

**POLİPİROL İLETKEN POLİMERİNİN
BİYOSENSÖR OLARAK KULLANIMI**

Levent ÖZCAN
Doktora Tezi

Kimya Anabilim Dalı
Ağustos 2008

JÜRİ VE ENSTİTÜ ONAYI

Levent ÖZCAN'ın “**Polipirol İletken Polimerinin Biyosensör Olarak Kullanımı**” başlıklı **Kimya** Anabilim Dalındaki, Doktora tezi 18.07.2008 tarihinde, aşağıdaki jüri tarafından Anadolu Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca değerlendirilerek kabul edilmiştir.

	Adı-Soyadı	İmza
Üye (Tez Danışmanı)	: Doç. Dr. Yücel ŞAHİN
Üye	: Prof. Dr. Kadir PEKMEZ
Üye	: Doç. Dr. Arzu ERSÖZ
Üye	: Doç. Dr. Suat ÖZKORUCUKLU
Üye	: Yard. Doç. Dr. Mutlu ŞAHİN

Anadolu Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun
..... tarih ve sayılı kararıyla onaylanmıştır.

Enstitü Müdürü

ÖZET

Doktora Tezi

POLİPİROL İLETKEN POLİMERİNİN BİYOSENSÖR OLARAK KULLANIMI

Levent ÖZCAN

**Anadolu Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Kimya Anabilim Dalı**

Danışman: Doç. Dr. Yücel ŞAHİN

2008, 114 sayfa

Bu tez çalışmasında, modifiye edilmiş polipirol iletken polimerinin biyolojik türlerin tayininde biyosensör olarak kullanımı araştırılmıştır. Bu amaçla ilk olarak elektrokimyasal polimerizasyon ile hazırlanan molekül baskılanmış polipirol (MIP) film elektrotların parasetamol ve askorbik asit için tanıma özellikleri incelenmiştir. MIP film elektrotların performansını kontrol eden bazı önemli parametreler optimize edilmiştir. MIP film elektrotların parasetamol ve askorbik asite karşı yüksek seçicilik ve hassasiyet gösterdiği saptanmıştır. Daha sonra bu elektrotlar ilaç örneklerindeki parasetamol ve askorbik asit tayinlerinde kullanılmıştır. Tez çalışmasının ikinci aşamasında, elektrokimyasal yöntem ile aşırı yükseltgenmiş polipirol nanofiber film hazırlanarak Co(II) ftalosiyanın tetrasülfonat (Co-FTS) ile modifiye edilmiştir. Co-FTS ile modifiye edilmiş elektrotların elektrokimyasal performansları diferansiyel puls voltametri yöntemiyle incelenmiştir. Modifiye elektrotların, girişim yapan elektroaktif türlerin varlığında glikoza karşı yüksek seçicilik ve hassasiyet gösterdiği saptanmıştır. Ayrıca bu elektrotların serum örneklerindeki glikoz tayininde kullanılabilirliği araştırılmıştır. Çalışma sonucunda elde edilen veriler molekül baskılanmış ve Co-FTS ile modifiye edilmiş polipirol film elektrotların parasetamol, askorbik asit ve glikoz tayinlerinde biyosensör olarak analitik amaçlı kullanılabileceğini göstermiştir.

Anahtar Kelimeler: Polipirol, Biyosensör, Elektrokataliz, Parasetamol, Askorbik asit, Glikoz

ABSTRACT**Ph. D. Dissertation****USING OF THE CONDUCTING POLYPYRROLE POLYMER
AS BIOSENSOR****Levent ÖZCAN****Anadolu University
Graduate School of Sciences
Chemistry Program****Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Yücel ŞAHİN****2008, 114 pages**

In this study, the usage of the modified conducting polypyrrole polymer as a biosensor was investigated for the determination of biological species. For this purpose, firstly, molecularly imprinted polypyrrole (MIP) film electrodes were prepared by electrochemical polymerization and their recognition properties for paracetamol and ascorbic acid investigated. Several important parameters controlling the performance of the MIP film electrodes were optimized. The MIP film electrodes exhibited a high selectivity and sensitivity toward paracetamol and ascorbic acid. Then, these electrodes were used for determination of paracetamol and ascorbic acid in pharmaceutical samples. In the second part of the thesis, overoxidized polypyrrole nanofiber film was electrochemically prepared and modified with cobalt(II) phthalocyanine tetrasulfonate (Co-FTS). The electrochemical performances of the Co-FTS modified electrodes were investigated with differential pulse voltammetry method. The modified electrodes exhibited a high selectivity and sensitivity toward glucose in the presence of electroactive interfering substances. Usefulness of these electrodes was also tested for the determination of glucose in serum samples. The results show that molecularly imprinted and Co-FTS modified polypyrrole electrodes can be used as a biosensor in analytical purposes in the determination of paracetamol, ascorbic acid and glucose.

Keywords : Polypyrrole, Biosensor, Electrocatalysis, Paracetamol, Ascorbic Acid, Glucose

TEŞEKKÜR

Bu tez çalışmasının planlanması ve yürütülmesi esnasında ilgi ve anlayış gösteren, değerli bilgi ve yardımlarıyla beni yönlendiren danışmanım Sayın Doç. Dr. Yücel ŞAHİN'e,

Tez İzleme Komitemde yer alan ve tez süresince değerli yardımları ve önerileri için Sayın Prof. Dr. Kadir PEKMEZ ve Doç. Dr. Arzu ERSÖZ'e,

Nezaket göstererek tez savunma jürimde yeralan Sayın Doç. Dr. Suat ÖZKORUCUKLU ve Sayın Yard. Doç. Dr. Mutlu ŞAHİN'e,

Çalışmalarım boyunca bölümümüz imkanlarından yararlanmamı sağlayan ve destekleyen Bölüm Başkanımız Sayın Prof. Dr. Lale ZOR'a, fakültemiz olanaklarından yararlanmamı sağlayan Fen Fakültesi Dekanlığı'na,

Bu çalışmada kullanılan Co-Ftalosiyenin tetrasülfonatu sağlayan Sayın Prof. Dr. Hayrettin TÜRK'e,

HPLC analizlerindeki yardımlarından dolayı Ali ÖZCAN'a ve tez çalışmam süresince gösterdikleri sabır, hoşgörü ve yardımlarından dolayı bölümümdeki tüm arkadaşlarıma,

Manevi destekleri ile beni hiçbir zaman yalnız bırakmayan canım aileme,

Bu tez çalışması sırasında sabrını ve anlayışını esirgemeyen eşim Dilek ÖZCAN'a

Yürekten teşekkürlerimi sunarım.

Levent ÖZCAN

Ağustos 2008

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
ÖZET	i
ABSTRACT	ii
TEŞEKKÜR	iii
İÇİNDEKİLER	iv
ŞEKİLLER DİZİNİ	viii
ÇİZELGELER DİZİNİ	xii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	xiii
1. GİRİŞ	1
1.1. Sensörler ve Biyosensörler.....	2
1.2. Sensör Bileşenleri	4
1.2.1. Tanıma birimleri	4
1.2.2. Dönüştürücüler.....	5
1.2.2.1. Elektrokimyasal dönüştürücüler	5
1.2.2.2. Optik dönüştürücüler.....	6
1.2.2.3. Piezoelektrik cihazlar	6
1.2.2.4. Termal sensörler.....	6
1.3. İdeal Bir Biyosensörün Özellikleri.....	6
1.3.1. Hassasiyet.....	7
1.3.2. Kalibrasyon gereksinimi	8
1.3.3. Doğrusallık.....	8
1.3.4. Tayin sınırı	9
1.3.5. Taban sinyali	9
1.3.6. Seçicilik.....	9
1.3.7. Kullanım ömrü	10
1.4. Sensör ve Biyosensörlerin Uygulama Alanları	10
1.4.1. Tıbbi amaçlı uygulamalar	10
1.4.2. Endüstriyel işlemlerin kontrolü.....	11
1.4.3. Çevresel analizler	11
1.5. İletken Polimerler.....	12

1.5.1. İletken polimerlerde iletkenlik teorisi	14
1.5.2. İletken polimerlerin elektrokimyasal sentezi ve biyosensör uygulamaları	16
1.5.3. İletken polimerlerin modifikasyonu	18
1.6. Polipirol.....	19
1.6.1. Pirol.....	19
1.6.2. Polipirolün kimyasal ve elektrokimyasal sentezi.....	20
1.6.3. Aşırıyükseltgenmiş polipirol.....	24
1.7. Moleküler Baskılama Yöntemi	26
1.8. Parasetamol ve Önemi.....	31
1.8.1. Elektroanalitik yöntemler ile parasetamol tayini	32
1.9. Askorbik Asit ve Önemi	33
1.9.1. Askorbik asitin elektrokatalitik yükseltgenmesi	34
1.9.2. Askorbik asitin polipirol ile modifiye edilmiş elektrotlar ile elektrokimyasal yükseltgenmesi	35
1.10. Glikoz ve Önemi	36
1.10.1. Glikoz oksidaz modifiye elektrotlar ile glikoz tayinleri	36
1.10.2. Enzim kullanılmayan modifiye elektrotlar ile glikoz tayinleri ..	38
1.11. Voltametrik Yöntemler	41
1.11.1. Doğrusal taramalı ve dönüşümlü voltametri.....	42
1.11.2. Puls voltametri yöntemleri	45
1.11.2.1. Normal puls voltametri.	45
1.11.2.2. Diferansiyel puls voltametri.....	46
1.12. Kalem Ucu Elektrot ve Elektrokimyasal Analizlerde Kullanımı.....	47
2. MATERYAL VE YÖNTEM.....	49
2.1. Materyal	49
2.1.1. Kimyasal maddeler, reaktifler ve elektrotlar.....	49
2.1.2. Cihazlar ve analizler.....	50
2.2. Yöntem.....	50
2.2.1. Moleküler olarak parasetamol baskılanmış ve baskılanmamış polipirol elektrotların hazırlanması.....	50

2.2.1.1.	Elektroanalitik ölçümler.....	51
2.2.1.2.	Parasetamol içeren ilaç örneklerinin hazırlanması.....	51
2.2.2.	Moleküler olarak askorbik asit baskılanmış ve baskılanmamış polipirol elektrotların hazırlanması.....	52
2.2.2.1.	Elektroanalitik ölçümler.....	52
2.2.2.2.	Askorbik asit içeren ilaç örneklerinin hazırlanması....	52
2.2.3.	Co(II) ftalosiyanın tetrasülfonat ile modifiye edilmiş nano fiber yapılı polipirol elektrotların hazırlanması	53
2.2.3.1.	Elektroanalitik ölçümler.....	54
3.	BULGULAR VE TARTIŞMA.....	55
3.1.	Moleküler Baskılanmış Polipirol ile Parasetamol Tayinleri.....	55
3.1.1.	Moleküler olarak parasetamol baskılanmış polipirolün elektrokimyasal polimerleşmesi.....	55
3.1.2.	Polipirol filminin kararlılığı üzerine pH Etkisi.....	58
3.1.3.	Parasetamol cevabı üzerine pH Etkisi.....	59
3.1.4.	MIP ve NIP elektrotların parasetamole karşı etkinliklerinin incelenmesi	60
3.1.5.	Monomer derişiminin etkisi	63
3.1.6.	Elektropolimerizasyon döngü sayısının etkisi	64
3.1.7.	Baskılanacak hedef molekül derişimin etkisi.....	66
3.1.8.	Girişim yapan türlerin etkisi	67
3.1.9.	Baskılanmış polimer elektrodun gerçek örneklere uygulanması	69
3.1.10.	MIP elektrodun yeniden üretilebilirliği ve kullanım ömrü	70
3.2.	Moleküler Baskılanmış Polipirol ile Askorbik Asit Tayinleri.....	71
3.2.1.	Moleküler olarak askorbik asit baskılanmış polipirolün elektrokimyasal polimerleşmesi.....	71
3.2.2.	Monomer derişiminin etkisi	74
3.2.3.	Elektropolimerizasyon döngü sayısının etkisi	75
3.2.4.	Baskılanacak hedef molekül derişimin etkisi.....	76
3.2.5.	Askorbik asit cevabı üzerine pH etkisi	77

3.2.6. MIP ve NIP elektrotların askorbik asite karşı etkinliklerinin incelenmesi	77
3.2.7. Girişim yapan türlerin etkisi	81
3.2.8. Baskılanmış polimer elektrodun gerçek örneklerle uygulanması	82
3.2.9. MIP elektrodun yeniden üretilebilirliği.....	82
3.3. Co(II) Ftalosiyanın Tetrasülfonat Modifiye Polipirol Elektrotlar ile Glikoz Tayinleri	83
3.3.1. Polipirol elektrotların yüzey morfolojisi.....	83
3.3.2. Polipirol elektrotların performanslarının karşılaştırılması	83
3.3.3. Co-FTS'in adsorpsiyon kapasitesinin belirlenmesi	88
3.3.4. NaOH derişiminin glikoz tayinlerine etkisi	90
3.3.5. Voltametrik analizler ve kalibrasyon eğrisi	90
3.3.6. Girişim yapan türlerin etkisi	93
3.3.7. Gerçek örnekler ile yapılan tayinler.....	95
3.3.8. KUE/AYPPyNF/Co-FTS elektrodun yeniden üretilebilirliği ve kararlılığı	96
4. SONUÇLAR	97
KAYNAKLAR	102

ŞEKİLLER DİZİNİ

	<u>Sayfa</u>
1.1. Bir biyosensörün şematik gösterimi	3
1.2. Bir biyosensör olarak burun	4
1.3. Bir biyosensör için kalibrasyon eğrisi.	7
1.4. İletken polimerlerin iletkenliklerinin metal, yarı iletken ve yalıtkanlarla karşılaştırılması.....	14
1.5. Konjugasyon hatalarının poliasetilen üzerinde gösterimi	15
1.6. Polipirolün elektrokimyasal sentez yoluyla oluşumu	17
1.7. Polipirol ve glikoz oksidazın etkileşmesi	18
1.8. Poli-(N-3-aminopropil pirol-ko-pirol) kopolimerine kovalent olarak enzim bağlanması	19
1.9. Pirol ve rezonans formlarının yapısı.....	20
1.10. Pirolün elektrokimyasal polimerizasyonu için önerilen reaksiyon mekanizması.	22
1.11. Nötral (katkılanmamış) polipirol yapısı	23
1.12. Polipirolün yükseltgenmiş yapısı (bipolaron).....	23
1.13. Polipirolün yükseltgenme- indirgenme mekanizması	24
1.14. Polipirolün aşırı yükseltgenme reaksiyonu.....	25
1.15. Moleküler baskılama işlemi için genel bir yöntem.....	27
1.16. Lis-Tri-Asp tripeptidinin hem kovalent hem de kovalent olmayan etkileşimlerden yararlanılarak moleküler baskılanması.	28
1.17. Elektrokimyasal olarak moleküler baskılanmış polimer oluşturulması	29
1.18. Parasetamol için moleküler baskılama işleminin gösterimi	33
1.19. GO immobilize POAF'ün PPy-Pt nanokompozit filmi üzerine kaplanmasıyla oluşturulmuş glikoz sensörü ve işleyiş mekanizması	37
1.20. Bazik ortamda Pt elektrot üzerinde glikozun elektrokimyasal yükseltgenmesine ilişkin mekanizma.....	39
1.21. Doğrusal-taramalı voltametri (a) gerilim taramasının zamanla değişimi ve (b) elde edilen voltamogram	43
1.22. Dönüşümlü voltametri (a) gerilim taramasının zamanla değişimi ve (b) elde edilen voltamogram.....	44

1.23. Normal puls voltametrisinde (a) uyarma sinyali ve (b) elde edilen voltamogram.....	46
1.24. Diferansiyel puls voltametrisinde (a) uyarma sinyali ve (b) elde edilen voltamogram.....	46
1.25. 1 mg/L kadmiyum ve kurşun iyonları karışımı için (A) normal puls ve (B) diferansiyel puls voltamogramları	47
2.1. KUE/AYPPyNF/Co-TFS elektrotların hazırlanma şeması	53
3.1. 0,1 M LiClO ₄ çözeltisinde KUE ile (a) pirol ve (b) parasetamol için elde edilmiş dönüşümlü voltamogramlar	55
3.2. KUE ile 0,05 M pirol için parasetamol yokken (a) ve parasetamol (20 mM) varlığında (b) elde edilmiş dönüşümlü voltamogramlar	56
3.3. KUE yüzeyinde pirolün elektropolimerizasyonu esnasında (a) parasetamol polipirol yapısına baskılanması ve (b) parasetamolün baskılanmış yapıdan uzaklaştırılması	58
3.4. Polipirol cevabının pH ile değişimi	59
3.5. 0,1 M KCl ve farklı pH'lardaki 0,05 M FT çözeltisinde 0,25 mM parasetamol için MIP elektrodun cevabının pH ile değişimi	60
3.6. NIP (a: 0,25 mM ce b: 1,0mM parasetamol) ve MIP (c: 0,25 mM ve d: 1,0 mM parasetamol) ile 0,1 M KCl + 0,05 M FT (pH) çözeltisinde elde edilmiş DP voltamogramları	61
3.7. (□) Moleküler baskılanmış (MIP) ve (Δ) baskılanmamış (NIP) polipirol elektrotlar ile parasetamol için elde edilmiş kalibrasyon grafikleri	62
3.8. MIP elektrotlar kullanılarak parasetamol için elde edilmiş DP voltamogramları	63
3.9. Farklı monomer derişimlerinde hazırlanan MIP ve NIP elektrotların 0,25 mM parasetamol için elde edilen akım değerleri.....	64
3.10. Farklı döngü sayılarıyla hazırlanan MIP ve NIP elektrotların 0,25 mM parasetamol için elde edilen akım değerleri.....	65
3.11. MIP elektrot ile parasetamol (□) ve dopamin (Δ) için (0,1 M KCl içeren FT (pH 7) çözeltisinde) parasetamolün yükseltgenme pik geriliminde elde edilen akım değerleri.....	67
3.12. Parasetamol tayinlerinde girişim yapan türlerin yapısı	68

3.13.0,025 M pirolün elektropolimerleşmesi sırasında (a) askorbik asit yokken (b) askorbik asit (10 mM) varlığında elde edilen dönüşümlü voltamogramlar	72
3.14. KUE yüzeyinde elektrokimyasal olarak sentezlenen polipirole (a) askorbik asitin baskılanması ve (b) baskılanmış yapıdan uzaklaştırılması	73
3.15. MIP (□) ve NIP (Δ) elektrotlar üzerine monomer derişiminin etkisi.	74
3.16. Farklı döngü sayılarıyla hazırlanan MIP ve NIP elektrotlar ile 0,25 mM askorbik asit için elde edilen akım değerleri	75
3.17. Elektropolimerizasyon çözeltisinde yeralan askorbik asit derişimi değiştikçe, MIP elektrot ile askorbik asit için elde edilen akım değerleri... ..	76
3.18. MIP elektrot ile 0,25 mM askorbik asit için farklı pH'lardaki çözeltilerde elde edilen akım ve gerilim değerleri.....	77
3.19. 1,0 mM askorbik asit için (a) MIP ve (b) NIP ile 0,1 M KCl içeren 0,05 M FT (pH 8,5) çözeltisinde elde edilmiş DP voltamogramları	78
3.20. 3 döngü ile elde edilen MIP ve NIP elektrotlar ile 0,1 M KCl içeren FT (pH 8,5) çözeltisinde elde edilmiş kalibrasyon grafikleri	79
3.21. 7 döngü ile elde edilen MIP ve NIP elektrotlar ile 0,1 M KCl içeren FT (pH 8,5) çözeltisinde elde edilmiş kalibrasyon grafikleri	80
3.22. MIP elektrotlar (7 döngü) ile 0,1 M KCl içeren FT (pH 8,5) çözeltilerde elde edilmiş DP voltamogramları	80
3.23. KUE/PPy (a) ve KUE/PPyNF (b) elektrotların SEM görüntüleri	83
3.24. KUE/AYPPyNF ve KUE/PPyNF elektrotların glikoz içermeyen 0,15 M NaOH sulu çözeltisindeki DP voltamogramları.....	85
3.25. KUE/AYPPyNF/Co-FTS ve KUE/PPyNF/Co-FTS elektrotların 15 mM glikoz içeren 0,15 M NaOH sulu çözeltisindeki DP voltamogramları.....	86
3.26. Nano fiber (KUE/AYPPyNF/Co-FTS) ve küresel morfolojiye sahip (KUE/AYPPy/Co-FTS) elektrotlar ile 2,0 mM glikoz için elde edilen DP voltamogramları.....	87
3.27. KUE/AYPPyNF ile glikoz yokken (a) ve 5,0 mM glikoz varlığında (c) elde edilen ve KUE/AYPPyNF/Co-FTS ile glikoz yokken (b) ve 5,0 mM glikoz varlığında (d) elde edilen DP voltamogramları.....	88

3.28.Farklı adsorpsiyon sürelerinde hazırlanan KUE/AYPPyNF/Co-FTS elektrotların 5,6 mM glikoz içeren 0,15 M NaOH çözeltisinde elde edilen yükseltgenme akım değerleri89
3.29. KUE/AYPPyNF/Co-FTS elektrotlar ile farklı derişimlerdeki sulu NaOH çözeltisinde ile 5,6 mM glikoz için elde edilen yükseltgenme akım değerleri.....	.90
3.30. KUE/AYPPyNF/Co-FTS elektrotların amperometrik glikoz ölçümlerinde optimum gerilim değerinin bulunması91
3.31. KUE/AYPPyNF/Co-FTS ile 0,15 M NaOH çözeltisinde glikoz için elde edilen kronoamperogram92
3.32. KUE/AYPPyNF/Co-FTS ile 0.15 M NaOH çözeltisinde farklı derişimlerdeki glikoz için elde edilen DP voltamogramları ve kalibrasyon eğrisi93
3.33. KUE/AYPPyNF/Co-FTS elektrodun 5,0 mM glikoza karşı verdiği cevabın zamanla değişimi.96

ÇİZELGELER DİZİNİ

	<u>Sayfa</u>
1.1. Tıbbi teşhis için gerekli türler ve kullanılan yöntemlerden bazıları	11
1.2. Yaygın olarak kullanılan bazı iletken polimerler	13
3.1. MIP ve NIP elektrotlar kullanılarak elde edilen parasetamol (0,25 mM) pik akımı değerlerine girişim yapan türlerin etkisi.....	69
3.2. HPLC yöntemi ve MIP elektrotlar kullanılarak yapılan gerçek örnek analizleri.....	70
3.3. DPV ile 0,50 mM askorbik asit için MIP elektrot ile elde edilen akım cevabına girişim yapan türlerin etkisi.....	81
3.4. MIP elektrot kullanılarak bazı ilaç bileşimlerinde bulunan askorbik asit miktarları	82
3.5. KUE/AYPpyNF/Co-FTS ile 5,6 mM glikoz için DPV ile elde edilen akım cevabına girişim yapan türlerin etkisi.....	94
3.6. KUE/AYPpyNF/Co-FTS elektrot ve klinik bir laboratuarda yapılan analizler ile serum örneklerindeki bulunan glikoz miktarları.....	95
4.1. MIP elektrodun parasetamol tayinlerindeki elektrokimyasal performansının literatür ile karşılaştırılması.....	98
4.2. KUE/AYPpyNF/Co-PcTS elektrodun glikoz tayinlerindeki elektrokimyasal performansının literatür ile karşılaştırılması	100

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

AET	: Alan-etkili transistör
AYPPy	: Aşırı yükseltgenmiş polipirol
Co-FTS	: Kobalt(II) ftalosiyanın tetrasülfonat
Cu-FTS	: Bakır(II) ftalosiyanın tetrasülfonat
DTV	: Doğrusal taramalı voltametri
DV	: Dönüşümlü voltametri
DPV	: Diferansiyel puls voltametri
EDC	: Çözünür karbodiimid
EC-SPE	: Elektrokimyasal kontrollü katı faz mikro ekstraksiyon
Fe-FTS	: Demir(II) ftalosiyanın tetrasülfonat
FT	: Fosfat tamponu
GO	: Glikoz oksidaz enzimi
HPLC	: Yüksek performanslı sıvı kromatografisi
ITO	: İndiyum-kalay oksit kaplı cam
I_F	: Faradayik akım
I_K	: Kapasitif veya yükleme akımı
KUE	: Kalem ucu elektrot
KUE/PPyNF	: KUE yüzeyinde sentezlenmiş nano fiber yapıli polipirol
KUE/AYPPyNF	: KUE yüzeyinde sentezlenmiş ve aşırı yükseltgenmiş nano fiber yapıli polipirol
MIP	: Moleküler baskılanmış polipirol
NIP	: Baskılanmamış polipirol
MIPs	: Moleküler baskılanmış polimerler (<i>molecularly imprinted polymers</i>)
NHS	: N-hidroksi süksinimid
NSAİ	: Non-steroidal antiinflamatuvar ilaçlar
OLED	: Organik ışık yayan diyot
PA	: Poliasetilen
PS	: Parasetamol
PPy	: Polipirol

POAF	: Poli- <i>o</i> -aminofenol
SEM	: Taramalı elektron mikroskopy
SCE	: Doymuş kalomel elektrot (<i>Saturated calomel electrode</i>)
XPS	: X-ışınları fotoelektron spektroskopisi

1. GİRİŞ

Son yirmi yıldır, sensör alanındaki araştırma ve gelişmeler aktif araştırmacı sayısı, yayınlanmış makale ve mali destek açısından büyük bir ivmeyle artmaktadır. Bir sensörün görevi fiziksel, kimyasal ve biyolojik çevremiz ile ilgili bilgi vermektir. Polimerler, fiziksel ve kimyasal özellikleri belli gereksinimler için uygun hale getirilebildiğinden sensör tasarımlarında yaygın olarak kullanılmaktadırlar (Adhikari ve Majumdar 2004). Elektroaktif konjuge veya iletken polimerler elektronik, manyetik ve optik özelliklerinden dolayı büyük bilimsel ve teknolojik öneme sahiptirler (Retama ve ark. 2005). Özellikle elektrokimyasal depolama sistemleri, telekomünikasyon, moleküler elektronik ve sensör tasarımı gibi uygulamalarda önemleri giderek artmaktadır (Ahuja ve ark. 2007).

İletken polimerlerin geniş iletkenlik aralığı birçok kullanım alanlarının doğmasına neden olmuştur. Elektronik band yapısındaki değişim UV-görünür ve NIR bölgedeki optik özelliklerinin değişmesine eşlik etmiştir. Bu değişim elektrokromik göstergelerde ve optik sensörlerde kullanılmaktadır. Ayrıca bazı iletken polimerler elektrolüminesans özelliklerinden dolayı organik ışık yayan diyotlarda (OLED) kullanılırken, fotolüminesans özelliğe sahip olanlar ise floresans sensörlerinde uygulama alanı bulmaktadır. Katkılama esnasında polimer yapısına bağlanan iyonlar polimerlerin iyon değişim membranlarında veya katı-faz ekstraksiyon kolonlarında kullanılabilirlik özelliği kazandırır. Büyük anyonik gruplarla katılanan iletken polimerler katyon değişim mekanizması gösterirken, küçük anyonlar kullanıldığında anyon değişim prosesi gerçekleşmektedir. Katkı maddesinin yapısı iletken polimerin özelliklerinde (iletkenlik, çözünürlük, termal, mekanik, asit-baz ve yükseltgenlere karşı kararlılık, molekül kütlesi, seçicilik, vb.) önemli rol oynar. İletken polimerin yükseltgenmesinden dolayı şişmesi yapay kas üretiminde kullanılabileceğini göstermiştir (Lange ve ark. 2008).

İletken polimerlerin katılanması kimyasal veya elektrokimyasal olarak yapılabilir. Kimyasal katkılamada polimer iyot gibi yükseltgeyici özelliğe sahip bir maddenin buharına tutularak yükseltgenme tepkimesi gerçekleştirilir. Bir diğer benzersiz kimyasal katkılama yöntemi ise polianilin (PANI) protonlanmasıdır. Bu işlem PANI yapısında bir iç indirgenme-yükseltgenme tepkimesine neden

olarak PANI'nin farklı formlara dönüşmesine neden olur (Wallace ve ark. 2003). Kimyasal katkılama işlemi etkin olmakla birlikte nicel olarak tersinirliği zayıftır. Alternatif olarak kullanılan elektrokimyasal katkılama yönteminde katkılama seviyesi uygulanacak olan gerilimin ayarlanmasıyla etkin bir şekilde kontrol edilebilir. İletken polimerler genel olarak kimyasal veya elektrokimyasal olarak sentezlenebilir. Kimyasal sentezde monomer uygun sıcaklık ve basınç aralığında yükseltgeyici reaktifler ((NH₄)₂S₂O₈, FeCl₃ vb.) ile çözelti içerisinde polimerleştirilir. Elektrokimyasal yöntemin basit olması, elektrot yüzeyinde hızlı polimerizasyon gerçekleşmesi, uygulanan gerilim veya akım değiştirilerek film kalınlığının kontrol edilebilmesi gibi bazı avantajları bulunmaktadır.

İletken polimerler arasında en yaygın kullanıma sahip polimerlerden biri polipiroidür. Kimyasal ve mekanik olarak dayanıklı olması, farklı malzemeler üzerinde nötral ortamlarda bile elektrokimyasal olarak kolayca sentezlenebilmesi (Wang ve ark. 2001) ve biyolojik uyumluluğu gibi özellikler pek çok çalışmada polipirolün tercih edilmesine neden olmaktadır. Bu özelliklerinden dolayı biyosensör üretiminde yaygın olarak kullanılmaktadır.

Bu çalışmada elektrokimyasal sentezin kolaylığı ve üstünlükleri ile polipirolün avantajları göz önünde bulundurularak modifiye polipirolün parasetamol, askorbik asit ve glikoz tayinlerinde biyosensör olarak kullanılabilmesi araştırılmıştır. Çalışmanın birinci aşamasında moleküler baskılama yöntemiyle hazırlanan modifiye polipirol elektrotlar kullanılarak parasetamol ve askorbik asit için seçici biyosensörler geliştirilmiştir. İkinci aşamasında nanofiber yapıda sentezlenen aşırı yükseltgenmiş polipirol Co(II)-ftalosiyanın tetrasülfonat ile modifiye edilmiş ve glikoza karşı seçici olarak cevap veren bir biyosensör üretilmiştir.

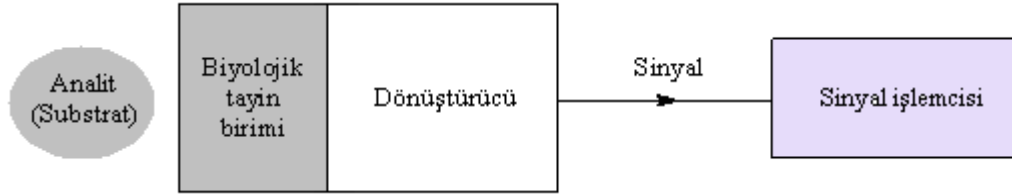
1.1. Sensörler ve Biyosensörler

En iyi bilinen sensör uygulamalarından biri asitler ve bazlar için kullanılan turnusol kâğıdı testidir. Bu test, asit varlığını veya yokluğunu renk değişimine neden olan bir reaksiyon aracılığı ile kalitatif olarak gösterir. Asitlik derecesini göstermenin daha kesin bir yöntemi özel indikatör çözeltilerinde renklenme

reaksiyonlarının daha kapsamlı bir şekilde kullanılması veya pH kağıtlarının kullanılmasıdır. Bununla birlikte asitliği ölçmenin en iyi yöntemi bir pH-metrenin kullanılmasıdır. pH-metre, elektriksel cevabın (gerilim değişimi) bir mikroişlemci yardımıyla (dönüştürücü, transduser) okunduğu elektrokimyasal bir cihazdır. Bu yöntemlerde, asitlik derecesine cevap veren yani H^+ iyonuna karşı seçici olan sensör pH-metredeki cam membran elektrottur. Dolayısıyla cam elektrot iyon seçici elektrot veya H^+ sensörü şeklinde de tanımlanabilir.

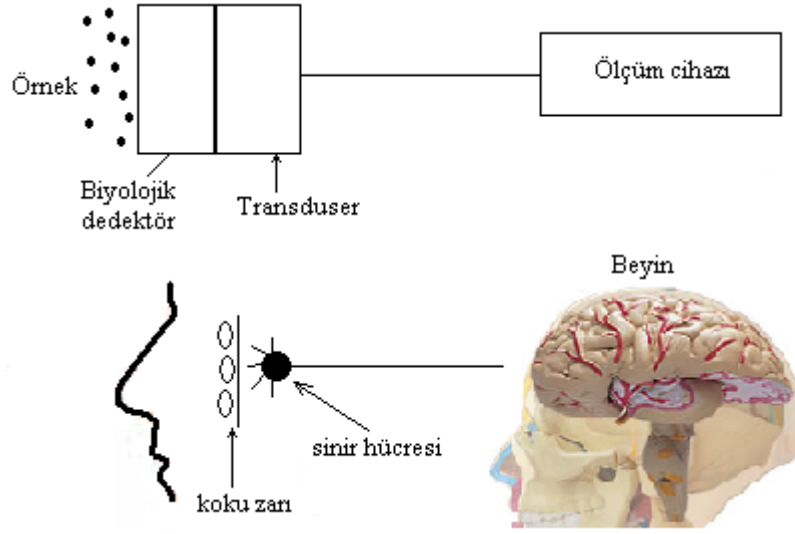
Bir biyosensörde, tayin edilecek türe cevap veren algılayıcı (sensing) birim doğada bulunan biyolojik bir türdür. Gözlenebilir bir cevap elde edebilmek için bu biyolojik tayin birimi dönüştürücü ile uygun bir şekilde bağlantılı olmalıdır.

Biyosensörler, sadece biyolojik bileşenler için değil aynı zamanda özel kimyasalların algılanması ve ölçülmesi ile de ilgilidirler. Ölçülen bu özel kimyasallar genellikle analit bazen de substrat olarak isimlendirilirler. Şekil 1.1 bir biyosensörün genel yapısını şematik olarak göstermektedir.



Şekil 1.1. Bir biyosensörün şematik gösterimi

Örneğin burnumuzla tayin ettiğimiz “koku” aslında çok düşük miktarlardaki kimyasallardır. Kimyasallar koku zarlarından geçerek analite duyarlı biyolojik bir bileşen olan koku keselerine ulaşırlar ve tayin edilirler. Şekil 1.2 genelleştirilmiş bir biyosensör sistemiyle koku alma sistemimizi karşılaştırmalı olarak göstermektedir. Burun delikleri yardımıyla toplanan koku örnekleri, koku zarları (biyolojik bileşen) tarafından algılanır. Koku zarının cevabı koku sinir hücreleri (dönüştürücü) tarafından elektriksel sinyale dönüştürülür ve değerlendirilmek üzere sinirler yardımıyla beyne iletilir. Beyin bu sinyali koku dediğimiz hisse dönüştürdüğünden bir mikroişlemci olarak davranır.



Şekil 1.2. Bir biosensör olarak burun

Böylece, bir dönüştürücüyle bağlantılı biyolojik bir algılama biriminin beraberce oluşturduğu cihaz biosensör olarak tanımlanmaktadır. Dönüştürücü, genellikle özel bir kimyasalın veya kimyasal türünün derişimiyle orantılı büyüklüğe sahip ölçülebilir elektronik bir sinyali gözlenebilen fiziksel veya kimyasal bir birime dönüştürür. Sonuçta biyolojik sistemlerin hassasiyeti ve spesifikliğı ile mikroişlemcilerin sahip olduğu bilgisayarlı hesaplama üstünlüğü bir araya gelmektedir (Eggins 1996).

1.2. Sensör Bileşenleri

1.2.1. Tanıma birimleri

Tanıma birimi herhangi bir sensörün anahtar bileşenlerinden biridir ve belli bir analite veya analit türüne karşı sensörün seçici olarak davranmasını sağladıklarından seçicilikteki en önemli paya sahiptirler. Bu nedenle diğer maddelerin girişim yapıcı etkilerini gidermek için önemlidirler. Bazı iyonların analizinde, tayin edilecek analiti seçici olarak geçiren bir zara sahip iyon seçici elektrotlar uzun zamandır kullanılmaktadır. Biosensörlerde kullanılan yaygın

tanıma birimi genellikle bir enzimdir. Diğer tanıma birimleri arasında antibadiler, reseptörler ve nükleik asitler yer almaktadır (Eggins 2002).

1.2.2. Dönüştürücüler

Analitik yöntemler, spektroskopi ve kolorimetride olduğu gibi fotometrik dönüştürücü temelinde yürütülmektedir. Bununla beraber yapımının basitliği ve düşük maliyetli olması nedeniyle elektrokimyasal dönüştürücü ile çalışan pek çok sensör vardır. Dönüştürücüler başlıca dört alt gruba ayrılırlar (Eggins 2002).

- i) Elektrokimyasal dönüştürücüler
- ii) Optik dönüştürücüler
- iii) Piezo-elektrik cihazlar
- iv) Termal sensörler

1.2.2.1. Elektrokimyasal dönüştürücüler

Elektrokimyasal dönüştürücüler dört alt başlıkta incelenir.

Potansiyometrik: Bunlar akım geçirmeksizin bir hücredeki gerilimin ölçülmesi temelinde çalışırlar. Tayin edilecek analit derişiminin logaritması ile gerilim arasında doğru orantılı bir ilişki vardır.

Voltametrik: Tayin edilecek madde yükseltgeninceye (veya indirgeninceye) kadar hücreye uygulanan gerilim kontrol edilerek akımda ani bir değişim ile bir pik oluşur. Pik akımının yüksekliği doğrudan elektroaktif türün derişimiyle orantılıdır. Uygun yükseltgenme (veya indirgenme) gerilimi biliniyorsa o gerilim değeri uygulanarak akım değerinin değişimi de izlenebilir. Bu şekilde yapılan analizler amperometrik analiz olarak bilinir.

Kondüktometrik: Pek çok reaksiyon sonucu çözeltinin kondüktansında bir değişiklik meydana gelmekte ve çözeltinin iletkenliğinde bir değişim olmaktadır. Bu değişim tespit edilerek analiz yapılır.

Alan-etkili-transistör(AET) temelli sensörler: Bazen yukarıda bahsedilen elektrokimyasal dönüştürücü türlerinden biri silikon-çip temelli alan etkili bir transistör üzerinde daha küçük boyutlarda tasarlanabilir. Bu yöntem genellikle

potansiyometrik sensörlerde kullanıldığı gibi kondüktometrik veya voltametrik olanlarda da kullanılabilir.

1.2.2.2. Optik dönüştürücüler

Bu tür dönüştürücüler, fiber optikteki gelişmelerle birlikte yeni bir alan olarak karşımıza çıkmaya başlamıştır. Daha esnek ve daha küçük boyutlarda üretime olanak sağlamaktadırlar. Bu alanda kullanılan yöntemler arasında absorpsiyon, floresans, luminesans ve yüzey plazmon spektroskopisi ve ışık saçılması yöntemleri vardır.

1.2.2.3. Piezoelektrik cihazlar

Bu cihazlar, titreşen bir kristalden elektrik akımı üretirler. Titreşim frekansı, bir reaksiyondaki değişimlerle ilgili olarak yüzeye adsorplanan maddenin kütlesinden etkilenir. Yüzey akustik dalga cihazları da ilgili sistemler arasındadır.

1.2.2.4. Termal sensörler

Bütün kimyasal ve biyokimyasal işlemler sonucu ısı açığa çıkar veya absorplanır. Bu ısı hassas bir sensör tarafından ölçülerek tayin edilecek madde miktarı ile ilişkilendirilir.

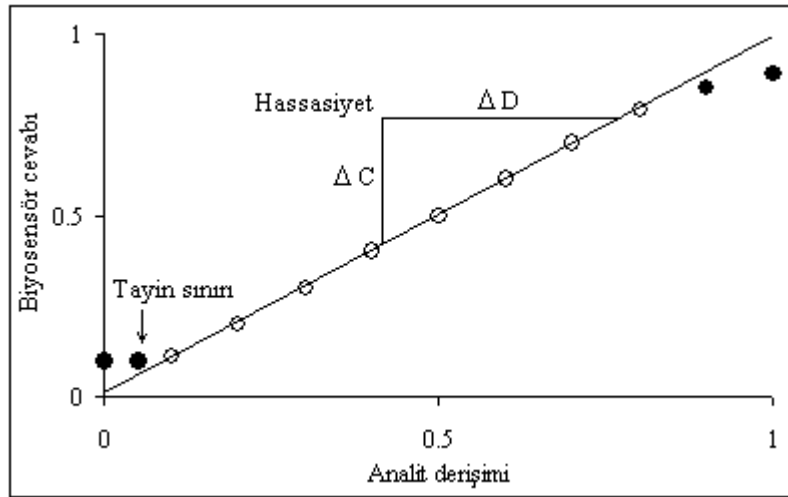
1.3. İdeal Bir Biyosensörün Özellikleri

Elektrokimyasal, optik veya diğer biyosensör türlerini en uygun bir şekilde tasarlayabilmek için ölçüm sisteminin sahip olması gereken bazı temel fiziksel özelliklerin olması gerekmektedir. İdeal bir biyosensörün sahip olması gereken bazı önemli karakteristik ve özellikler şöyle sıralanabilir (Buerk 1993).

1.3.1. Hassasiyet

Hassasiyet, genellikle özel bir kimyasalın derişimindeki değişime (ΔD) bağlı olarak biyosensör cevabında meydana gelen değişimin (ΔC) ölçüsü olarak ($\Delta C/\Delta D$) tanımlanır (Şekil 1.3). Analit çoğunlukla bir biyosensör tarafından doğrudan tayin edilmez. Pek çok durumda biyosensör ölçüm yaparken, bir kimyasal reaksiyondaki ilgili reaktifin veya ürünün derişimindeki değişimi tespit eder. Bu yüzden biyosensörün analit ile ilgili hassasiyeti (kimyasal reaksiyon stokiyometrisine uygun olarak) doğrudan tayin edilen tür ile ilgili olmaktadır.

Bazı biyosensör türlerinde, ölçümler biyosensörün dinamik cevabı üzerinden elde edilmektedir. Bu durumda hassasiyet derişim değiştikçe zamanla sinyalde meydana gelen değişim olarak ($\Delta C/\Delta D \cdot \Delta t$) tanımlanabilir.



Şekil 1.3. Bir biyosensör için kalibrasyon eğrisi. Eğride doğrusal bir cevap aralığı (○), tayin sınırının altındaki derişimlerde ve daha yüksek derişimlerde doğrusal olmayan davranış (●) görülmektedir. Hassasiyet doğrusal cevap aralığının eğimi olarak tanımlanır

Belli bir analite yönelik olarak hazırlanan bir biyosensörün etkin hassasiyetini belirlemek için pek çok etken vardır. Bunlar arasında sensörün fiziksel boyutu, zarların kalınlığı, örnekten algılayıcı bölgeye kimyasal türlerin kütle transferi ve biyosensörün aktivitesini düşüren farklı işlemler yer almaktadır. İdeal olarak, bir biyosensörün hassasiyeti kullanım ömrü boyunca değişmemeli ve

elektronik bir cihazla transduserin çıkış sinyalinin belirlenebilmesine yetecek kadar yüksek olmalıdır

1.3.2. Kalibrasyon gereksinimi

İdeal bir biyosensör, bilinen derişimlerdeki analiti içeren standart çözeltiler yardımıyla kolayca kalibre edilebilmelidir. Kalibrasyon eğrileri hassasiyeti belirlemek için çok sayıda veriye ihtiyaç duymamalıdır. İstenilen aralığın dışında kalan güvenilir olmayan ekstrapolasyonlardan kaçınmak için kalibrasyonda elde edilecek veri aralığı, ölçüm yapılacak değerleri içermelidir. İdeal olarak, ard arda yapılacak ölçümler için biyosensör hassasiyetinin belirlenmesinde bir kez kalibrasyon yapılması yeterli olmalıdır. Bununla beraber, uygulamada zamanla hassasiyette meydana gelebilecek değişimleri belirlemek amacıyla düzenli aralıklarla kalibrasyon yapmak gerekebilmektedir.

