi.org/10.1016/J.SNB.2008.02.029>
- Pletcher, D. (1984). Electrocatalysis: present and future. *Journal of Applied Electrochemistry*, 14(4), 403–415. <https://doi.org/10.1007/BF00610805>
- Pumera, M., Sánchez, S., Ichinose, I., & Tang, J. (2007). Electrochemical nanobiosensors. *Sensors and Actuators, B: Chemical*, 123(2), 1195–1205. <https://doi.org/10.1016/J.SNB.2006.11.016>
- Qiu, Z., Hammer, B. A. G., & Müllen, K. (2020). Conjugated polymers – Problems and promises. *Progress in Polymer Science*, 100. <https://doi.org/10.1016/J.PROGPOLYMSCI.2019.101179>
- Quintero-Jaime, A. F., Quílez-Bermejo, J., Cazorla-Amorós, D., & Morallón, E. (2021). Metal free electrochemical glucose biosensor based on N-doped porous carbon material. *Electrochimica Acta*, 367. <https://doi.org/10.1016/J.ELECTACTA.2020.137434>
- Rahman, M. M., Ahammad, A. J. S., Jin, J. H., Ahn, S. J., & Lee, J. J. (2010). A comprehensive review of glucose biosensors based on nanostructured metal-oxides. *Sensors*, 10(5), 4855–4886. <https://doi.org/10.3390/s100504855>
- Rodriguez-Mozaz Maria Lopez de Alda Damià Barceló, S. J. (2006). Biosensors as useful tools for environmental analysis and monitoring. *Anal Bioanal Chem*, 386, 1025–1041. <https://doi.org/10.1007/s00216-006-0574-3>
- Roncali, J. (1992). Conjugated Poly(thiophenes): Synthesis, Functionalization, and Applications. *Chem. Rev*, 92, 711–738. <https://pubs.acs.org/sharingguidelines>

- Sarafbidabad, M., Jazi, H., & Rafienia, M. (2020). A novel non-enzymatic biosensor based on Ti-metallic glass thin film: The blood glucose oxidation approach. *Journal of Medical Signals & Sensors*, *10*(1), 35. https://doi.org/10.4103/JMSS.JMSS_15_19
- Scouten, W. H., Luong, J. H. T., & Stephen Brown, R. (1995). Enzyme or protein immobilization techniques for applications in biosensor design. *Trends in Biotechnology*, *13*(5), 178–185. [https://doi.org/10.1016/S0167-7799\(00\)88935-0](https://doi.org/10.1016/S0167-7799(00)88935-0)
- Şenel, M., Dervisevic, M., & Çevik, E. (2013). A novel amperometric glucose biosensor based on reconstitution of glucose oxidase on thiophene-3-boronic acid polymer layer. *Current Applied Physics*, *13*(7), 1199–1204. <https://doi.org/10.1016/j.cap.2013.03.004>
- Soylemez, S., Kaya, H. Z., Udum, Y. A., & Toppare, L. (2019). A thiazolothiazole containing multichromic polymer for glucose detection. *Express Polymer Letters*, *13*(10), 845–857. <https://doi.org/10.3144/expresspolymlett.2019.74>
- Spychalska, K., Zaj, D., Ac, , Baluta, S., Halicka, K., & Cabaj, J. (n.d.). *polymers Functional Polymers Structures for (Bio)Sensing Application-A Review*. <https://doi.org/10.3390/polym12051154>
- Strike, D. J., de Rooij, N. F., & Koudelka-Hep, M. (1997). Electrochemical-Based Immobilization of Enzymes. *Immobilization of Enzymes and Cells*, 93–100. <https://doi.org/10.1385/0-89603-386-4:93>
- Stubb, H., Punkka, E., & Paloheimo, J. (1993). Electronic and optical properties of conducting polymer thin films. *Materials Science Reports*, *10*(3), 85–140. [https://doi.org/10.1016/0920-2307\(93\)90004-X](https://doi.org/10.1016/0920-2307(93)90004-X)
- Sun, H., Ma, S., Li, Y., Qi, H., Ning, X., & Zheng, J. (2016). Electrogenated chemiluminescence biosensing method for the discrimination of DNA hydroxymethylation and assay of the β -glucosyltransferase activity. *Biosensors and Bioelectronics*, *79*, 92–97. <https://doi.org/10.1016/J.BIOS.2015.11.068>
- Tan, B., & Baycan, F. (2020). A new donor-acceptor conjugated polymer-gold nanoparticles biocomposite materials for enzymatic determination of glucose. *Polymer*, *210*(September), 123066. <https://doi.org/10.1016/j.polymer.2020.123066>
- Tan, B., & Baycan, F. (2022). An Enzymatic Glucose Biosensor Based on a Pencil Graphite Electrode Modified with Naphthalenedimide/3,4-Ethylenedioxythiophene Conjugated