1.3.3. Doğrusallık

Tamamen doğrusal olarak davranan bir biyosensör, ölçüm ortamında sıfır derişim değerinden analitin fiziksel olarak çözünebildiği en yüksek derişim değerini aşan bir aralıkta değişmeyen bir hassasiyete sahip olmalıdır. Uygulamada Şekil 1.3.'te (○) ile gösterilen doğrusal bölge daha dar bir analit derişimi aralığıyla sınırlanmaktadır. Doğrusal bölgenin herhangi bir yerindeki iki noktadan kalibrasyon yapılabilirdir.

Kalibrasyon grafiği biyosensör cevabını değerlendirebilecek kadar yeterli doğrulukta elde edilebiliyorsa, pratik kullanım açısından bir biyosensörün doğrusal olmasına gerek yoktur. Bir düzeltme yapılarak doğrusal olmayan cevaplar doğrusal bir şekle dönüştürülebilir. Bazı biyosensörler yarı logaritmik hassasiyete ($\Delta C/\Delta \ln D$) sahiptirler. Bunlar doğrusal olmayan sensörler olarak sınıflandırılmalarına rağmen yarı logaritmik bir ölçek üzerinde yeniden düzenlenerek cevapları doğrusal olarak ifade edilebilir.

1.3.4. Tayin sınırı

İdeal olarak, bir biyosensör tarafından tayin edilebilen en düşük analit derişimi (Şekil 1.3) sadece ölçüm için kullanılan elektronik cihazın çözünürlüğü tarafından sınırlandırılmalıdır. Uygulamada ise, diğer etkenler tayin sınırını etkiler. Örneğin, potansiyometrik ölçümlerde kullanılan elektrokimyasal dönüştürücülere diğer iyonlar ve ölçümü sınırlayan yüzey reaksiyonları girişim yapabilir.

1.3.5. Taban sinyali

Genellikle, bir biyosensörün sinyali göz önünde bulundurulması gereken bazı taban gürültülerine sahiptir. Akım kaçakları, elektronik cihazdaki veya biyosensörde farklı metallerin temasından kaynaklanan küçük gerilim farklılıkları veya pek çok elektrokimyasal etken taban gürültüsüne neden olabilir. Taban sinyali elektriksel bir gürültü değildir. Bu nedenle doğrusal bir sistem için doğru sinyal (S) basitçe şöyle ifade edilir.

$$S = S_{\text{ölçülen}} - S_{\text{taban sinyali}} \quad (1.1)$$

1.3.6. Seçicilik

İdeal bir biyosensör sadece analit derişimindeki değişime cevap verir ve diğer kimyasal türlerin varlığından etkilenmez. Aksi takdirde analit derişiminin tayininde hata meydana gelir. Gerçekte ise girişim yapan türlerin varlığı analit için belirlenen cevabı etkilemektedir. Girişim yapan türlerin derişimini kontrol etmek mümkün olmadığında biyosensördeki karışık sinyallerden kaçınmak amacıyla başka bir tür kimyasal transduser ile ölçüm yapılmalıdır. Kimyasal reaksiyonları değiştiren pH gibi başka türlü faktörlerde vardır. Bu ve benzeri etkenler değerlendirilmesi gereken dolaylı girişim türleri olarak karşımıza çıkmaktadır.

1.3.7. Kullanım ömrü

Bir biyosensörde kullanılan biyolojik elementler çoğu zaman sistemin en az kararlı olan bileşeni olmaktadır. Bir biyosensörün önemli bir özelliği normal işlem koşulları altında hassasiyetini koruyabildiği kadar uzun bir kullanım ömrüne sahip olmasıdır. Bu kullanım ömrü yapılan toplam ölçüm sayısına veya ölçülen analitin derişiminin büyüklüğüne bağlı olabilir. Daha yüksek derişimler hassasiyetin daha hızlı bir şekilde düşmesine neden olabilir. Ayrıca analit derişimine bağlı olmaksızın analiz ortamında aktivasyonu engelleyecek diğer kimyasal türler bulunabilir. Bir diğer önemli özellik ise biyosensörün saklanması ve kullanılması arasında geçen zamanın uzunluğudur. Biyosensörün bir buzdolabı ortamında muhafaza edilmesi gerektiği gibi biyolojik bileşenin biyoaktivitesini koruyabilmesi için özel bir kimyasal ortamda saklanması da gerekebilmektedir.

1.4. Sensör ve Biyosensörlerin Uygulama Alanları

1.4.1. Tıbbi amaçlı uygulamalar

Biyosensörlerin ve kimyasal sensörlerin temel uygulama alanı sağlık ile ilgili teşhislerdir. Kandaki bileşenlerin, gazların, iyonların ve vücut metabolitlerinin ölçümü bir hastanede hastaların metabolik durumları hakkında önemli bilgiler verir ki özellikle yoğun bakım hastalarında bunların tayini daha da önem kazanmaktadır. Bu türlerin çoğu, tıbbi teşhis laboratuvarlarında kan ve idrardan ayrıştırılarak uzun zaman alan klasik analizler yardımıyla belirlenmektedir. Bu yüzden alınan örneğin doğrudan ve yerinde analizleri yapılabilirse dakikalarla veya saniyelerle ifade edilebilecek sürelerde sonuca ulaşılacaktır. Çizelge 1.1 tıbbi teşhis amacıyla yaygın olarak kullanılan türleri ve bunların teşhis yöntemlerini göstermektedir.

Çizelge 1.1. Tıbbi teşhis için gerekli türler ve kullanılan yöntemlerden bazıları

Analit	Kullanılan yöntem
Glikoz	Amperometrik biyosensör
Üre	Potansiyometrik biyosensör
Laktat	Amperometrik biyosensör
Hepatit B	Kemiluminesans imün yöntem
Candida albicans	Piezoelektrik imün yöntem
Kolesterol	Amperometrik biyosensör
Penisilinler	Potansiyometrik biyosensör
Sodyum	İyon seçici cam elektrot
Potasyum	İyon-değişimi-seçici elektrot
Kalsiyum	İyonoför iyon seçici elektrot
Oksijen	Floresans durulması (quenching) sensörü
pH	İyon seçici cam elektrot

1.4.2. Endüstriyel işlemlerin kontrolü

Sensörler üç farklı şekilde fermantasyon işlemlerinin değişik aşamalarında kullanılır. i) laboratuvarda çevrimdışı (off-line), ii) Çevrimdışı fakat işlem bölgesine mümkün olduğunca yakın ve iii) eşzamanlı olarak çevrim içi (on-line). Günümüzde eşzamanlı olarak izleme, sıcaklık ve pH ölçümleri gibi bazı işlemlerin dışında sınırlı olarak yapılabilmektedir. Bununla beraber, doğrudan reaktiflerin ve ürünlerin takip edilmesini sağlayan biyosensörler mevcuttur. Bunlara örnek olarak şekerler, mayalar, maltlar, alkoller, fenolik bileşikler verilebilir. Bu tür izleme pek çok verinin izlenmesini ve kontrol edilmesini sağlayacağından ürün verimliliğinin ve kalitesinin artmasını da sağlamaktadır. Genellikle gıda ve meşrubat endüstrisinde çok geniş bir uygulama alanı bulmaktadır.

1.4.3. Çevresel analizler

Hava, su, toprak ve çevreye ait diğer ortamlarda biyosensörlerin çok geniş bir uygulama potansiyeli vardır. Biyokimyasal oksijen ihtiyacı, asitlik, tuzluluk,

nitrat, fosfat, kalsiyum ve flor analizlerini içeren su ile ilgili pek çok ölçüm bunlar arasında yer alır. Ayrıca pestisit ve suni gübrelerin hem endüstriyel hem de içme sularında çok sıkı bir şekilde kontrolü gerekmektedir. Bazı maddelerin eşzamanlı olarak sürekli analizi gerektiği gibi bazılarını da rastgele bir anda izlemek gerekmektedir. Ayrıca tarımda, bahçecilikte, veterinerlikte ve madencilikte belli kirleticiler için yapılan uygulamalar çevreye yönelik sensör uygulamalarının içinde yer almaktadır.

1.5. İletken Polimerler

İletken polimerlerle ilgili ilk önemli çalışma, Shirakawa'nın poliasetileni (PA) sentezleyerek katkılama yoluyla iletkenliğinin büyük ölçüde arttığını belirlemesidir (Ito ve ark. 1974; Chiang ve ark. 1977). İletken polimerler bir π -elektron iskeletine sahiptirler ve bu yapı elektrik iletkenliği, düşük enerjili optik geçişler, düşük iyonlaşma gerilimi ve yüksek elektron ilgisi gibi elektronik özelliklerden sorumludur. İletken polimerlerin konjuge π sisteminde, polimer zinciri boyunca tekli ve çiftli bağlar birbirini takip ederek sıralanmışlardır. Sentetik metal olarak da adlandırılan iletken polimerlerin, inorganik yarı-iletken metallere göre daha hafif ve elektrokimyasal davranışlarının farklı (elektrokimyasal olarak tersinir) olması; bunun yanı sıra bilim ve teknoloji alanındaki hızlı gelişmelere paralel olarak yeni malzemelere ihtiyaç duyulması bu polimerlerle ilgili çalışmaların artmasında itici bir güç olmuştur (Gerard ve ark. 2002).

Analitik kimya ve biyosensör alanlarında iletken polimerler ile çalışan pek çok araştırmacı vardır. Yeni ve ilginç özellikler sunan bu maddelerle yaygın olarak kullanılan elektrotların yüzey modifikasyonları için farklı imkânlar oluşmakta ve elektrokataliz, membran ayırmaları ve kromatografi alanlarında uygulanmaktadır. Aynı zamanda kimyasal ve biyokimyasal sensör üretiminde de yeni teknolojik imkânlar oluşmaktadır (Trojanowicz ve Krawczyk 1995; Bartlett ve Cooper 1993). Çizelge 1.2 bu ve benzeri alanlarda yaygın olarak kullanılan iletken polimerleri göstermektedir.

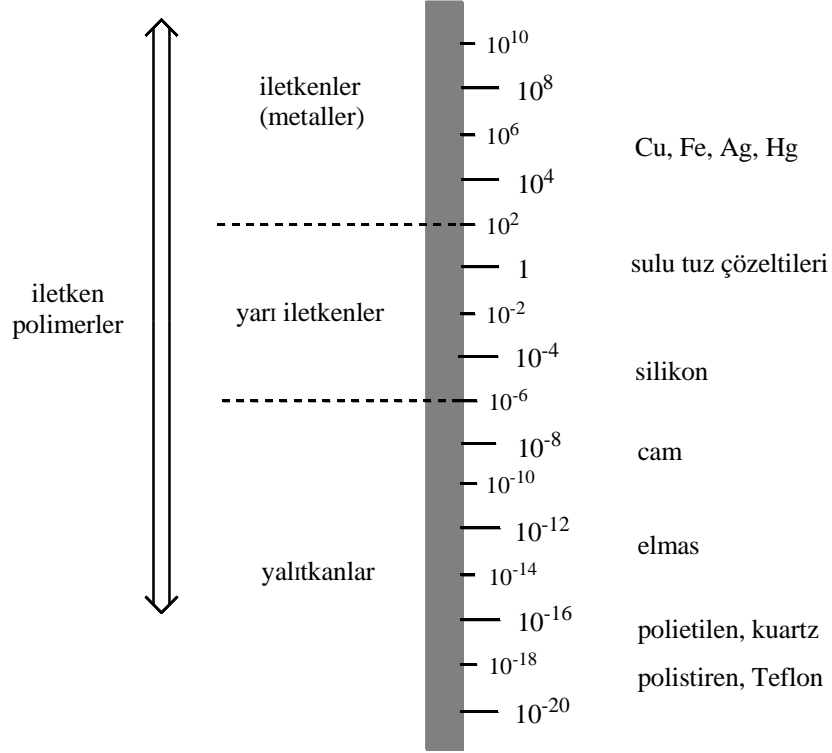
Çizelge 1.2. Yaygın olarak kullanılan bazı iletken polimerler

İletken Polimer (İletkenlik S/cm)	Yapı	İletken Polimer (İletkenlik S/cm)	Yapı
Poliasetilen (1000)		Poliarilin (1-100)	
Polipirol (40-100)		Polikarbazol (10-100)	
Politiyofen (10-100)		Poli(parafenilen)vinilen (3)	
Poli(parafenilen) (100-500)		Poli(parafenilen)sülfür (1-100)	

Doymuş hidrokarbonlar sp^3 hibridi içeren tetragonal yapıdadırlar ve karbonun bütün elektronları dört hibrit orbitaline yerleşmiş durumdadır. Bu orbitallerin örtüşmesi ile oluşan karbon-karbon (C-C) tek bağında elektronları uyararak için oldukça yüksek enerji gerekir (7-10 eV). Bu nedenle geniş band aralığına sahip olan bu bileşikler yalıtıkandırlar. sp^2 ve sp hibrit orbitallerinin bulunduğu ikili ve üçlü bağlarda, hibritleşmeye katılmayan elektronları içeren p orbitalleri de vardır. Bu orbitallerin örtüşmesiyle oluşan π bağındaki elektronlar metalik iletkenliğe neden olur.

Konjuge polimerler yasak enerji aralıkları (1,5 eV) bakımından yarı iletken özellik gösterirler ve bu polimerlerin iletkenlikleri kimyasal veya elektrokimyasal yollarla değiştirilebilmektedir. Yükseltgenme veya indirgenme yoluyla gerçekleştirilen bu işleme, anorganik yarı iletkenlerdeki katkılama (doping) işlemine benzemesi nedeniyle aynı isim verilmektedir. Nötral poliasetilenin iletkenlik değeri yarı iletken mertebesinde iken, AsF_5 ile katkılandığında 10^7 - 10^8 kat artmakta ve metalik iletkenlerin düzeyine ulaşmaktadır (Chiang ve ark. 1977). Bazı konjuge polimerlerin iletkenliklerinin AsF_5 , I_2 gibi maddelerle kimyasal veya elektrokimyasal yollarla katkılandıklarında arttığı görülmüştür (Sun ve ark. 1997).

Şekil 1.4'te iletken polimerlerin iletkenlikleri metaller, yarı iletkenler, yalıtkanlar ve bazı yalıtkan polimerler ile karşılaştırılarak verilmiştir (Saçak, 2002).

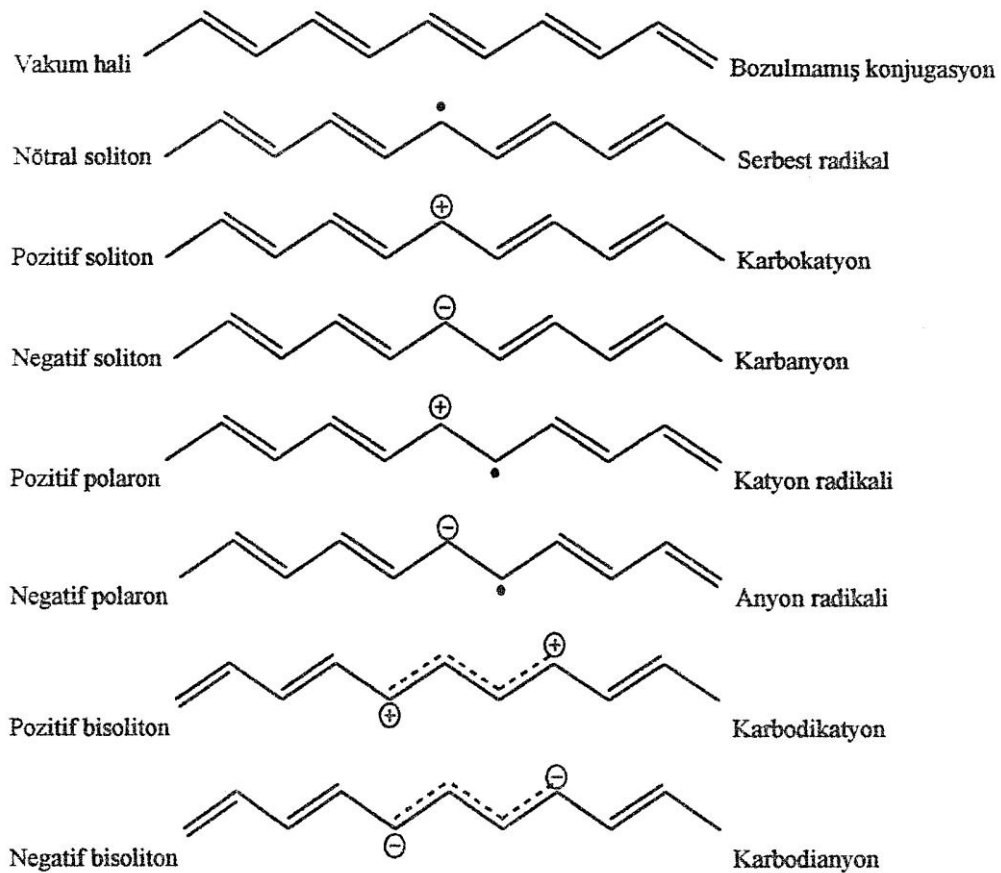


Şekil 1.4. İletken polimerlerin iletkenliklerinin metal, yarı iletken ve yalıtkanlarla karşılaştırılması

1.5.1. İletken polimerlerde iletkenlik teorisi

Poliasetilen, polianilin ve polipirol gibi konjuge polimerlerin optik absorpsiyon çalışmaları sonucunda, bu polimerlerin değerlik bandını iletkenlik bandından ayıran yasak enerji aralığının yarı iletkenlerde olduğu gibi 1,4-3 eV arasında olduğu anlaşılmıştır. Bir yarı iletkende elektronun, değerlik bandından iletkenlik bandına çıkması ile sistemin yapısı değişmez. Konjuge çift bağ yapısına sahip polimerlerde ise elektronik uyarma, örgünün relaksasyonuna neden olmaktadır. Polimerlerde iki tür yapısal relaksasyon olduğu kabul edilmektedir. Birincisi polimer zinciri boyunca oluşan tek düze relaksasyon, ikincisi ise lokal olarak yapısal deformasyona neden olan relaksasyondur. Bunların sonucunda polimer zinciri üzerinde serbest radikal (soliton) olarak isimlendirilen farklı spin-

yük konfigrasyonuna sahip hata merkezleri oluşturulabilmektedir. Şekil 1.5'te oluşabilecek hata türleri, poliasetilenin yapısı üzerinde iletkenlik teorilerinde kullanılan katı hal fiziği terimleri (solda) ile kimyasal isimlendirmeler (sağda) birlikte verilerek gösterilmiştir (Roth ve Bleier 1987).



Şekil 1.5. Konjugasyon hatalarının poliasetilen üzerinde gösterimi

Katkılama sonucu oluşan solitonun enerji düzeyi, poliasetilenin yasak enerji aralığının ortasında yer alır. Poliasetilen ve diğer konjuge polimerlerde katılama ile polaronik hatalar da oluşur ve polaronun elektronik enerji düzeyleri yasak enerji aralığında simetrik olarak, iletkenlik ve değerlik bandına yakın konumlarda bulunur. Katkı maddesinin fazla eklenmesi durumunda veya elektrokimyasal olarak katılama miktarının dolayısıyla polaronların derişimi daha da artırılırsa, polaronlar kendi aralarında etkileşerek bipolaronları oluştururlar. Soliton türü hataların sadece zincir boyunca aktarımının mümkün olmasına karşılık,

bipolaronik hataların bir zincir üzerinden diğerine atlayabilecekleri belirtilmiştir. Sonuç olarak katkılama ile yasak enerji aralığındaki enerji düzeylerine yerleşen soliton, polaron ve bipolaron gibi yapılar polimerlere iletkenlik kazandırmaktadır (Aydın, 2002).

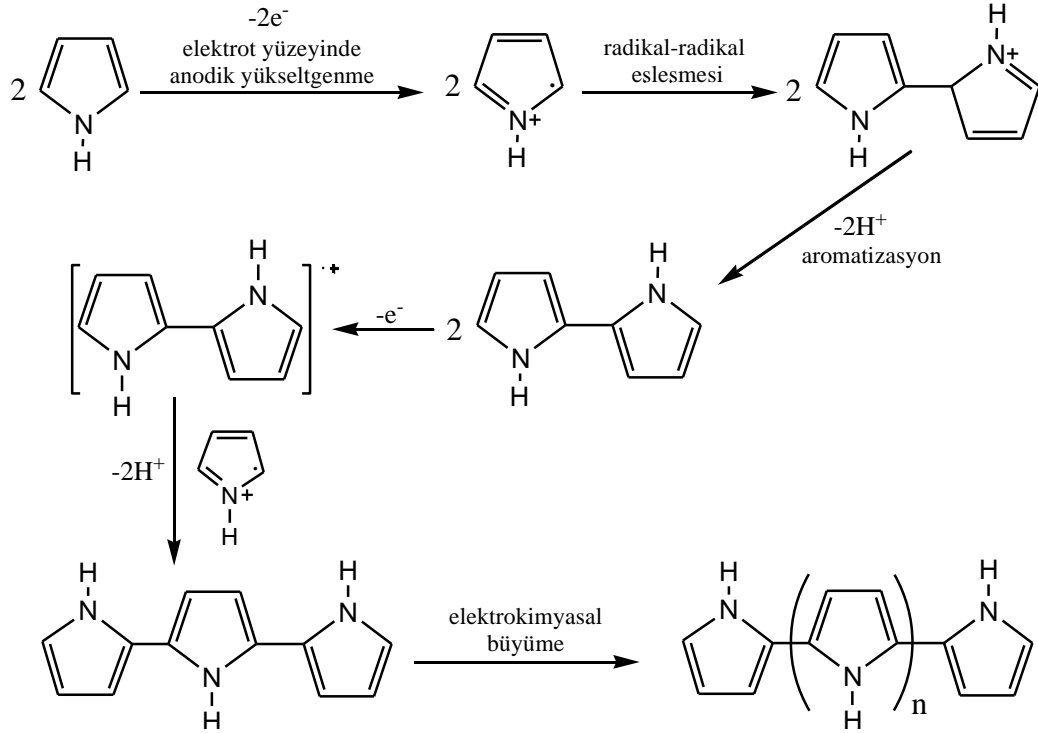
1.5.2. İletken polimerlerin elektrokimyasal sentezi ve biyosensör uygulamaları

Elektrokimyasal polimerleşme, üç elektrotlu bir hücrede monomer ve destek elektrolitini içeren uygun bir çözücüde gerçekleştirilir. Elektropolimerleşme, ince filmler elde etmek için potansiyostatik (gerilim kontrollü), kalın filmler elde etmek için galvanostatik (akım kontrollü) yürütülebileceği gibi (Deshpande ve Amalnerkar 1993) dönüşümlü voltametrik (gerilim taramalı) olarak da gerçekleştirilebilir. Elektrokimyasal sentezler çalışma, referans ve karşıt elektrottan oluşan bir hücrede gerçekleştirilir. Çalışma elektrodu olarak altın, platin, titanyum, nikel, indiyum katkılı-kalay oksit kaplı cam (ITO), camsı karbon, karbon vb. malzemeler kullanılmakta ve bu elektrotların yüzeyinde elektropolimerleşme gerçekleştirilmektedir.

Elektrokimyasal polimerleşme ile iletken polimer oluşturabilecek monomerler nispeten düşük yükseltgenme gerilimine sahiptirler ve elektrofilik süstitüsyon reaksiyonu gösterme eğilimindedirler. Elektropolimerleşme ile iletken polimer oluşumunu polipirol örneği üzerinden Şekil 1.6'da incelemek mümkündür.

İlk olarak elektrot yüzeyinde pirol katyon radikali oluşur. Bunu proton çıkışıyla dimerizasyon takip eder. Dimer monomerden biraz daha kolay yükseltgenir ve bu yüzden sonraki eşleşme reaksiyonlarına izin vermek için yeniden yükseltgenir. Polimerin yükseltgenme gerilimi daima monomerinkinden daha düşüktür. Polimer elektrokimyasal olarak iletken bir hale iyonlaşır ve neticede destek elektrolitin karşı iyonu ile eşleşerek elektriksel nötrallik sağlanır. Elektrokimyasal polimerleşme işlemi sırasında elektrolitik çözeltide anyonlar gibi negatif yüklü moleküller de bulunabilir. Pozitif yüklü polimer iskeletine pek çok biyolojik tür katılabilir veya polimer içinde tutuklanabilir. Elektrokimyasal

polimerleşme sırasında katılanma işleminin eşzanmanlı olarak gerçekleşmesi de mümkündür.



Şekil 1.6. Polipirolün elektrokimyasal sentez yoluyla oluşumu

İletken polimerler biyolojik türler için uygun bir immobilizasyon ortamı olarak kullanılır. Bu malzemelerin redoks özelliklerinden dolayı son yıllarda kullanımı oldukça yaygınlaşmıştır. Özellikle polipirol nispeten daha kararlı olması, kolay hazırlanması ve iyi iletkenliğinden dolayı sensör çalışmalarında en umut verici iletken polimerdir (Ahuja ve ark. 2007).

İletken polimerler elektron transferini kolaylaştıran ferrosen gibi medyatörlerle birlikte de kullanılabilir. Medyatörler iletken polimerlerin yapısında yer aldığı anda amperometrik sensörlerin cevabı ve hassasiyeti üzerinde önemli işlevler üstlenir (Xue ve ark. 2005). Medyatörlerin etkisiyle hızlı elektron transferi sayesinde biyosensör üretiminde kullanılan ince polimerik filmlerin duyarlılığında önemli iyileşmeler olmaktadır (Mao ve ark. 2003).

1.5.3. İletken polimerlerin modifikasyonu

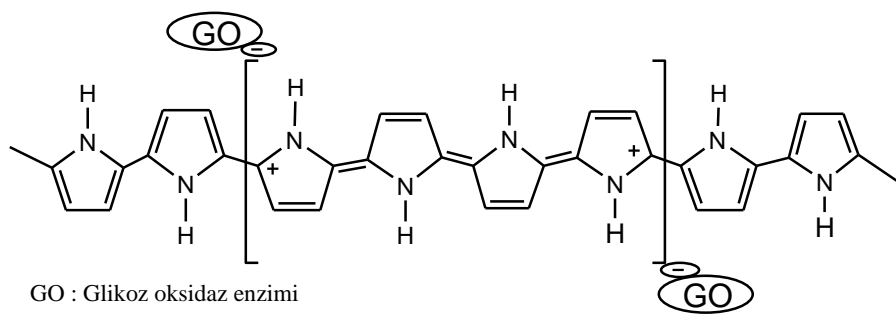
Elektrokimyasal sentezde potansiyostatik veya galvanostatik koşullar ayarlanarak pek çok parametre kontrol edilebilir. Böylece geleneksel olarak biyosensör üretiminde kullanılan diğer yöntemlere göre pek çok üstünlük sağlanmaktadır. Elektrokimyasal immobilizasyon yöntemlerinin önemli üstünlüklerini şöyle sıralayabiliriz.

i) Bütün immobilizasyon yöntemlerinden daha hızlı olan tek basamaklı bir işlemdir (Palmisano ve ark. 1994).

ii) Elektrodun geometrisi, boyutu ve şekli ne olursa olsun immobilize enzimin dağılımı kontrol edilebilir (De Benedetto ve ark. 1996).

iii) Film kalınlığı biriktirme basamağında uygulanan yük miktarı aracılığıyla tam olarak kontrol edilebilir ve bu çok tabakalı/çok enzimli bir yapının oluşturulmasını sağlar. Böylece yüzeyin boyut ve geometrisi ne olursa olsun yüzeye kaplanan polimerin oluşumunda bir standart sağlanarak yeniden üretilebilirlik oranı yükseltilmiş olur (Cosnier 2003; Trojanowicz ve ark. 1995).

Biyosensör üretiminde elektrokimyasal olarak polimerleşebilen filmlerin içine biyomoleküllerin tutuklanması en yaygın yaklaşımdır. Burada monomer ve enzimin yer aldığı çözeltide elektrokimyasal yükseltgenme gerçekleşirken enzim polimerik yapı içinde tutuklanır (Şekil 1.7).

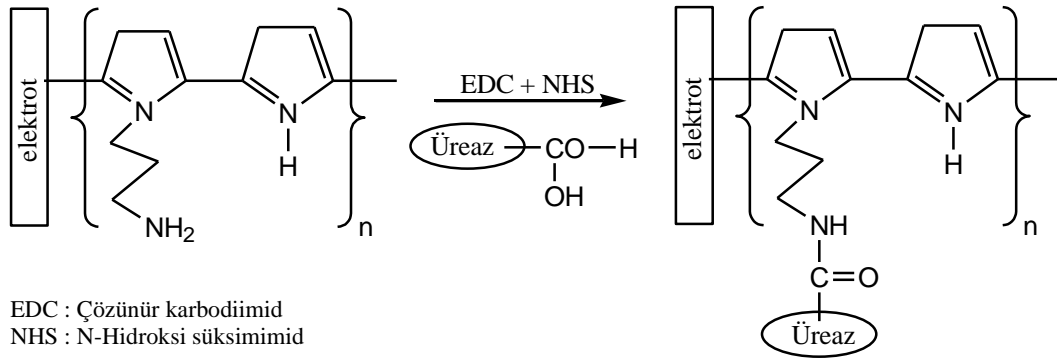


Şekil 1.7. Polipirol ve glikoz oksidazın etkileşmesi

Polimerleşme gerçekleşirken enzim molekülleri homojen bir şekilde polimer yapıda dağılmış olur. Bu yöntem, tek basamaklı hazırlama işleminin yeniden üretilebilirliği ve basitliği gibi üstünlüklere sahip olan doğrudan immobilizasyon

yöntemidir. Ayrıca polimerizasyon çözeltisine eşzamanlı olarak medyatörler, koenzimler veya diğer enzimlerin eklenmesiyle bu türlerin de immobilizasyonu gerçekleştirilebilir (Vidal ve ark. 2003). Elektrokimyasal olarak sentezlenmiş polimer filmlerinin içine enzimin girme mekanizmasıyla ilgili farklı görüşler vardır. Elektrostatik etkileşimin enzimin yapıya girmesinde büyük rol oynadığı ileri sürülmektedir ve dolaylı deneysel deliller bu varsayımı desteklemektedir (Kajiya ve ark. 1991).

Enzimlerin polimerik yapıya immobilize edilmesi için farklı bir yaklaşım kovalent bağlanmayla gerçekleştirilmektedir. Bu yaklaşımda öncelikle belli fonksiyonel gruplara sahip monomer veya monomer karışımları uygun bir elektrot yüzeyinde polimerleştirilmekte ve suda çözünen bir karbodiimid vasıtasıyla enzim kovalent olarak bağlanmaktadır. Şekil 1.8’de poli-(N-3-aminopropil pirol-kopirol) kopolimerine üreaz enziminin kovalent olarak nasıl bağlandığı görülmektedir (Rajesh ve ark. 2005). Bu şekilde elde edilen elektrotlarda immobilize enzimin kararlılığında çok büyük oranda iyileşme sağlanmaktadır (Wolowacz ve ark. 1992).



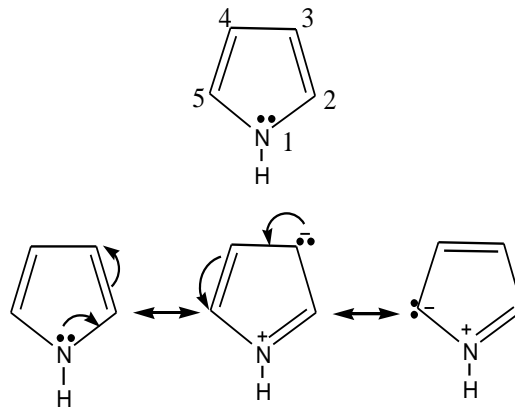
Şekil 1.8. Poli-(N-3-aminopropil pirol-ko-pirol) kopolimerine kovalent olarak enzim bağlanması

1.6. Polipirol

1.6.1. Pirol

Azot üzerindeki çiftleşmemiş elektronlar, halkada bulunan 4π elektronları (iki çift bağdan gelen) ile birleştiğinde benzen gibi düzlemsel (planar) aromatik 6π

elektronlu bir sistemi oluşturur. Piyol ve türevleri halkada yüksek elektron yoğunluğuna sahip olan bileşiklerdir. Dolayısıyla bu bileşikler elektrofilik katılma ve yer değiştirme reaksiyonlarına karşı son derece aktif iken nükleofilik reaksiyonlara karşı daha az aktiftirler. Azot üzerindeki elektronlar halkaya verilir ve halkanın elektrophile karşı aktifliği artar. Piyol genellikle elektrofilik sübtitüsyon reaksiyonunu, 2 veya 5 pozisyonundan gerçekteştirir. Piyol monomerinin yapısı ve rezonans formları Şekil 1.9'da verilmiştir.



Şekil 1.9. Piyol ve rezonans formlarının yapısı

1.6.2. Polipiyolün kimyasal ve elektrokimyasal sentezi

Polipiyol (PPy) çevresel kararlılığı, kolay sentezlenmesi ve yüksek iletkenliğinden dolayı ticari uygulamalarda diğer iletken polimerler içerisinde en fazla tercih edilendir. PPy ilk kez 1916 yılında kimyasal polimerizasyonla sentezlenmiş ve piyol siyahı olarak adlandırılmıştır. PPy, piyol ya da sübtitüe piyol monomerlerinin yükseltgenmesi ile elde edilmektedir. Yükseltgenme genellikle ya kimyasal bir yükseltgen varlığında çözeltili içerisinde kimyasal polimerizasyon ile ya da dışarıdan gerilim uygulanarak iletken elektrot yüzeyinde elektropolimerizasyon yöntemi ile gerçekteştirilmektedir. Bunun yanı sıra fotokimyasal başlatıcı ve enzim-kataliz polimerizasyon yöntemleri de yükseltgenme işlemi için kullanılmasına rağmen, kimyasal ve elektrokimyasal polimerizasyon yöntemlerine göre daha az tercih edilmektedir. Kullanılan çeşitli sentez yöntemlerine bağlı olarak farklı formlarda polipiyol materyalleri elde

edilmektedir. PPy elektrokimyasal sentez ile çalışma elektrodu üzerinde film olarak, kimyasal polimerizasyon yöntemi ile genellikle toz halinde ve enzimatik polimerizasyon sonucunda ise sulu dispersiyonlar formunda oluşmaktadır. Ayrıca farklı sentez yöntemleri ile elde edilen polimerler farklı kimyasal ve elektriksel özelliklere sahip olmaktadır (Wallace ve ark. 2003).

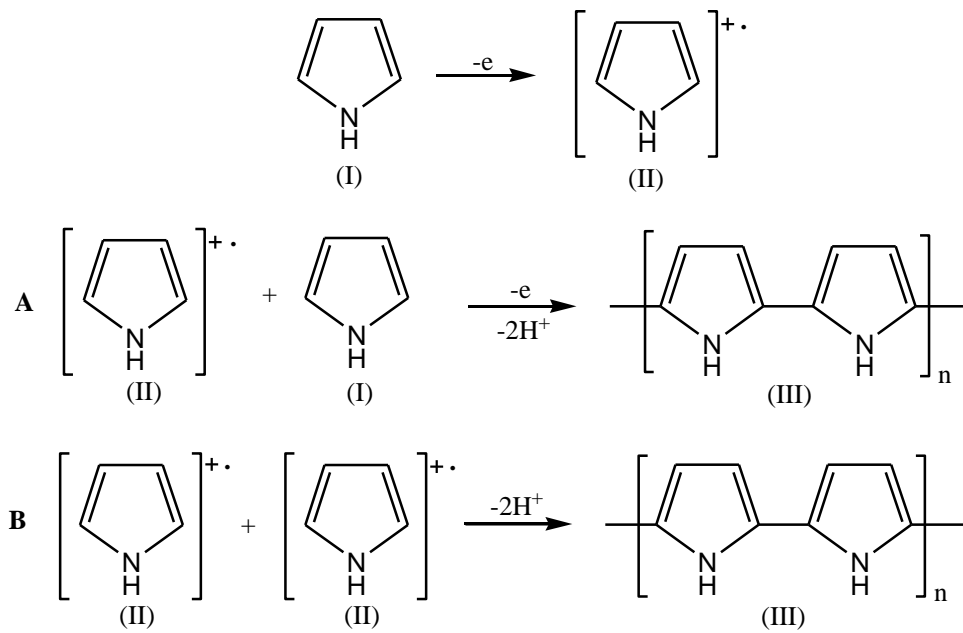
Kimyasal polimerizasyonda yükseltgen olarak genellikle $(\text{NH}_4)_2\text{S}_2\text{O}_8$, H_2O_2 , Fe^{3+} , Cu^{2+} , Cr^{6+} , Ce^{4+} , Ru^{3+} ve Mn^{7+} gibi geçiş metallerini içeren tuzlar kullanılmaktadır (Wang ve ark. 2001). Yükseltgen olarak $(\text{NH}_4)_2\text{S}_2\text{O}_8$ kullanıldığında anyonik katkı maddelerinin ilavesi ile oluşan polimer miktarında çok az bir artış gözlenirken buna karşılık iletkenliği büyük ölçüde azalmaktadır. $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$, sodyum dodesilbensensülfonat ve sodyum alkilsülfonat gibi anyonik katkı maddelerini içeren sulu çözeltinin kullanıldığı kimyasal polimerizasyon yöntemi ile elde edilen polipirolün, hem miktarının hem de iletkenliğinin arttığı gözlenmiştir (Kudoh 1996). Ayrıca polimerizasyon işleminde kullanılan çözücünün de polimerin iletkenliğine etkisi büyüktür. Aynı polimerizasyon koşullarında çözücü olarak dimetilformamit ve aseton kullanıldığında çok düşük iletkenliğe sahip polipirol elde edilirken; benzen, tetrahidrofur, kloroform ve asetonitrilde iletkenliğin 20 S/cm den küçük, su, metanol, etanol, pentanolde ise 90 S/cm den büyük olduğu görülmüştür (Chandrasekhar 1999).

Kimyasal polimerizasyon yöntemi nano yapıda polipirol sentezi için oldukça uygundur. Kimyasal olarak sentezlenen polipirol nano-kompozitleri, afinite kromatografisi çalışmalarında kullanılmaktadır. Bunun yanında kimyasal polimerizasyon, polipirolün herhangi bir yüzey üzerinde oluşturulması için kullanışlı bir yöntem değildir. Ayrıca polipirol yaygın olarak kullanılan çözücülerde neredeyse hiç çözünmez. Bu nedenle polipirol çözünürlüğünü artıran uygun reaktifler ile katkılanır. Çözünmüş polipirolün çözücülerden alınması polimerin koloidal partikül formunda olması durumunda mümkündür. Fakat elektrokimyasal polimerizasyonla elektrot yüzeyinde oluşan filmlerin aksine kimyasal polimerizasyon ile elde edilen polipirolün yüzeydeki tutunmasının zayıf olması, polipirol esaslı sensörlerin tasarımı için bu yöntemin kullanımını kısıtlamaktadır. Kimyasal polimerizasyonun bu dezavantajları elektrokimyasal polimerizasyon yöntemi kullanılarak giderilebilir (Ramanavicius ve ark. 2006).

Sonuç olarak polipirol hazırlanmasında kullanılan sentez yöntemi uygulama alanlarına bağlı olarak seçilmelidir.

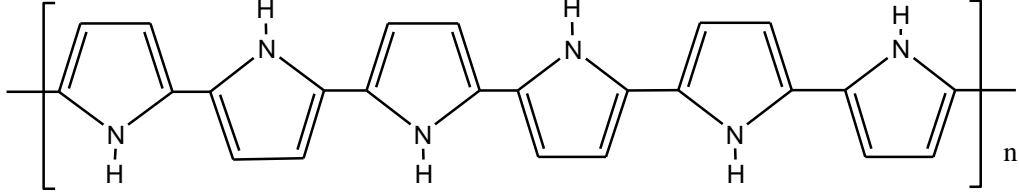
Pirolün elektrokimyasal polimerizasyonu, ilk kez Diaz ve arkadaşları tarafından gerçekleştirilmiştir. Bu alandaki araştırmalarda genellikle asetonitril, propilen karbonat vb. gibi aprotik organik çözücüler kullanılmıştır. Bunun yanında pirolün protik ortamlardaki elektrokimyasal polimerizasyonu da bilinmektedir (Takakubo 1987).

Genies ve arkadaşlarının (Genies ve ark. 1983; Imanishi ve ark. 1988) önerdiği polimerizasyon mekanizmasına göre, pirol monomeri (I) bir elektron vererek katyon radikaline (II) yükseltgenmektedir. Daha sonra, elektrofilik aromatik substitüsyon reaksiyonu (A) veya radikal birleşme (coupling) reaksiyonu ile (B) meydana gelen yapıdan iki protonun eliminasyonu sonucu bir dimer (III) oluşmaktadır. Aromatik dimer ve daha büyük molekül ağırlığına sahip oligomerler, aynı reaksiyon mekanizması gereğince polimeri oluşturmaktadır. Her iki polimerizasyon mekanizması da radikal katyon ara ürünü üzerinden gerçekleşmektedir. Genies ve arkadaşları tarafından pirolün elektrokimyasal polimerizasyonu ile PPy oluşumu için önerilen bu mekanizma Şekil 1.10'da gösterilmiştir.



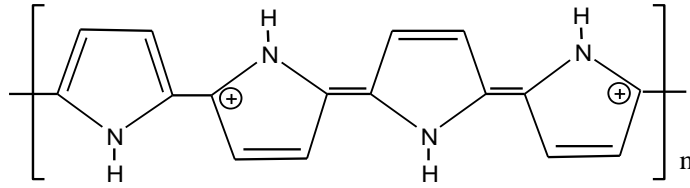
Şekil.1.10. Pirolün elektrokimyasal polimerizasyonu için önerilen reaksiyon mekanizması. A) elektrofilik substitüsyon ve B) radikal birleşmesi

Pirolün elektrokimyasal polimerizasyonu sonucu meydana gelen nötral polimerin yapısı Şekil 1.11’de gösterilmiştir (Mizoguchi ve ark. 1997).



Şekil 1.11. Nötral (katkılanmamış) polipirol yapısı

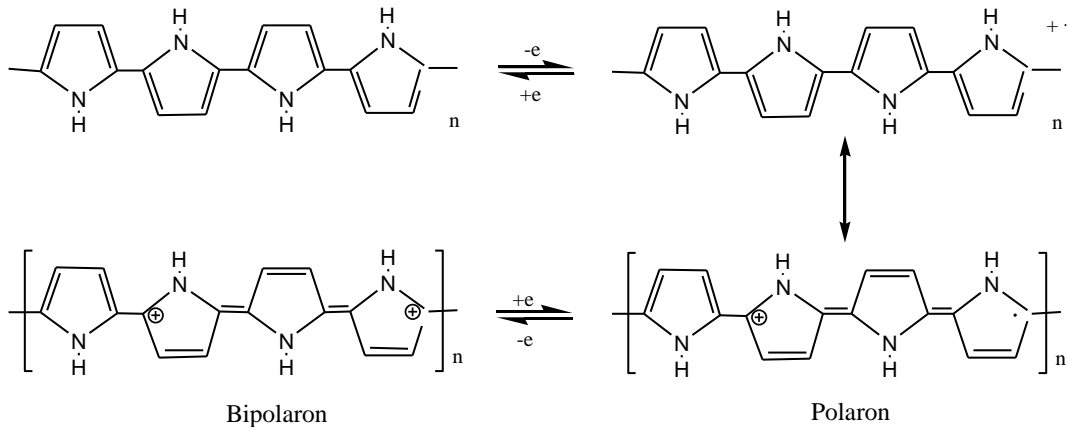
PPy filmi nötral halde yalıtıcıdır. Ancak filmin yükseltgendikten sonra ortaya çıkan yapısı yüksek iletkenlik gösterir (Czerwinski ve ark. 1987). Polipirolün elektronik olarak iletken hali Şekil 1.12’de verilmiştir (Samuelson ve Druy 1986).



Şekil 1.12. Polipirolün yükseltgenmiş yapısı (bipolaron)

Pirol monomerinin elektrokimyasal polimerizasyonu sonucu elektrot yüzeyini kaplayan polipirol, uygulanan gerilime bağlı olarak bir elektron kaybederek katyon radikali yapısına (polaron) dönüşür. Polaron yapısındaki polimer filminin bir elektron daha kaybetmesi sonucunda di-katyonik yapı (bipolaron) meydana gelir (Johnson ve Kriz 1997). Polipirolün redoks mekanizması Şekil 1.13’te gösterilmiştir.

Polipirolün redoks reaksiyonu esnasında filmde renk değişimi (elektrokromik özellik) gözlenmektedir. Polimer indirgenmiş durumda açık kahverengi/sarı renkte iken yükseltgenmiş konumda siyah kadifemsi bir görünüşe sahip olmaktadır (Aydın, 2002).



Şekil 1.13. Polipirolün yükseltgenme- indirgenme mekanizması

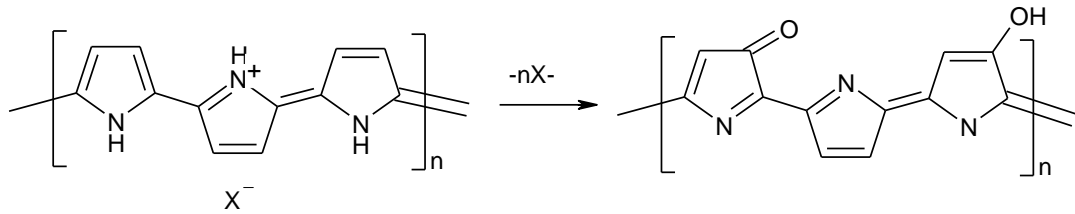
1.6.3. Aşırı yükseltgenmiş polipirol (AYPPy)

Özellikle son on yıldır polipirolün özelliklerinin ve kullanım alanlarının incelendiği çok sayıda çalışma mevcuttur. Bu çalışmalarda polipirolün redoks aktivitesi, iletkenliği, polimerizasyon koşulları ile özellikleri arasındaki ilişkiler, termal kararlılığı ve mekaniksel özelliği, iyon-değişim ve iyon ayırma kapasitesi, gazlara, DNA molekülüne ve proteinlere karşı güçlü absorpsiyon özellikleri, katalitik aktivitesi ve korozyondan koruma gibi birçok özelliği incelenmiştir. Bu özelliklerin birçoğu hem sentez koşullarına hem de katkı maddesinin yapısına bağlı olarak değişiklik göstermektedir (Ramanavicius ve ark. 2006).

Polipirolün yapısı ve iletkenliği yükseltgenme basamağına bağlıdır. İndirgenmiş polipirol yalıtkan özelliğe sahiptir. PPy zincirinin yükseltgenmesi moleküler yapıyı değiştirir ve polimere iletkenlik kazandırır. Nükleofiller varlığında PPy süstitüe ürünler oluşur. Hidroksil iyonu gibi kuvvetli nükleofil gruplar, konjuge çift bağın yapısını bozan kinon boşluklarının oluşmasına neden olur. Polimerin bu şekilde tersinmez modifikasyonları aşırı yükseltgenme olarak tanımlanır (Mostany ve Scharifker 1997).

Polipirol pozitif gerilimlerde ve çok bazik ortamlarda aşırı yükseltgenir. Aşırı yükseltgenme, katkılanmanın tersine polipirolün iletkenliğinin azalmasına ve nükleofilik saldırılara elverişli hale gelmesine neden olduğundan istenmeyen bir işlem olarak görülür (Majidi ve ark. 2006).

Aşırı yükseltgenme mekanizması henüz tam olarak aydınlatılamamış olmasına rağmen pirol halkasının β karbonları üzerinde polimer zincirinin konjugasyonunu engelleyen karbonil gruplarının oluşumu, X-ışınları fotoelektron spektroskopisi (XPS) çalışmaları ile açıklanmıştır. Yükseltgenme mekanizmasının ve polipiroldeki yapısal değişikliklerin aydınlatılması için spektroeletrokimyasal çalışmalar yapılmıştır. Farklı pozitif gerilimlerde kaydedilen absorpsiyon spektrumları, aşırı yükseltgenmenin gerçekleştiği yüksek gerilimlerde absorbansın azaldığını göstermiştir (Fernandez ve ark. 2005). Polipirolün aşırı yükseltgenme reaksiyonu Şekil 1.14'te verilmiştir.



Şekil 1.14. Polipirolün aşırı yükseltgenme reaksiyonu

Polimer zincirine karbonil, karboksilat gibi oksijen içeren grupların katılması sonucu katyonik yüklerin azalmasından dolayı aşırı yükseltgenmiş polipirol filmleri, metal iyonları ve ilaçlar gibi katyonik türlere karşı seçicilik gösterir. Büyük çapta anyonların bulunduğu çözeltilerde hazırlanan aşırı yükseltgenmiş polipirol (AYPPy), anyonların varlığında katyonik türlerin voltametrik tayini için kullanılabilir (Ersöz ve ark. 2002).

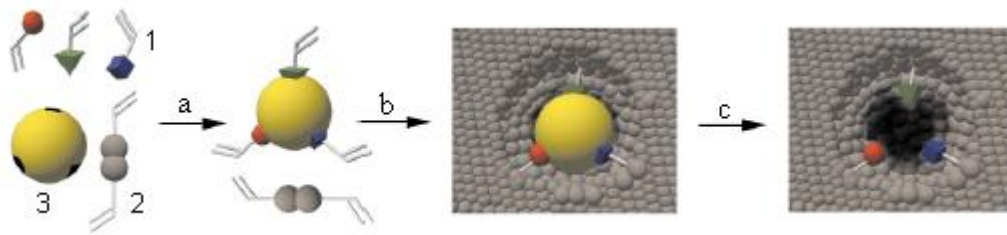
Yüksek iletkenliğe ve kararlılığa sahip iletken polipirolün enzim biyosensörlerinde kullanımına ilişkin çok sayıda çalışma bulunmaktadır. Son yıllarda ise AYPPy, biyosensör tasarlanması için yeni bir materyal olarak ortaya çıkmıştır (Yuqing ve ark. 2004). AYPPy ile modifiye edilen platin elektrot üzerine glikoz oksidaz tutturulmuş glikoz biyosensörü tasarlanmış ve aşırı yükseltgenmiş polipirolün anyonik redoks türlerinin girişimini azalttığı görülmüştür (Guerrieri ve ark. 1998). Akış sistemi içerisinde kolesterol biyosensörünün geliştirilmesi için AYPPy kullanılmıştır. Pirol ve NaOH içeren sulu çözeltide elektropolimerizasyon yöntemi ile elektrot yüzeyinde oluşturulan elektroaktif olmayan AYPPy içerisinde, üreaz enzimi tutuklanarak üre

biyosensörü hazırlanmıştır. Enzim tutuklanmış AYPPy elektrot, ürenin potansiyometrik tayininde kullanılmış ve kararlı cevaplar elde edilmiştir (Osaka ve ark. 1996; Komaba ve ark. 1997).

Aşırı yükseltgenmiş polipirol filmleri elektrokimyasal kontrollü katı faz mikro ekstraksiyon (EC-SPE) yönteminde katyonların ekstraksiyonu için kullanılmaktadır. Aşırı yükseltgenmiş polimer kaplı filme pozitif gerilim uygulandığında katyonların elektrot yüzeyinde biriktiği, negatif gerilim uygulandığında ise iyonların geri bırakıldığı gözlenmiştir (Tamer ve ark. 2005). Elektrokimyasal olarak sentezlenen polipirol ve aşırı yükseltgenmiş polipirol elektrotlar, bazı anyon ve katyonların katı-faz ekstraksiyonunda ekstraksiyon kolonu olarak kullanılmıştır. Her iki elektrodun kullanılması ile gerçekleştirilen eşzamanlı elektrokimyasal anyon–katyon ekstraksiyonunda polipirolün anot ve aşırı yükseltgenmiş polipirolün de uygun bir katot olduğu sonucuna varılmıştır (Ercan 2006; Şahin ve ark. 2008).

1.7. Moleküler Baskılama Yöntemi

Son yirmi yıldan fazla bir süredir, moleküler olarak baskılanmış polimerler (MIPs, molecularly imprinted polymers) sensör geliştirilmesinde yoğun bir şekilde ilgi çekmektedir. Doğal reseptörler ve enzimler yerine MIPs kullanıldığında maliyetin düşmesi, hazırlamanın kolaylaşması ve kararlılığın artması gibi önemli üstünlükler bu ilginin nedenini açıklamaktadır. Moleküler baskılama, baskılanacak analit varlığında fonksiyonel ve çapraz bağlayıcı monomerlerin kopolimerizasyonu temeline dayanır. Fonksiyonel monomerler ilk olarak baskılanacak molekül ile kompleks bir yapı oluştururlar ve ardından polimerleşme gerçekleştirilir. Polimerizasyon işlemi ile fonksiyonel grupların konumu, çaprazbağlı polimerik yapı tarafından sabitlenir. Baskılanmış molekülün polimerik yapıdan ard arda uzaklaştırılması sonucu analit için boyut ve şekil yönünden tamamlayıcı olan bağlanma bölgeleri ortaya çıkar (Şekil 1.15). Böylece polimerik yapı içinde analiti seçici olarak yeniden bağlayabilecek moleküler bir bellek oluşturulmuş olur (Haupt 2003).

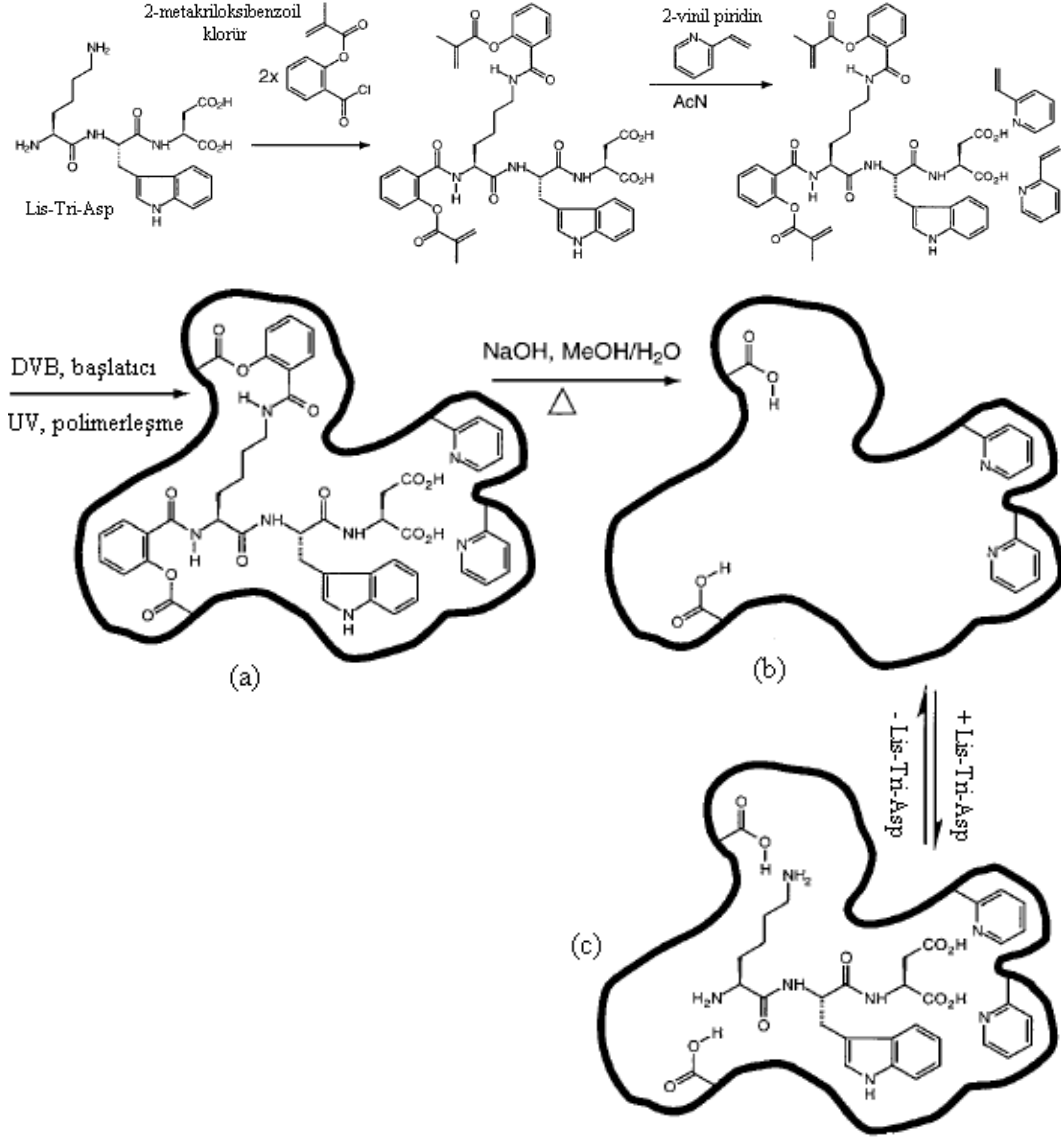


Şekil 1.15. Moleküler baskılama işlemi için genel bir yöntem. 1: Fonksiyonel monomerler, 2: Çapraz bağlayıcı, 3: Baskılanacak molekül, a: Polimerleşme öncesi karışım, b: Polimerleşme, c: Hedefin bağlanma bölgesinden çekilmesi

Baskılanacak molekül ve monomerler arasındaki etkileşim, hidrojen bağları, iyonik bağlanmalar, hidrofobik etkileşimler, van der Waals kuvvetleri gibi kovalent olmayan etkileşimler olabileceği gibi kovalent bağlanmalar da olabilir. Kovalent baskılama için, baskılanacak molekülün polimerleşebilen bir türevi sentezlenmeli ve polimerizasyondan sonra baskılanacak molekül kimyasal bağların kırılmasıyla uzaklaştırılmalıdır. Kovalent olmayan işlem çoğu zaman daha dolaysız bir yoldur ancak baskılama esnasında monomer-analit kompleksinin beraber ve ayrı halleri arasında belli bir denge söz konusu olacağından bağlanma bölgelerinin yapısında bir heterojenlik ile karşı karşıya kalınacaktır.

Bunun yanında hem kovalent hem de kovalent olmayan baskılama işleminin üstünlüklerini birarada bulunduran bir yöntem de önerilmiştir. Klein ve ark. (1999) Lisin-Triptofan-Aspartik asit tripeptidini (Lis-Tri-Asp) bu yöntemle baskılamışlardır (Şekil 1.16). Burada polimerin bağlanma bölgelerinde lisin kısmının amino gruplarıyla etkileşimin sağlanması için karboksilik asit fonksiyonelliği uygun görülmüştür. Bu nedenle baskılamada işlev görececek bir hedef molekül elde etmek için Lis-Tri-Asp ile 2-metakriloksibenzoil reaksiyona sokulmuştur. Bu yaklaşımın anahtar özelliği metakrilik asit kısmı ve hidroksibenzamit kısmı arasında göreceli olarak daha kararsız bir ester bağının yer almasıdır. Aynı zamanda bağlanma bölgesinde özellikle karboksil grubunun belli bir konumda yer alması sağlanmaktadır. Lis-Tri-Asp ile 2-metakriloksibenzoilin oluşturduğu yapıdaki karboksilik asit grupları ile de 2-vinilpiridin kovalent olmayan bir şekilde etkileşmektedir. Böylece hem kovalent

hem de kovalent olmayan etkileşimleri mümkün kılan bir ortam elde edilmiş olmaktadır.

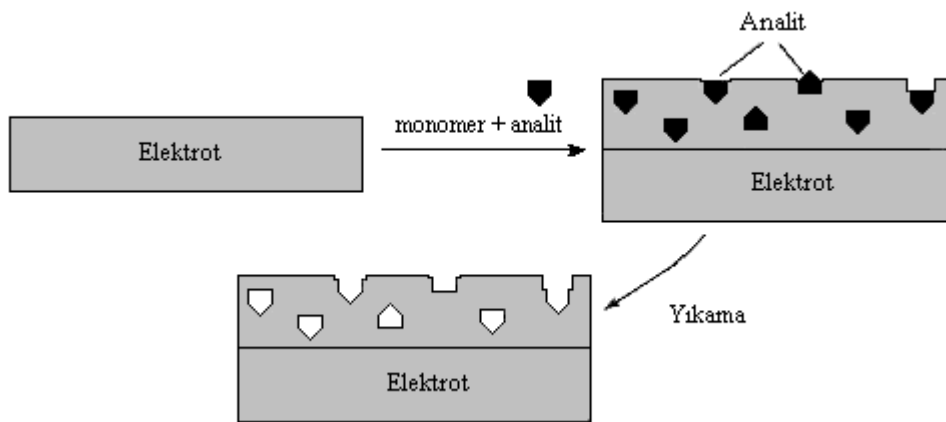


Şekil 1.16. Lis-Tri-Asp tripeptidinin hem kovalent hem de kovalent olmayan etkileşimlerden yararlanılarak moleküler baskılanması. (a) Baskılanacak moleküle kovalent bağlı bağlanma bölgesi, (b) Kimyasal bağların kırılıp baskılanacak molekül uzaklaştırıldıktan sonraki bağlanma bölgesi, (c) Sadece kovalent olmayan etkileşimlerle baskılanmış molekülün yeniden bağlanması

Moleküler baskılama işlemi yapabilmek için kullanılan bütün bu alternatif yöntemler düşünüldüğünde pek çok analit için ve farklı şekillerde kullanım imkânı olduğu görülmektedir.

Moleküler baskılanmış polimerler şimdiye kadar ayırma yöntemleri (Tamayo ve ark. 2005), katı faz ekstraksiyonu (Zhu ve ark. 2005), kataliz (Wulff 2002), sensör (Holthoff ve Bright 2007) ve biyosensör (Yano ve Karube 1999) alanlarında pek çok uygulamada kullanılmıştır.

Bununla birlikte son yıllarda yapılan çalışmalarla, moleküler tanıma sistemlerinin elektrot yüzeylerinde de gerçekleştirilebildiği görülmektedir. Elektrokimyasal moleküler baskılama işlemi olarak adlandırılan bu yöntem özellikle elektrokimyasal sensörlerin geliştirilmesi için çok cazip bir yaklaşım olmuştur (Piletsky ve Turner 2002; Blanco-Lopez ve ark. 2003). Galvanostatik, potansiyostatik veya dönüşümlü voltametrik yöntemlerden biri kullanılarak, tayin edilecek analiti ve monomeri içeren elektrolitik bir çözeltiden eşzamanlı olarak polimer filmlerinin baskılanması mümkündür (Şekil 1.17).



Şekil 1.17. Elektrokimyasal olarak moleküler baskılanmış polimer oluşturulması

Elektrokimyasal olarak baskılanmış polimerler ile analitlerin tayininde voltametrik yöntemlerin, düşük cihaz maliyeti, üretim ve uygulama kolaylığı nedeniyle tercih edildiği ve giderek yaygınlaştığı görülmektedir (Piletsky ve Turner 2002). Elektropolimerleşme koşullarının ayarlanması (uygulanan gerilim-akım, döngü sayısı vb.) ile istenilen yoğunlukta ve kalınlıkta filmlerin elde

edilebilmesi (Gomez-Cabellero ve ark. 2005) baskılama işleminin kontrolü açısından düşünüldüğünde önemli bir özellik olmaktadır. Bu yöntemle, herhangi boyut ve şekildeki polimerik filmler iletken elektrot yüzeyine kolayca tutturulur (Malitesta ve ark. 1999). Yöntem basittir ve yüksek bir doğruluk ile analite duyarlı tabaka elektrotların yüzeyinde homojen olarak biriktirilebilir. Bu özelliğin mikrosensör ve multisensör üretiminde büyük bir önemi vardır (Piletsky ve Turner 2002). Bunların yanında elektrokimyasal polimerizasyon ile dedektör yüzeyinin belli bir kısmında tanınma bölgeleri oluşturulabilmesi sensör üretiminde bir esneklik sağlamaktadır.

Moleküler baskılama yoluyla elektrokimyasal olarak sentezlenmiş iletken veya iletken olmayan polimerler ile ilgili çalışmalar literatürde mevcuttur. Bunlar arasında poli(*o*-fenilendiamin) (Malitesta ve ark. 1999), polifenol (Panasyuk ve ark. 1999), polipirol (Deore ve ark. 2000) ve anilin ile *o*-fenilendiaminin (Peng ve ark. 2000) kopolimeri gibi farklı pek çok polimer yer almaktadır. Elektrokimyasal olarak sentezlenmiş iletken polimerlerin bu alanda kullanımının giderek yaygınlaşmaya başladığı görülmektedir (Ebarvia ve ark. 2005; Syritski ve ark.2008).

Polipirol kimyasal ve mekanik olarak dayanıklılığı iyi olduğundan ve farklı malzemeler üzerinde nötral ortamlarda bile elektrokimyasal olarak kolayca sentezlenebildiğinden (Wang ve ark. 2001) pek çok iletken polimer arasında, moleküler tanınma sistemlerinin sentezinde kullanılabilecek en önemli adaylardan biridir. Geleneksel olarak hazırlananlardan farklı olarak, elektrokimyasal polimerleşme ile hazırlanan MIPs aşırı yükseltgeme/dedoping işlemiyle anyonik moleküllerin eşzamanlı olarak yapıdan çıkmasını ve böylece tamamlayıcı bir boşluğun oluşmasını mümkün kılar. Bu işlem ile aşırıyükseltgenmiş polipirol matriksi bir tanınma birimi olarak davranırken aynı zamanda tayin edilecek molekül için geçirgen olan bir film özelliği de kazanmış olur. Üstelik elektropolimerleşme ile film kalınlığı nanometre seviyesinde kontrol edilebildiği gibi polimer filminin yapısı ve uzaydaki konumlanması da çok iyi bir şekilde kontrol edilebilir. Bununla birlikte elektrokimyasal olarak sentezlenmiş polimerler ile moleküler baskılama çalışmaları literatürde az sayıdadır (Syritski ve ark.

2008). Bu nedenle bu çalışmada, elektrokimyasal moleküler baskılanmış sistemler araştırılmıştır.

1.8. Parasetamol ve önemi

Parasetamol (PS) ilk defa 1893'te Von Mering tarafından antipiretik/analjezik olarak tıpta kullanılmıştır ve 30 yıldan fazla bir süredir tıbbi tedavide analjezik (ağrı kesici) olarak kullanılmaktadır. Aynı zamanda yetişkin ve çocuklarda ağrı ve ateşin düşürülmesinde çok etkili bir tedavi aracı olduğu kabul edilmektedir. Pek çok ülkede, aspirin ve fenasetine alternatif olarak, asetilsalisilik asitten sonra en çok kullanılan ilaçtır. Parasetamolün bilinen diğer ismi asetaminofendir (N-asetil-*p*-aminofenol, 4-asetamidofenol). Grip ve soğuk algınlığında kullanılan ilaçların ve çoğu ağrı kesicinin temel bileşenidir. Standart dozlarda oldukça güvenlidir fakat çok yaygın olarak bulunması nedeniyle kasten veya kazara aşırı doz alınmasıyla da karşılaşılmaktadır. PS, aspirin ve ibuprofen gibi diğer yaygın ağrı kesicilerden farklı olarak antienflamatuar (enfeksiyon giderici) özelliğe sahip değildir ve bu yüzden *non-steroidal antienflamatuar ilaçlar* (NSAİ, genelde anti romatizmal ilaçlar) olarak bilinen ilaç sınıfında yer almaz. Normal dozlarda, PS mide rahatsızlığına yol açmaz, kanın pıhtılaşması ve böbrekler üzerinde bir etkisi yoktur. Afyon benzeri ağrı kesicilerden farklı olarak, parasetamolün öfori (kendini aşırı derecede mutlu hissetme) ve herhangi bir ruhsal değişime neden olduğu tespit edilmemiştir. PS ve NSAİ türü ilaçların bağımlılık, alışkanlık ve dinçlik sağlama gibi özellikleri yoktur. Fiziksel, kimyasal ve biyofarmasotik özellikleri ile ilgili verileri mevcuttur (Bosch ve ark. 2006).

Son yıllarda yapılan çalışmalar, parasetamolün bilinen zararsız karakterine karşın karaciğer zehirlenmesi ve böbrek yetmezliği ile ilgisini göstermiştir. Karaciğer zehirlenmesi, mideye alınmasından sonraki 4 saat içinde parasetamolün plazma seviyesinin 120 µg/mL seviyesine ulaşmasıyla başlar ve akut zarar plazma seviyesi 200 µg/mL'ye ulaştığında meydana gelir (Bosch ve ark. 2006).

Tedavi için uygulanan normal dozlarda, PS çok hızlı metabolize olur ve tamamen aktif olmayan metabolitlerine dönüşerek idrar yoluyla atılır. Ancak daha yüksek dozlarda zehirli metabolitlerin birikimi sözkonusudur. Avrupa ve ABD'de

aşırı doz yüzünden ani zehirlenme olaylarına sıklıkla rastlanmaktadır. Bu yüzden parasetamol seviyesinin doğru bir şekilde kontrol edilmesini sağlamak için volumetrik, polarografik, spektrofotometrik, florimetrik, kromatografik, voltametrik vb. pek çok analitik yöntem kullanılmaktadır (Bosch ve ark. 2006).

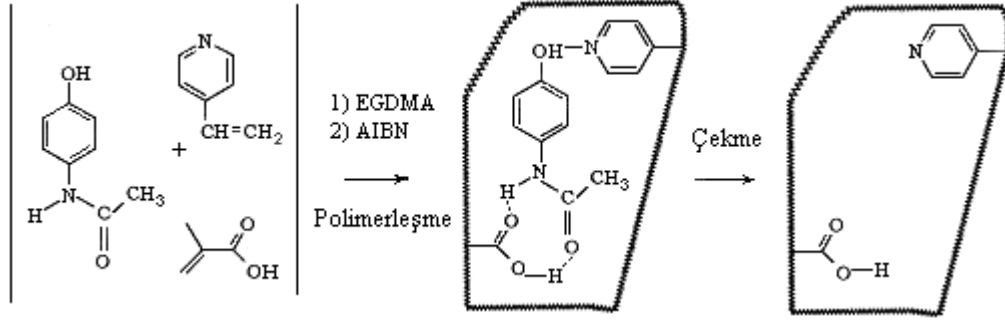
1.8.1. Elektroanalitik yöntemler ile parasetamol tayini

Klinik laboratuvarlarda genellikle volumetrik, kromatografik ve spektroskopik yöntemlerle PS tayini yapılmaktadır ve çoğu zaman analiz süreleri fazlasıyla uzundur. Amperometri, elektroanalitik bir yöntemdir ve tek kullanımlık sensörler olarak uygulandığında pek çok üstünlüğe sahip olabilmektedir. Amperometrik sensörlerin en dikkat çekici özellikleri basitlikleri, düşük maliyetli olmaları ve minyatürleştirmeye uygun olmalarıdır.

PS karbon pasta veya camsı karbon gibi elektrotlar ile kolayca yükseltgenebilir, fakat yükseltgenmenin gerçekleştiği 0,6 V ile 0,8 V arasında girişim yapabilecek diğer elektroaktif türlerden dolayı bu işlem seçici değildir. Bu gerilimi daha katodik bölgelere çekebilecek işlemler veya modifikasyonlar ile girişim yapan türlerin etkisini azaltmak mümkündür. Farklı kimyasallar ve biyomalzemeler kullanılarak fiziksel ve kimyasal modifikasyon işlemi uygun bir dönüştürücü yüzeyinde gerçekleştirilebilir (Bosch ve ark. 2006).

Örneğin piezoelektrik kuartz kristal, çok hızlı cevap vermesi ve basitliği nedeniyle uygun bir transduser olarak parasetamol biyosensörü yapımında kullanılabilir. Pek çok durumda yöntem; çekme, ayırma ve deriştirme işlemlerine gerek duymaz ve yerinde (on-line) analizler yapmaya uygun hale getirilebilir. Bununla beraber yöntem özel bir seçiciliğe sahip değildir. Bu yüzden seçiciliği arttırmak için piezoelektrik kuartz kristal yüzeyinde bir ön işlem yapılarak sistem pek çok alanda kullanılabilir. Ancak bu sistemler beklenildiği kadar yüksek seçicilik sağlayamamakta veya biyomalzemeler için yeterince kararlı olmamaktadır. Bu yüzden sensör bileşenleri için kararlı, yüksek seçicilikte ve kolay uygulanabilen malzemelere ihtiyaç duyulmaktadır. Böyle bir durumda karşımıza moleküler baskılanmış polimerler çıkmaktadır. Tan ve ark. (2001) tarafından yapılan çalışma piezoelektrik kuartz kristal yüzeyinde moleküler baskılama işleminin uygulamasına bir örnek oluşturmaktadır. Bu uygulamada,

fonksiyonel monomer olarak metakrilik asit ve 2-vinilpiridin kullanılarak parasetamole karşı seçiciliği olan moleküler baskılanmış bir polimer hazırlanmıştır (Şekil 1.18).



Şekil 1.18. Parasetamol için moleküler baskılama işleminin gösterimi

Parasetamol tayini için, akış enjeksiyon analizleri elektrokimyasal yöntemler ile birlikte de kullanılabilir. Böylece akış enjeksiyonunun esnekliği ile elektrokimyasal yöntemlerin tıbbi teşhisteki gücü bir araya gelmektedir. Ticari olarak satın alınabilen elektrokimyasal akış hücreleri yaygın olmasına karşın pahalıdır. Bunun yanında voltametrik tayinin yapıldığı elektrokimyasal akış hücresinin el yapımı olarak daha düşük maliyetle üretilmesi mümkündür. Masawat ve ark. (2002) kalem ucu elektrot kullanarak çok ucuza malettikleri elektrokimyasal akış hücresinin performansını ticari olanlarla karşılaştırmalı olarak parasetamol tayininde kullanmışlardır. El yapımı hücrenin üretimi ve kullanımı kolaydır ve ticari olanlarla kıyaslandığında yeniden elde edilebilir ve doğru sonuçlar alınmaktadır.

Bu tür çalışmalar göstermiştir ki elektrokimyasal sistemler moleküler baskılama yöntemiyle birlikte kullanılarak kolay ve çok düşük maliyetler ile parasetamol tayinlerinde kullanılabilir.

1.9. Askorbik Asit ve Önemi

Askorbik asit (C vitamini) pek çok doğal örnek içinde farklı derişimlerde bulunmaktadır. Temel bileşen olarak bazı ilaçlara, stabilizatör olarak B Vitamin

komplekslerine eklenmekte ve antioksidan olarak kullanılmaktadır. İskorbit, soğuk algınlığı, kansızlık gibi bazı hastalıklarda ve kanamalı hastalıkların yara tedavisinde istenilen neticeye daha iyi ulaşabilmek için yaygın olarak kullanılmaktadır. İskelet, kas, diş ve derinin gelişimi ve yenilenmesinde temel rol oynadığı düşünülmektedir. C vitamini içeren doğal ürünlerin ve ilaçların kullanımının artması, kimyacıları askorbik asit tayininde hızlı, duyarlı, doğru, kolay uygulanabilen ve seçici analitik işlemler geliştirmeye zorlamaktadır (Arya ve ark. 1998). Bu çabanın sonucunda askorbik asit miktarını belirlemeye yönelik çok sayıda spektroskopik, volumetrik, voltametrik, florimetrik, potansiyometrik, kromatografik analiz yöntemi geliştirilmiştir (Arya ve ark. 2000).

Askorbik asitin elektrokimyasal olarak yükseltgenmesi farklı elektrotlar ve modifiye elektrotlar ile incelenmiştir. Poli(anilin-polivinilsülfonat) kopolimeri ile modifiye Pt (Bartlett ve Wallace 2001), nano fiber yapıları polipirol ile modifiye grafit (Wang ve ark. 2006) ve poli(anilin-*o*-aminofenol) kopolimeri ile kaplı camı karbon elektrot (Zhang ve Lian 2007) bunlara örnek olarak verilebilir.

1.9.1. Askorbik asitin elektrokatalitik yükseltgenmesi

Askorbik asit ve onun yükseltgenme ürünü dehidroaskorbik asit nötrale yakın çözeltilerde standart hidrojen elektroda göre +0,058 V'ta yalancı tersinir bir formal redoks gerilimine sahiptir. Sulu çözeltide askorbik asit (pKa değerleri 4,17 ve 11,57 olan) iki basamakta protonlarını verir. Bu yüzden nötral bir çözeltide askorbik asit tek protonlu askorbat anyonu halinde bulunur. Nötrale yakın değerlerde askorbat platin veya camı karbon gibi inert elektrotlar ile +0,3 V civarında (doymuş kalomel elektroda karşı) yükseltgenebilir. Bununla beraber çoğunlukla çok sayıda yükseltgenebilir tür içeren gerçek örneklerde göreceli olarak daha yüksek gerilimlerde yükseltgenebilir. Bu yüzden bu türlerin elektrokimyasal olarak yükseltgenmesine ilişkin anodik akım önemli hatalara neden olabilir veya bazı durumlarda bu akım askorbatın kendisine ait anodik akım değerinden daha yüksek olabilir. Bu tür veriler gözönünde bulundurulduğunda askorbatın elektrokimyasal yükseltgenme gerilimini daha da düşürecek ve girişim yapan türlerin anodik akımından etkilenmeyecek elektrokatalitik olarak aktif

elektrot yüzeyi oluşturmak oldukça önemli gözükmektedir (Malinauskas ve ark. 2004).

1.9.2. Askorbik asitin polipirol ile modifiye edilmiş elektrotlar ile elektrokimyasal yükseltgenmesi

Polipirol nötral çözeltilerde bile elektriksel iletkenliğe ve elektrokimyasal redoks aktivitesine sahip olduğundan modifiye polipirol elektrotlar üzerinde askorbik asitin anodik olarak yükseltgenebilmesi sürpriz olmamaktadır. 1990'ların başlarında çıplak metal elektrotlar ile karşılaştırıldığında polipirol ile modifiye edilmiş bir elektrot yüzeyinde hem elektrokimyasal yükseltgenme kinetiğinin hem de elektrokimyasal cevabın tekrarlanabilirliğinin iyileştirilebildiği bulunmuştur. Böylece bu elektrotların askorbik asit için amperometrik bir sensör olarak kullanımının yolu açılmıştır (Lyons ve ark. 1991). Gao ve ark. (1994a) dodesilsülfat katkılı polipirol elektrot yüzeyinde askorbatın elektrokimyasal yükseltgenmesi için anodik pikin, modifiye edilmemiş elektrot ile karşılaştırıldığında 0,30 V kadar daha katodik gerilime kaydığını belirlemiştir. Böylece bu iletken polimerin etkili bir elektrokatalitik özelliği olduğunu göstermişlerdir. Ayrıca döner disk elektrot çalışmaları ile, yükseltgenmenin polimer tabakasının kalınlığına bağlı olmadığını, anodik akımın çözeltideki kütle transferiyle kontrol edildiğini belirlemişler ve elektron aktarım reaksiyonunun büyük bir ihtimalle çözelti polimer arayüzeyinde meydana geldiğini belirlemişlerdir. Multivitamin tabletlerdeki C vitamini analizleri %3,5-5 gibi düşük bir bağıl standart sapma ile gerçekleştirilmiştir (Gao ve ark. 1994a).

Polipirol, askorbatın elektrokatalitik olarak doğrudan yükseltgenmesinin yanında askorbat ve elektrot arasında elektron taşıyıcısı olarak davranan elektroaktif türler için bir destek malzemesi olarak kullanılabilir. Polimer tabakası içine elektroaktif bir türün dahil edilebilmesi için iki temel yol uygulanabilir: (i) Elektroaktif kısım içeren herhangi bir pirol temelli monomerin ve pirolün tabaka tabaka (layer-by-layer) polimerleştirilmesi veya kopolimerleştirilmesi, (ii) çoğunlukla elektrostatik olan (kovalent olmayan) bir etkileşim sayesinde bir polimer tabakası içine elektroaktif türün katılabilmesi.

1.10. Glikoz ve Önemi

Glikoz derişiminin belirlenmesi gıda işlemleri ve fermantasyonda olduğu kadar klinik, biyolojik ve kimyasal örneklerde de çok önemlidir (Yoshimura ve Hozumi 1996; Mizutani ve Yabuki 1997; Xu ve Chen 2000). Şeker hastalığının izlenmesi ve tıbbi teşhis amacıyla glikoz tayinleri yaygın olarak kullanılmaktadır. 21. yüzyılın en büyük sağlık sorunlarından biri olan şeker hastalığına yakalanan hasta sayısının 2025 yılına kadar 300 milyonu bulacağı tahmin edilmekte (King ve ark. 1998) ve kan şekeri seviyelerinin düzenli olarak ölçülmesi gerekmektedir (Garg ve ark. 2004). Bu nedenle, deri altı dokularında glikoz derişimini sürekli bir değerlendirmeye tabi tutabilmek ve kandaki glikoz seviyesini belirleyebilmek amacıyla duyarlı, seçici, güvenilir ve düşük maliyetli glikoz sensörü üretimi için giderek artan bir çaba sarfedilmektedir (Yasuzawa ve ark. 2000; Sijukic ve ark. 2006).

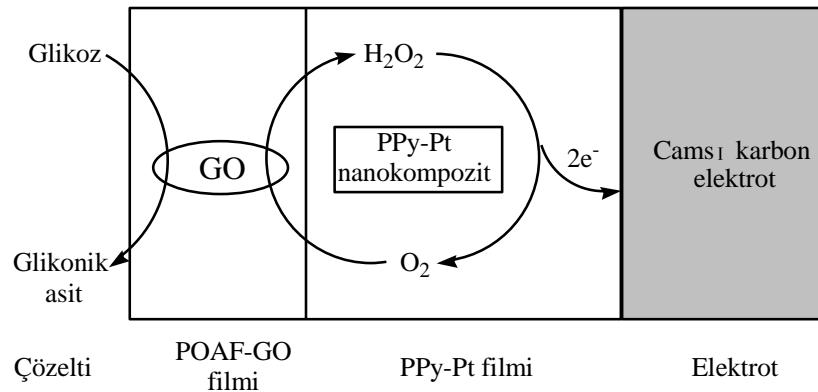
Elektrokimyasal analizler açısından düşünüldüğünde, glikozun da içinde yer aldığı çoğu karbonhidratın, yaygın olarak kullanılan elektrotlar üzerinde yükseltgenmesi büyük bir aşırı gerilim uygulanmasını gerektirdiği için kolay değildir. Bu yüzden yüksek katalitik aktiviteye sahip ve daha basit işlemler gerektiren alternatif elektrot malzemeleri bulmak için çalışılmaktadır. Bu amaca yönelik en ümit verici yaklaşım modifiye elektrotların kullanımı olarak görülmektedir (Barrera ve ark. 2006). Bir elektrot yüzeyini modifiye etmek, modifiye edilmemiş yüzeyde gerçekleşmeyen bazı kimyasal özelliklerin gerçekleşmesini sağlar ve böylece elektrot yüzeyinin seçiciliğinde artma meydana gelir (Oni ve ark. 2005). Kimyasal olarak modifiye bir elektrot elde etmek için elektrotlar çoğu zaman iletken veya yarı iletken bir malzemeyle kaplanır veya kimyasal bir modifikasyon ajanı yük transfer reaksiyonları ya da ara yüzey bağlantıları vasıtasıyla yapıya sokulur (Leznoff ve Lever 1989).

1.10.1 Glikoz oksidaz modifiye elektrotlar ile glikoz tayinleri

Hidrojen peroksit üretimine neden olan oksidaz enzimi temelli biyosensörler yaygın olarak kullanılmaktadır (Cosnier ve ark. 1999). Son zamanlarda iletken

polimerlere biyokatalizörlerin immobilizasyonuna ait çalışmalar dikkate değer bir şekilde artmaktadır. Polipirol, polianilin, politiyofen ve türevlerini içeren iletken polimerler ise elektrokimyasal olarak üretilen enzimatik elektrotların başlıcalarıdır (Retama ve ark. 2004). Bunlardan polipirol ile düşük yükseltgenme gerilimine sahip olması nedeniyle çok ilgilenilmiştir. Elektrokimya açısından önemli olan bu özellik sayesinde pek çok biyolojik sistemle uyumlu olan sulu çözeltilerden film oluşumu mümkün olmaktadır. Pek çok iletken polimer biyosensörü ile glikoz derişiminin belirlenmesi enzimatik reaksiyon sırasında tüketilen oksijenin indirgenme akımının veya açığa çıkan hidrojen peroksitin yükseltgenme akımının izlenmesiyle gerçekleştirilmektedir (Adeloju ve ark. 2001).

Li ve Lin'in (2007) yaptıkları polipirol ve poli-*o*-aminofenol modifiye elektrot çalışmalarında bir sensörün çalışma prensibini ve işleyiş mekanizmasını şematik olarak göstermişlerdir (Şekil 1.19).



Şekil 1.19. GO immobilize POAF'ün PPy-Pt nanokompozit filmi üzerine kaplanmasıyla oluşturulmuş glikoz sensörü ve işleyiş mekanizması

Burada öncelikle H₂O₂ yükseltgenmesini katalizlemek amacıyla polipirol-Pt (PPy-Pt) nanokompozit bir iç tabaka oluşturulmuş ve bu tabaka üzerine biriktirilen poli-*o*-aminofenol filmine glikoz oksidaz enzimi (GO) immobilize edilmiştir. Glikoz oksidazın tutturulduğu poli-*o*-aminofenol filmi (POAF-GO) çözeltideki glikoz ile temas ettiğinde oksijen varlığında GO enziminin etkisiyle glikonik asit ve H₂O₂ oluşmaktadır.



Ardından oluşan H_2O_2 PPy-Pt üzerinde elektrokatalitik olarak yükseltgenmekte ve pik akımları H_2O_2 ile orantılı akım değerlerinin elde edilmesini sağlamaktadır.

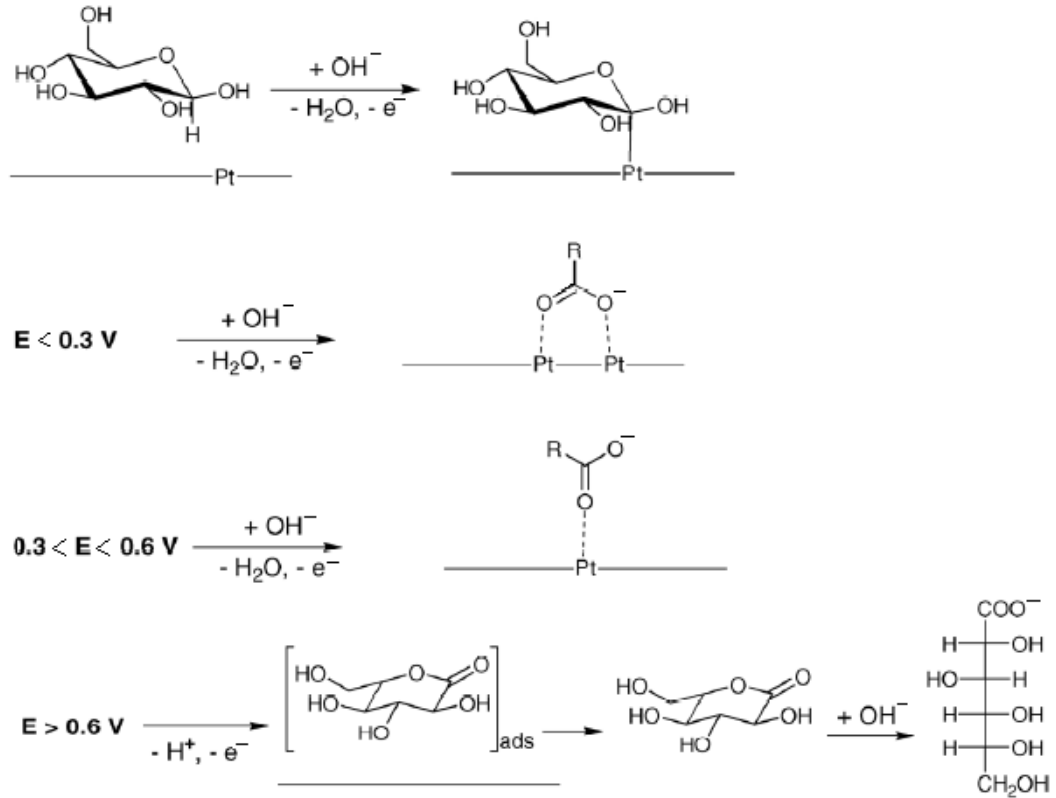


Elde edilen bu değerler dolaylı olarak glikoz miktarıyla ilişkilidir. Böylece glikoza duyarlı modifiye bir elektrot elde edilmiş olmaktadır. Kullanılan enzim glikoza spesifik cevap verdiği için tasarlanan elektrot girişim yapan türlerin varlığından en az etkilenecek şekilde hazırlanmıştır.