- Polymer and Enriched with Au Nanoparticles. *ChemistrySelect*, 7(2).
<https://doi.org/10.1002/slct.202103437>
- Thévenot, D. R., Toth, K., Durst, R. A., & Wilson, G. S. (2001). Electrochemical biosensors: Recommended definitions and classification. *Biosensors and Bioelectronics*, 16(1–2), 121–131. [https://doi.org/10.1016/S0956-5663\(01\)00115-4](https://doi.org/10.1016/S0956-5663(01)00115-4)
- Tian, K., Prestgard, M., & Tiwari, A. (2014). A review of recent advances in nonenzymatic glucose sensors. *Materials Science and Engineering C*, 41, 100–118. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2014.04.013>
- Toghill, K. E., & Compton, R. G. (2010). Electrochemical non-enzymatic glucose sensors: A perspective and an evaluation. *International Journal of Electrochemical Science*, 5(9), 1246–1301.
- Tomczykowa, M., & Plonska-Brzezinska, M. E. (2019). *polymers Conducting Polymers, Hydrogels and Their Composites: Preparation, Properties and Bioapplications*. <https://doi.org/10.3390/polym11020350>
- Tran, H. V., Nguyen, N. D., Tran, C. T. Q., Tran, L. T., Le, T. D., Tran, H. T. T., Piro, B., Huynh, C. D., Nguyen, T. N., Nguyen, N. T. T., Dang, H. T. M., Nguyen, H. L., Tran, L. D., & Phan, N. T. (2020). Silver nanoparticles-decorated reduced graphene oxide: A novel peroxidase-like activity nanomaterial for development of a colorimetric glucose biosensor. *Arabian Journal of Chemistry*, 13(7), 6084–6091. <https://doi.org/10.1016/J.ARABJC.2020.05.008>
- Usher, M. J. (1985). Introduction. *Sensors and Transducers*, 1–8. https://doi.org/10.1007/978-1-349-18052-3_1
- Uzun, S. D., Unlu, N. A., Sendur, M., Kanik, F. E., Timur, S., & Toppare, L. (2013). A novel promising biomolecule immobilization matrix: Synthesis of functional benzimidazole containing conducting polymer and its biosensor applications. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 112, 74–80. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2013.07.049>
- Wang, G., He, X., Wang, L., Gu, A., Huang, Y., Fang, B., Geng, B., & Zhang, X. (2013). Non-enzymatic electrochemical sensing of glucose. In *Microchimica Acta* (Vol. 180, Issues 3–4, pp. 161–186). Springer-Verlag Wien. <https://doi.org/10.1007/s00604-012-0923-1>