1.10.2. Enzim kullanılmayan modifiye elektrotlar ile glikoz tayinleri

Modifiye elektrot çalışmalarında modifikasyon amacıyla belli bir türe seçici davranan enzimlerin kullanımı yaygın olmasına rağmen, kararlılık, basitlik, yeniden elde edilebilirlik ve oksijenden etkilenmemesi gibi özellikler nedeniyle, enzim kullanılmadan yapılan glikoz tayinlerinde pek çok üstünlükler vardır. Enzim kullanılarak yapılan çalışmalarda en yaygın ve ciddi sorun enzim doğasından kaynaklanan kararlılık ile ilgilidir. GO diğer enzimler ile karşılaştırıldığında oldukça kararlı olmasına rağmen GO temelli sensörler üretim, saklama ve kullanım esnasında termal ve kimyasal bozunmaya uğramaktadır. Bunun yanında sıcaklık, pH, nem ve sterilizasyonda kullanılan zehirli kimyasallar glikoz sensörlerinin performansını etkilemektedir. Sıcaklık ve düşük nem saklamada olduğu gibi kullanım esnasında da sensörlerin davranışını olumsuz etkiler. Bu yüzden pek çok araştırmacı için enzim kullanmaksızın glikozun doğru bir şekilde tayin edilmesi oldukça önem taşımaktadır (Park ve ark. 2006). Bu çabalar sonucu asidik, bazik veya nötral çözeltilerde metal veya modifiye elektrotlar ile glikozun elektrokatalitik olarak yükseltgenmesine ilişkin bazı çalışmalar yapılmıştır.

Beden ve ark. (1996) bazik ortamda Pt elektrot yüzeyinde glikozun elektrokatalitik yükseltgenmesini açıklamışlardır. Şekil 1.20’de bu mekanizma şematik olarak gösterilmektedir. Başlangıçta çıplak platin üzerine hidrojen adsorpsiyonu yerine kimyasal olarak glikozun adsorplanması gerçekleşir. Bu aşama dehidrasyon basamağının bir çeşididir.



Şekil 1.20. Bazik ortamda Pt elektrot üzerinde glikozun elektrokimyasal yükseltgenmesine ilişkin mekanizma

Standart hidrojen elektrota göre 0,3 V’un altındaki hidrojen bölgesinde gerilim uygulandığında adsorplanmış dehidrate olmuş ara ürün, zayıfça adsorplanmış glikonat yapısına yükseltgenir. 0,3 V ile 0,6 V arasındaki çift tabaka bölgesinde adsorplanmış ara ürünün ayrıca yükseltgenmesiyle daha da zayıf adsorplanmış glikonat oluşur. Gerilim arttığında adsorpsiyon kuvveti zayıflamaya başlar. 0,6 V’tan daha yüksek gerilimlerde ve anodik sınıra kadar adsorplanmış dehidrojene ara ürün C–O–C bağı kırılmaksızın glikono-δ-lakton yapısına

yükseltgenir. Glikono- δ -lakton yavaşça geri salınır ve sonunda bazik ortamdaki hidrolizin bir sonucu olarak glikonat oluşur.

Bunun yanında enzimatik olmayan glikoz sensörleriyle ilgili uygulamalarda elektrokatalitik etki gösteren malzemeler bulmak için de yoğun bir çaba sarfedilmektedir (Park ve ark. 2006). Bu bağlamda spesifik türlerin analitik duyarlılığını araştırmak için modifikasyon aracı olarak kullanılabilir farklı malzemeler ile çalışılmıştır. Karbon nanotüplerden (Ye ve ark. 2004), nanoparçacıklardan (Tominaga ve ark. 2005; Xu ve ark. 2006; Rong ve ark. 2007) ve ftalosiyanimlerden (Barrera ve ark. 2006) oluşan modifiye elektrotlar ile glikoz yükseltgenmesi için yapılan çalışmalar bunlara örnek olarak gösterilebilir.

Metaloftalosiyanimlerin yaygın olarak bilinen birçok kimyasal maddenin yükseltgenmesine karşı iyi bir elektrokatalitik aktivite gösterdikleri bilinmektedir. L-sistein (Maree ve Nyokong 2000; Luz ve ark. 2006; Kuhnline ve ark. 2006), nitrit (Matemadombo ve Nyokong 2007; Santos ve ark. 2006) ve glikoz (Santos ve Baldwin 1987; Barrera ve ark. 2006) bunlardan bazılarıdır. Ayrıca metaloftalosiyanim temelli elektrotlar voltametrik ve amperometrik glikoz sensörü olarak da başarıyla çalışılmıştır (Sun ve Tachikawa 1992; Ye ve ark. 2005; Mashazi ve ark. 2006; Wang ve ark. 2005; Ozoemena ve Nyokong 2006).

İletken polimer filmler, kimyasal sensör ve biyosensör uygulamalarında yaygın olarak kullanılmaktadır. Farklı iletken polimerler arasında, polipirol (PPy) biyoanalitik sensörlerin ve modifiye elektrotların hazırlanması için en yaygın kullanılanlardan biridir (Ramanavicius ve ark. 2006; Özcan ve Şahin 2007; Özcan ve ark. 2007). Polipirolün elektrokimyasal özelliklerinin büyük oranda redoks haline bağlı olduğu bilinmektedir ve tersinir yükseltgenme/indirgenmenin meydana geldiği gerilimlerden daha yüksek gerilimlerde polipirol aşırı yükseltgenmektedir. Polipirolün aşırı yükseltgenmesiyle çoğunlukla yapının bir kısmında istenilmeyen bozunmalar meydana gelmekte ve bunun sonucunda iletkenlik ve anyonik moleküllerin yapıya katılabilme özellikleri kaybolmaktadır (Farrington ve Slater 1997; Gao ve ark. 1994b). Bu olumsuzluklarına rağmen, aşırı yükseltgenmiş polipirol (AYPPy) seçici geçirgenliğinden faydalandığı bazı elektroanalitik uygulamalarda kullanılmaktadır (Shiigi ve ark. 2002; Spurlock ve ark. 1996).

Gulppi ve ark. (2001) bazik sulu çözeltide 2-merkaptolanolün elektrokatalitik yükseltgenmesi amacıyla, ultramikro karbon fiber elektrot üzerinde elektrokimyasal olarak elde edilmiş polipirol hazırlayarak sülfolanmış kobalt ftalosiyani yapıya katkılamışlar ve minyatürize edilebilen elektrokimyasal bir sensörü düşük maliyetli olarak üretmişlerdir. Polipirol temelli elektrotların gerilim taramasında büyük bir taban gürültüsü oluşturan fazla miktardaki elektrik yükünden kaçınmak için ise polimer bazik çözeltide çok döngülü gerilim taramasıyla aşırı yükseltgenmiş hale getirilmiştir.

Ayrıca son zamanlarda nanofiber yapıda elde edilen polipirol elektrodun bazı maddelerin yükseltgenmesine karşı elektrokatalitik etki gösterdiği (Wang ve ark. 2006) bulunmuş ve bu alanda kullanımı yaygınlaşmaya başlamıştır. Bu açıdan bakıldığında modifikasyon için çok iyi bir malzeme olarak kullanılacağı düşünülmektedir.

Butün bu veriler göz önünde bulundurularak Co-ftalosiyaniinlerin ve nanofiber yapılu polipirol elektrodun elektrokatalitik aktivitesinden yararlanılarak glikoz için enzimatik olmayan bir elektrot geliştirilmesi amaçlanmıştır.

1.11. Voltametrik Yöntemler

Dengede bulunan elektrot/çözelti sistemi akım veya gerilim uygulanarak bozulduğunda sistemin yeniden dengeye ulaşabilmesi için gösterdiği davranışların incelendiği yöntemlere “voltametrik yöntemler” denir. Bu yöntemlerde elektrotlardan birine elektriksel etki yapılarak sistemin verdiği cevap ölçülür. Bu cevap sistemin özellikleri hakkında bilgi verir. Genel olarak elektrokimyasal yöntemlerde akım, gerilim ve zaman parametreleri bulunur ve bu parametreler yöntemin adını belirler. Örneğin voltametri, kronoamperometri ve kronokulometri gibi yöntemlerde sırası ile gerilim–akım, zaman–akım ve zaman–yük parametreleri arasındaki ilişki anlatılmaktadır.

Elektroanalitik yöntemler genel olarak statik ve dinamik yöntemler olmak üzere ikiye ayrılır. Statik yöntem net akımın sıfır olduğu denge durumunu, dinamik yöntem ise denge durumundan uzakta net akımın gözlendiğini ifade eder.

Elektroanalitik yöntemlerin çok büyük bir kısmı net akımın sıfır olmadığı dinamik yöntemlerdir.

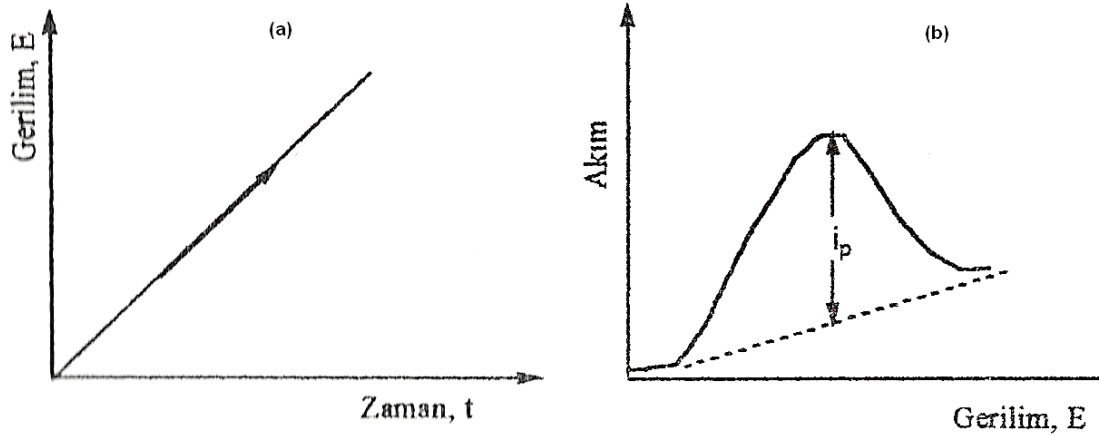
Gerilim kontrollü dinamik metotlar arasında yer alan voltametrik yöntemde deneyler destek elektrolit ve üçlü elektrot sisteminin bulunduğu elektrokimyasal hücrelerde gerçekleştirilmektedir. Destek elektrolit çözelti içinde elektriksel iletkenliği sağlamak amacıyla kullanılır. Bu yöntemde, çalışma (indikatör) elektrodu ile referans (karşılaştırma) elektrodu arasına uygulanan ve değeri zamanla değişen gerilime karşı, çalışma elektrodu ile karşıt (yardımcı) elektrot arasındaki geçen akım ölçülmektedir. Voltametrik yöntemde çalışma elektrodu olarak civa, platin, altın, paladyum, karbon (grafit, karbon pasta, camsi karbon) gibi elektrotlar yaygın olarak kullanılmaktadır. Referans elektrodun gerilimi deney süresince sabittir ve genellikle referans elektrot olarak Ag/AgCl veya doymuş kalomel (SCE) kullanılmaktadır. Elektrot sistemindeki üçüncü elektrot ise karşıt elektrotur ve yaygın olarak platin kullanılır.

Voltametrik yöntemde çalışma elektrodu üzerinde maddelerin indirgenmesi veya yükseltgenmesi sonucunda akım oluşur. İndirgenmeden dolayı oluşan akıma katodik akım, yükseltgenmeden dolayı oluşan akıma ise anodik akım denir. Bu yöntemle herhangi bir maddenin elektrokimyasal davranışının incelemesi elektroda uygulanabilecek gerilim aralığının sınırlarına, kullanılan çalışma elektroduna, kullanılan çözücü ve destek elektrolitin türüne bağlıdır.

1.11.1. Doğrusal-taramalı ve dönüşümlü voltametri

Doğrusal-taramalı voltametri (DTV) elektroaktif bir madde içeren durgun bir çözeltide bir çalışma elektrodu ile karşılaştırma elektrodu arasına zamanla doğrusal olarak değişen bir gerilim programı uygulanır (Şekil 1.21a) ve çalışma elektrodu ile karşıt elektrot arasında oluşan akım ölçülür. Elde edilen gerilim-akım cevap eğrisine “doğrusal voltamogram” denir (Şekil 1.21b). Doğrusal-taramalı voltametri yönteminde önemli bir deneysel değişken olan gerilim tarama hızı, 0,01-1,00 V/s arasında değiştirilebilmektedir. Çalışma elektroduna uygulanan gerilim elektroaktif maddenin indirgenme veya yükseltgenme gerilimine ulaştıkça elektrot yüzeyindeki maddenin çok hızlı tüketilmesi akımda

artışa neden olur. Bu işlem elektrot yüzeyi ile çözelti arasında bir derişim farkı doğurur. Bunun sonucu olarak çözeltiden elektrot yüzeyine difüzyonla kütle aktarımı başlar. Difüzyonla kütle aktarımı, elektron aktarım işleminin hızı ile yarışmadığından akımda üstel bir düşüş gözlenir ve bir pik elde edilir (Şekil 1.21b).

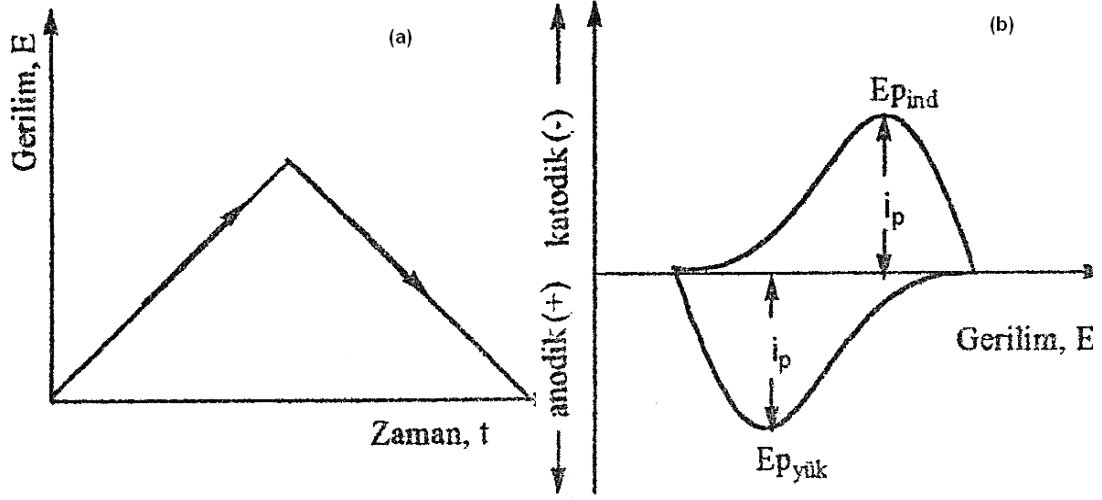


Şekil 1.21. Doğrusal-taramalı voltametri (a) gerilim taramasının zamanla değişimi ve (b) elde edilen voltamogram

Dönüşümlü voltametri (DV) yöntemi doğrusal-taramalı voltametri yönteminin tamamlayıcısı gibi düşünülmektedir. İleri yönde uygulanan gerilim taraması istenen bir değerden sonra ters çevrilerek (Şekil 1.22a) analitin hem yükseltgenme hem de indirgenme özelliklerinin aynı anda incelenmesi avantajını sağlamaktadır. Bu yöntemde elde edilen cevap eğrisine de “dönüşümlü voltamogram” denir (Şekil 1.22b). Bu yöntemde ileri ve geri yöndeki gerilim tarama hızları aynı tutulabildiği gibi istendiğinde farklı tarama hızları da kullanılabilir. Ayrıca ileri ve geri yöndeki gerilim taraması bir kez yapılabildiği gibi birçok kez de yapılabilir. Bu durumda çok döngülü dönüşümlü voltamogramlar elde edilir.

Dönüşümlü voltamogramların ayrıntılı incelenmesiyle bir sistemin hangi gerilimlerde ve kaç adımda indirgenip yükseltgenebileceğini (reaksiyon mekanizmasını), elektrokimyasal açıdan tersinir-yarı tersinir-tersinmez özelliğini, elektrot tepkimesini izleyen bir çözelti tepkimesinin olup olmadığını, oluşan

ürünlerin kararlılığını, elektrot tepkimesine giren maddelerin veya ürünlerin elektrot yüzeyine tutunup tutunmadıklarını anlamak mümkündür.



Şekil 1.22. Dönüşümlü voltametri (a) gerilim taramasının zamanla değişimi ve (b) elde edilen voltamogram

Voltametik yöntemde en çok kullanılan bağıntılardan bir tanesi Randles-Sevcik bağıntısıdır (Eşitlik 1.2). Bu bağıntı kullanılarak elektroaktif bir maddenin nicel analizi yapılabildiği gibi elektrokimyasal tepkimenin tersinir olup olmadığı da belirlenebilir.

$$J_p = k \cdot n^{3/2} \cdot A \cdot D^{1/2} \cdot C \cdot v^{1/2} \quad (1.2)$$

Burada,

J_p : pik akımı (A, mA, μ A)

k: Randles-Sevcik sabiti

n: aktarılan elektron sayısı

A: Elektrot alanı (cm^2)

D: Difüzyon katsayısı (cm^2/s)

C: çözelti derişimi (mol/L)

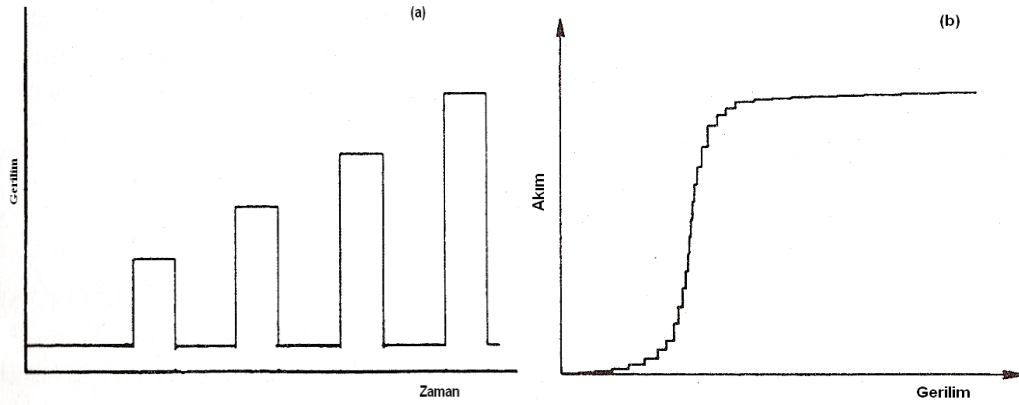
v: gerilim tarama hızı (mV/s) dır.

1.11.2. Puls voltametri yöntemleri

Puls voltametri yöntemleri, voltametrik ölçümlerdeki tayin sınırlarını düşürmek amacıyla ilk kez Barker ve Jankin tarafından ortaya konulmuştur. Faradayik olan (I_F) ve Faradayik olmayan akımlar (kapasitif veya yükleme akımı) (I_K) arasındaki oranın (I_F/I_K) büyük ölçüde artırdığı bu yöntemler ile 10^{-8} M derişim seviyelerinde kantitatif tayinler yapılabilmektedir. Çeşitli puls voltametri yöntemleri gerilim adımlarına karşı oluşan akımın örneklenmesi temeline dayanır. Birbirini izleyen bu gerilim adımları, istenilen aralıklarla çalışma elektroduna uygulanır. Uygulanan bir gerilim adımından sonra oluşan yükleme akımı eksponansiyel olarak hızlıca ihmal edilebilir değerlere düşer ancak faradayik akım daha yavaş azaldığından kolayca ölçülebilmektedir. Bu durumda yükleme akımı ile faradayik akımlar arasındaki ayırım etkin bir şekilde yapılabilmektedir. Çeşitli puls voltametri yöntemleri arasındaki fark ise akım örnekleme bölgesi ve uygulanan pulsun dalga formundan kaynaklanmaktadır.

1.11.2.1. Normal puls voltametri (NPV)

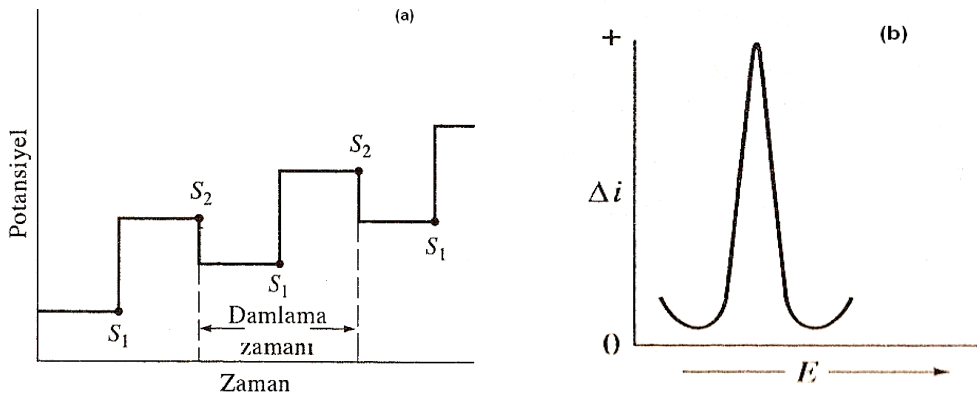
Normal puls voltametrisi yönteminde şiddeti giderek artan bir seri puls istenen zaman aralıklarında çalışma elektroduna uygulanmaktadır. Uygulanan pulsların şiddetleri her seferinde lineer olarak artırılırken elektrot, pulslar arasında analitin reaksiyonuna neden olmayacak sabit bir gerilimde tutulmaktadır (Şekil 1.23a). Akım puls uygulamasının sonuna doğru, yani yükleme akımının yaklaşık sıfır olduğu durumda ölçülmektedir. Ölçülen akım değerleri gerilime karşı grafiğe geçirildiğinde ise sigmoidal şeklinde voltamogram elde edilmektedir (Şekil 1.23b).



Şekil 1.23. Normal puls voltamtrisinde (a) uyarma sinyali ve (b) elde edilen voltamogram

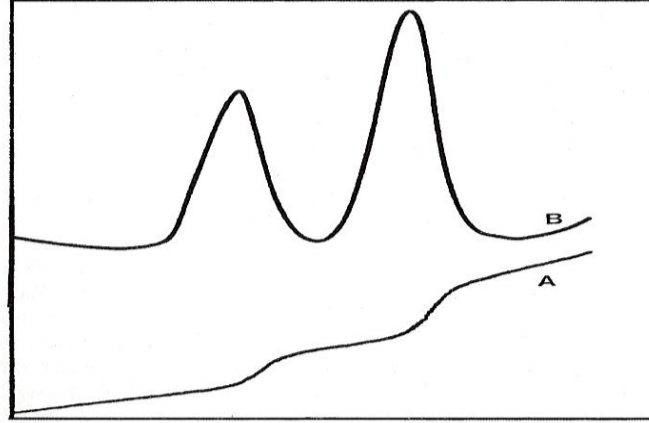
1.11.2.2. Diferansiyel puls voltametri (DPV)

Diferansiyel puls voltametri eser miktardaki organik, inorganik ve metalik iyon türlerin tayini için son derece kullanışlı bir yöntemdir. Bu yöntemde lineer olarak artmakta olan gerilim üzerine sabit şiddette bindirilen pulsler, istenilen zaman aralıklarında çalışma elektroduna uygulanmaktadır (Şekil 1.24a). Bu yöntemde akım, puls uygulamasından hemen önce ve puls uygulamasının sonuna doğru yani yükleme akımının yaklaşık sıfır olduğu durumda olmak üzere iki kez ölçülmektedir. Akımlar arasındaki fark gerilime karşı grafiğe geçirildiğinde pik şeklinde bir voltamogram elde edilmektedir (Şekil 1.24b). Pik gerilimi, elde edilen pikin tepe noktasındaki gerilimdir ve pik yüksekliği direkt olarak analitin derişimi ile orantılıdır.



Şekil 1.24. Diferansiyel puls voltamtrisinde (a) uyarma sinyali ve (b) elde edilen voltamogram ($\Delta i = E_{S2} - E_{S1}$)

Diferansiyel puls ölçümlerinin pik şeklinde olması, yükseltgenme gerilimleri yakın olan türlerin birbirinden ayrılmasını mümkün kılmaktadır (Şekil 1.25). Çeşitli durumlarda 50 mV kadar farklı gerilimlerde pikler elde edilebilmektedir. Kantitatif tayin sadece pik gerilimine değil aynı zamanda pik yarı yüksekliğindeki pik genişliğine de bağlıdır ve pikin genişliği elektron stokiyometrisiyle ilişkilidir.



Şekil 1.25. 1,0 mg/L kadmiyum ve kurşun iyonları karışımı için (A) normal puls ve (B) diferansiyel puls voltamogramları

Puls şiddeti ve gerilim tarama hızının seçimi hassasiyet, hız ve kararlılığı etkilemektedir. Örneğin, geniş puls şiddetleri geniş piklere neden olmaktadır. Diferansiyel puls ölçümlerinde genellikle 25-50 mV arasındaki puls şiddetleri ve 5 mV/s tarama hızı kullanılmaktadır.

1.12. Kalem Ucu Elektrot ve Elektrokimyasal Analizlerde Kullanımı

Düşük zemin akımı, kimyasal inertliği, düşük maliyeti, farklı uygulamalar için uygunluğundan dolayı karbon elektrotlar elektroanalitik uygulamalarda kullanılmaktadır. Bunlardan biri olan kalem ucu elektrot yüksek elektrokimyasal reaktivitesi, mekanik dayanıklılığı, düşük maliyet ve teknoloji gerektirmesi, modifikasyon, minyatürleştirme ve yenilenmesinin kolay olması nedeniyle pek çok analitik uygulamada tercih edilmektedir. Diferansiyel puls ve kare dalga voltametri gibi oldukça hassas ve yüksek doğrulukta ölçümler yapan voltametrik

bir yöntemle birleştğinde çok çekici bir iz analiz yöntemi meydana gelmektedir (Gao ve ark 2005).

Kalem ucu elektrotun aktif yüzey alanı daha fazladır ve bu nedenle daha düşük derişimlerde ve/veya hacimdeki analitlerin tayinlerinde kullanılabilir. Analit miktarı çok düşük olduğunda bu büyük bir önem kazanmaktadır (Vestergaard ve ark. 2005). Üstelik, camsı karbon gibi ticari olarak temin edilen karbon elektrotların yeniden kullanılması için tekrar tekrar temizlenmesi ve modifikasyon için pek çok işlemin yenilenmesinin gerekeceği bir durumda kalem ucu elektrotlar tek kullanımlık olarak kullanılırsa analiz zamanını oldukça kısaltmaktadırlar (Wang ve ark. 2000).

Kolay temin edilebilen elektrotlardan biri de karbon fiberdir ve modifiye elektrot hazırlamak için kullanışlı bir malzemedir. Bununla beraber hidrofobik ve reaktif özelliğinin az olması yüzey modifikasyonunda sınırlamalara yol açmaktadır. Karbon fiber elektrodun modifikasyonu için bazı ön işlemlere gereksinim duyulmaktadır (Ishifune ve ark. 2005). Böyle bir durumda kolayca modifiye edilebilmesi ve minyatürize edilebilmesi nedeniyle kalem ucu elektrot uygun bir alternatif olmaktadır.

2. MATERYAL VE YÖNTEM

2.1. Materyal

2.1.1. Kimyasal maddeler, reaktifler ve elektrotlar

Parasetamol, dopamin, fenasetin, L-askorbik asit, D-glikoz, fenol, potasyum klorür, perklorik asit Fluka (Steinheim, Almanya), potasyum dihidrojen fosfat Merck (Darmstat, Almanya), potasyum hidrojen fosfat Sigma-Aldrich (Steinheim, Almanya), lityum perklorat ve sodyum karbonat Lancaster (Morecambe, İngiltere) firmalarından sağlanmıştır. Pirol Aldrich firmasından temin edilmiş olup renksiz sıvı elde edilinceye kadar damıtılmış ve kullanılmadığında azot atmosferinde -18 °C'de saklanmıştır. Kobalt(II) ftalosiyanın tetrasülfonat sodyum tuzu Weber yöntemine göre (Weber ve Busch 1965) Kimya Bölümü Öğretim üyesi Prof. Dr. Hayrettin TÜRK tarafından sentezlenip karakterize edilmiştir. Kullanılan diğer reaktifler analitik saflıkta olup herhangi bir saflaştırma işlemi yapılmadan direkt kullanılmışlardır.

Elektrokimyasal çalışmalarda, tampon ve stok çözeltilerin hazırlanmasında kullanılan deiyonize su, Sartorius marka (Arium®611UV model) ultra saf su cihazından elde edildikten sonra Labconco marka deiyonize su sisteminden geçirilerek (direnç: 18,2 MΩ) kullanıma hazır hale getirilmiştir.

Parasetamol içeren Minoset ve MinosetPlus (Roche), Vermidon (İlsan İltaş), TyloHot (Nobel) tabletleri ve Calpol şurup (GlaxoSmithKline) ile askorbik asit içeren Bevitin C (Abfar İlaç San.), Aspirin + Vitamin C (Upsa Conseil), Supravit (Roche) tabletleri ve C-Plan (Polifarma) şurup yerel eczanelerden temin edilmiştir.

Çalışma elektrodu olarak kullanılan kurşun kalem uçları (0,7 mm çaplı, 2B, Faber Castell ve 0,5 mm çaplı, HB, Tombo) kırtasiyelerden satın alınmıştır. Kalem uçlarını tutturmak için, uç kısmı metal olan mekanik kalemler kullanılmıştır. Kullanılan Ag/AgCl (doym.KCl) referans elektrotlar Radiometer Analytical firmasından temin edilmiştir. Karşıt elektrot olarak 1 mm çapında Pt tel (Aldrich % 99,9) kullanılmıştır.

2.1.2. Cihazlar ve analizler

Elektrokimyasal çalışmalar PGSTAT 100 model potansiyostat-galvanostat (Autolab) sistemi ile GPES 4.9 yazılımı kullanılarak yapılmıştır. Ayrıca Voltalab 80 model potansiyostat-galvanostat (Radiometer) gerektiğinde elektrot hazırlama işlemlerinde kullanılmıştır. Bütün elektroanalitik ölçümler oda sıcaklığında yapılmıştır.

pH ölçümleri IONcheck45 model pH-İyon-metre (Radiometer) ile gerçekleştirilmiştir. Bazı çözeltiler hazırlama işlemlerinde ve elektrotların temizlenmesinde ultrasonik banyo (LC30, Elma) kullanılmıştır. Düzenli bir karıştırma sağlanması gerektiğinde ısıtıcılı manyetik karıştırıcı (MR3001, Heidolph) kullanılmıştır.

Kromatografik ölçümler gradiyent pompalı, UV-Vis dedektörlü yüksek basınçlı sıvı kromatografi (HPLC) sistemiyle (1100 serisi, Agilent) C₁₈ ayırıcı kolon (ACE[®], 5µm, 150x4.6 mm) kullanılarak yapılmıştır. Eluent olarak metanol:su (80:20) karışımı 0,8 mL/dakika akış hızında kullanılmıştır. Parasetamolün tayini için bütün ayırmalar oda sıcaklığında ve 254 nm dalga boyunda gerçekleştirilmiştir.

Taramalı elektron mikroskopisi (SEM) görüntüleri için Oxford Instruments-7430 Field Emission Electron Microscope cihazı kullanılmıştır.

2.2. Yöntem

2.2.1. Moleküler olarak parasetamol baskılanmış ve baskılanmamış polipirol elektrotların hazırlanması

Moleküler baskılanmış ve baskılanmamış kalem ucu elektrotlar (KUE, HB Tombo) dönüşümlü voltametri yöntemiyle hazırlanmıştır. Bu çalışmada hedef molekül olarak parasetamol seçilmiştir. Pirol (0,050 M), parasetamol (0,020 M) ve LiClO₄ (0,1 M) içeren sulu çözeltilerden -0,60 V ile +0,80 V arasında alınan dört döngü ile elektrokimyasal olarak KUE yüzeyinde polimerleştirilmiştir. Pirolün elektrokimyasal polimerizasyonu esnasında yapıya eş zamanlı olarak giren

parasetamole 0,05 M fosfat tamponu (FT, pH 7) ile 2-3 defa yıkanarak kimyasal olarak yapılan uzaklaştırılma işlemi gerçekleştirilmiştir. Daha sonra baskılanmış polimer elektrot 0,1 M KCl + 0,05 M FT (pH= 7) içerisine daldırılmış ve -0,60 ile +1,0 V arasında 20 döngülü gerilim taraması sonucu polimer yapısına immobilize olmuş parasetamolün uzaklaşması sağlanmış ve yapıda parasetamole özgü boşluk oluşturulmuştur. Ayrıca bu işlem sırasında polimerin kendi cevabı da minimuma indirilmiştir. Parasetamolün polimer yapısından uzaklaşıp uzaklaşmadığı aynı çözeltilde alınan diferansiyel puls voltametri ile tespit edilmiştir. Ölçümlerin güvenilirliğini test etmek amacıyla baskılanmamış polimer (NIP) elektrotlar aynı deneysel koşullarda fakat parasetamol eklenmeden hazırlanmıştır.

2.2.1.1. Elektroanalitik ölçümler

Diferansiyel puls voltametri (DPV) ölçümleri üç elektrotlu hücrede 0,10 M KCl + 0,05 M FT (pH= 7) çözeltilinde 0,00 ile +0,80 V gerilim aralığında gerçekleştirilmiştir. Elektrokimyasal ölçümlerden önce analiz çözeltilerinden 5 dakika azot gazı geçirilmiştir. DPV parametreleri: yükselme (step) gerilimi 8 mV, modülasyon genliği (amplitüdü) 50 mV, tarama hızı 15 mV/s.

2.2.1.2. Parasetamol içeren ilaç örneklerinin hazırlanması

Baskılanmış ve baskılanmamış polipirol elektrotlar ile bazı tablet ve şuruplardaki parasetamol içerikleri tespit edilmiştir. Bu ilaçlardan tablet halinde olanlar havanda toz haline getirildikten sonra ısıtıcılı manyetik karıştırıcı kullanılarak parasetamol suda çözülmüştür. Daha sonra çözelti 10 dakika ultrasonik su banyosunda tutulmuş ve çözünmeden kalan katkı maddeleri mavi bant süzgeç kağıdından süzülerek ayrılmıştır. Çözelti 250 mL'lik balon jøjeye aktarılarak FT (pH= 7) çözeltilisiyle gerekli hacme seyreltilmiştir. Şurup örnekleri homojen bir şekilde karıştırıldıktan sonra bir miktar alınarak 100 mL'lik balon jøjeye aktarılmış ve FT (pH= 7) ile gerekli hacme seyreltilmiştir. Bu şekilde stok çözeltileri hazırlanan ilaç örneklerinden uygun miktar alınarak parasetamol tayini yapılan çözeltiliye ilave edilmiştir.

2.2.2. Moleküler olarak askorbik asit baskılanmış ve baskılanmamış polipirol elektrotların hazırlanması

Askorbik asit baskılanmış polipirol filmi kalem ucu elektrot (KUE, HB Tombo) yüzeyinde 0,10 M LiClO₄, 0,025 M pirol ve 0,010 M askorbik asit içeren sulu çözeltilerden -0,60 +0,80 V aralığında yedi döngü alınarak elde edilmiştir. Polimerik yapıdan askorbik asitin uzaklaştırılması amacıyla polimer film elektrotlar 0,05 M fosfat tamponu (pH= 7) çözeltisinde 15-20 dakika karıştırılarak bekletilmiştir. Böylece polimer içinde hapsolmuş askorbik asit yapıdan uzaklaşarak kendine özgü boşlukların oluşmasına neden olmuştur. Baskılanmış polimer elektrotların etkinliğini test etmek amacıyla baskılanmamış polimer (NIP) elektrotlar aynı deneysel koşullarda askorbik asit eklenmeden hazırlanmıştır.

2.2.2.1. Elektroanalitik ölçümler

DPV ölçümleri üç elektrotlu hücrede 0,1 M KCl + 0,05 M fosfat tampon (pH 8,5) çözeltisinde -0,30 V ve +0,40 V arasında gerçekleştirilmiştir. Ölçümlerden önce elektrolitik çözeltilerden 5 dakika süreyle azot gazı geçirilmiştir. Diferansiyel puls voltamogramlarını almak için kullanılan parametreler şunlardır: yükselme (step) gerilimi 8 mV, modülasyon genliği (amplitüdü) 50 mV, tarama hızı 15 mV/s.

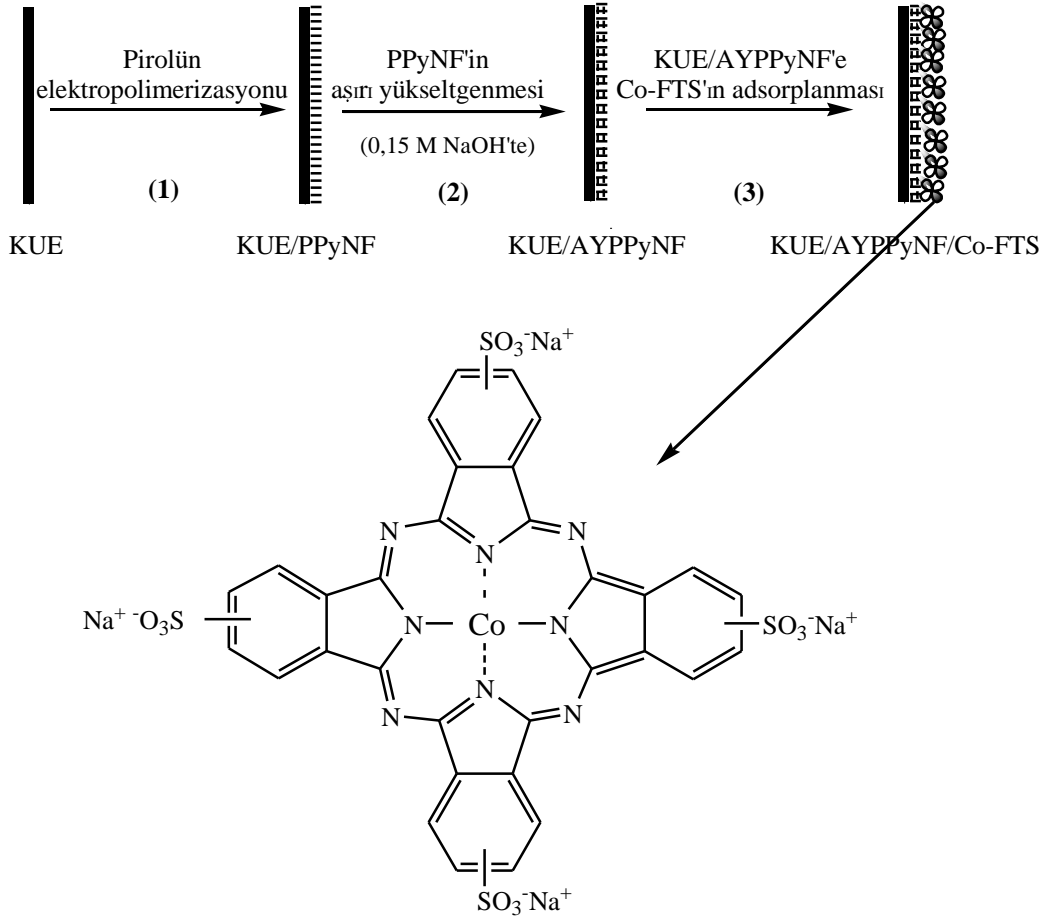
2.2.2.2. Askorbik asit içeren ilaç örneklerinin hazırlanması

Askorbik asit içeren tablet halindeki farklı ticari ilaçları elektrokimyasal analizlere hazır hale getirmek için önce tabletler havanda toz haline getirilmiş ısıtıcılı manyetik karıştırıcı yardımıyla suda çözülmüştür. Sonra çözünmeden kalan ilaçtaki katkı maddeleri mavi bant süzgeç kâğıdından süzülerek ortamdan uzaklaştırılmıştır. Daha sonra çözünen kısım 250 mL'lik balon jøjeye aktararak FT (pH= 8,5) çözeltisiyle gerekli hacme seyreltilmiştir. Bu şekilde stok çözelti haline getirilmiş örneklerden uygun miktar alınarak askorbik asit tayini yapılan çözeltilere ilave edilmiştir.

2.2.3. Co(II) ftalosiyanın tetrasülfonat (Co-FTS) ile modifiye edilmiş nano fiber yapılı polipirol elektrotların hazırlanması

Modifiye elektrotların hazırlanması üç basamakta gerçekleştirilmiştir. Bu işlemler Şekil 2.1’de şematik olarak gösterilmektedir.

- 1) KUE (2B, Faber Castell) yüzeyinde nanofiber yapılı polipirolün (KUE/PPyNF) elektrokimyasal sentezi.
- 2) Nanofiber yapılı polipirolün aşırı yükseltgenmesi (KUE/AYPPyNF).
- 3) KUE/AYPPyNF elektrot yüzeyine Co-FTS’nin adsorpsiyonu.



Şekil 2.1. KUE/AYPPyNF/Co-TFS elektrotların hazırlanma şeması

KUE/PPyNF elektrotlar 0,10 M LiClO_4 + 0,10 M Na_2CO_3 ve 0,10 M pirol içeren sulu çözeltide 0,00 ile 0,80 V arasında, 100 mV/s tarama hızında 10 döngülü elektropolimerleşme ile hazırlanmıştır. Elde edilen KUE/PPyNF

elektrotlar deiyonize su ile yıkanmış ve karbonat iyonlarının karbondioksit şeklinde uzaklaşabilmesi için % 10'luk HClO_4 çözeltisinde 24 saat bekletilmiştir (Tian ve ark. 2004).

Hazırlanan KUE/PPyNF elektrotları aşırı yükseltgemek için 0,15 M NaOH çözeltisinde 0,00 V ile 0,90 V (100 mV/s) arası kayda değer bir akım elde edilmeyinceye kadar 12 döngülü gerilim taraması yapılmıştır. Bu işlemden sonra elektrotların aynı ortamda 0,00 V ile +1,00 V arası DPV yöntemi ile 2 kez ölçümleri alınarak aşırı yükseltgenme işlemi tamamlanmıştır. Bu aşırı yükseltgeme işleminin ardından elde edilen elektrotlar en az 10 dakika deiyonize suda bekletilmiştir.

Son aşamada elektrotlar Co-FTS'in 5×10^{-4} M'lık sulu çözeltisine 150 dakika süreyle daldırılmış ve böylece Co-FTS ile modifiye edilmiş (KUE/AYPPyNF/Co-FTS) elektrotlar hazırlanmıştır.

Ayrıca karşılaştırmalı çalışmalarda kullanılmak amacıyla aynı işlemler takip edilerek 0,10 M LiClO_4 ve 0,10 M pirol (Na_2CO_3 içermeyen) içeren çözeltiden nano fiber yapıda olmayan polipirol (KUE/AYPPy) ve modifiye polipirol (KUE/AYPPy/Co-FTS) elektrotlar sentezlenmiştir.

2.2.3.1. Elektroanalitik ölçümler

DPV ölçümleri üç elektrotlu hücrede 0,15 M sulu NaOH çözeltisinde 0,00 ve +0,70 V arasında gerçekleştirilmiştir. Kullanılan çalışma elektrodunun yüzey alanı $0,225 \text{ cm}^2$ 'dir. Ölçümlerden önce elektrolitik çözeltiden 5 dakika süreyle azot gazı geçirilmiştir. Diferansiyel puls voltamogramlarını almak için kullanılan parametreler şunlardır: yükselme (step) gerilimi 8 mV, modülasyon genliği (amplitüdü) 50 mV, tarama hızı 15 mV/s.

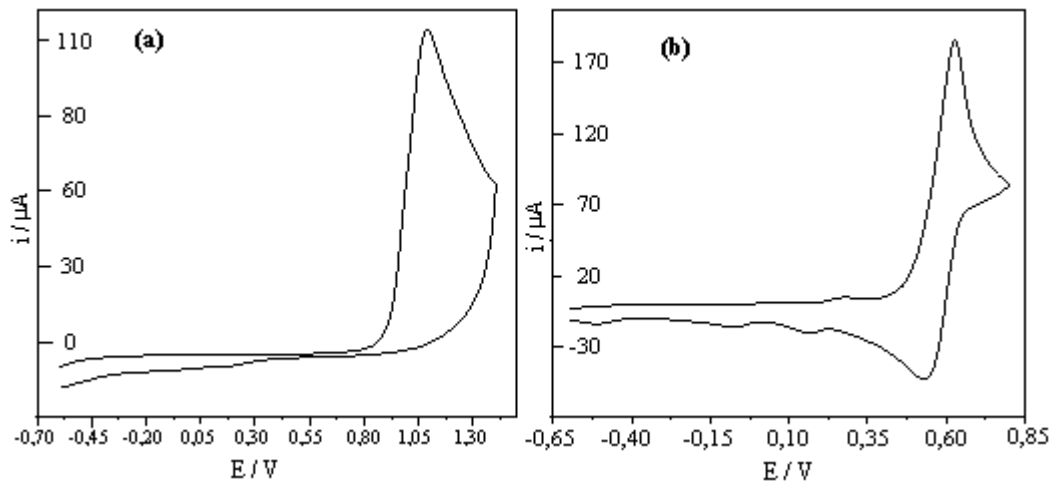
3. BULGULAR VE TARTIŞMA

3.1. Moleküler Baskılanmış Polipirol (MIP) ile Parasetamol Tayinleri

3.1.1. Moleküler olarak parasetamol baskılanmış polipirolün elektrokimyasal polimerleşmesi

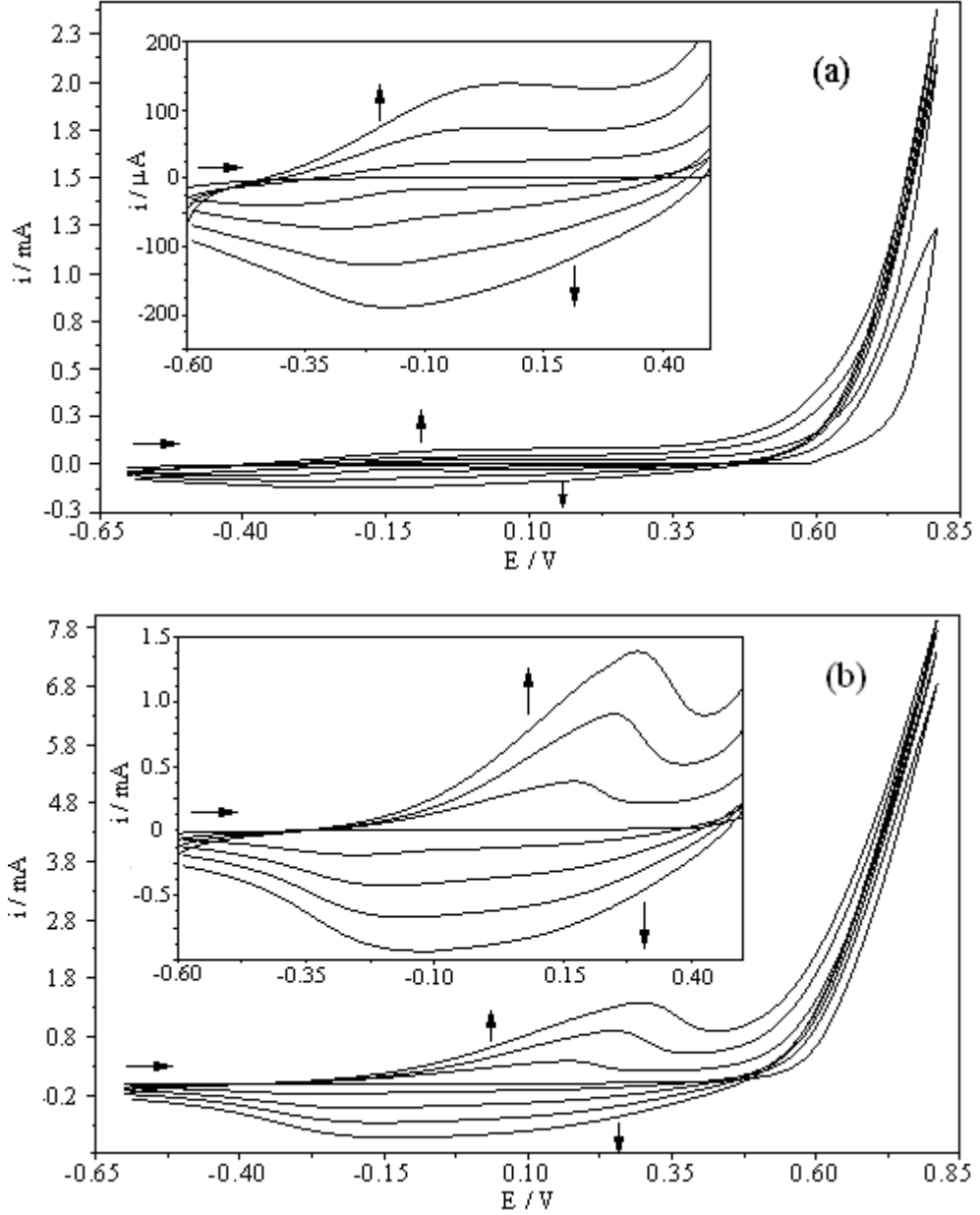
Pirolün elektrokimyasal davranışı 0,10 M LiClO₄ sulu çözeltisinde -0,60 ile +1,40 V arasında gerilim taraması uygulanarak incelenmiştir. Pirol monomerinin elektrokimyasal yükseltgenmesi anot üzerinde gerçekleşmiş ve elde edilen polimer KUE üzerinde film şeklinde birikmiştir. Dönüşümlü voltamogramda pirole ait yükseltgenme piki +1,10 V civarında gözlenmiştir (Şekil 3.1a). Yükseltgenme piki pirol radikal katyonunun oluşumuyla ilgilidir. Oluşan radikal katyon bir başka pirol radikal katyonuyla birleşerek dimerik yapıyı oluşturur. Dimerik yapı oluşan diğer dimerler ve oligomerler ile birleşerek polimerleşirler ve elektrot yüzeyinde bir film şeklinde polipirol oluşur.

Aynı şekilde parasetamolün elektrokimyasal davranışı da 0,10 M LiClO₄ sulu çözeltisinde -0,60 ile +0,80 V arasında gerilim taraması uygulanarak incelenmiştir. Parasetamole ait yükseltgenme piki +0,63 V'ta gözlenirken geri döngüde +0,53 V'ta bir indirgenme piki gözlenmektedir.



Şekil 3.1. 0,10 M LiClO₄ çözeltisinde KUE ile (a) pirol ve (b) parasetamol için elde edilmiş dönüşümlü voltamogramlar

Şekil 3.2(a)'da pirolün elektropolimerizasyonuna ilişkin dönüşümlü voltamogramlar verilmiştir. Şekilden polimer filminin oluşumu ve büyümesi kolaylıkla görülebilmektedir. Polimer filmi büyüdükçe, filmin yükseltgenme ve indirgenmesi nedeniyle pik şiddetlerinde artış meydana gelmektedir. Polipirole ait +0,10 V'ta geniş bir yükseltgenme piki ve -0,20 V'ta bir indirgenme piki gözlenmektedir.



Şekil 3.2. KUE ile 0,05 M pirol için parasetamol yokken (a) ve parasetamol (20 mM) varlığında (b) elde edilmiş dönüşümlü voltamogramlar (tarama hızı: 100 mV/s, destek elektrolit 0,10 M LiClO₄, döngü sayısı 4)

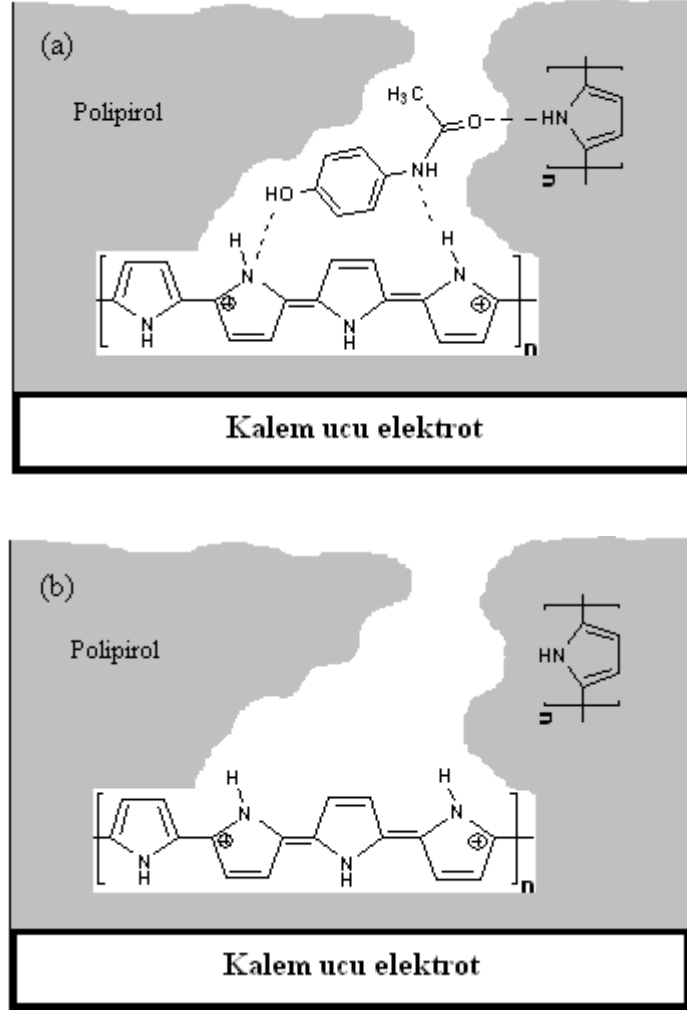
Elektrokimyasal baskılama için, pirol ve destek elektroliti bulunan çözeltiye 20 mM parasetamol eklenmiştir. Şekil 3.2(b)'de parasetamol varlığında elde edilen voltamogramlar görülmektedir.

Şekil 3.2(b)'de pirolün elektropolimerleşmesine parasetamolün etkisi kolaylıkla fark edilmektedir. Pirolün yükseltgenme pik gerilimi +0,10 V'tan daha anodik bölgeye +0,30 V'a kaymıştır. Bu değişim parasetamolün polimer zincirinin bir parçası olmaya başladığını göstermektedir (Haupt 2001). Elektropolimerizasyon işlemi durağan bir çözeltide gerçekleştiği için, kütle aktarımı difüzyon kontrollü olarak gerçekleşmektedir. Parasetamol molekülleri elektropolimerleşme esnasında KUE yüzeyine doğru difüzlenerak polimer yapısı içinde tutuklanırlar. Moleküler baskılamanın oluşumunda elektroaktif hedefin difüzyonu elektroaktif olmayan bir hedef ile elde edilenden daha fazla sayıda tanınma bölgeleri oluşmasından dolayı tercih edilen bir olaydır. Eğer hedef elektroaktif değilse, iletken olmayan polimerik bir tabakanın oluşumuyla ilk döngüden sonra elektroda doğru olan difüzyon engellenir. Böyle bir tabaka oluşması hedef moleküle uygun yapılanmayı engeller ve bu yüzden tanınma bölgelerinin sayısı azalır.

Hedef parasetamol moleküllerinin polimer matriksi içinde bulunması (baskılama işlemi) ve baskılı polipiroiden parasetamolün uzaklaştırılması Şekil 3.3'te şematik olarak gösterilmektedir.

Parasetamol hedef molekülü pirolün elektropolimerizasyonu esnasında eşzamanlı olarak polimerik yapıya girerek pirol halkasıyla hidrojen bağı gerçekleştirir. Hidrojen bağ sayısı arttıkça hedef molekül ile polimer arasındaki etkileşim gücü de artar. Parasetamol ile polipirol arasında üç hidrojen bağı gerçekleşebilir (Şekil 3.3a). Parasetamol molekülünün C=O grubundaki oksijen atomu ile pirol biriminin N-H grubundaki hidrojen atomu arasında; pirol birimindeki N-H grubunun azot atomu ile parasetamoldeki hidroksil grubunun hidrojeni arasında ve piroldeki N-H grubunun hidrojeni ve parasetamol N-H'nin azot atomu arasında hidrojen bağı meydana gelebilir. Polipiroldeki çapraz bağlanma ve zincir dallanması (Wallace ve ark. 2003) parasetamole uygun boşluklar içeren üç boyutlu bir matriks oluşturur. Polimerik yapı içinde tutuklanmış hedef molekülü uzaklaştırmak için mikrodalga işlemi, hedef

molekölün yükseltgenip-indirgenmesi veya polimerle kuvvetli etkileşen bir çözücü kullanımı (yapının şişmesini sağlayarak hedef molekülün salınımı için) gibi farklı yöntemler kullanmak mümkündür. Bu çalışmada, baskılanmış polipiroiden parasetamol 0,10 M KCl + 0,05 M FT (pH= 7) çözeltisinde -0,60 V ile +1,00 V arasında 20 döngülü gerilim taraması uygulanarak uzaklaştırılmıştır.

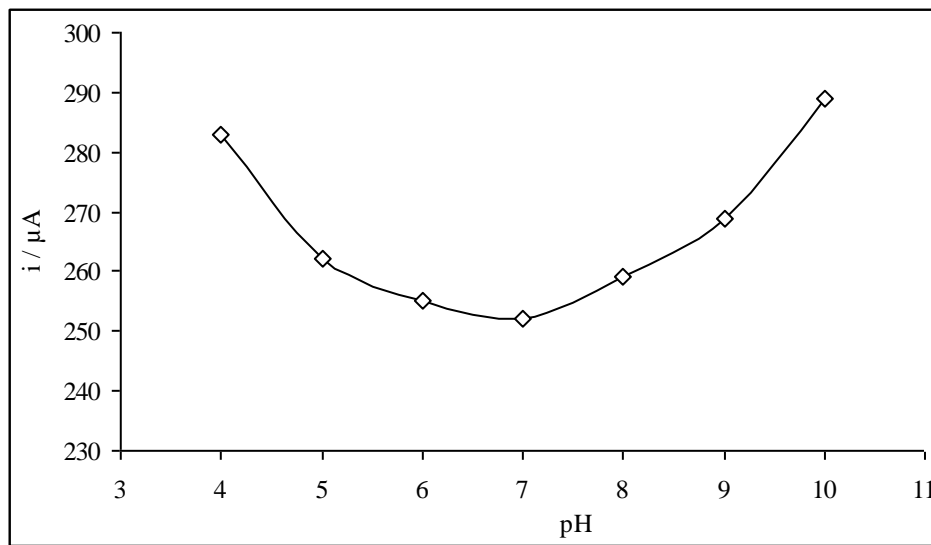


Şekil 3.3. KUE yüzeyinde pirolün elektropolimerizasyonu esnasında (a) parasetamolün polipirol yapısına baskılanması ve (b) parasetamolün baskılanmış yapıdan uzaklaştırılması

3.1.2. Polipirol filminin kararlılığı üzerine pH Etkisi

Polimerik filmin kararlılığı üzerine çözelti pH'sının önemli etkisi vardır. Polimer sinyalinin parasetamol sinyali ile girişim yapmaması için mümkün olan

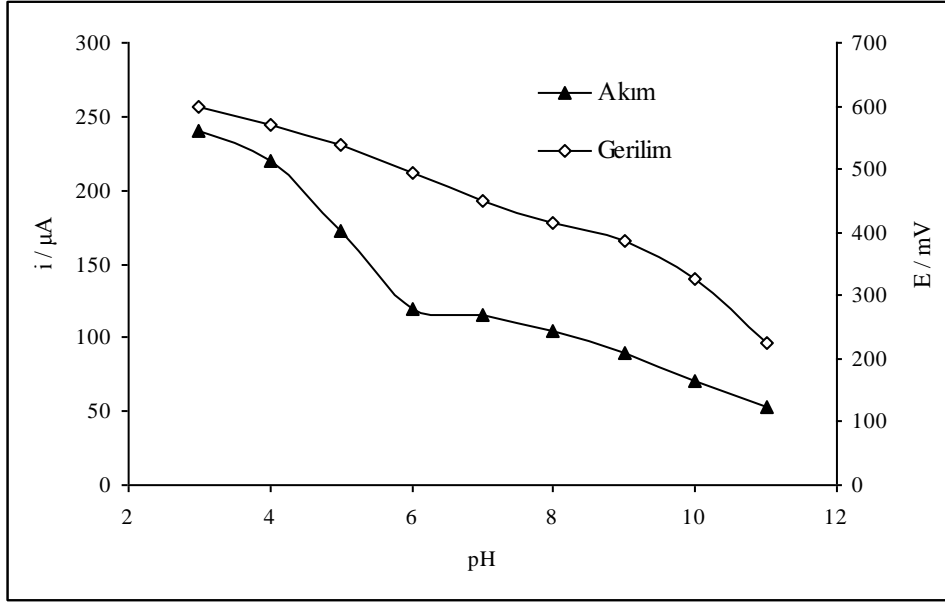
en düşük akım değerinde olması gerekmektedir. Bu yüzden 0,10 M KCl ve 0,05 M FT içeren farklı pH'lardaki çözeltilerde polipirol filminin kendine ait yükseltgenme akımı değerleri belirlenmiştir (Şekil 3.4). Polimer filminin cevabı nötrale yakın değerlerde daha az değişkenlik göstermektedir. Daha asidik ve daha bazik bölgelerde polipirolün cevabı ortamın pH'sı değiştiğinde daha fazla değişkenlik göstermektedir. Ayrıca polipirol filminin en düşük cevabı nötrale yakın değerlerde elde edildiğinden polipirol ile modifiye edilmiş KUE ile ölçümlerin pH 7'de yapılmasına karar verilmiştir.



Şekil 3.4. Polipirol cevabının pH ile değişimi

3.1.3. Parasetamol cevabı üzerine pH etkisi

Elektrokimyasal yükseltgenme mekanizması ortam pH'sına bağlı olarak değişmektedir. MIP elektrodun parasetamol varlığında pH 3-11 arasında elektrokimyasal davranışı DPV yöntemiyle incelenerek sonuçlar Şekil 3.5'te verilmiştir. MIP elektrodun parasetamole karşı olan cevabı pH yükseldikçe daha katodik bölgelere kaymaktadır ve akım değeri düşmektedir. Düşük akım değerleri elektrodun duyarlılığında bir azalmaya neden olacağından yüksek pH değerleri parasetamol tayini için uygun olmayacaktır.



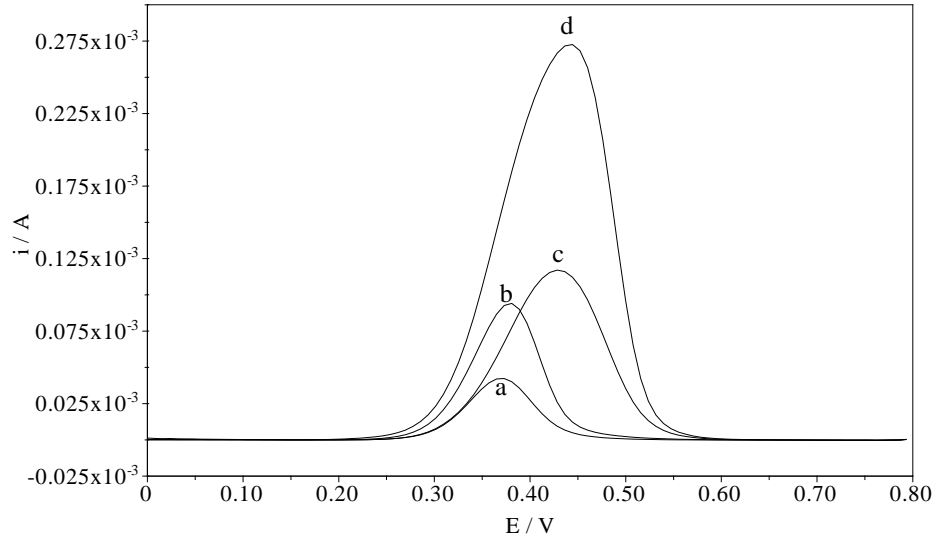
Şekil 3.5. 0,10 M KCl ve farklı pH'lardaki 0,05 M FT çözeltisinde 0,25 mM parasetamol için MIP elektrodun cevabının pH ile değişimi

pH değeri düştükçe parasetamol için elde edilen pik akımı değerlerinde bir artma gözlenmekle beraber parasetamolün yükseltgenmesi için gerekli gerilim değerleri de yükselmektedir. Ölçüm yapılan gerilim değeri artması elektroaktif pek çok türün yükseltgenmesini kolaylaştıracağından girişim yapma ihtimalleri artacaktır. Bu yüzden elektrokimyasal sensörler ile çalışılırken çok yüksek gerilimler tercih edilmemektedir. Bu veriler göz önünde bulundurulduğunda düşük pH'larda çalışmanın da uygun olmayacağı görülmektedir. Böylece çok yüksek olmayan bir gerilim değerinde ve yeterince duyarlı bir şekilde parasetamolün tayin edilebileceği pH 7 değerinde çalışmanın uygun olduğuna karar verilmiştir.

3.1.4. MIP ve NIP elektrotların parasetamole karşı etkinliklerinin incelenmesi

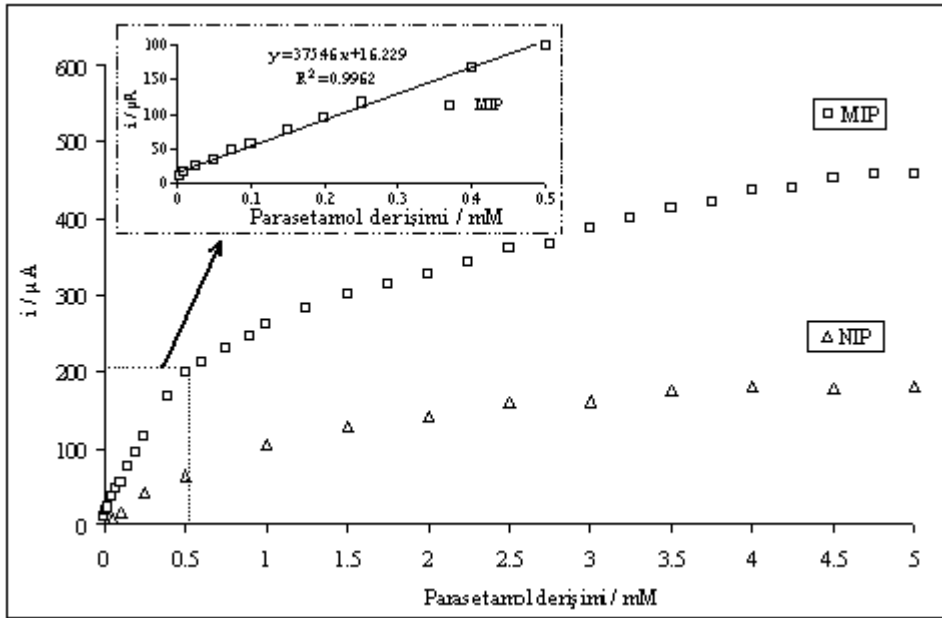
Parasetamolün elektrokimyasal davranışı MIP ve NIP elektrotlar ile pH 7'de incelenmiştir. Farklı parasetamol derişimlerinde alınan DP voltamogramları Şekil 3.6'da verilmiştir. NIP elektrot kullanıldığında 370 mV'ta (Ag/AgCl)

parasetamole ait bir yükseltgenme piki gözlenirken MIP elektrot kullanıldığında 450 mV'ta bir pik yükseltgenme piki gözlenmiştir. Nötral ortamdaki bu pik parasetamolün N-asetil-p-kinonimine yükseltgenmesine aittir (Gomez-Cabellero ve ark. 2005). Parasetamole ait yükseltgenme piki MIP elektrot ile NIP elektroda göre 80 mV daha anodik bölgeye kaymıştır. Bu kayma elektrot yüzeyinin değiştiğini, modifikasyon işleminin gerçekleştiğini göstermektedir. Elektrokimyasal analizlerde pik akımının analit derişimiyle doğru orantılı olduğu düşünülecek olursa pik akımındaki değişme sensör uygulamaları açısından daha da önem arz etmektedir. MIP elektrotlar ile elde edilen parasetamol yükseltgenmesine ait pik akım değerlerinin NIP elektrot ile elde edilen sonuçlara göre yaklaşık üç kat arttığı gözlenmiştir. Akım değerlerindeki bu önemli artış baskılama işleminin başarıyla gerçekleştiğinin, parasetamole karşı seçiciliğinin arttığı ve MIP elektrodun elektrokatalitik etkisinin bir göstergesidir. Böylece daha düşük derişimdeki parasetamolün tayini MIP elektrot ile daha hassas bir şekilde yapılabilecektir. Parasetamolün derişimi dört kat arttırıldığında her iki elektrot ile elde edilen cevaplar da yaklaşık dört kat artmıştır. Bu sonuç elektrotların etkin olarak çalıştığını göstermektedir.



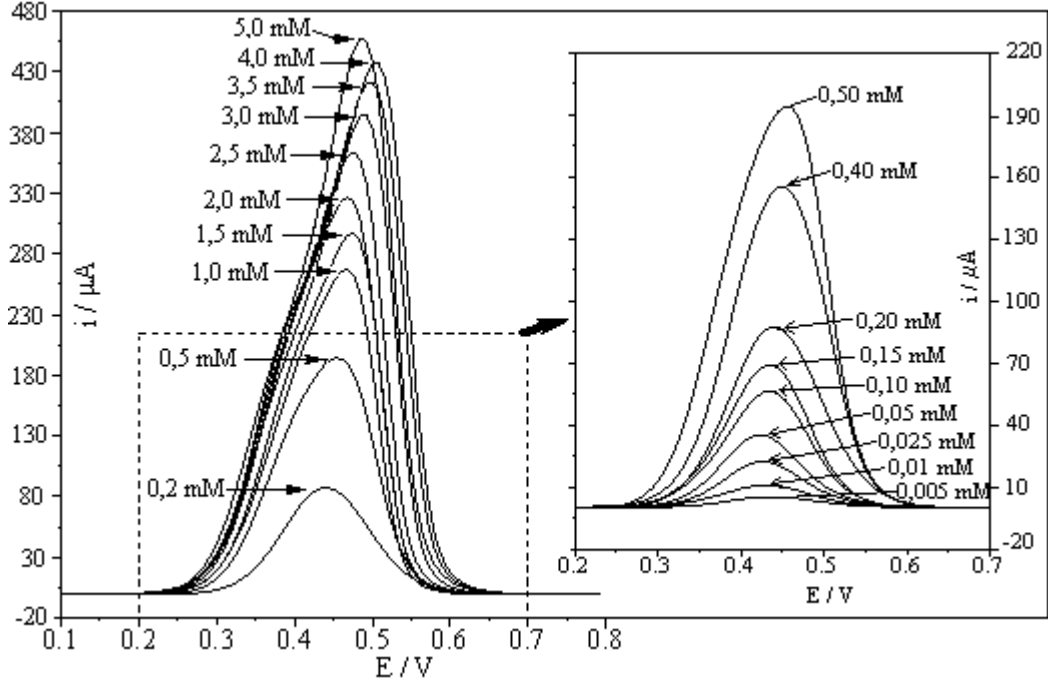
Şekil 3.6. NIP (a: 0,25 mM ve b: 1,0 mM parasetamol) ve MIP (c: 0,25 mM ve d: 1,0mM parasetamol) ile 0,10 M KCl + 0,05 M FT (pH= 7) çözeltisinde elde edilmiş DP voltamogramları

MIP ve NIP elektrotlar ile pH 7’de elde edilmiş kalibrasyon eğrileri Şekil 3.7’de gösterilmektedir. Kalibrasyon eğrisinde tayin edilen parasetamol derişimine karşı MIP (ve NIP) elektrot ile ölçülen parasetamolün yükseltgenme pik akım değerleri grafiğe geçirilmiştir. Bu grafiklerden MIP elektrodun doğrusal olarak çalıştığı iki bölge tespit edilmiştir. İlk bölge 5 μM ’dan 0,50 mM’a kadar 0,996 korelasyon katsayısı ile doğrusallık göstermektedir. İkinci bölge 1,25-4,5 mM aralığında 0,990 korelasyon katsayısı ile fakat ilk bölgenin eğiminden daha düşük bir eğimle doğrusallık göstermektedir. MIP elektrot ile parasetamol için tayin sınırı (3σ) $7,9 \times 10^{-7}$ M olarak belirlenmiştir. Hesaplanan tayin sınırındaki hata % 1’dir. Polipirol yüzeyinin baskılama yoluyla modifikasyonu MIP elektrodun parasetamole karşı cevabında önemli bir gelişme sağlamış ve bu yüzden de 5×10^{-7} M μM parasetamol derişimini bile tayin etmek mümkün olmaktadır. NIP elektrot ile parasetamole karşı elde edilen eğride 50 μM dan 0,50 mM’a kadar doğrusallık gözlenmektedir. Bununla beraber akım değerleri MIP elektrot ile elde edilenden daha düşüktür ve 2,0 mM ile 5,0 mM arasında sabit kalmaktadır.



Şekil 3.7. (□) Moleküler baskılanmış (MIP) ve (Δ) baskılanmamış (NIP) polipirol elektrotlar ile parasetamol için elde edilmiş kalibrasyon grafikleri

Şekil 3.8’de MIP elektrot ile farklı parasetamol derişimlerinde elde edilen DP voltamogramları görülmektedir. Şekil 3.8’in iç kısmında DP voltamogramları, 5 μM ’dan 0,50 mM’a kadar olan ilk doğrusal bölgeye aittir.

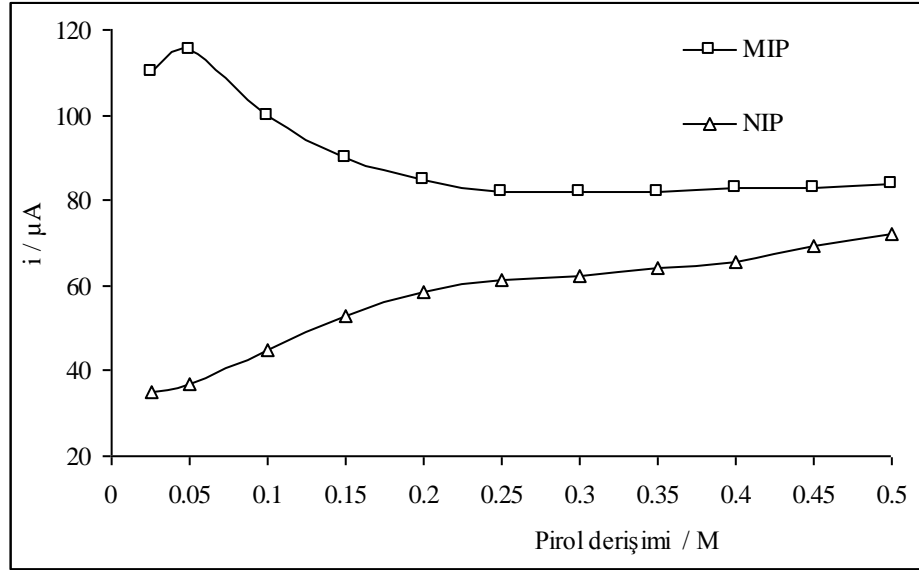


Şekil 3.8. MIP elektrotlar kullanılarak parasetamol için elde edilmiş DP voltamogramları

3.1.5. Monomer derişiminin etkisi

Elektropolimerizasyon ortamındaki monomer (pirol) derişiminin hazırlanan sensörün analitik davranışına etkisi de çalışılan parameteler arasındadır. Hem MIP hem de NIP elektrodun cevabı üzerine monomer derişiminin etkisini belirlemek için parasetamol derişimi sabit iken pirol derişimi 25-500 mM aralığında değiştirilmiş ve bu şartlarda -0,60 ile +0,80 V arasında aynı döngü sayısıyla polimer elektrotlar hazırlanmıştır. Şekil 3.9’da monomer derişimine karşı ölçülen akım değerleri karşılaştırmalı olarak grafiğe geçirilmiştir. Baskılanmış bölgelerin sayısı ile kaplanmış filmin hedef moleküllerine bağlama kapasitesi birbirleriyle ilişkilidir. Monomer derişimi, film kalınlığı ve polimer matrisi içindeki baskılanmış moleküllerin sayısı ile orantılı olarak sensörün davranışını etkilemektedir. MIP elektrodun parasetamole karşı cevabı 50 mM pirol derişimine

kadar artmaktadır. Bu pirol derişiminin altında ve üstündeki değerlerde MIP elektrodun cevabında düşme olmaktadır. Optimum monomer derişiminin bulunabilmesi için MIP ve NIP elektrot ile parasetamol için elde edilen akım değerleri arasındaki farkın mümkün olduğunca yüksek olması gerekmektedir ($i_{MIP} \gg i_{NIP}$). Ayrıca NIP elektrodun cevabı da mümkün olan en düşük değer olmalıdır ($i_{NIP} \approx 0$). Yapılan çalışmalar sonucunda optimum monomer derişiminin yaklaşık 50 mM olduğu belirlenmiştir. Düşük monomer derişimlerinde gerçekleştirilen elektropolimerleşme sonucunda analitik davranışı daha iyi olan sensör elde edilmiştir.

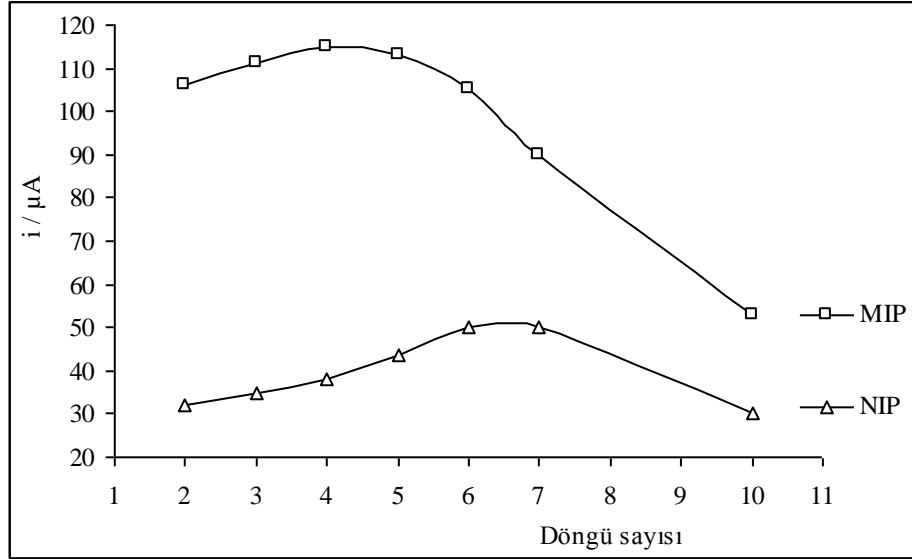


Şekil 3.9. Farklı monomer derişimlerinde hazırlanan MIP ve NIP elektrotların 0,25 mM parasetamol için elde edilen akım değerleri

3.1.6. Elektropolimerizasyon döngü sayısının etkisi

Baskılanmış elektrotların en duyarlı olduğu polimer film tabakasını oluşturabilmek için optimum döngü sayısı tespit edilmiştir. Bu amaçla 0,10 M LiClO₄ ve 0,05 M pirol ve 20 mM parasetamol içeren çözültide -0,60 ile +0,80 V arasında dönüşümlü voltametrik olarak farklı döngü sayıları ile elektrotlar üretilmiştir. Elektropolimerleşme sırasında uygulanan döngü sayısının sensörün duyarlılığını ve doğrusallığını etkilediği saptanmıştır. Düşük döngü sayılarıyla

elde edilen elektrotların analitik performanslarının daha iyi olduğu bulunmuştur. Yüksek döngü sayılarıyla daha yoğun elektropolimerleşme ve bu yüzden de daha kalın bir film oluşumuyla baskılanmış bölgelerin sayısında azalma olmaktadır. MIP elektrotların parasetamole verdiği cevap 4 döngü sayısına kadar artarken NIP elektrotların cevabı 6 döngü sayısına kadar artış göstermiştir (Şekil 3.10). MIP elektrodun en yüksek akım cevabını verdiği 4 döngüden sonra akım cevabında hızla bir azalma gözlenmektedir. Ayrıca parasetamol için MIP ve NIP elektrot ile elde edilen akım değerleri arasındaki en büyük akım farkı yine 4 döngülü elektropolimerizasyon ile elde edilen elektrotlar arasındadır. Bu yüzden optimum döngü sayısı 4 olarak tespit edilmiştir.



Şekil 3.10. Farklı döngü sayılarıyla hazırlanan MIP ve NIP elektrotların 0,25 mM parasetamol için elde edilen akım değerleri

Polipirol filminin kalınlığı (FK) Kraljic ve ark. (2003) tarafından yapılan çalışmadaki gibi geçen yük miktarından yararlanarak (Formül 3.1) yaklaşık 500 nm olarak hesaplanmıştır.

$$FK = \frac{QM}{zFAd} \quad (3.1.)$$

Burada;

Q: Gerilim taraması esnasında geçen yük miktarını,

M: Pirolün molekül ağırlığını,

z: Pirol birimindeki elektron sayısını,

F: Faraday sabitini,

A: Elektrot alanını ve

d: Pirolün yoğunluğunu ifade etmektedir.

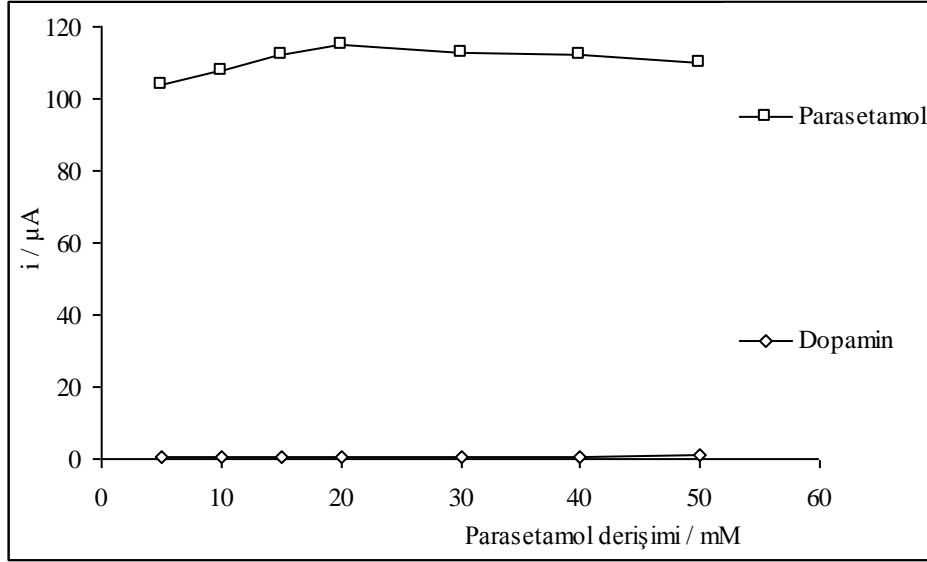
3.1.7. Baskılanacak hedef molekül derişiminin etkisi

Burada MIP elektrodun cevabı üzerine hedef molekül (parasetamol) etkisini araştırmak için kontrol maddesi olarak dopamin kullanılmıştır. Dopamin merkezi sinir, kardiyovasküler ve hormonal sistemde birincil rol oynayan en önemli nörotransmitter (nöron taşıyıcı) maddedir ve yapısı parasetamole oldukça benzemektedir. Dopamin pek çok biyolojik sıvıda yer alır ve parasetamole benzerliğinden ve elektroaktif olmasından dolayı parasetamole karşı girişim yapar. MIP elektrot ile dopamine ait yükseltgenme piki +0,18 V'ta parasetamolün yükseltgenmesi ise +0,45 V'ta gözlenmiştir. Dopamin ve parasetamolün yükseltgenme pik gerilimleri arasındaki fark biyolojik örneklerde dopamin ile herhangi bir etkileşim olmadan parasetamolün analizine izin vermektedir.

Hazırlanan sensörün davranışı elektropolimerleşme sırasında hedef molekül derişiminden etkilenmektedir. Hedef molekülün derişimi arttırıldıkça MIP elektrodun parasetamole verdiği cevap da artmaktadır. Bununla beraber bu artma sensör seçiciliğinde düşmeye neden olmaktadır. Bu sınırlamanın nedeni boşlukların artmasıyla MIP elektrodun aktif yüzeyine parasetamolün difüzyonu daha fazla olmaktadır. Parasetamol derişimi 5 mM'dan 20 mM'a doğru arttıkça MIP elektrodun parasetamole cevabında da bir artma meydana gelmektedir (Şekil 3.11).

20 mM parasetamol derişiminden sonra MIP elektrodun cevabında küçük bir azalma meydana gelmektedir. Hedef molekül derişimini belirlemek için hedef moleküle karşı cevabın en yüksek olduğu ancak dopamine karşı cevabın hemen hemen hiç olmadığı değer seçilmelidir. 20 mM parasetamol derişimiyle elde

edilen elektrotla parasetamol ve dopamin için akım değerleri arasındaki fark en yüksektir. Bunun yanında parasetamol için elde edilen en yüksek akım değeri ve dopamin için mümkün olabilecek en düşük akım değerine yakınlığı nedeniyle 20 mM en uygun hedef molekül derişimi olarak belirlenmiştir.