- Wang, J. (2008). Electrochemical glucose biosensors. In *Chemical Reviews* (Vol. 108, Issue 2, pp. 814–825). <https://doi.org/10.1021/cr068123a>
- Wei, M., Krenner -, H. J., Cao, S., Wang, J., Ma, F., -, al, Hai Nguyen, N., Giang Duong, T., Nong Hoang, V., Thang Pham, N., Cao Dao, T., & Nga Pham, T. (2015). *Synthesis and application of quantum dots-based biosensor You may also like Interfacing quantum emitters with propagating surface acoustic waves Charge-transfer channel in quantum dot-graphene hybrid materials Synthesis and application of quantum dots-based biosensor*. <https://doi.org/10.1088/2043-6262/6/1/015015>
- Wu, Y. L., Li, Q. W., Zhang, X. L., Chen, X., & Wang, X. M. (2013). Glucose biosensor based on new carbon nanotube-gold-titania nano-composites modified glassy carbon electrode. *Chinese Chemical Letters*, 24(12), 1087–1090. <https://doi.org/10.1016/J.CCLET.2013.07.008>
- Xian Yu, D. (2011). Light-Emitting Devices with Conjugated Polymers. *Int. J. Mol. Sci*, 12, 1575–1594. <https://doi.org/10.3390/ijms12031575>
- Xun, C. (2021). *Zinc Ferrite Nanoparticles: Simple Synthesis via Lyophilisation and Electrochemical Application as Glucose Biosensor*. <https://doi.org/10.1088/2632-959X/abfdd2>
- Yoon, H., & Jang, J. (2009). Conducting-polymer nanomaterials for high-performance sensor applications: Issues and challenges. *Advanced Functional Materials*, 19(10), 1567–1576. <https://doi.org/10.1002/ADFM.200801141>
- Yuan, X., & Remita, H. (2022). *Conjugated Polymer Polypyrrole Nanostructures: Synthesis and Photocatalytic Applications*. 380, 32. <https://doi.org/10.1007/s41061-022-00388-4>
- Zaborsky, O. (1973). *Immobilized enzymes : By O. Zaborsky*. CRC Press.
- Zhang, X., Guo, Q., & Cui, D. (2009). Recent Advances in Nanotechnology Applied to Biosensors. *Sensors*, 9, 1033–1053. <https://doi.org/10.3390/s90201033>
- Zhou, D. L., Feng, J. J., Cai, L. Y., Fang, Q. X., Chen, J. R., & Wang, A. J. (2014). Facile synthesis of monodisperse porous Cu₂O nanospheres on reduced graphene oxide for non-enzymatic amperometric glucose sensing. *Electrochimica Acta*, 115, 103–108. <https://doi.org/10.1016/J.ELECTACTA.2013.10.151>

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

İsim SOYİSİM : Burcu TAN

Doğum Yeri :

Doğum Tarihi :

EĞİTİM DURUMU

Lisans Öğrenimi : Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Mühendislik Mimarlık Fakültesi, Kimya Mühendisliği Bölümü, 2010

Yüksek Lisans Öğrenimi : Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Mühendisliği Anabilim Dalı, 2018

Doktora Öğrenimi : Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Lisansüstü Eğitim Enstitüsü, Kimya Anabilim Dalı, Devam ediyor.

Bildiği Yabancı Diller : İngilizce

BİLİMSEL FAALİYETLERİ

a) Yayınlar

1) SCI

Tan B., Baycan Koyuncu F., “A new donor-acceptor conjugated polymer-gold nanoparticles biocomposite materials for enzymatic determination of glucose”, *Polymer*, 210, 2020, 123066.

Tan B., Baycan F., An enzymatic glucose biosensor based on pencil graphite electrode modified by naphthalenedimide-EDOT based conjugated polymer/Au nanoparticles biocomposite, *Chemistry Select* (2022) e202103437.

D. Angin, S. Gunes, A. Ates, U. Selengil, E. Altindag, **B. Tan**, H. Demirel, Effect of activated carbon produced from biochar on removal of 2,4-dichlorophenoxy acetic acid from aqueous solutions, *Indian Journal of Chemical Technology* 28 (2021) 701-708.

S. Gunes, D. Angin, A. Ates, **B. Tan**, U. Selengil, H. Demirel, Assessment of Orange Pulp Derived Activated Carbon as an Eco-friendly Adsorbent in Reactive Blue 49 Removal, *Fresenius Environmental Bulletin*, 31 (09/2022) (2022) 9791- 9800.

B. Tan, F. Baycan, Fabricating a new immobilization matrix based on a conjugated polymer and application as a glucose biosensor, *Journal of Applied Polymer Science*, *Journal of Applied Polymer Science* 2022, e53268.