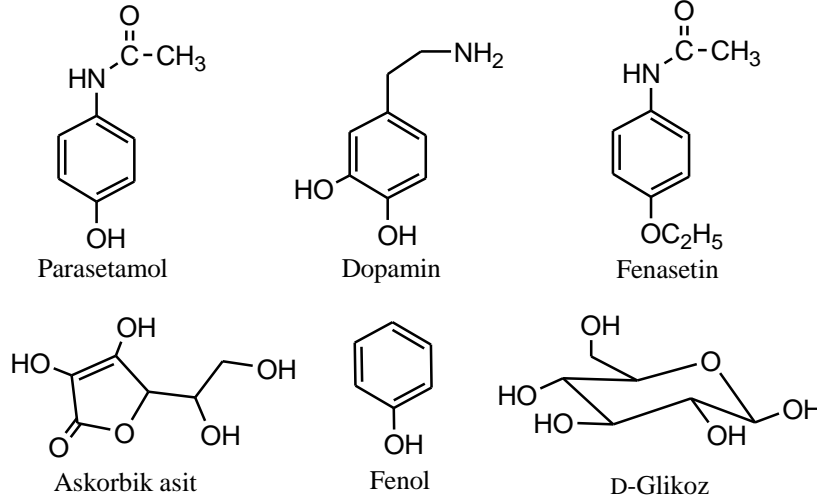
Şekil 3.11. MIP elektrot ile parasetamol (□) ve dopamin (Δ) için [0,10 M KCl içeren FT (pH= 7) çözeltisinde] parasetamolün yükseltgenme pik geriliminde elde edilen akım değerleri

3.1.8. Girişim yapan türlerin etkisi

Bu çalışmada, MIP ve NIP elektrodun seçiciliği girişim yapan farklı türlerin varlığında tespit edilmiştir. Parasetamol baskılanmış ve baskılanmamış elektrotların dopamin, fenasetin, askorbik asit, fenol ve D-glikoz gibi bazı girişim yapan türler (Şekil 3.12) varlığında voltametrik cevapları incelenmiştir.

Şekil 3.12'de yapıları verilen moleküller biyolojik sıvılarda bulunan ve geleneksel yöntemlerle parasetamol tayinlerinde girişimlere neden olan maddelerdir. 0,25 mM parasetamol derişimindeki çözeltiye bu türlerden 0,25 ile 2,5 mM arasında ilaveler yapılmış ve her bir ilaveden sonra MIP elektrodun parasetamole karşı cevabı DPV yöntemiyle belirlenmiştir. Girişim yapan herhangi bir tür olmadığında MIP elektrot ile 0,25 mM parasetamol için elde edilen

yükseltgenme akımı 115 μA , NIP elektrot ile 42 μA 'dir. Elde edilen sonuçlar Çizelge 3.1'de verilmektedir.



Şekil 3.12. Parasetamol tayinlerinde girişim yapan türlerin yapısı

Elde edilen bütün değerlerde, girişim yapan türlerin derişiminin parasetamol derişiminin iki katı veya iki katından az olduğu durumlarda akım değerlerinde önemli bir değişiklik olmamıştır. Bununla beraber dopamin ve fenasetinin biyolojik sıvılardaki derişimi 1,0 mM'ın üzerine çıkmamaktadır. Bu nedenle, girişim yapan türlerin derişimi parasetamol derişiminin dört katından az olduğunda MIP elektrodun parasetamole verdiği cevap bu türlerin varlığından etkilenmemektedir. D-glikoz ve fenol derişimi parasetamol derişiminin on katı olduğunda bile MIP elektrodun cevabında önemli bir değişme olmamaktadır. Bu sonuçlar bize KUE üzerine parasetamol baskılanmış polipirol film elektrodun fonksiyonel gruplar ve şekil açısından parasetamole uygun tanınma bölgeleri içerdiğini yani baskılama olayının başarıyla gerçekleştiğini göstermektedir. Bununla beraber NIP elektrodun girişim yapan türlerin varlığından önemli ölçüde etkilendiği görülmektedir. Bu sonuç baskılanmış polimer elektrodun baskılanmamış polimer elektroda göre seçiciliğinin çok daha yüksek olduğunu göstermektedir.

Çizelge 3.1. MIP ve NIP elektrotlar kullanılarak elde edilen parasetamol (0,25 mM) pik akımı değerlerine girişim yapan türlerin etkisi

Girişim yapan türler	Girişim yapan türün derişimi (mM)	MIP ile 0,25 mM parasetamol için elde edilen akım ^a değeri değışimi (μA)	NIP ile 0,25 mM parasetamol için elde edilen akım ^b değeri değışimi (μA)
Fenol	0,25	-0,678	-3,360
	1,00	-1,150	-7,351
	2,50	-2,100	-10,990
Glikoz	0,25	0,852	0,823
	1,00	1,495	3,884
	2,50	2,645	5,209
Fenasetin	0,25	-2,163	-8,863
	0,50	-3,245	-12,518
	1,00	-7,170	-19,021
Dopamin	0,25	-1,370	-6,813
	0,50	-2,980	-12,930
	1,00	-5,250	-15,280
Askorbik asit	0,25	0,620	4,691
	0,50	1,780	7,195
	1,00	2,350	10,033

^a Girişim yapan herhangi bir tür yokken MIP ile elde edilen akım 115 μA .

^b Girişim yapan herhangi bir tür yokken NIP ile elde edilen akım 42 μA .

3.1.9. Baskılanmış polimer elektrodun gerçek örneklere uygulanması

Elektropolimerleşme yöntemiyle hazırlanan ve parasetamole karşı seçiciliği kanıtlanan polipirol elektrotların gerçek örnekler için de kullanılabilirliği araştırılmıştır. Bu amaç için ticari açıdan önemi olan bazı ilaç örnekleri tercih edilmiştir. Hazırlanan sensörlerin gerçek örneklere verdiği cevapların doğruluğunu test etmek amacıyla HPLC yöntemi kullanılmıştır. Parasetamol tabletlerinden ve şurubundan hazırlanan çözeltiler parasetamol derişiminin kalibrasyon grafiğinde doğrusal olduğu aralıktaki değerlere seyreltilerek aynı koşullarda DPV ölçümleri yapılmıştır. Seyrelme faktörü göz önünde bulundurularak belirlenen parasetamol miktarlarının üretici firmaların bildirdiği

değerler ile uyumlu olduğu saptanmıştır. Deneysel olarak elde edilen ve üretici firmaların bildirdiği değerler Çizelge 3.2’de görülmektedir. Elektrokimyasal tayinin geçerliliği için, optimum kromatografik koşullarda ve elektrokimyasal ölçümlerle elde edilen sonuçlar karşılaştırılmıştır. Çizelge 3.2’de MIP elektrot kullanılarak DPV yöntemiyle ve HPLC analizleri sonucu elde edilen veriler görülmektedir. Buna göre parasetamol baskılı polipirol sensörlerinin analitik amaçlar için uygun olduğu sonucuna varılmıştır.

Çizelge 3.2. HPLC yöntemi ve MIP elektrotlar kullanılarak yapılan gerçek örnek analizleri

Tablet/şurup adı	Bildirilen içerik	MIP ile belirlenen	B.S.S.(%) (n=3)	HPLC ile belirlenen	B.S.S.(%) (n=3)
Minoset	0,500 ^a	0,487 ^a	1,26	0,496 ^a	0,42
Minoset Plus	0,250 ^a	0,236 ^a	0,67	0,245 ^a	0,49
Vermidon	0,500 ^a	0,496 ^a	0,81	0,495 ^a	0,55
TyloHot	0,500 ^b	0,492 ^b	1,62	0,494 ^b	0,48
Calpol şurup	120 ^c	117 ^c	1,55	118 ^c	0,31

^a g/tablet

^b g/20 g,

^c mg/5 mL

3.1.10. MIP elektrodun yeniden üretilebilirliği ve kullanım ömrü

Aynı koşullarda üretilen farklı MIP elektrotların 0,25 mM parasetamol için verdiği pik akımı cevapları ölçülerek yeniden üretilebilirliği araştırılmıştır. Pik şiddetlerinin bağıl standart sapması % 1,3’tür. MIP elektrot gerekli koşullandırma ve yıkama işlemleri yapıldıktan sonra 10-15 kez ard arda kullanılabilir. Bu amaçla kullanılan MIP elektrodun 0,10 M KCl içeren 0,050 M FT (pH= 7)

çözeltisinde -0,60 ile +1,00 V arasında 3 döngülü gerilim taraması yapılmış ve ardından 0,050 M FT (pH= 7) çözeltisinde 10 dakika bekletilmiştir. Bu işlem sonunda MIP elektrotlar yeni bir ölçüm için hazır hale gelmektedir. Elektrotların kolay hazırlanabilmesi, maliyetinin düşük olması gibi avantajlar göz önüne alındığında ölçümlerden önce her defasında yeniden hazırlaması yani tek kullanımlık olması da bir diğer alternatiftir. Özellikle girişim yapan türlerin bulunduğu veya temiz olmayan örneklerde sensörün tek kullanımlık olması her zaman tercih edilmektedir.

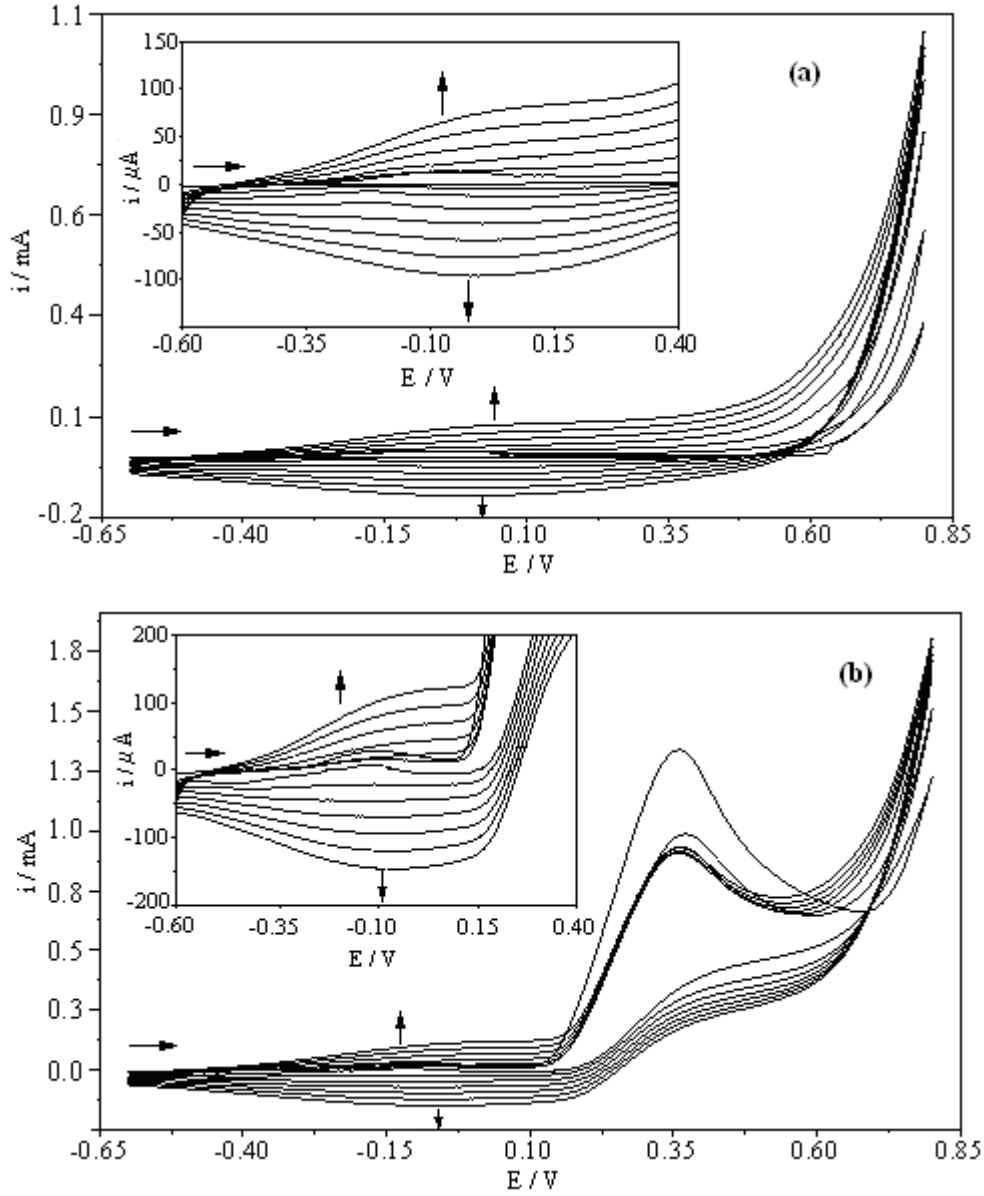
3.2. Moleküler Baskılanmış Polipirol ile Askorbik Asit Tayinleri

3.2.1. Moleküler olarak askorbik asit baskılanmış polipirolün elektrokimyasal polimerleşmesi

Askorbik asit baskılanmış polipirol filmi (MIP), KUE yüzeyinde pirol (0,025 M), LiClO₄ (0,10 M) ve askorbik asit (10 mM) içeren 10 mL'lik sulu çözeltide “-0,60 V” – “+0,80 V” aralığında dönüşümlü voltametri yöntemiyle hazırlanmıştır. Askorbik asit içermeyen fakat diğer tüm parametrelerin aynı olduğu çözeltiden pirolün elektropolimerizasyonu ile baskılanmamış polipirol (NIP) elektrot elde edilmiştir. Her iki elektrot askorbik asit tayinlerinde karşılaştırmalı olarak kullanılmıştır.

Şekil 3.13(a)'da baskılanmamış polipirolün KUE yüzeyinde oluşumuna ait 7 döngülü voltamogramlar görülmektedir. Şekilden polimer filminin oluşumu ve büyümesi kolaylıkla görülebilmektedir. Polimer filmi büyüdükçe filme ait yükseltgenme ve indirgenme piklerinin şiddeti artmaktadır. +0,15 V'ta geniş bir yükseltgenme piki ve 0,00 V'ta bir indirgenme piki gözlenmektedir.

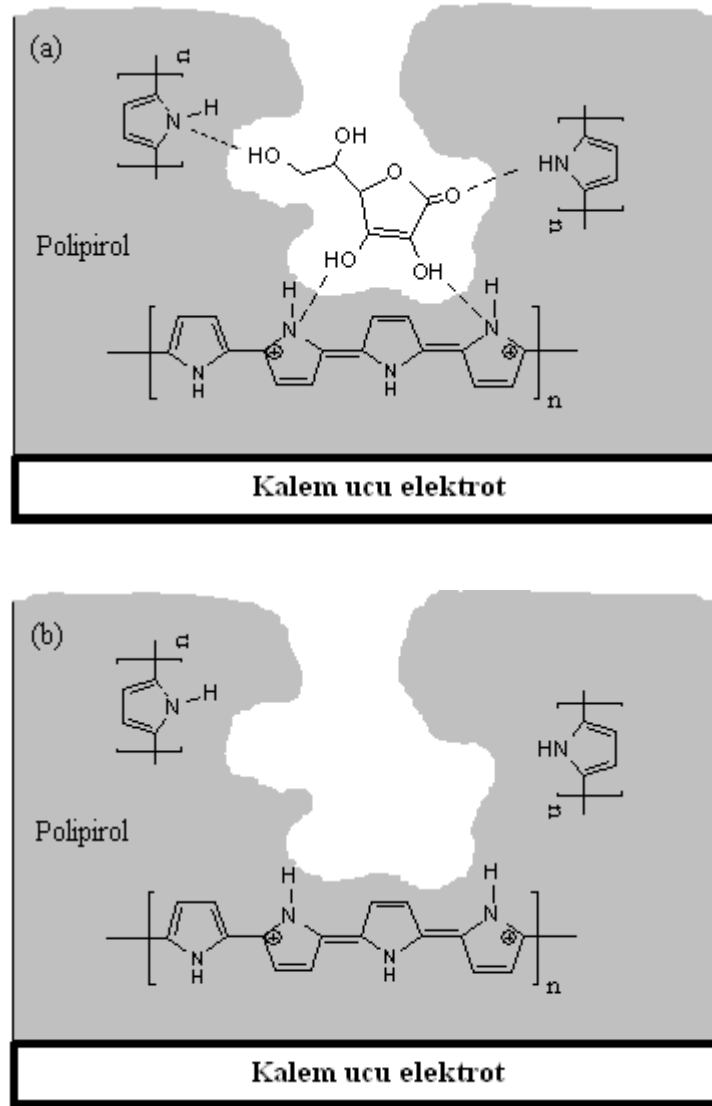
Şekil 3.13(b)'de ise 10 mM'lık askorbik asit varlığında pirolün elektropolimerleşmesi için elde edilen dönüşümlü voltamogramlar görülmektedir. Şekilden pirolün yükseltgenme pik geriliminin 0,15 V'tan 0,10 V'a kayarak daha katodik bölgede geldiği ve polipirolün yükseltgenme akım değerlerinde bir miktar artma olduğu gözlenmektedir. Ayrıca +0,35 V'taki yükseltgenme piki askorbik asitten kaynaklanmaktadır.



Şekil 3.13. 0,025 M pirolün elektropolimerleşmesi sırasında (a) askorbik asit yokken, (b) askorbik asit (10 mM) varlığında elde edilen dönüşümlü voltamogramlar (Tarama hızı:100 mV/s, Destek elektrolit: 0.10 M LiClO₄, Döngü sayısı: 7)

İletken polimerin elektrobirikmesi esnasında, pirol monomerleri ile etkileşebilen hedef askorbik asit molekülleri polimer matrisi içinde hapsolünür. KUE yüzeyine eşzamanlı polipirolün kaplanması ve askorbik asit baskılama işlemi ile polipirolde askorbik asitin uzaklaştırılması Şekil 3.14'te şematik olarak gösterilmektedir.

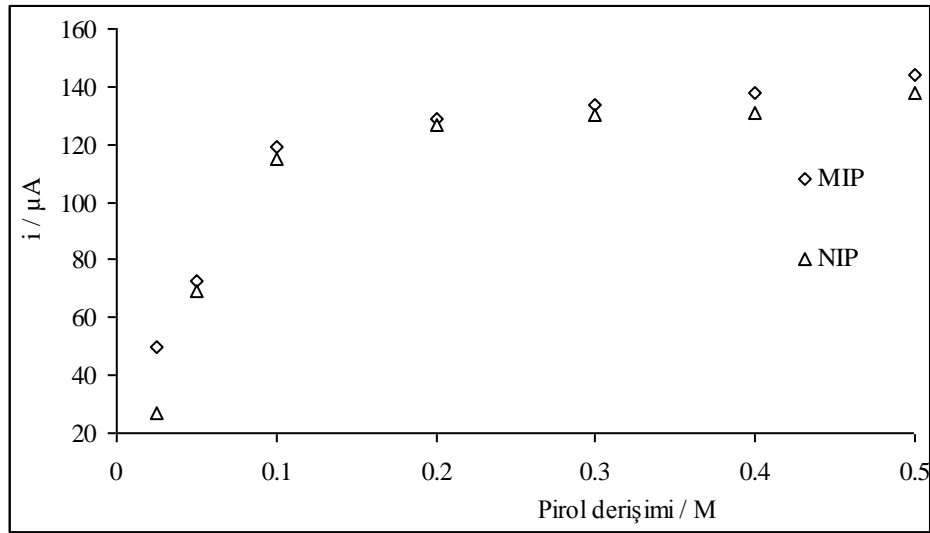
Askorbik asit ile polipirolün etkileşmesi iki şekilde gerçekleşebilir: (1) Askorbik asit molekülünün C=O grubundaki oksijen atomu pirol biriminin N-H grubundaki hidrojen atomuyla (Şekil 3.14a) veya (2) pirol birimindeki N-H grubunun azot atomu ile askorbik asitin hidroksil gruplarındaki hidrojen atomları arasında (Şekil 3.14a) hidrojen bağları meydana gelebilir. Şekil 3.14b’de askorbik asite özel seçici bir boşluk oluşturulmuştur.



Şekil 3.14. KUE yüzeyinde elektrokimyasal olarak sentezlenen polipirole (a) askorbik asitin baskılanması ve (b) baskılanmış yapıdan uzaklaştırılması

3.2.2. Monomer derişiminin etkisi

MIP ve NIP elektrotların cevabına monomer derişiminin etkisini belirlemek için, farklı monomer derişimlerindeki çözeltilerden elde edilen polimer elektrotlar 0,25 mM askorbik asitin tayininde kullanılmıştır. Monomer derişimi 25 ile 500 mM arasında değiştirilerek elektropolimerleşme işlemi -0,60 V ile 0,80 V arasında gerilim taramasıyla (4 döngü) gerçekleştirilmiştir. MIP elektrot hazırlanırken polimerleşme çözeltilisindeki askorbik asit derişimi (10 mM) sabit tutulmuştur. Elde edilen sonuçlar Şekil 3.15 'te verilmiştir.



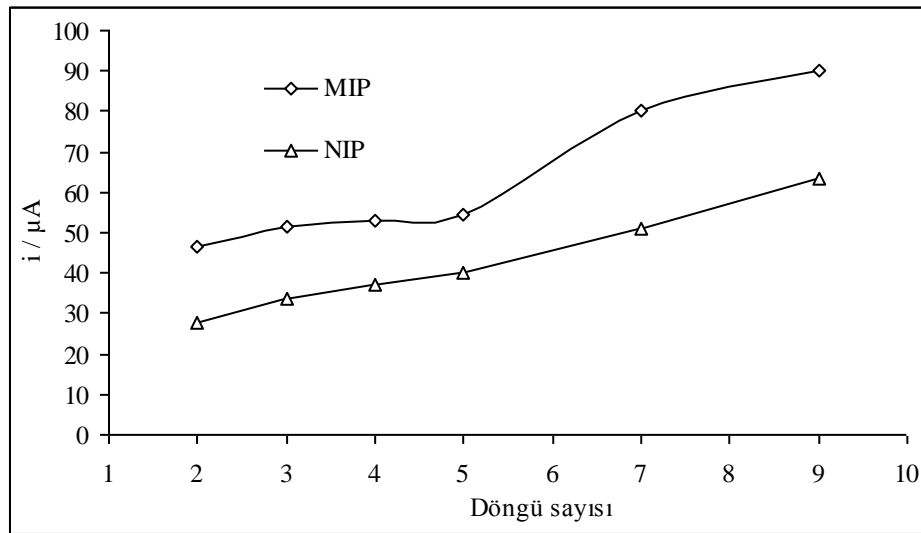
Şekil 3.15. MIP (◊) ve NIP (Δ) elektrotlar üzerine monomer derişiminin etkisi. Akım değerleri 0,10 M KCl içeren FT'de (pH 8) 0,25 mM askorbik asit için DPV ile elde edilmiştir

Elde edilen sonuçlar değerlendirildiğinde, monomer derişimi 0,025 M iken hazırlanan MIP ve NIP elektrotların askorbik asit karşı göstermiş oldukları akımlar arasında önemli bir farkın olduğu fakat 0,05 M ve yukarıdaki pirol derişimiyle elde edilen MIP ve NIP elektrotların cevapları arasında çok büyük farkın olmadığı görülmektedir. İyi bir sensör için NIP elektrodun cevabının olabildiğince düşük olması gerektiği ve MIP elektrotla arasındaki akım farkının da mümkün olduğunca fazla olması gerektiği göz önüne alınarak 0,025 M pirol

derişiminde elde edilen baskılanmış polipirolün askorbik asit için uygun monomer derişimi olduğu tespit edilmiştir.

3.2.3. Elektropolimerizasyon döngü sayısının etkisi

Elektropolimerleşme gerçekleştirilirken uygulanan döngü sayısı modifiye polipirolün duyarlılığı açısından önemli bir parametredir. Baskılanmış elektrotların kaç döngü ile elde edildiğinde daha duyarlı olduğunu bulmak için 0,10 M LiClO₄ + 0,025 M pirol ve 10 mM askorbik asit içeren çözeltide -0,60 ile +0,80 V arasında farklı döngü sayıları ile elektropolimerleşme gerçekleştirilmiştir. Elde edilen baskılanmış polipirol ile 0,25 mM askorbik asitin yükseltgenme pik akımları arasındaki ilişki incelenerek Şekil 3.16'da verilmiştir.



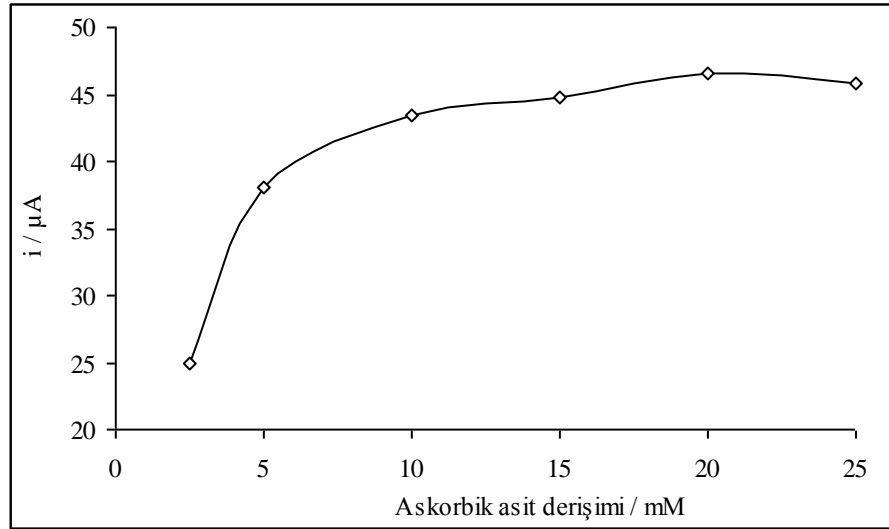
Şekil 3.16. Farklı döngü sayıları ile hazırlanan MIP ve NIP elektrotlar ile 0,25 mM askorbik asit için elde edilen akım değerleri

Şekil 3.16 incelendiğinde döngü sayısı arttıkça hem MIP hem de NIP elektrotların cevaplarının arttığı ve akım cevapları arasındaki farkın bariz bir şekilde arttığı görülmektedir. Bu durumda olaya iki farklı şekilde yaklaşılabilceği ve iki farklı döngü sayısı kullanılarak MIP elektrotlar hazırlanabileceği düşünülmüştür. İlki NIP elektrot cevabının düşük olduğu 3 döngü sayısı ikincisi ise NIP elektrot cevabı yüksek olmasına rağmen MIP

elektrot ile arasındaki akım cevabı farkının en yüksek olduğu 7 döngü sayısı. Öncelikle 3 döngü ile elde edilen polimerler ile deneme yapılmış ve bu döngü sayısı ile elde edilen elektrotların üretiminde ortamda baskılanacak molekül olarak bulunan askorbik asit miktarının elektrodun performansına etkisi araştırılmıştır.

3.2.4. Baskılanacak hedef molekül derişimin etkisi

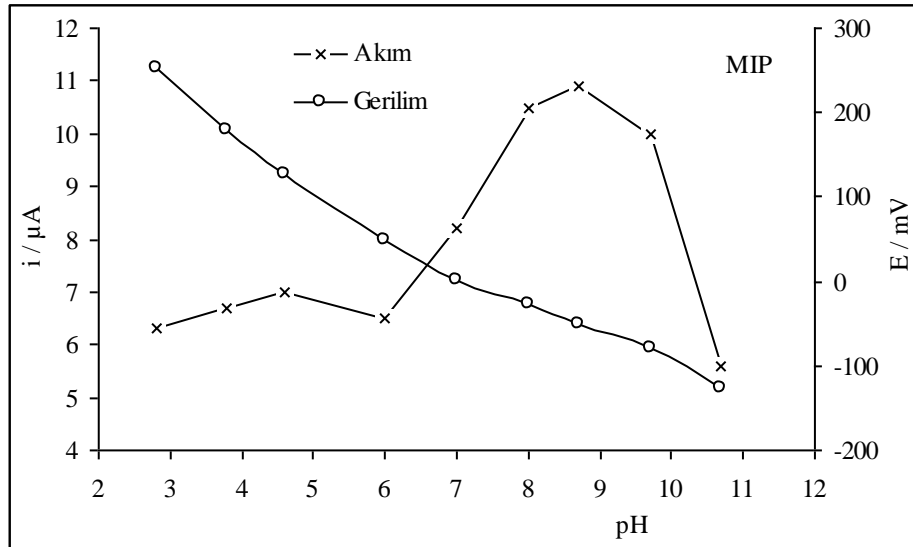
Şekil 3.17’de elektropolimerleşme çözeltisindeki askorbik asit derişimi değiştikçe, buradan 3 döngüde elde edilen MIP elektrodun 0,25 mM askorbik asitin yükseltgenme akımını nasıl etkilediği görölmektedir. Şekilde MIP elektrodun askorbik asite karşı cevabının 2,5 mM’dan 10 mM’a kadar hızla arttığı, 10 mM’dan sonra ise MIP elektrodun cevabında kayda değer bir artmanın olmadığı görölmektedir. Bu sonuç elektropolimerizasyon çözeltisindeki optimum hedef molekül (askorbik asit) derişiminin 10 mM olduğunu göstermektedir.



Şekil 3.17. Elektropolimerizasyon çözeltisinde yer alan askorbik asit derişimi değiştikçe, MIP elektrot ile askorbik asit için elde edilen akım değerleri

3.2.5. Askorbik asit cevabı üzerine pH etkisi

Elektrokimyasal yükseltgenme mekanizması ortam pH'sına bağlı olarak değişmekte ve elde edilen akım cevapları da bundan etkilenmektedir. Bu etkiyi belirlemek amacıyla MIP elektrodun askorbik asit varlığındaki elektrokimyasal davranışı pH 3-11 arasında DPV yöntemiyle incelenmiş ve sonuçlar Şekil 3.18'te verilmiştir. MIP elektrodun askorbik asite karşı olan en yüksek cevabı pH 8,5 elde edilmiştir ve pH 8,5'ten düşük ve yüksek değerlere gidildikçe askorbik asitin yükseltgenmesine ait akım cevabı hızlı azalmaktadır. Bu sonuçlar bize ölçümler için en uygun pH değerinin pH 8,5 olduğunu göstermektedir.

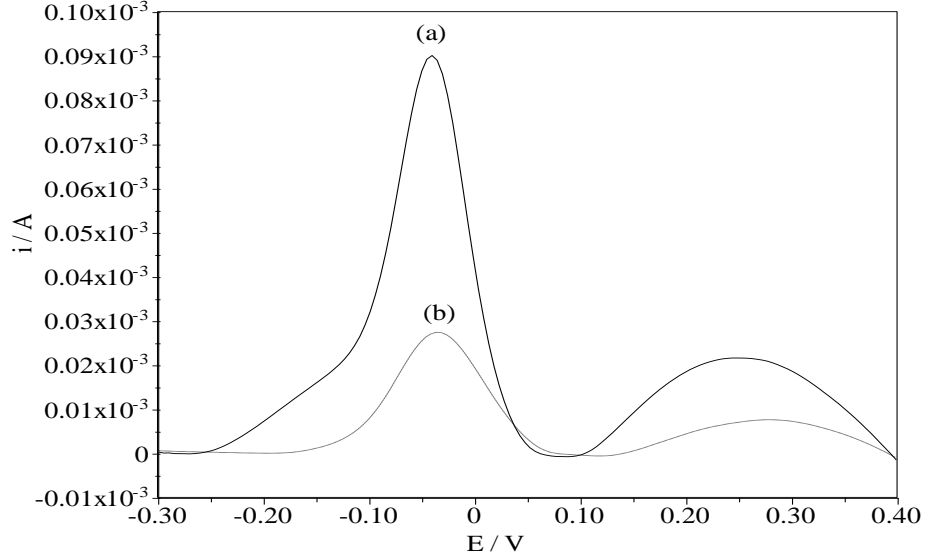


Şekil 3.18. MIP elektrot ile 0,25 mM askorbik asit için farklı pH'lardaki çözeltilerde elde edilen akım ve gerilim değerleri. Elektrolit: 0,10 M KCl + 0,05 M FT

3.2.6. MIP ve NIP elektrotların askorbik asite karşı etkinliklerinin incelenmesi

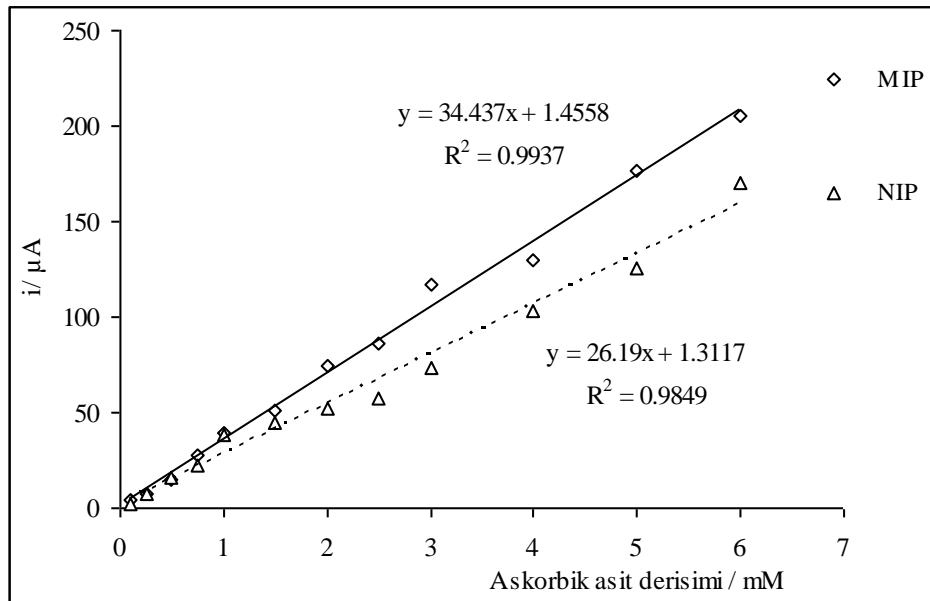
MIP ve NIP elektrotlar ile askorbik asitin elektrokimyasal davranışı pH 8,5'te incelenmiştir. Elde edilen veriler doğrultusunda MIP elektrot ile -0,043 V'ta askorbik asite ait bir yükseltgenme piki gözlenirken NIP elektrot ile -0,034 V'ta bir yükseltgenme piki gözlenmiştir (Şekil 3.19). MIP elektrotlar ile elde

edilen askorbik yükseltgenmesine ait pik akım değerlerinin NIP elektrot ile elde edilen sonuçlara göre 2,5-3 kat arttığı gözlenmiştir. Akım değerlerindeki bu artış baskılama işleminin başarıyla gerçekleştiğinin bir göstergesidir.



Şekil.3.19. 1,0 mM askorbik asit için (a) MIP ve (b) NIP ile 0,10 M KCl içeren 0,05 M FT (pH= 8,5) çözeltisinde elde edilmiş DP voltamogramları

Farklı derişimlerdeki askorbik asite ait yükseltgenme pik akımları kullanılarak kalibrasyon grafiğı çizilmiştir (Şekil 3.20). Kalibrasyon grafiğı incelendiğinde, MIP elektrot ile askorbik asit derişimine karşı elde edilen yükseltgenme pik akımlarının 0,25 mM'dan 6 mM'a kadar 0,994 korelasyon katsayı ile doğrusal olduğu görülmektedir. Ancak NIP elektrot için elde edilen akım değerlerinin 1,5 mM askorbik asit derişimine kadar MIP ile elde edilenlere oldukça yakın olduğu görülmektedir.

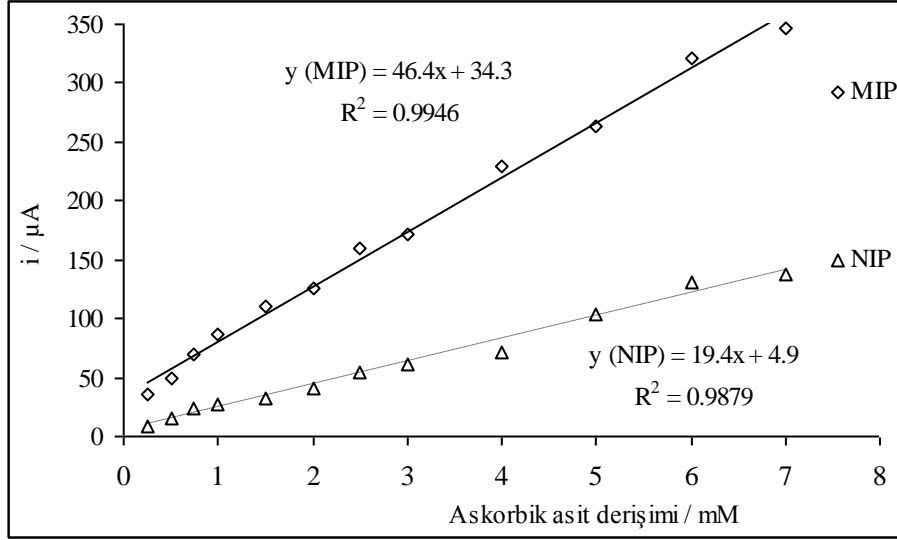


Şekil 3.20. 3 döngü ile elde edilen MIP ve NIP elektrotlar ile 0,10 M KCl içeren FT (pH= 8,5) çözeltisinde elde edilmiş kalibrasyon grafikleri

Baskılanmış polimer elektrotların verimliliği için bu değerler arasında belirgin bir farkın olması gerekmektedir. Bu nedenle Şekil 3.16'da MIP ile NIP cevapları arasındaki akım farkının en büyük olduğu 7 döngü sayısı kullanılarak MIP elektrot hazırlanılmasına karar verilmiştir. Bu amaçla 0,10 M LiClO₄ + 0,025 M pirol + 10 mM askorbik asit içeren sulu çözeltiden -0,60 V ile 0,80 V arasında 7 döngülü gerilim taramasıyla KUE yüzeyinde polimerler üretilmiş ve bu elektrotlar ile elde edilen pik akımlarının askorbik asit derişimiyle ilişkisi belirlenmiştir (Şekil 3.21).

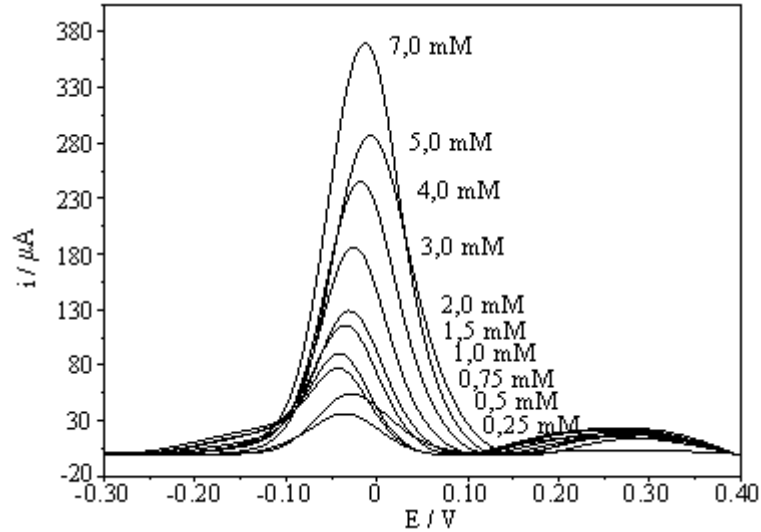
Şekil 3.21 incelendiğinde, 7 döngü ile elde edilen MIP elektrot ile askorbik asit derişimine karşı elde edilen yükseltgenme pik akımlarının 0,25 mM'dan 7,0 mM'a kadar 0,995 korelasyon katsayısı ile doğrusal olduğu saptanmıştır. Ayrıca MIP ve NIP elektrot ile elde edilen akım değerleri arasındaki fark sensör uygulamaları için kabul edilebilir seviyededir. Bunlara ek olarak 7 döngülü elektropolimerizasyon ile elde edilen MIP elektrodun doğrusal cevap aralığı ve askorbik asite karşı duyarlılığı daha yüksektir. Bu sonuçlar göz önünde bulundurulduğunda 7 döngü ile elde edilen MIP elektrodun verimliliğinin daha fazla olacağı açıktır. Bu nedenle askorbik asit tayinlerinde kullanılması uygun

görülmüştür. Bu koşullarda elde edilen MIP elektrot ile askorbik asit için tayin sınırı 7.4×10^{-5} M olarak hesaplanmıştır.



Şekil 3.21. 7 döngü ile elde edilen MIP ve NIP elektrotlar ile 0,10 M KCl içeren FT (pH= 8,5) çözeltisinde elde edilmiş kalibrasyon grafikleri

Şekil 3.8'de MIP elektrot ile farklı askorbik asit derişimlerinde elde edilen DP voltamogramları görülmektedir.



Şekil 3.22. MIP elektrotlar (7 döngü) ile 0,10 M KCl içeren FT (pH= 8,5) çözeltisinde elde edilmiş DP voltamogramları

3.2.7. Girişim yapan türlerin etkisi

MIP elektrodun seçiciliği girişim yapması muhtemel türlerden bazıları olan D-glikoz, dopamin ve ürik asit varlığında incelenmiştir. Bu maddeler biyolojik sıvılarda askorbik asit tayinlerinde girişimlere neden olmaktadır. Askorbik asit derişimi 0,50 mM’da sabit tutulurken girişim yapan türlerin derişimi 0,50 mM ile 5,00 mM arasında değiştirilmiş ve askorbik asitin DPV ile elde edilmiş akım cevabını ne ölçüde değiştirdiği tespit edilmiştir. Sonuçlar Çizelge 3.3’te verilmiştir. Bu çizelgede akım cevabındaki azalmalar (-), artmalar ise (+) ile ifade edilmiştir. Glikoz ve ürik asit derişimi askorbik asit derişimi ile aynı olduğunda akım değerinde önemli bir değişiklik olmamıştır. Bu türlerin derişimi askorbik asit derişiminin 2,5 katı olduğunda akım değerleri bir miktar etkilenmeye başlamaktadır. Askorbik asit için en fazla girişim dopamin tarafından yapılmaktadır.

Çizelge 3.3. DPV ile 0,50 mM askorbik asit için MIP elektrot ile elde edilen akım cevabına girişim yapan türlerin etkisi

Girişim yapan türler	Girişim yapan türün derişimi (mM)	0,50 mM askorbik asit için akım cevabındaki değişme (μA) *
Glikoz	0,50	0,80
	2,50	3,34
	5,00	5,56
Dopamin	0,50	-4,31
	1,00	-8,68
	2,50	-10,64
Ürik asit	0,25	-0,65
	1,00	-2,55
	2,50	-5,30

*Girişim yapan tür olmadığında akım cevabı 50 μA ’dır

3.2.8. Baskılanmış polimer elektrodun gerçek örneklere uygulanması

MIP elektrot ile bazı ilaç tabletlerinde askorbik asit tayini yapılmıştır. Askorbik asit tabletlerinden ve şurubundan hazırlanan çözeltiler askorbik asit derişiminin kalibrasyon grafiğinde doğrusal olduğu aralıktaki değerlere seyreltilerek aynı koşullarda DPV ölçümleri yapılmıştır. Seyrelme faktörü hesaba katılarak tabletlerin içerisindeki askorbik asit miktarı hesaplanmış ve üretici firmaların bildirdiği miktarlar ile karşılaştırılmıştır (Çizelge 3.4).

Çizelge 3.4. MIP elektrot kullanılarak bazı ilaç bileşimlerinde bulunan askorbik asit miktarları

Tablet ismi / (Şirket ismi)	Bildirilen miktar	Tayin edilen miktar	B.S.S (%)
Bevitin C / (Abfar İlaç San.)	0,500 g/tablet	0,481 g/tablet	1,26
Aspirin + Vitamin C / (Upsa Conseil)	0,500 g/tablet	0,477g/tablet	0,67
Supravit / (Roche)	45 mg/100 mL	43,8 mg/100 mL	0,81
C-PLAN / (Polifarma)	0,500g/tablet	0,465g/tablet	1,62

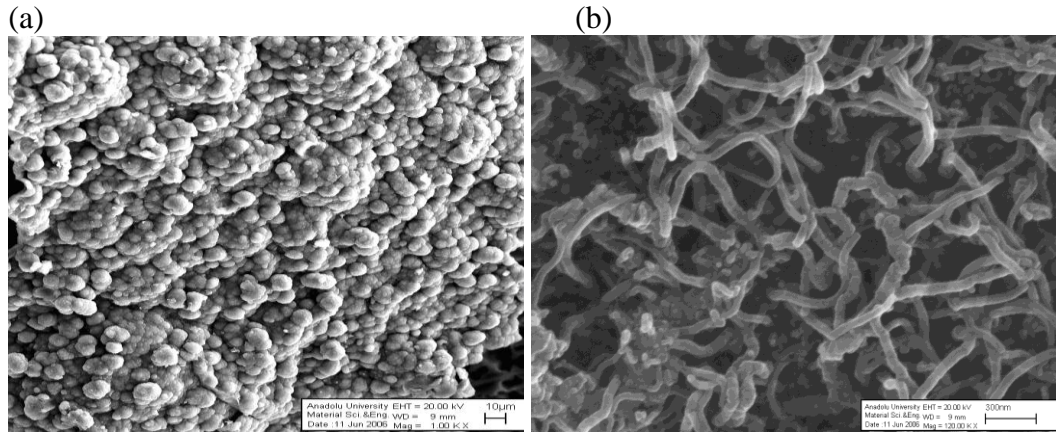
3.2.9. MIP elektrodun yeniden üretilebilirliği

Aynı koşullarda üretilen 5 farklı MIP elektrodun 2,0 mM askorbik asit için verdiği pik akımı cevapları karşılaştırılarak yeniden üretilebilirliği incelenmiştir. Pik akımı şiddetlerinin bağıl standart sapması % 4,5'tir. MIP elektrot gerekli yıkama işlemlerinden sonra 2-3 defa ard arda kullanılabilir. Bunun için, MIP elektrotlar manyetik karıştırıcı ile karıştırılan 0,05 M fosfat tamponu (pH= 7) çözeltilisinde 20 dakika bekletilerek yeniden kullanıma hazır hale getirilebilmektedir. Fakat kullanılan elektrot malzemelerinin ucuzluğu ve yöntemin basit ve hızlı olması nedeniyle tek kullanımlık elektrotlar ile çok daha iyi sonuçlar elde edilmektedir.

3.3. Co(II) Ftalosiyenin Tetrasülfonat Modifiye Polipirol Elektrotlar ile Glikoz Tayinleri

3.3.1. Polipirol elektrotların yüzey morfolojisi

Polipirol filmlerinin yüzey morfolojisi taramalı elektron mikroskobu ile incelenmiştir. Elektrokimyasal yöntemler ile elde edilen polipirol filmlerinin morfolojisi kullanılan karşıt iyon, çözücüye, polimerizasyon ortamı vb. hazırlanma parametrelerine bağlıdır. Sulu ortamda karşıt iyon olarak sadece LiClO_4 kullanıldığında elektrot yüzeyinde elde edilen polipirol küresel morfolojiye sahip “karnabahar” yapısına benzemektedir (Şekil 3.23a). Diğer yandan LiClO_4 ile beraber ortamda karbonat iyonu bulunduğunda elde edilen polipirolün morfolojisi incelendiğinde (Şekil 3.23b) 50 ile 80 nm arasında değişen çaplarda nanofiber yapıda olduğu görülmektedir. Bu fiberler arasında bağlantılar mevcut olup bu sayede ağ yapılı polimerik bir şebeke oluşturularak yüzey alanının oldukça artmasına neden olmuştur.



Şekil 3.23. KUE/PPy (a) ve KUE/PPyNF (b) elektrotların SEM görüntüleri

3.3.2. Polipirol elektrotların performanslarının karşılaştırılması

Bu çalışmanın amacı, enzimsiz glikoz tayinlerinde kullanılacak biyosensör üretmektir. Enzim biyolojik türlere karşı yüksek seçiciliği ve katalizör

etkisiyle biyosensör çalışmalarında vazgeçilmesi güç olan bir maddedir. Bununla beraber enzim ile çalışmanın üretiminden saklanma koşullarına kadar birçok zor yönleri vardır. Biyosensör uygulamalarında pH ve sıcaklık gibi iki önemli parametre sonucunda enzim bozunarak katalitik özelliğini kaybedebilir. Bu yüzden enzim ile çalışan biyosensörler pahalı ve problemlidir. Birçok büyük araştırma grubu ve biyomedikal şirketler enzimsiz biyosensör üretme çalışmalarını sürdürmektedirler. Bu çalışmada, KUE yüzeyine elektrokimyasal olarak sentezlenen polipirol filminin ftalosiyanın tetrasülfonat (FTS) türü bileşiklerle modifiye edilmesi ve bu filmin glikoz tayininde kullanılması amaçlanmıştır. Bunun için iki farklı morfolojik özelliklere sahip polipirol filmleri hazırlanarak üç farklı metal-ftalosiyanın ile modifiye edilmişlerdir. Ftalosiyanın-metal kompleksi enzimin görevini üstlenerek biyolojik türe karşı elektrokatalizör olarak davranmaktadır. Yapıdaki metalin ve fonksiyonel grupların cinsi ile indirgenme-yükseltgenme gerilim aralığı kullanım alanını önemli derecede etkilemektedir.

Polipirol filmi elektroaktif özellikte olduğundan dolayı geniş indirgenme ve yükseltgenme pikine sahiptir. Dolayısıyla analit molekülü ile girişim yapma veya analit sinyalini tamamen kapatma gibi durumlar sözkonusu olabilmektedir. Bu da sensör verimini önemli derecede düşürmektedir. Polipirolün bu etkisini azaltmak ve hazırlanan biyosensörün cevabını güçlendirmek için aşırı yükseltgeme (AY) işlemi uygulanmıştır. Bu işlem sonucunda polipirol elektroaktivitesini kaybeder. Aşırı yükseltgenmiş polipirol (AYPPy) biyosensör uygulamalarında girişim yapmadan kullanılabilir.

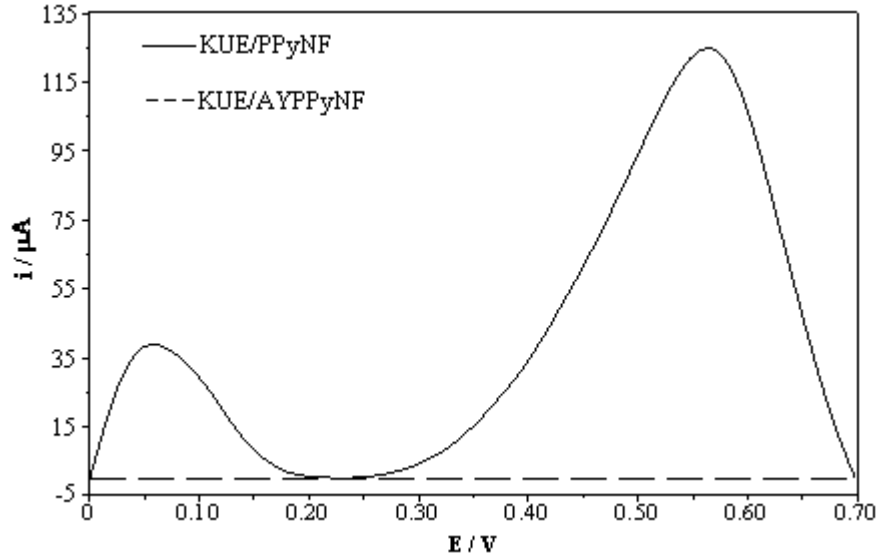
Polipirol morfolojisinin biyosensör verimi üzerine etkisini incelemek amacıyla küresel ve nanofiber yapıları polipiroller elektrokimyasal olarak sentezlenmiştir. Bunlar aynı koşullarda metal-FTS ile modifiye edilerek glikoz analizlerinde kullanılmışlardır.

Benzer şekilde elektrotların modifikasyonu için Co-FTS, Fe-FTS ve Cu-FTS denenmiştir. Fe-FTS ve Cu-FTS modifiye edilmiş polipirol elektrotlar ile glikozun yükseltgenmesine ait herhangi bir sinyal tespit edilmemiştir. Bununla beraber Co-FTS ile glikozun yükseltgenmesinden kaynaklanan bir akım artışı

saptanmıştır. Literatür ile de uyumlu olan bu sonuç göz önünde bulundurularak polipirol elektrotların Co-FTS ile modifiye edilmesine karar verilmiştir.

Enzimsiz modifiye elektrotların hazırlanması üç aşamada gerçekleştirilmiştir: (1) KUE yüzeyinde pirolün elektrokimyasal olarak polimerleştirilmesi (2) Polipirolün aşırı yükseltgenmesi ve (3) Aşırı yükseltgenmiş polipirolün Co-FTS ile modifikasyonu. Bu işlemin şematik gösterimi Şekil 2.1’de verilmiştir.

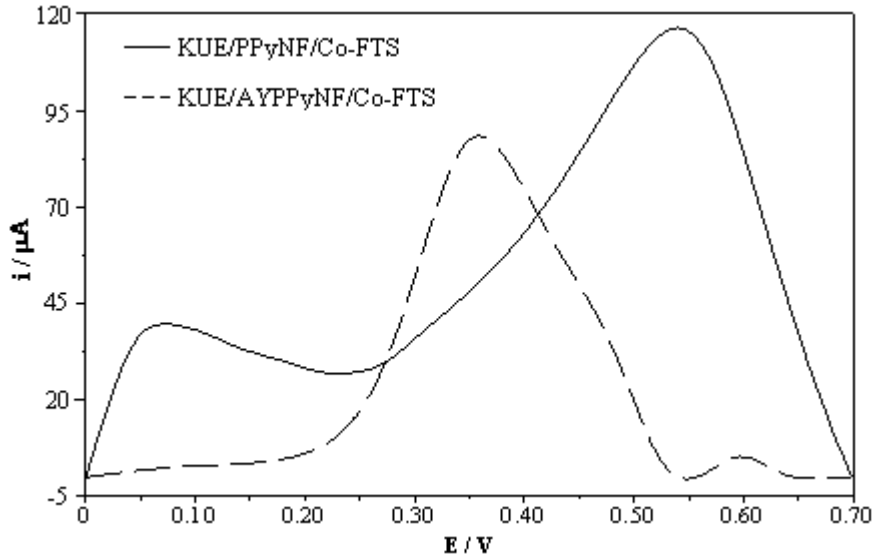
İkinci aşamada nano fiber yapılı polipirol elektrotların aşırı yükseltgenmesi gerçekleştirilmektedir. Bu aşamada gerçekleştirilen aşırı yükseltgeme işlemi polipirole ait olan yükseltgenme pikini mümkün olduğunca azaltmak için uygulanmıştır. Böylece Co-FTS kompleksinin elektrokatalitik etkisini görmemizi engelleyen bu sinyaller mümkün olduğunca aza indirgenmiş olmaktadır. Bu nedenle aşırı yükseltgeme işlemine akım değeri sabitleninceye yani yaklaşık sıfır oluncaya kadar devam edilmiştir. Şekil 3.24’te KUE yüzeyinde sentezlenen nanofiber yapılı polipirolün aşırı yükseltgenmiş (KUE/AYPPyNF) ve yükseltgenmemiş (KUE/PPyNF) hallerinin 0,15 M NaOH sulu çözeltisinde DPV yöntemiyle belirlenen elektrokimyasal davranışları görülmektedir.



Şekil 3.24. KUE/AYPPyNF ve KUE/PPyNF elektrotların glikoz içermeyen 0,15 M NaOH sulu çözeltisindeki DP voltamogramları

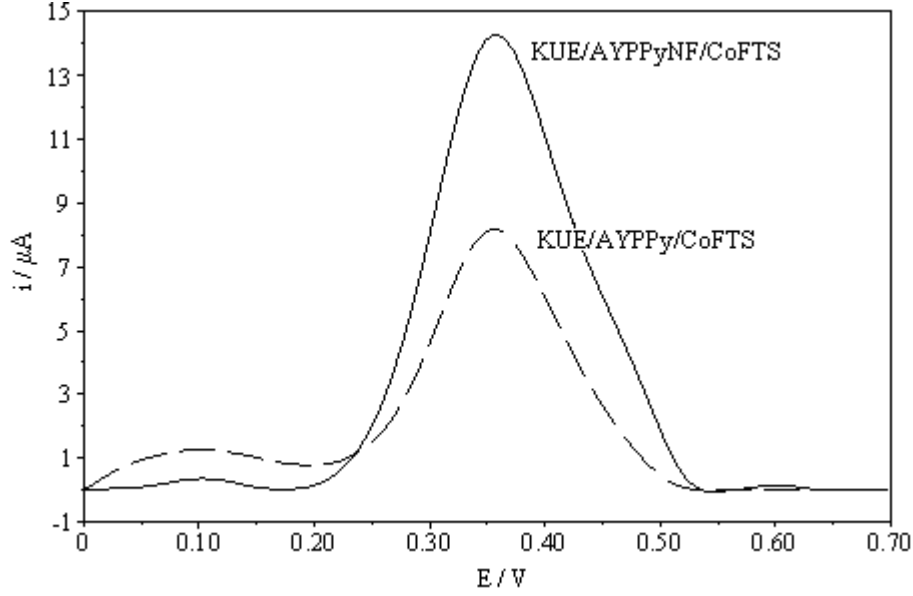
KUE/PPyNF ile alınan voltamogramlarda +0,08 ve +0,55 V'ta nanofiber yapılı polipirole ait iki kuvvetli yükseltgenme piki gözlenirken KUE/AYPPyNF ile herhangi bir yükseltgenme piki gözlenmemiştir.

KUE/PPyNF yüzeyine Co-FTS adsorlandığında KUE/PPyNF'in hâlâ elektroaktivitesini koruduğu ve KUE/PPyNF/Co-FTS'in glikoza karşı herhangi bir cevap vermediği veya verse bile kendi sinyalinin bunu engellediği Şekil 3.25'deki voltamogramlar incelendiğinde farkedilmektedir. Bununla beraber KUE/AYPPyNF/Co-FTS elektrot kullanıldığında +0,35 V'da glikoz için bir yükseltgenme piki gözlenmektedir. Bundan dolayı çalışma elektrodu olarak aşırı yükseltgenmiş nanofiber yapılı polipirol kullanılması üstünlük sağlamaktadır ve polimerin kendi cevabından kaynaklanabilecek hatalardan kaçınılmış olmaktadır.



Şekil 3.25. KUE/AYPPyNF/Co-FTS ve KUE/PPyNF/Co-FTS elektrotların 15 mM glikoz içeren 0.15 M NaOH sulu çözeltisindeki DP voltamogramları

Şekil 3.26'da nanofiber (KUE/AYPPyNF/Co-FTS) ve küresel morfolojiye sahip (KUE/AYPPy/Co-FTS) modifiye polipirol elektrotlar ile 2,0 mM glikoz için 0,15 M NaOH çözeltisinde elde edilen DP voltamogramları görülmektedir. Şekil 3.26 incelendiğinde her iki elektrot ile elde edilen pik gerilimlerinin aynı olmasına rağmen pik akımları farklıdır. Nanofiber yapılı polipirol elektrotların glikozun yükseltgenme akımında yaklaşık iki katlık bir artışa neden olduğu görülmektedir.



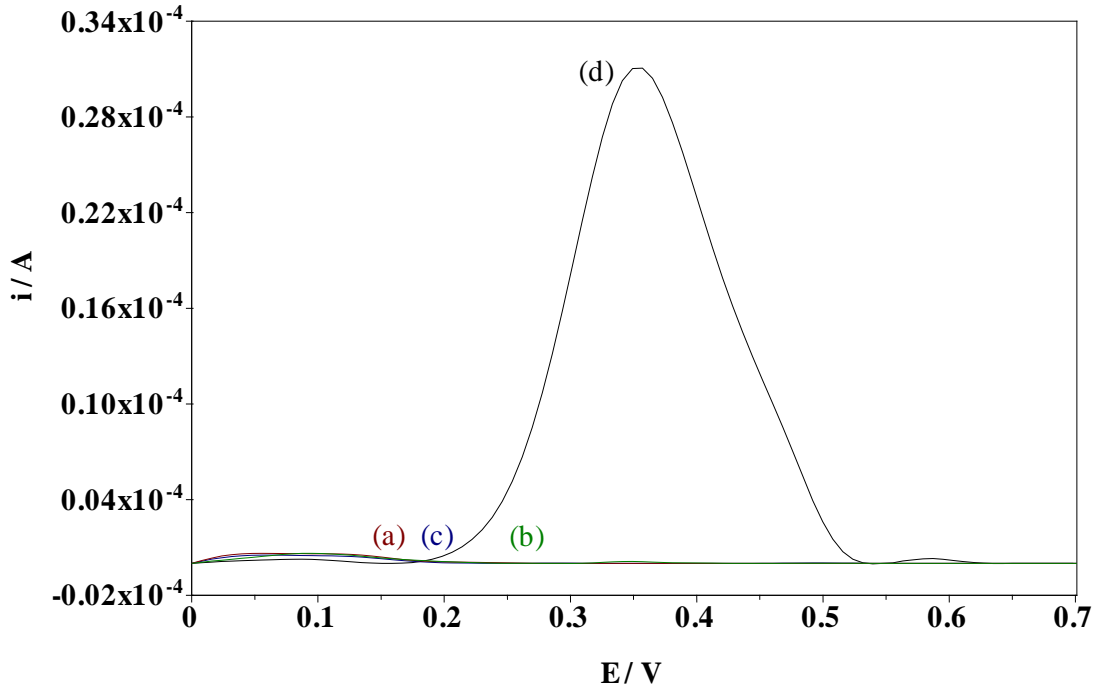
Şekil 3.26. Nano fiber (KUE/AYPPyNF/Co-FTS) ve küresel morfolojiye sahip (KUE/AYPPy/Co-FTS) elektrotlar ile 2,0 mM glikoz için elde edilen DP voltamogramları.

Nano fiber yapılı polipirolün üç boyutlu yapısında fiberler arası gözeneklerin ve ağ benzeri yapıların çok olduğu görülmektedir. Bunun sonucunda Co-FTS'in yapıya girebilmesinde faydalı olacak büyük yüzey alanına ve iyi iyonik iletkenliğe sahip bir yapı elde edilmektedir. Çözeltideki Co-FTS AYPPy yapısına eşzamanlı olarak girmekte veya difüzyon yoluyla nano fiber yapılı AYPPy'e immobilize olmaktadır. Nanofiber yapıyla yüzey alanında meydana gelen artış beraberinde adsorplanan ve/veya immobilize olan Co-FTS miktarını da arttırmaktadır. Böylece elde edilen KUE/AYPPyNF/Co-FTS elektrotların glikoz karşı cevabında ve duyarlılığında artış gözlenmiştir.

Glikozun pik akımındaki iyileşme KUE/AYPPyNF/Co-FTS elektrodun glikoz yükseltgenmesine karşı katalitik bir etki gösterdiğinin de delilidir. Bu sonuç nanofiber yapılı polipirolün katalizörler için çok iyi bir destek malzemesi olarak kullanılabilceği anlamına gelmektedir. Bu yüzden glikoz tayini için KUE/AYPPyNF/Co-FTS elektrot kullanılmıştır.

Şekil 3.27'de KUE/AYPPyNF ve KUE/AYPPyNF/Co-FTS ile glikoz yokken ve 5,0 mM glikoz varlığında 0,15 M NaOH çözeltisinde DPV ile elde edilmiş voltamogramlar görülmektedir. Glikoz yokken KUE/AYPPyNF ve

KUE/AYPPyNF/Co-FTS ile elde edilen voltamogramlarda +0,35 V civarında herhangi bir pik olmaması bu elektrotların kendilerine ait herhangi bir elektroaktivitesinin olmadığına göstergesidir. Glikoz varlığında KUE/AYPPyNF ile elde edilen voltamogramda +0,35 V civarında herhangi bir pikin olmaması Co-FTS olmadığına yapının glikoza karşı cevabının olmadığını göstermektedir. Bununla beraber glikoz varlığında sadece KUE/AYPPyNF/Co-FTS kullanıldığında +0,35 V'ta bir yükseltgenme piki elde edilmektedir. Bu Co-FTS ile yapılan modifikasyonun glikoz için önemli bir elektrokatalitik etkiye neden olduğunu açık bir şekilde göstermektedir.

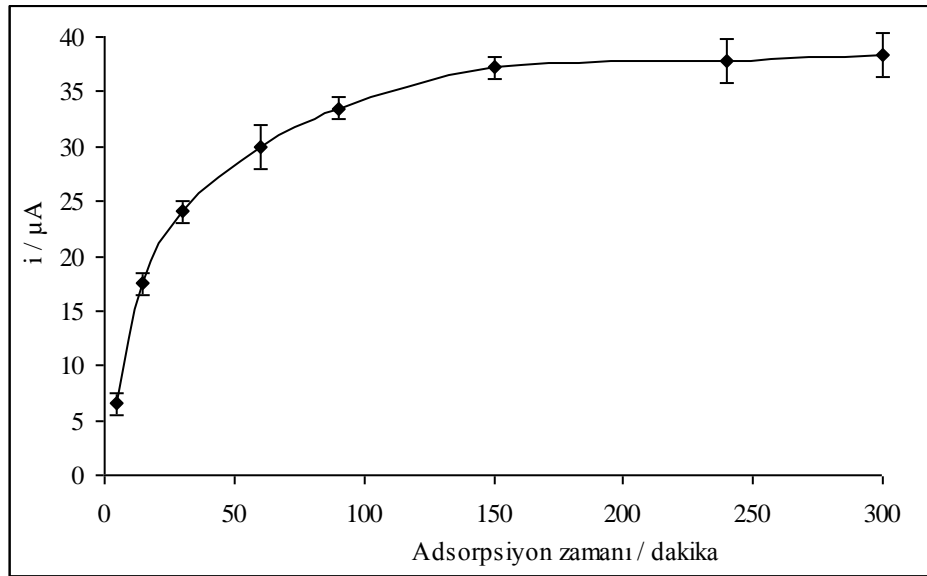


Şekil 3.27. KUE/AYPPyNF ile glikoz yokken (a) ve 5,0 mM glikoz varlığında (c) elde edilen ve KUE/AYPPyNF/Co-FTS ile glikoz yokken (b) ve 5,0 mM glikoz varlığında (d) elde edilen DP voltamogramları

3.3.3. Co-FTS'in adsorpsiyon kapasitesinin belirlenmesi

Metalofталosiyanın temelli elektrotlar hem kimyasal olarak hem de elektrokimyasal olarak kararlıdır (Lopes ve ark. 2007). Aynı zamanda metalofталosiyanın grafit ve diğer karbon temelli elektrot malzemelerinin

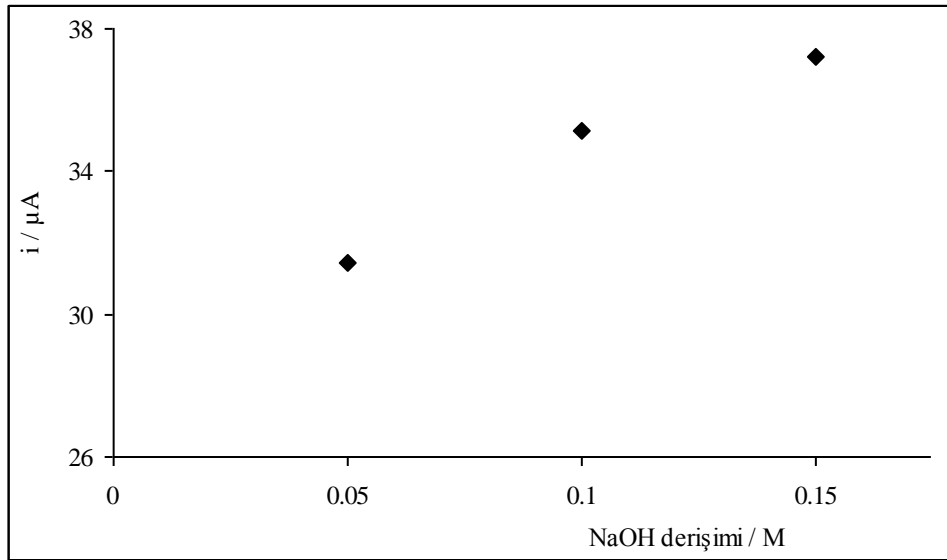
yüzeyine kuvvetle adsorbe olduğu ve özellikle düz ve düzgün yüzeyli karbon malzemeleri üzerine ftalosiyanın kısa sürede adsorplandığı bildirilmiştir (Barrera ve ark. 2006). KUE/AYPPyNF elektrotların adsorpsiyon kapasitesini ve en uygun adsorpsiyon süresini belirlemek amacıyla bir seri çalışma yapılmıştır. Bu denemelerde KUE/AYPPyNF elektrotlar 5×10^{-4} M Co-FTS'nin sulu çözeltisine daldırılarak farklı adsorpsiyon sürelerinde elektrotlar modifiye edilmiştir. Hazırlanan bu modifiye elektrotlar ile 0,15 M NaOH çözeltisinde 5,6 mM glikoz için (fizyolojik derişim) DPV yöntemiyle elde edilen yükseltgenme akım değerleri ile adsorpsiyon zamanı arasındaki ilişki Şekil 3.28'de gösterilmektedir. Şekil 3.28 incelendiğinde adsorpsiyon süresi arttıkça elde edilen akım değerlerin de arttığı ve 150 dakika (2,5 saat) sonra sabit bir değere ulaştığı görülmektedir. Bu yüzden en uygun adsorpsiyon süresinin 150 dakika olduğuna karar verilerek çalışmalarda polimer elektrotların modifikasyon işlemleri bu sürede gerçekleştirilmiştir.



Şekil 3.28. Farklı adsorpsiyon sürelerinde hazırlanan KUE/AYPPyNF/Co-FTS elektrotların 5,6 mM glikoz içeren 0,15 M NaOH çözeltisinde elde edilen yükseltgenme akım değerleri

3.3.4. NaOH derişiminin glikoz tayinlerine etkisi

Ayrıca NaOH derişiminin biyosensör cevabı üzerindeki etkisini belirlemek amacıyla daha düşük derişimlerdeki (0,05 ve 0,10 M) NaOH çözeltilerinde 5,6 mM glikoz için denemeler yapılmış ve en yüksek akım değerine 0,15 M'da ulaşıldığı saptanmıştır (Şekil 3.29). 0,15 M'dan daha yüksek derişimlerdeki çalışmalar modifiye edilen türler için çok zorlayıcı bir ortam olacağından (pH açısından) denenmemiştir. Bu nedenle glikoz yükseltgenmesi çalışmalarında 0,15 M NaOH çözeltisi kullanılarak ölçümlere devam edilmiştir.

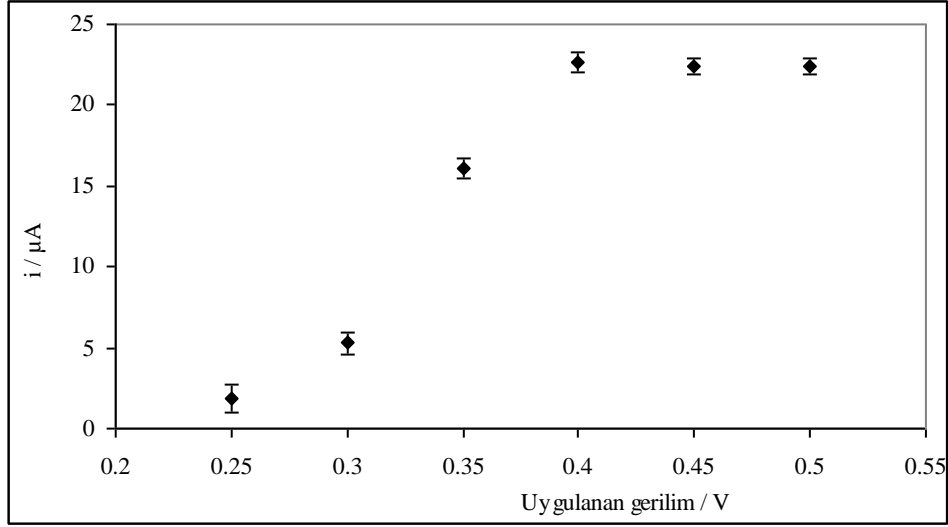


Şekil 3.29. KUE/AYPPyNF/Co-FTS elektrotlar ile farklı derişimlerdeki sulu NaOH çözeltilerinde 5,6 mM glikoz için elde edilen yükseltgenme akım değerleri

3.3.5. Voltametrik analizler ve kalibrasyon eğrisi

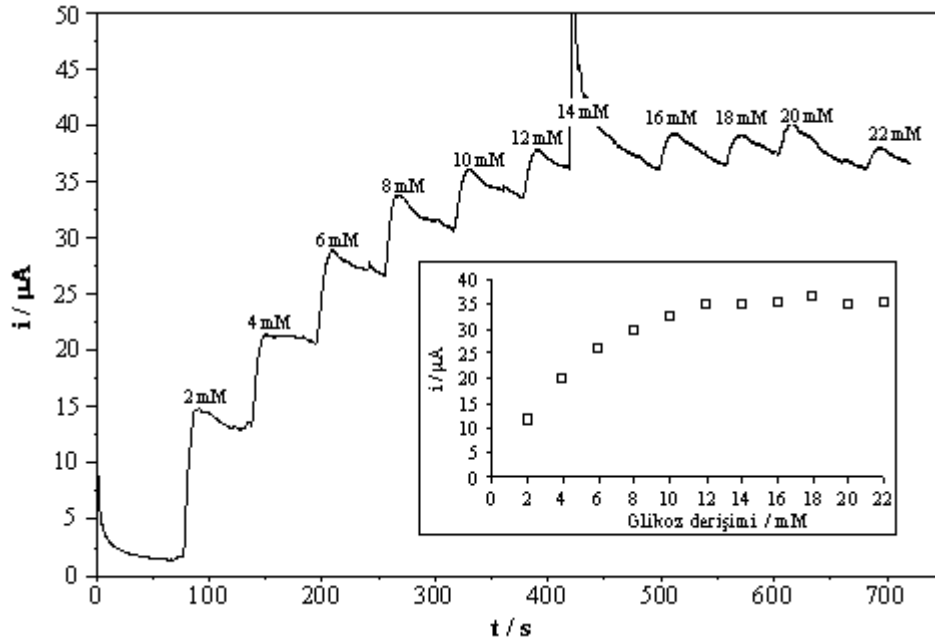
KUE/AYPPyNF/Co-FTS elektrotların elektrokimyasal davranışı hem amperometrik hem de DPV yöntemiyle incelenmiştir. Amperometrik deneylerde en uygun çalışma gerilimini tespit etmek amacıyla 0,25 V'tan 0,50 V'a kadar farklı gerilimlerde denemeler yapılmıştır. Gerilim değeri +0,25 V'tan +0,40 V'a kadar arttırılırken glikoza ait yükseltgenme pik akımı da hızla artmaktadır (Şekil 3.30). 0,40 V'ta en yüksek değerine ulaştıktan sonra artma olmayıp akım değeri

sabit kalmıştır. Bu yüzden amperometrik analizlerde çalışma gerilimi olarak 0,40 V seçilmiştir.



Şekil 3.30. KUE/AYPPyNF/Co-FTS elektrotların amperometrik glikoz ölçümlerinde optimum gerilim değerinin bulunması

Şekil 3.31 KUE/AYPPyNF/Co-FTS elektrot ile 0,40 V'ta glikozun amperometrik tayinini göstermektedir. Şekil 3.31 içindeki grafikte farklı derişimlerdeki glikozun yükseltgenme pik akımına karşı elde edilen cevap görülmektedir. Modifiye elektrot ile 10 mM'a kadar olan glikoz derişimlerinde bir doğrusallık gözlenirken 10 mM'dan daha yüksek derişimlerde yaklaşık 35 µA'de akım sabitlenerek en yüksek değerine ulaşmaktadır. Bununla beraber DPV yöntemiyle glikoza karşı elde edilen doğrusallık aralığı 0,25-20 mM'dır ve 20 mM glikoz için elde edilen akım değeri 114 µA'dir. Bu veriler değerlendirildiğinde glikoz tayinlerinde DPV yönteminin daha uygun olacağına karar verilmiştir.

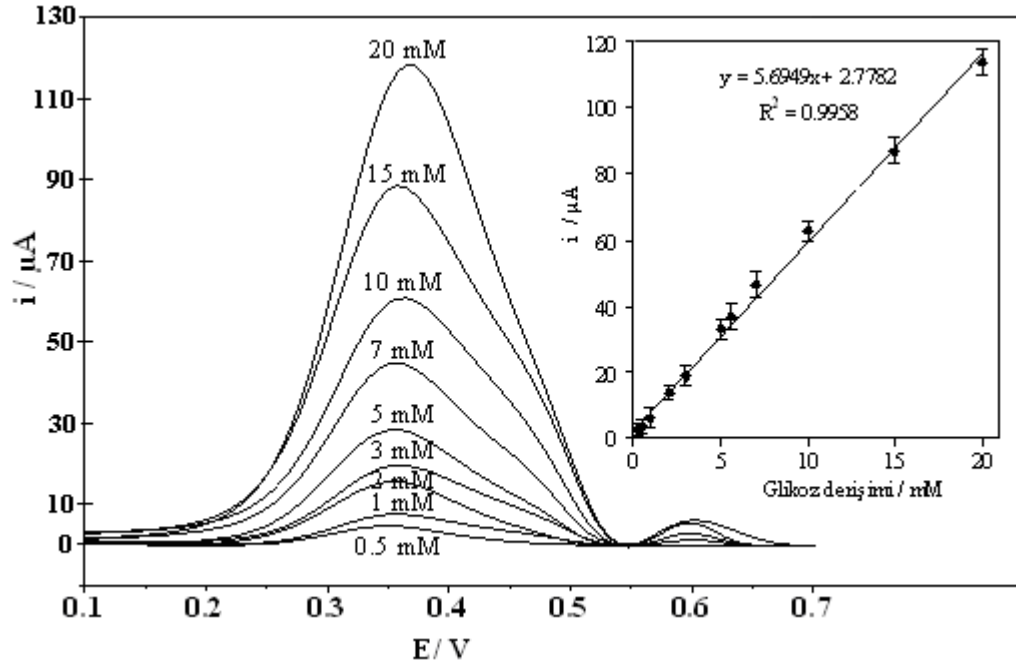


Şekil 3.31. KUE/AYPPyNF/Co-FTS ile 0,15 M NaOH çözeltisinde glikoz için elde edilen kronoamperogram (Çalışma gerilimi: 0,40 V; karışma hızı; 150 devir/dakika)

Adsorplanmış makro-halkalı komplekslerin -0,80 V ile 0,20 V arasında tersinir voltametrik piklere sahip olduğu bilinmektedir. Bu faradayik işlemler tersinir Co(II)/Co(I) redoks çiftinden kaynaklanmaktadır (Lever 1993; Aguirre ve ark. 2002; Gulppi ve ark. 2005). Beklenildiği gibi, Co(II)/Co(I) redoks çiftinin formal redoks gerilimi Co-FTS kompleksinde bulunan elektron çekici grupların etkisiyle metal merkezindeki elektron yoğunluğunun azalmasına ve daha pozitif gerilimlere kaymasına neden olmaktadır. Barrera ve ark. (2006) 0,10 mM glikoz içeren 0,15 M NaOH çözeltisinde +350 mV civarında Co(II)/Co(I) geçişine ait bir pik gözlemlemişlerdir. Bu sonuç bizim çalışmamızda elde ettiğimiz gerilim değerleriyle oldukça uyumludur.

KUE/AYPPyNF/Co-FTS elektrotlar kullanılarak glikoz derişimi ile glikoza ait yükseltgenme pik akım değerleri arasındaki ilişki DPV yöntemiyle incelenerek kalibrasyon grafiği oluşturulmuştur. Bu amaçla 0,15 M NaOH çözeltisi içerisinde düşük glikoz derişimlerden başlanarak yüksek derişimlere kadar çıkılmış ve 0,25 mM ile 20,0 mM aralığında 0,996 korelasyon katsayısı ile bir doğrusallık elde edilmiştir. Şekil 3.32’de modifiye elektrodun glikoza karşı cevabının doğrusal olduğu derişim aralığında elde edilmiş DP voltamogramları ile kalibrasyon grafiği

görülmektedir. KUE/AYPPyNF/Co-FTS ile glikoza karşı elde edilen hassasiyet $5,695 \mu\text{A}/\text{mM}$ 'dir. Yapılan analizler sonucu glikoz için tayin sınırı (3σ) $0,10 \text{ mM}$ olarak bulunmuştur.



Şekil 3.32. KUE/AYPPyNF/Co-FTS ile 0.15 M NaOH çözeltisinde farklı derişimlerdeki glikoz için elde edilen DP voltamogramları ve kalibrasyon eğrisi

3.3.6. Girişim yapan türlerin etkisi

Bir biyosensör için önemli parametrelerden biri de analitin bulunduğu ortamlarda yaygın olarak bulunan ve girişim yapan türlerden etkilenmeden tayin yapabilesidir. KUE/AYPPyNF/Co-FTS elektrotların glikoza karşı verdiği voltametrik cevabın askorbik asit, L-sistein, ürik asit ve parasetamol gibi bazı girişim yapabilecek elektroaktif türlerin varlığından nasıl etkilendiği test edilmiştir. Normal fizyolojik derişimdeki (5,6 mM) glikozun yükseltgenme akımına, girişim yapan türlerin hem fizyolojik (Zheng ve ark. 2002) hem de daha yüksek derişimlerindeki etkileri DPV ile incelenmiştir. KUE/AYPPyNF/Co-FTS ile 5,6 mM glikoz için girişim yapan türlerin varlığında ve yokluğunda elde edilen yükseltgenme pik akımı değerleri Çizelge 3.5'te karşılaştırmalı olarak

verilmektedir. 5,6 mM glikoz ve girişim yapan türlerin normal fizyolojik derişimlerinde olduğu bütün hallerde önemli bir girişimin olmadığı saptanmıştır. Böyle bir durumda askorbik asit % 1,81, L-sistein % 1,22, ürik asit % 5,51 ve parasetamol % 5,68 oranlarında girişim yapmaktadırlar. Askorbik asit ve L-sistein oldukça az girişime neden olmakta ve KUE/AYPPyNF/Co-FTS elektrot ile bu türler varlığında glikoz için yüksek seçicilikte tayinler yapılabilmektedir. Ürik asit ve parasetamol varlığı ise biraz girişime neden olmaktadır. Co-FTS'in elektrokatalitik olarak bu türlerin yükseltgenmesine de katkıda bulunabileceği ve bu girişimden sorumlu olabileceği düşünülmektedir.

Çizelge 3.5. KUE/AYPPyNF/Co-FTS ile 5,6 mM glikoz için DPV ile elde edilen akım cevabına girişim yapan türlerin etkisi

Girişim yapan tür	Girişim yapan türün derişimi (mM)	KUE/AYPPyNF/Co-FTS ile 5,6 mM glikoz için akımdaki ^a değişim (μ A)	% B.S.S. ^b
Askorbik asit	0,10*	+0,67	2,4
	0,25	-1,81	2,1
	0,50	-3,43	2,1
L-sistein	0,05*	-0,45	2,6
	0,10	+0,72	2,3
	0,25	+1,29	1,9
Ürik asit	0,25	-0,96	1,9
	0,50*	-2,04	1,8
	1,00	-4,62	1,3
Parasetamol	0,10*	-2,10	2,0
	0,25	-3,92	2,2
	050	-5,87	2,0

^a Girişim yapan tür yokken akım 37 μ A'dir

^b Üç ayrı deney için elde edilmiştir

* Normal fizyolojik seviye

3.3.7. Gerçek örneklerle yapılan tayinler

Biyosensörün doğruluğunu ve güvenilirliğini belirlemek amacıyla, serum örneklerinde glikozun tayini yapılmıştır. Serum örnekleri ve bunlara ait spektroskopik analiz sonuçları Anadolu Üniversitesi Hastanesinden temin edilmiştir. KUE/AYPPyNF/Co-FTS elektrot ile serum örnekleri içindeki glikoz miktarları matriks etkilerini en aza indirmek amacıyla standart ekleme yöntemi kullanılarak saptanmıştır. Çizelge 3.6'daki sonuçlar incelendiğinde standart klinik bir laboratuvarında elde edilen sonuçlar ile KUE/AYPPyNF/Co-FTS elektrot kullanılarak elde edilen sonuçların oldukça uyumlu oldukları görülmektedir. Pek çok girişim yapan türün bulunduğu serum örneklerindeki glikoz miktarının KUE/AYPPyNF/Co-FTS elektrot kullanılarak tayin edilebilmesi kullanılan yöntemin oldukça ümit verici olduğunu ve klinik analizlerde kullanılabileceğini göstermektedir.

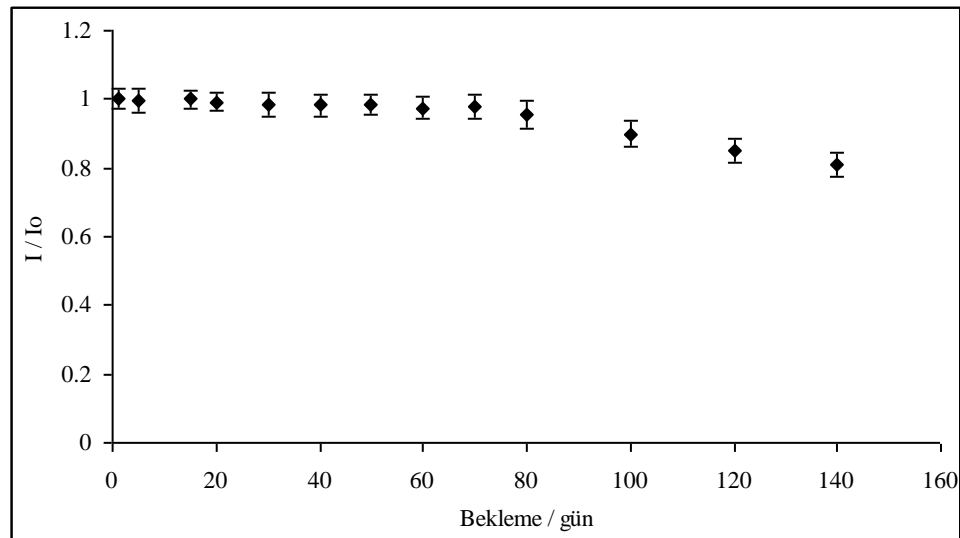
Çizelge 3.6. KUE/AYPPyNF/Co-FTS elektrot ve klinik bir laboratuvarında yapılan analizler ile serum örneklerindeki bulunan glikoz miktarları

Serum no	Hastenede belirlenen miktar (% B.S.S.)	KUE/AYPPyNF/Co-FTS ile belirlenen miktar (% B.S.S.)
1	9,5 mM (2,5)	9,2 mM (2,6)
2	13,1 mM (2,3)	12,7 mM (2,3)
3	8,3 mM (2,1)	8,0 mM (2,0)
4	7,8 mM (2,2)	7,6 mM (2,0)

3.3.8. KUE/AYPPyNF/Co-FTS elektrodun yeniden üretilebilirliği ve kararlılığı

KUE/AYPPyNF/Co-FTS elektrodun yeniden üretilebilirliği 3,0 mM glikoz derişimi için belirlenmiştir. Aynı koşullarda elde edilen farklı elektrotlar ile 3,0 mM glikoz için ard arda yapılan 6 ölçümde elde edilen akım cevabının bağıl standart sapması % 2,7 olarak bulunmuştur.

Bir biyosensör için uzun süre etkinliğini yitirmeden kararlı kalabilmesi önemli bir özelliktir. Kararlılık ile ilgili çalışmalar için aynı koşullarda pek çok elektrot üretilmiş (tek kullanımlık) ve bu elektrotlar ile belli zaman aralıklarında 5,0 mM glikoz için ölçümler alınmıştır. Bu ölçümlerde elde edilen akım değerleri başlangıçtaki cevaba oranlanmıştır. Elektrotlar kullanılmadığında oda sıcaklığında muhafaza edilmişlerdir. Şekil 3.33'de yapılan ölçümler sonucu elde edilen veriler gösterilmektedir. KUE/AYPPyNF/Co-FTS elektrodun ilk gün elde edilen akım değerinin 70 gün boyunca % 98'ini koruduğu tespit edilmiştir. Sonra elektrodun cevabında yavaş yavaş bir düşme gözlenmekle birlikte 140 gün sonunda bile akım kararlılığı % 81'dir.