2) Diğer

Bektaş T. E., Kıvanç Uğurluoğlu B., **Tan B.**, Phosphate removal by Ion exchange in batch mode, *Water Practise & Technology* 16 (4), 2021, 1343.

Tan B., “Zero Waste Strategies and Turkey’s Zero Waste Project” *Environmental Research and Technology*, 4(1), 97-101, 2020.

Tan B., Bektaş T.E., Selengil U., “Boron rejection from aqueous solution and wastewater by direct contact membrane distillation”, *Environmental Research and Technology*, 4(1), 73-82, 2020.

b) Bildiriler

1) Uluslararası

Tan B., “Zero Waste Strategies and Turkey’s Zero Waste Project” 5. Uluslararası EurAsia Atık Yönetimi Sempozyumu, (Uzaktan Sözlü Sunum), 2020.

Tan B., Bektaş T.E., Selengil U., “Boron rejection from aqueous solution and wastewater by direct contact membrane distillation”, 5. Uluslararası EurAsia Atık Yönetimi Sempozyumu, (Uzaktan Sözlü Sunum), 2020.

Tan B., Doyranlı C., Baycan Koyuncu F., Demiç Ş., Usluer Ö., Koyuncu S., Electrochemical Polymerization and Electrochromic Properties of Fluorene-Carbazole Based Electroactive Dendrimers, International Chemistry & Biology Conference'19, (Poster Presentation) 1 August, 2019, Shubra-Al-Khaymah-Egypt.

Tan B., “5S Sistemi ve Cam Sektöründen Örnek Bir Uygulama”, Uluslararası İş Güvenliği ve Çalışan Sağlığı Kongresi, (Sözlü Sunum), 2019

Tan B., Bektaş T.E., Selengil U., “Bor Tesisi Atık suyundan Çöktürme Yöntemi ile Bor Gideriminin İncelenmesi”, VII. Uluslararası Fen, Mühendislik ve Mimarlık Bilimlerinde Akademik Çalışmalar Sempozyumu, (Sözlü Sunum), 2019.

2) Ulusal

Çetinkaya H., Doğan C., Kör S., **Tan B.**, Hoşgün H. L., Meşe Palamutu Yağı Ekstraksiyonu ve Karakterizasyonu, Dokuzuncu Ulusal Kimya Mühendisliği Kongresi (Poster Sunumu), 22-25 Haziran, 2010, Gazi Üniversitesi, Ankara-Türkiye.

B. Tan, D. Malçok, M. Yıldız, H. L. Hoşgün, H. Ferdi Gerçel, Biyodizel Prosesi yan Ürünü Gliserinin Saflaştırılması, Sekizinci Ulusal Kimya Mühendisliği Kongresi (Poster Sunumu), 26-29 Ağustos, 2008, İnönü Üniversitesi, Malatya-Türkiye

c) Katıldığı Projeler

Membran Distilasyon-Kristalizasyon (MDC) Ayırma Yöntemini Kullanarak Bor İçeren Sulu Çözeltilerden ve Atık Sudan Bor Giderimi ve Geri Kazanımının Araştırılması –ESOGÜ-BAP Projesi, Bursiyer, 2011-2013 (Yürütücü: Prof. Dr. Tijen Ennil BEKTAŞ).

Pervaporatif desalinasyon için polilaktik asit temelli karma matrisli membranların üretimi ve deniz suyu saflaştırılmasında kullanımı – TÜBİTAK 1002 Projesi, Bursiyer, 2021-2022 (Yürütücü: Doç. Dr. Filiz UĞUR NİGİZ).

Glikoz Tayini için Konjuge Polimer Temelli Yeni Biyosensörlerin Hazırlanması – ÇOMÜ BAP- Tez Projesi, Araştırmacı – 2021- devam ediyor (Yürütücü: Prof. Dr. Fatma BAYCAN)

İŞ DENEYİMİ

Çalıştığı Kurumlar ve Yıl: Kükre Gıda San. Ve Tic. A.Ş., 2013-2014
Ciner Grup- Parkcam San. Ve Tic. A.Ş.,
2014-2018

İLETİŞİM

E-posta Adresi :

ORCID :