Şekil 3.33. KUE/AYPPyNF/Co-FTS elektrodun 5,0 mM glikozla karşı verdiği cevabın zamanla değişimi. I: Biyosensörün ölçüldüğü günlük cevabı, I₀: Biyosensörün ilk ölçüldüğü günlük cevabı

3. SONUÇLAR

Bu çalışmada, elektrokimyasal olarak sentezlenen polipirol modifiye edilerek parasetamol, askorbik asit ve glikoz tayinlerinde biyosensör olarak kullanılabilirliği araştırılmıştır. Bu çalışmaların tamamında çalışma elektrodu olarak çok ucuz, kolay bulunabilen, elektropolimerizasyona uygun olan kalem ucu elektrotlar kullanılmıştır. Analitlerin elektroanalitik ölçümleri diferansiyel puls voltametri (DPV) yöntemiyle gerçekleştirilmiştir.

Parasetamol ve askorbik asit tayini için elektrokimyasal moleküler baskılama yöntemiyle sentezlenen polipirol filmleri kullanılmıştır. Öncelikle elektrotların analitlere karşı verdiği cevabı etkileyebilecek olan değişkenler incelenmiş ve polipirolün elektrokimyasal baskılanması için gerekli koşullar hem parasetamol hem de askorbik asit için ayrı ayrı belirlenmiştir.

Parasetamol tayinleri için en uygun elektrotların 0,05 M pirol, 0,10 M LiClO₄ ve 0,020 M parasetamol içeren sulu çözeltilerden -0,60 V ile +0,80 V arasında dört döngülü gerilim taramasıyla hazırlanan elektrotlar olduğu tespit edilmiştir. Baskılanmış polipirol filmi içindeki parasetamolü uzaklaştırarak parasetamol için seçici tanıma bölgeleri oluşturmak amacıyla 0,10 M KCl içeren 0,05 M fosfat tamponu (FT, pH= 7) çözeltisinde -0,6 ile +1,0 V arasında 20 döngülü gerilim taraması yapılmıştır (elektrokimyasal uzaklaştırma). Parasetamol baskılanmış polipirol elektrotlar kullanılarak DPV yöntemiyle yapılan ölçümler sonucunda parasetamol derişimi ve yükseltgenme pik akımı arasında doğrusal ilişkinin olduğu iki bölge belirlenmiştir. İlk bölge 5 µM'dan 0,50 mM'a kadar (R²: 0,996) ikinci bölge ise 1,25 mM'dan 4,5 mM'a kadar (R²:0,990) daha düşük bir eğimle doğrusallık göstermektedir. Hazırlanan elektrot ile parasetamol için elde edilen tayin sınırı (3σ) 7,9x10⁻⁷ M'dır. Baskılanmış ve baskılanmamış polipirol ile girişim yapan türlerin varlığında parasetamol miktar tayinleri yapılmıştır. Baskılanmış elektrotların girişim yapan türlerin varlığında yapılan analizlerinin baskılanmamış elektrotlar ile yapılanlara göre çok daha az etkilendiği tespit edilmiştir. Baskılanmış polipirol elektrotlar gerçek örnekler (ilaçlar ve şuruplar) içerisindeki parasetamol miktarlarının tayininde başarılı bir şekilde kullanılmıştır. Bu sonuçlar KUE yüzeyinde elektrokimyasal moleküler baskılama

yöntemiyle hazırlanan polipirol elektrotların parasetamol tayinlerinde seçiciliği yüksek bir biyosensör olarak kullanılabileceğini göstermektedir. Çizelge 4.1 baskılanmış polipirol elektrot performansını son zamanlarda yapılan bazı çalışmalarla karşılaştırmalı olarak vermektedir. Bu çalışma sonucunda elde edilen veriler “Sensors and Actuators B” dergisinde yayınlanmıştır.

Çizelge 4.1. MIP elektrodun parasetamol tayinlerindeki elektrokimyasal performansının literatür ile karşılaştırılması

Elektrot	Doğrusal aralık (mM)	Tayin sınırı (μM)	Kaynak
KUE/MIP	0,005-0,50 ve 1,25-4,50	0,79	Bu çalışma (Özcan ve Şahin 2007)
MIP/CFE	0,0065-2,00	1,5	Gomez-Cabellero ve ark.2005
PANI/MWCNTs/GCE	0,001-0,10 ve 0,25-2,00	0,25	Li ve Jing. 2007
C-Ni/GCE	0,0078-0,11	2,3	Wang ve ark. 2007
Nafion/GCE	0,05-0,50	17	Silva ve ark. 2006

MIP/CFE: Moleküler baskılanmış karbon fiber elektrot

PANI/MWCNTs/GCE: Polianilin-çok duvarlı karbon nanotüp modifiye camı karbon elektrot

C-Ni/GCE: Karbon kaplı nikel nanoparçacık modifiye camı karbon elektrot

Nafion/GCE: Nafyon modifiye camı karbon elektrot

Moleküler baskılama yöntemi askorbik asit çalışmalarında da uygulanmıştır. Yapılan deneyler sonucunda askorbik asit tayinleri için en uygun elektrotların 0,025 M pirol, 0,10 M LiClO_4 ve 0,010 M askorbik asit içeren sulu çözeltilerden -0,60 V ile +0,80 V arasında 7 döngülü gerilim taramasıyla hazırlandığı belirlenmiştir. Baskılanmış polipirol filmi içindeki askorbik asiti uzaklaştırmak için elektrotlar manyetik karıştırıcı ile karıştırılan 0,05 M fosfat tamponu (pH= 7) çözeltilisinde 15-20 dakika bekletilmiştir (kimyasal uzaklaştırma).

Askorbik asit baskılı polipirol elektrotlar ile yapılan ölçümler sonucu askorbik asit derişimi ve yükseltgenme pik akımı arasında 0,25 mM'dan 7,0 mM'a kadar ($R^2:0,995$) doğrusal bir ilişki gözlenirken tayin sınırının $7,4 \times 10^{-5}$ M olduğu saptanmıştır. Baskılanmış polipirol elektrot ile girişim yapan türlerin varlığında askorbik asit miktar tayinleri yapılmış ve baskılanmış elektrotların girişim yapan türlerin varlığından çok fazla etkilenmediği gözlenmiştir. Bunun

yanında hazırlanan elektrotlar farklı tabletler içindeki askorbik asit miktarlarının belirlenmesinde başarıyla uygulanmıştır. Elde edilen sonuçlar KUE yüzeyinde moleküler baskılama yöntemiyle elektrokimyasal olarak hazırlanan polipirol elektrotların seçici bir şekilde askorbik asit tayinlerinde biyosensör olarak kullanılabileceğini göstermektedir. Literatür incelendiğinde moleküler baskılanmış polipirol kullanılarak elektrokimyasal askorbik asit tayini ilk olarak bu çalışma ile gerçekleştirilmiştir.

Bu tez çalışmasında analizi yapılan bir diğer biyolojik tür glikozdur. Bu amaçla, aşırı yükseltgenmiş nanofiber yapıları polipirol kobalt(II) ftalosiyani tetrasülfonat ile modifiye edilmiş (KUE/AYPPyNF/Co-PcTS) ve en önemlisi enzimin kullanılmadığı bir glikoz sensörü geliştirilmiştir. Oldukça düşük maliyetle ve kolayca üretilen bu elektrotlar kullanılarak 0,15 M NaOH çözeltisinde glikozun doğrudan yükseltgenme verileri kullanılarak analizler yapılmıştır. Geliştirilen bu biyosensör 0,25 mM ile 20 mM glikoz derişim aralığında glikoza karşı (R^2 : 0,996) doğrusal bir cevap vermektedir. Sağlıklı ve şeker hastalığı olan kişilerde glikoz seviyesi genellikle 0,2-20 mM arasında değişmektedir (Eggins 2002). Hazırlanan KUE/AYPPyNF/Co-PcTS elektrotların doğrusal cevap aralığı sağlıklı ve şeker hastası kişilerin kanlarındaki glikoz seviyelerini hemen hemen kapsadığından önemli bir üstünlük olarak karşımıza çıkmaktadır. Ayrıca hazırlanan KUE/AYPPy/Co-FTS elektrotlar literatürdeki diğer enzimsiz elektrotlardan (Barrera ve ark. 2006; Kang ve ark. 2007; Li ve ark. 2007) ve Co-F/enzim modifiye elektrotlardan (Mizutani ve ark. 1995; Crouch ve ark. 2005; Wang ve ark. 2005; Ye ve ark. 2005) daha geniş bir doğrusal cevap aralığına sahiptir. Glikoz için belirlenen tayin sınırı 0,10 mM'dır. Girişim çalışmaları, glikozun fizyolojik derişiminde (5,6 mM) elde edilen yükseltgenme pik akımının girişim yapan türler varlığında nasıl etkilendiği belirlenerek yapılmıştır. Girişim yapan türlerin (askorbik asit, ürik asit, L-sistein ve parasetamol) normal fizyolojik derişimleri KUE/AYPPyNF/Co-FTS elektrot ile yapılan analiz sonuçlarını önemli derecede etkilememiştir. Ayrıca bu elektrotlar serum örneklerindeki glikoz miktarlarının tayininde de kullanılmıştır. Elde edilen sonuçlar hastanedeki sonuçlar ile oldukça uyumludur. Aynı zamanda elektrotların oda koşullarında saklandıklarında bile çok uzun süre kararlılıklarını korudukları

tespit edilmiştir. Elde edilen sonuçlar, KUE yüzeyinde elektrokimyasal olarak sentezlenen aşırı yükseltgenmiş nanofiber yapıları polipirolün Co-FTS ile modifikasyonunun enzimsiz bir glikoz biyosensörü üretimi için çok uygun olduğunu göstermiştir. Kullanılan yöntem ve malzemeler oldukça düşük maliyetlidir. Çizelge 4.2 KUE/AYPPyNF/Co-PcTS elektrot performansını son zamanlarda yapılan bazı çalışmalarla karşılaştırmalı olarak vermektedir. Bu çalışma sonucunda elde edilen veriler “Biosensors and Bioelectronics” dergisinde baskı aşamasındadır.

Çizelge 4.2. KUE/AYPPyNF/Co-PcTS elektrodun glikoz tayinlerindeki elektrokimyasal performansının literatür ile karşılaştırılması

Elektrot	Doğrusal aralık (mM)	Tayin sınırı (μM)	Kaynak
KUE/AYPPyNF/Co-PcTS	0,25-20	100	Bu çalışma (Özcan ve ark. 2008)
CoPc/PG	5 mM'a kadar	-	Barrera ve ark. 2006
Gözenekli Au	2-20	5	Li ve ark. 2007
Cl/CoPC-GO	0,2-5	200	Crough ve ark. 2005
NanoCoPC-GO/PGE	0,02-18	5	Wang ve ark. 2005
GODPOAP/FePc-MWNTs	4 mM'kadar	0,2	Ye ve ark. 2005

CoPc/PG: Co-ftalosiyenin modifiye pirolitik grafit elektrot

Cl/CoPC-GO: Co-ftalosiyenin ve glikoz oksidaz modifiye karbon mürekkep elektrot

NanoCoPC-GO/PGE: Nano yapıları Co-ftalosiyenin ve GO modifiye pirolitik grafit elektrot

GODPOAP/FePc-MWNTs: Poli-o-aminofenol-GO ve Fe-ftalosiyenin modifiye çok duvarlı karbon nanotüp elektrot

Şimdiye kadar yapılan tüm bu çalışmalar boyunca harcanan KUE'ların maliyeti ticari olarak temin edilen bir tane camı karbon elektrodun maliyetine ulaşmamıştır. Bu açıdan düşünüldüğünde çok ucuza temin edilebilen elektrot malzemesi kullanılarak gerçekleştirilen bu modifikasyonlar minyatürize edilmiş analiz sistemleri için oldukça uygun gözükmektedir. Bu sistemlerin çoğunda tek kullanımlık elektrotlar tercih edilmektedir ve bu elektrotlar ne kadar ucuza temin edilebilirse analiz başına düşen maliyet de o kadar azalmaktadır. Özellikle rutin analizlerin yapıldığı klinik laboratuvarlarda bu daha da önem kazanmaktadır.

Klinik laboratuvarlarda teŖhis amacıyla gerekleŖtirilen analizlerin karmaŖık n iŖlemler gerektirmeyen yöntemlerle ve daha ucuza yapılabilmesi için çaba sarfedildiği bilinmektedir. Özellikle elektrokimyasal prensiple alıŖan eŖitli portatif sensörlerin mevcut olduğu günümüzde, seçici analizler yapan modifiye elektrotların, dŖk maliyetli elektrokimyasal sistemlerde kullanılmasıyla çok sayıda madde için sensör geliŖtirilmesi mümkündür. Bu bağlamda dŖnldđnde; parasetamol, askorbik asit ve glikoz tayini amacıyla geliŖtirilen yeni biyosensörlerin analitik amaçlar için etkin bir Ŗekilde kullanılabileceği sonucuna varılmıŖtır.

KAYNAKLAR

- Adeloju, S.B. ve Moline, A.N. (2001), "Fabrication of ultra-thin polypyrrole–glucose oxidase film from supporting electrolyte-free monomer solution for potentiometric biosensing of glucose" *Biosens. Bioelectron.*, **16**, 133-139.
- Adhikari, B. ve Majumdar, S. (2004), "Polymer in sensor applications" *Prog. Polym. Sci.*, **29**, 699-766.
- Aguirre, M.J., Isaacs, M., Armijo, F., Basáez, L. ve Zagal, J.H. (2002), "Effect of the substituents on the ligand of iron phthalocyanines adsorbed on graphite electrodes on their activity for the electrooxidation of 2-mercaptoethanol" *Electroanalysis*, **14**, 356-362.
- Ahuja, T., Mir, I.A., Kumar, D. ve Rajesh (2007), "Biomolecular immobilization on conducting polymers for biosensing applications" *Biomaterials*, **28**, 791-805.
- Arya, S.P., Mahajan, M. ve Jain, P. (1998), "Photometric methods for the determination of Vitamin C" *Anal. Sci.*, **14**, 889-895.
- Arya, S.P., Mahajan, M. ve Jain, P. (2000), "Non-spectrophotometric methods for the determination of Vitamin C" *Anal. Chim. Acta*, **417**, 1-14.
- Aydın, A. (2002), *Pirolün elektrokimyasal polimerizasyonuna organik asit etkilerinin incelenmesi*, Yüksek Lisans Tezi, Anadolu Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Eskişehir.
- Barrera, C., Zhukov, I., Villagra, E., Bedioui, F., Páez, M.A., Costamagna, J. ve Zagal, J.H. (2006), "Trends in reactivity of unsubstituted and substituted cobalt-phthalocyanines for the electrocatalysis of glucose oxidation" *J. Electroanal. Chem.*, **589**, 212-218.
- Bartlett, P.N. ve Cooper, J.M. (1993), "A review of the immobilization of enzymes in electropolymerized films" *J. Electroanal. Chem.*, **362**, 1-12.
- Bartlett, P.N. ve Wallace, E.N.K., (2001), "The oxidation of ascorbate at poly(aniline)–poly(vinylsulfonate) composite coated electrodes" *Phys. Chem. Chem. Phys.*, **3**, 1491-1496.
- Beden, B., Largeaud, F., Kokoh, K. B. ve Lamy, C. (1996), "Fourier transform infrared reflectance spectroscopic investigation of the electrocatalytic

- oxidation of D-glucose: Identification of reactive intermediates and reaction products” *Electrochim. Acta*, **5**, 701-709.
- Blanco-Lopez, M.C., Lobo-Castanon, M.J., Mirando-Ordieres, A.J. ve Tunon-Blanco, P. (2003), “Voltammetric sensor for vanillylmandelic acid based on molecularly imprinted polymer-modified electrodes” *Biosens. Bioelectron.*, **18**, 353-362.
- Bosch, M.E., Sanchez, A.J.R., Rojas, F. ve Ojeda, C.B. (2006), “Determination of paracetamol: Historical evolution” *J. Pharm. Biomed. Anal.*, **42**, 291–321.
- Buerk, D.G. (1993), *Biosensors: Theory and Applications*, CRC Press, A.B.D., 6-16.
- Chandrasekhar, P. (1999), *Conducting Polymers, Fundamentals and Applications*, Kluwer Academic Publishers, A.B.D., No:1, 718.
- Chiang, C.K, Fincher, C.R., Park, Y.W., Heeger, A.J., Shirakawa, H., Louis, E.J., Gau, S.C. ve Macdiarmid, A.G. (1977), “Electrical conductivity in doped polyacetylene” *Phys. Rev. Lett.*, **39**, 1098-1101.
- Crouch, E., Cowell, D.C., Hoskins, S., Pittson, R.W. ve Hart, J.P. (2005), “Amperometric, screen-printed, glucose biosensor for analysis of human plasma samples using a biocomposite water-based carbon ink incorporating glucose oxidase” *Anal. Biochem.*, **347**, 17-23.
- Cosnier, S., Senillou A., Gratzel, M., Comte, P., Vlachopoluos, N., Renault, N.J. ve Martelet, C. (1999), “A glucose biosensor based on enzyme entrapment within polypyrrole films electrodeposited on mesoporous titanium dioxide” *J. Electroanal. Chem.*, **469**, 176-181.
- Cosnier, S. (2003), “Biosensors based on electropolymerized films: New trends” *Anal. Bioanal. Chem.*, **377**, 507-520.
- Czerwinski, A., Cunningham, D.D., Amer, A., Schrader, J.R., Vanpham, C., Zimmer, H., Mark, H.B. ve Pons, S. (1987), “The electrochemical-behavior in aqueous-media of conducting polymers” *J. Electrochem. Soc.*, **134**, 1158-1164.
- De Benedetto, G.E., Palmisano, F. ve Zambonin, P.G. (1996), “Flow-through tyrosinase enzyme reactor based on reticulated vitrous carbon functionalized by an electrochemically synthesized film” *Anal. Chim. Acta*, **326**, 149-154.

- Deore, B., Chen, Z.D. ve Nagaoka, T. (2000), "Potential-induced enantioselective uptake of amino acid into molecularly imprinted overoxidized polypyrrole" *Anal. Chem.*, **72**, 3989–3994.
- Ebarvia, B.S., Cabanilla, S. ve Sevilla, F. (2005), "Biomimetic properties and surface studies of a piezoelectric caffeine sensor based on electrosynthesized polypyrrole" *Talanta*, **66**, 145–152.
- Eggins, B.R. (1996), *Biosensors: An Introduction*, John Wiley & Sons, West Sussex, İngiltere., 1-3.
- Eggins, B.R. (2002), *Chemical Sensors and Biosensors*, John Wiley & Sons, West Sussex, İngiltere., 5-9.
- Ercan, B. (2006), *Polipirolün elektrokimyasal katı-faz ekstraksiyon kolonu olarak kullanımı*, Yüksek Lisans Tezi, Anadolu Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Eskişehir.
- Ersöz, A., Gavalas, V.G. ve Bachas, L.G. (2002), "Potentiometric behavior of electrodes based on overoxidized polypyrrole films" *Anal. Bioanal. Chem.*, **372**, 786-790.
- Farrington, A.M. ve Slater, J.M. (1997), "Prediction and characterization of the charge/size exclusion properties of over-oxidized poly(pyrrole) films" *Electroanalysis*, **9**, 843-847.
- Fernandez, I., Trueba, M., Nunez, C.A. ve Rieumont, J. (2005), "Some features of the overoxidation of polypyrrole synthesized on austenitic stainless steel electrodes in aqueous nitrate solutions" *Surf. Coat. Technol.*, **191**, 134-139.
- Gao, Z.Q., Chen, B. ve Zi, M.X. (1994a), "Electrochemistry of ascorbic acid at polypyrrole/ dodecyl sulphate film-coated electrodes and its application" *J. Electroanal. Chem.*, **365**, 197-205.
- Gao, Z., Minxian, Z. ve Beshen C. (1994b), "The influence of overoxidation treatment on the permeability of polypyrrole films" *J. Electroanal. Chem.*, **373**, 141-148.
- Gao, W., Song, J. ve Wu, N. (2005), "Voltammetric behavior and square-wave voltammetric determination of trepibutone at a pencil graphite electrode" *J. Electroanal. Chem.*, **576**, 1-7.

- Garg, S.K., Hoff, H.K. ve Chase, H.P. (2004), "The role of continuous glucose sensors in diabetes care" *Endocrinology & Metabolism Clinics of North America*, **33**, 163-173.
- Gerard, M., Chaubey, A. ve Malhotra B.D. (2002), "Application of conducting polymers to biosensors" *Biosens. Bioelectron.*, **17**, 345-349.
- Gomez-Cabellero, A., Goicolea, M.A. ve Barrio, R.J. (2005), "Paracetamol voltammetric microsensors based on electropolymerized-molecularly imprinted film modified carbon fiber microelectrodes" *Analyst*, **130**, 1012–1018.
- Guerrieri, A., De Benedetto, G.E., Palmisano, F. ve Zambonin, P.G. (1998), "Electrosynthesized non-conducting polymers as permselective membranes in amperometric enzyme electrodes a glucose biosensor based on a co-crosslinked glucose oxidize/overoxidized polypyrrole bilayer" *Biosens. Bioelectron.*, **13**, 103-112.
- Gulppi, M., Bedioui, F. ve Zagal, J.H. (2001), "Overoxidized polypyrrole/cobalt tetrasulfonated phthalocyanine modified ultramicro-carbon-fiber electrodes for the electrooxidation of 2-mercaptoethanol" *Electroanalysis*, **13**, 1136-1139.
- Gulppi, M.A., Paez, M.A., Costamagna, J.A., Cardenas-Jiron, G., Bedioui, F. ve Zagal, J.H. (2005), "Inverted correlations between rate constants and redox potential of the catalyst for the electrooxidation of 2-aminoethanethiol mediated by surface confined substituted cobalt-phthalocyanines" *J. Electroanal. Chem.*, **580**, 50-56.
- Haupt, K. (2001), "Molecularly imprinted polymers in analytical chemistry" *Analyst*, **126**, 747–756.
- Haupt, K. (2003), "Imprinted polymers—Tailor-made mimics of antibodies and receptors" *Chem. Commun.*, 171–178.
- Holthoff, E.L. ve Bright, F.V. (2007), "Molecularly templated materials in chemical sensing" *Anal. Chim. Acta*, **594**, 147–161.
- Ishifune, M., Suzuki, R., Mima, Y., Uchida, K., Yamashita, N. ve Kashimura, S. (2005), "Novel electrochemical surface modification method of carbon fiber

- and its utilization to the preparation of functional electrode” *Electrochim. Acta*, **51**, 14–22.
- Ito, T., Shirakawa, H. ve Ikeda, S. (1974), “Simultaneous polymerization and formation of polyacetylene film on the surface of concentrated soluble Ziegler-type catalyst solution” *J. Polym. Sci.: Polym. Chem. Ed.*, **12**, 11-20.
- Johnson, K.A. ve Kriz, D. (1997), “Development of a three-electrode cell containing a polypyrrole coated auxiliary electrode” *Instrum. Sci. Technol.*, **25**, 29-38.
- Kajiya, Y., Sugai, H., Iwakura, C. ve Yoneyama, H. (1991), “Glucose sensitivity of polypyrrole films containing immobilized glucose oxidase and hydroquinone sulphonate ions” *Anal. Chem.*, **63**, 49-54.
- Klein, J.U., Whitcombe, M.J., Mulholland F. ve Vulfson, E.N. (1999), “Template-mediated synthesis of a polymeric receptor specific to amino acid sequences” *Angew. Chem. Int. Ed.*, **38**, 2057-2060.
- Kraljic, M., Mandic, Z. ve Duic, Lj. (2003), “Inhibition of steel corrosion by polyaniline coatings” *Corros. Sci.*, **45**, 181–198.
- Kang, X., Mai, Z., Zou, X., Cai, P., Mo, J., Joo, S., Park, S., Chung, T.D. ve Kim, H.C. (2007), “Integration of a nanoporous platinum thin film into a microfluidic system for non-enzymatic electrochemical glucose sensing” *Anal. Sci.*, **23**, 277-281.
- King, H., Aubert, R.E. ve Herman, W.H. (1998), “Global burden of diabetes, 1995-2025: Prevalence, numerical estimates, and projections” *Diabetes Care*, **21**, 1414-1431.
- Komaba, S., Seyama, M., Momma, T. ve Osaka, T. (1997), “Potentiometric biosensor for urea based on electropolymerized electroinactive polypyrrole” *Electrochim. Acta*, **42**, 383-388.
- Kudoh, Y. (1996), “Properties of polypyrrole prepared by chemical polymerization using aqueous solution containing $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$ and anionic surfactant” *Synth. Met.*, **79**, 17-22.
- Kuhnline, C.D., Gangel, M.G., Hulvey, M.K. ve Martin, R.S. (2006), “Detecting thiols a microchip device using micromolded carbon ink electrodes modified with cobalt phthalocyanine” *Analyst*, **131**, 202-207.

- Lange, U., Roznyatovskaya, N.V. ve Mirsky, V.M. (2008), "Conducting polymers in chemical sensors and arrays" *Anal. Chim. Acta*, **614**, 1-26.
- Lever, A.B.P. (1993), "Derivation of metallophthalocyanine redox potentials via Hammett parameter analysis" *Inorg. Chim. Acta*, **203**, 171-174.
- Leznoff, C.C. ve Lever, A.B.F. (eds), (1989), *Phthalocyanines: Properties and Applications*. VCH, New-York, A.B.D.
- Li, M. ve Jing, L. (2007), "Electrochemical behavior of acetaminophen and its detection on the PANI-MWCNTs composite modified electrode" *Electrochim. Acta*, **52**, 3250-3257.
- Li, J. ve Lin, X. (2007), "Glucose biosensor based on immobilization of glucose oxidase in poly(*o*-aminophenol) film on polypyrrole-Pt nanocomposite modified glassy carbon electrode" *Biosens. Bioelectron.*, **22**, 2898-2905.
- Li, Y., Song, Y.Y., Yang, C. ve Xia, X.H. (2007), "Hydrogen bubble dynamic template synthesis of porous gold for nonenzymatic electrochemical detection of glucose" *Electrochem. Commun.*, **9**, 981-988.
- Lopes, I.C., Souza, D.D., Machado, S.A.S. ve Tanaka, A.A. (2007), "Voltammetric detection of paraquat pesticide on a phthalocyanine-based pyrolytic graphite electrode" *Anal. Bioanal. Chem.*, **388**, 1907-1914.
- Luz, R.C.S., Moreira, A.B., Damos, F.S., Tanaka, A.A. ve Kubota, L.T. (2006), "Cobalt tetrasulphonated phthalocyanine immobilized on poly-L-lysine film onto glassy carbon electrode as amperometric sensor for cysteine" *J. Pharm. Biomed. Anal.*, **42**, 184-191.
- Lyons, M.E.G., Breen, W. ve Cassidy, J. (1991), "Ascorbic acid oxidation at polypyrrole-coated electrodes" *J. Chem. Soc. Faraday Trans.*, **87**, 115-123.
- Majidi, M.R., Jouyban A. ve Asadpour-Zeynali K. (2006), "Voltammetric behaviour and determination of ionized in pharmaceuticals by using overoxidized polypyrrole glassy carbon modified electrode" *J. Electroanal. Chem.*, **589**, 32-37.
- Malinauskas, A., Garjonytė, R., Mažeikienė, R. ve Jurevičiūtė, I. (2004), "Electrochemical response of ascorbic acid at conducting and electrogenerated polymer modified electrodes for electroanalytical applications" *Talanta*, **64** 121-129.

- Malitesta, C., Losito, I. ve Zambonin, P.G. (1999), "Molecularly imprinted electrosynthesized polymers: New materials for biomimetic sensors" *Anal. Chem.*, **71**, 1366-1370.
- Mao, F., Mano N. ve Heler, A. (2003), "Long tethers binding redox centers to polymer backbones enhance electron transport in enzyme "Wiring" hydrogels" *J. Am. Chem. Soc.*, **125**, 4951-4957.
- Maree, S. ve Nyokong, T. (2000), "Electrocatalytic behavior of substituted cobalt phthalocyanines towards the oxidation of cysteine" *J. Electroanal. Chem.*, **492**, 120-127.
- Masawat, P., Liawruangrath, S., Vaneesorn, Y. ve Liawruangrath, B. (2002), "Design and fabrication of a low-cost flow-through cell for the determination of acetaminophen in pharmaceutical formulations by flow injection cyclic voltammetry" *Talanta*, **58**, 1221-1234.
- Mashazi, P.N., Ozoemena, K.I. ve Nyokong, T. (2006), "Tetracarboxylic acid cobalt phthalocyanine SAM on gold: Potential applications as amperometric sensor for H₂O₂ and fabrication of glucose biosensor" *Electrochim. Acta*, **52**, 177-186.
- Matemadombo, F. ve Nyokong, T. (2007), "Characterization of self-assembled monolayers of iron and cobalt octaalkylthiosubstituted phthalocyanines and their use in nitrite electrocatalytic oxidation" *Electrochim. Acta*, **52**, 6856-6864.
- Mizoguchi, K., Kachi, N., Sakamoto, H., Kume, K., Yoshioka, K., Masubuchi, S. ve Kazama, S. (1997), "Magnetic properties in polypyrrole doped by series of dopants" *Synth. Met.*, **84**, 695-698.
- Mizutani, F., Yabuki, S. ve Iijima, S. (1995), "Amperometric glucose-sensing electrode based on carbon paste containing poly (ethylene glycol)-modified glucose oxidase and cobalt octaethoxyphthalocyanine" *Anal. Chim. Acta*, **300**, 59-64.
- Mizutani, F. ve Yabuki, S. (1997), "Rapid determination of glucose and sucrose by an amperometric glucose-sensing electrode combined with an invertase/mutarotase-attached measuring cell" *Biosens. Bioelectron.*, **12**, 1013-1020.

- Mostany, J. ve Scharifker, B.R. (1997), "Impedance spectroscopy of undoped, doped and overoxidized polypyrrole films" *Synth. Met.*, **87**, 179-185.
- Oni, J., Diab, N., Reiter, S. ve Schuhmann, W. (2005), "Metallophthalocyanine-modified glassy carbon electrodes: effects of film formation conditions on electrocatalytic activity towards the oxidation of nitric oxide" *Sens. Actuators B*, **105**, 208-213.
- Osaka, T., Komaba, S., Seyama, M. ve Tanabe, K. (1996), "High-sensitivity urea sensor based on the composite film of electroinactive polypyrrole with polyion complex" *Sens. Actuators B*, **36**, 463-469.
- Ozoemena, K.I. ve Nyokong, T. (2006), "Novel amperometric glucose biosensor based on an ether-linked cobalt(II) phthalocyanine-cobalt(II) tetraohenylporphyrin pentamer as a redox mediator" *Electrochim. Acta*, **51**, 5131-5136.
- Özcan, L. ve Şahin, Y. (2007), "Determination of paracetamol based on electropolymerized-molecularly imprinted polypyrrole modified pencil graphite electrode" *Sens. Actuators B*, **127**, 362-369.
- Özcan, A., Şahin, Y., Özsöz, M. ve Turan, S. (2007), "Electrochemical oxidation of ds-DNA on polypyrrole nanofiber modified pencil graphite electrode" *Electroanalysis*, **19**, 2208-2216.
- Özcan, L., Şahin, Y. ve Türk, H. (2008), "Non-enzymatic glucose biosensor based on overoxidized polypyrrole nanofiber electrode modified with cobalt(II) phthalocyanine tetrasulfonate" *Biosens. Bioelectron.*, Baskıda
- Palmisano, F., Centonze, D. ve Zambonin, P.G. (1994), "An in situ electro synthesized amperometric biosensor based on lactate oxidase immobilized in a poly-o-phenylenediamine film: determination of lactate in serum by flow injection analysis" *Biosens. Bioelectron.*, **9**, 471-479.
- Panasyuk, T.L., Mirsky, V.M., Piletsky, S.A. ve Wolfbeis, O.S. (1999), "Electropolymerized molecularly imprinted polymers as receptor layers in capacitive chemical sensors" *Anal. Chem.*, **71**, 4609-4613.
- Park, S., Boo, H. ve Chung, T.D. (2006), "Electrochemical non-enzymatic glucose sensors" *Anal. Chim. Acta*, **556**, 46-57.

- Peng, H., Liang, C.D., Zhou, A.H., Zhang, Y.Y., Xie, Q.J. ve Yao, S.Z. (2000), "Development of a new atropine sulfate bulk acoustic wave sensor based on a molecularly imprinted electrosynthesized copolymer of aniline with o-phenylenediamine" *Anal. Chim. Acta*, **423**, 221-228.
- Piletsky, S.A. ve Turner, A.P.F. (2002), "Electrochemical sensors based on molecularly imprinting polymers" *Electroanalysis*, **14**, 317-323.
- Rajesh, Bisht, V., Takashima, W. ve Kaneto, K. (2005), "An amperometric urea biosensor based on covalent immobilization of urease onto an electrochemically prepared copolymer poly (N-3-aminopropyl pyrrole-co-pyrrole) film" *Biomaterials*, **26**, 3683-3690.
- Ramanavičius, A., Ramanavičiene, A. ve Malinauskas, A. (2006), "Electrochemical sensors based on conducting polymer-polypyrrole" *Electrochim. Acta*, **51**, 6025-6037.
- Retama, J.R., Cabarcos, E.L., Mecerreyes, D. ve Lopez-Ruiz, B. (2004), "Design of an amperometric biosensor using polypyrrole-microgel composites containing glucose oxidase" *Biosens. Bioelectron.*, **20**, 1111-1117.
- Retama, J.R., Mecerreyes, D., Lopez-Ruiz, B. ve Cabarcos, E.L. (2005), "Synthesis and characterization of semiconducting polypyrrole-polyacrylamide microparticles with GOx for biosensor applications" *Colloid Surf. A*, **270-271**, 239-244.
- Rong, L.-Q., Yang, C., Qian, Q.-Y. ve Xia, X.-H. (2007), "Study of the nonenzymatic glucose sensor based on highly dispersed Pt nanoparticles supported on carbon nanotubes" *Talanta*, **72**, 819-824.
- Roth, S. ve Bleier, H. (1987), "Solitons in polyacetylene" *Adv. Phys.*, **36**, 385-462.
- Saçak, M. (2002), *Polimer Kimyası*, Gazi Kitabevi, Ankara, Türkiye.
- Samuelson, L.A. ve Druy, M.A. (1986), "Kinetics of degradation of electrical-conductivity in polypyrrole" *Macromolecules*, **19**, 824-828.
- Santos, L.M. ve Baldwin, R.P. (1987), "Liquid chromatography/electrochemical detection of carbohydrates at a cobalt phthalocyanine containing chemically modified electrode" *Anal. Chem.*, **59**, 1766-1770.

- Santos, W.J.R., Sousa, A.L., Luz, R.C.S., Damos, F.S., Kubota, L.T., Tanaka, A.A. ve Tanaka, S.M.C.N. (2006), "Amperometric sensor for nitrite using a glassy carbon electrode modified with alternating layers of iron(III) tetra-(N-methyl-4-pyridyl)-porphyrin and cobalt(II) tetrasulfonated phthalocyanine" *Talanta*, **70**, 588-594.
- Shiigi, H., Kishimoto, M., Yakabe, H., Deore, B. ve Nagaoka, T. (2002), "Highly selective molecularly imprinted overoxidized polypyrrole colloids: One-step preparation technique" *Anal. Sci.*, **18**, 41-44.
- Silva, M.L.S., Garcia, M.B.Q., Lima, J.L.F.C. ve Barrado, E. (2006), "Modified tubular electrode in a multi-commutated flow system. Determination of acetaminophen in blood serum and pharmaceutical formulations" *Anal. Chim. Acta*, **573-574**, 383-390.
- Sljukic, B., Banks, C.E., Salter, C., Crossley, A. ve Compton, R.G. (2006), "Electrochemically polymerized composites of multi-walled carbon nanotubes and poly(vinylferrocene) and their use as modified electrodes: Application to glucose sensing" *Analyst*, **131**, 670-677.
- Spurlock, L.D., Jaramillo, A., Praserthdam, A., Lewis, J. ve Brajter-Toth, A. (1996), "Selectivity and sensitivity of ultrathin purine-templated overoxidized polypyrrole film electrodes" *Anal. Chim. Acta*, **336**, 37-46.
- Syritski, V., Reut, J., Menaker, A., Gyurcsányi, R.E. ve Öpik, A. (2008), "Electrosynthesized molecularly imprinted polypyrrole films for enantioselective recognition of L-aspartic acid" *Electrochim. Acta*, **53**, 2729-2736.
- Sun, Z. ve Tachikawa, H. (1992), "Enzyme-based bilayer conducting polymer electrodes consisting of polymetallophthalocyanines and polypyrrole-glucose oxidase thin films" *Anal. Chem.*, **64**, 1112-1117.
- Sun, Z., Geng, T., Li, J., Jing, X. ve Wang, F. (1997), "Chemical polymerization of aniline with hydrogen peroxide as oxidant" *Synth. Met.*, **84**, 99-100.
- Şahin, Y., Ercan, B. ve Şahin, M. (2008), "In situ electrochemical solid-phase extraction of anions and cations using polypyrrole and overoxidized sulfonated polypyrrole" *Talanta*, **75**, 369-375.

- Takakubo, M. (1987), "Electrochemical polymerization of pyrrole in aqueous solutions" *Synth. Met.*, **18**, 53-58.
- Tamayo, F.G., Titirici, M.M., Martin-Esteban, A. ve Sellergen, B. (2005), "Synthesis and evaluation of new propazine-imprinted polymer formats for use as stationary phases in liquid chromatography" *Anal. Chim. Acta*, **542**, 38-46.
- Tamer, U., Ertaş, N., Udum, Y.A., Şahin, Y., Pekmez, K. ve Yıldız, A. (2005), "Electrochemically controlled solid-phase microextraction (EC-SPME) based on overoxidized sulfonated polypyrrole" *Talanta*, **64**, 245-251.
- Tan, Y., Zhou, Z., Wang, P., Nie, L. ve Yao, S. (2001), "A study of a bio-mimetic recognition material for the BAW sensor by molecular imprinting and its application for the determination of paracetamol in the human serum and urine" *Talanta*, **55**, 337-347.
- Tian, Y., Wang, J., Wang, Z. ve Wang, S. (2004), "Electroreduction of nitrite at an electrode modified with polypyrrole nanowires" *Synth. Met.*, **143**, 309-313.
- Tominaga, M., Shimazoe, T., Nagashima, M. ve Taniguchi, I. (2005), "Electrocatalytic oxidation of glucose at gold nanoparticle-modified carbon electrodes in alkaline and neutral solutions" *Electrochem. Commun.*, **7**, 189-193.
- Trojanowicz, M. ve Krawczyk, T.K. (1995), "Electrochemical biosensors based on enzymes immobilized in electropolymerized films" *Mikrochim. Acta*, **121**, 167-181.
- Xue, C., Chen, Z., Luo, F.-T., Palaniappan, K., Chesney, D. J., Liu, J., Chen, J. ve Liu, H. (2005), "Synthesis of water-soluble electroactive ferrocene-grafted Poly(*p*-phenylene-ethynylene) via phase transfer and its biosensing application" *Biomacromolecules*, **6**, 1810-1815.
- Vestergaard, M., Kerman, K. ve Tamiya, E. (2005), "An electrochemical approach for detecting copper-chelating properties of flavonoids using disposable pencil graphite electrodes: Possible implications in copper-mediated illnesses" *Anal. Chim. Acta*, **538**, 273-281.

- Vidal, J.C., Ruiz, E.G. ve Castillo, J.R. (2003), "Recent advances in electro polymerized conducting polymer in amperometric biosensors" *Microchim. Acta*, **143**, 93-111.
- Wallace, G.G., Spinks, G.M., Kane-Maguire, L.A.P. ve Teasdale, P.R. (2003), *Conductive Electroactive Polymers: Intelligent Materials Systems* CRC Press, New York, A.B.D.
- Wang, J., Kawde A.-N. ve Sahlin, E. (2000), "Renewable pencil electrodes for highly sensitive stripping potentiometric measurements of DNA and RNA" *Analyst*, **125**, 5-7.
- Wang, L.X., Li, X.G. ve Yang, Y.L. (2001), "Preparation, properties and applications of polypyrroles" *React. Funct. Polym.*, **47**, 125-139.
- Wang, K., Xu, J.-J. ve Chen, H.-Y. (2005), "A novel glucose biosensor based on the nanoscaled cobalt phthalocyanine-glucose oxidase biocomposite" *Biosens. Bioelectron.*, **20**, 1388-1396.
- Wang, J., Wang, J., Wang, Z. ve Wang, S. (2006), "Electrocatalytic oxidation of ascorbic acid at polypyrrole nanowire modified electrode" *Synth. Met.*, **156**, 610-613.
- Wang, S.-F., Xie, F. ve Hu, R.-F. (2007), "Carbon-coated nickel magnetic nanoparticles modified electrodes as a sensor for determination of acetaminophen" *Sens. Actuators B*, **123**, 495-500.
- Weber, J.H. ve Busch, D.H. (1965), "Complexes derived from strong field ligands. XX. The effect of extraplanar ligands on the properties of transition metal 4,4',4'',4'''-tetrasulfophthalocyanines" *Inorg. Chem.*, **4**, 472-475.
- Wolowacz, S.E., Yon Hin B.F.Y. ve Lowe C.R. (1992), "Covalent electropolymerization of glucose oxidase in polypyrrole" *Anal. Chem.*, **64**, 1541-1545.
- Wulff, G. (2002), "Enzyme-like catalysis by molecularly imprinted polymers" *Chem. Rev.*, **102**, 1-28.
- Yuqing, M., Jianrong, C. ve Xiaohua, W. (2004), "Using electropolymerized non-conducting polymers to develop enzyme amperometric biosensors" *Trends Biotechnol.*, **22**, 227-231.

- Xu, J.J. ve Chen, H.Y. (2000), "Amperometric glucose sensor based on glucose oxidase immobilized in electrochemically generated poly(ethacridine)" *Anal. Chim. Acta*, **423**, 101–106.
- Xu, Q., Zhao, Y., Xu, Z. ve Zhu, J.-J. (2006), "Preparation of functionalized copper nanoparticles and fabrication of glucose sensor" *Sens. Actuators B*, **114**, 379-386.
- Yasuzawa, M., Nieda, T., Hirano, T. ve Kunugi, A. (2000), "Properties of glucose sensors based on the immobilization of glucose oxidase in N-substituted polypyrrole film" *Sens. Actuators B*, **66**, 77-79.
- Yano, K. ve Karube, I. (1999), "Molecularly imprinted polymers for biosensor applications" *Trends Anal. Chem.*, **18**, 199-204.
- Ye, J.-S., Wen, Y., Zhang, W.D., Gan, L.M., Xu, G.Q. ve Sheu, F.-S. (2004), "Nonenzymatic glucose detection using multi-walled carbon nanotube electrodes" *Electrochem. Commun.*, **6**, 66-70.
- Ye, J.-S., Wen, Y., Zhang, W.D., Xu, G.Q. ve Sheu, F.-S. (2005), "Electrochemical biosensing platforms using phthalocyanine-functionalized carbon nanotube electrode" *Electroanalysis*, **17**, 89-96.
- Yoshimura, K ve Hozumi, K. (1996), "Response characteristics of a glucose electrode with a sensing membrane prepared by plasma polymerization" *Microchem. J.*, **53**, 404–412.
- Zhang, L. ve Lian, J. (2007), "Electrochemical synthesis of copolymer of aniline and o-aminophenol and its use to the electrocatalytic oxidation of ascorbic acid" *J. Electroanal. Chem.*, **611**, 51–59.
- Zheng, H., Xue, H., Zhang, Y. ve Shen, Z. (2002), "A glucose biosensor based on microporous polyacrylonitrile synthesized by single rare-earth catalyst" *Biosens. Bioelectron.*, **17**, 541-545.
- Zhu, X., Yang, J., Su, Q., Cai, J. ve Gao, Y. (2005), "Selective solid-phase extraction using molecularly imprinted polymer for the analysis of polar organophosphorus pesticides in water and soil samples" *J. Chromatogr. A*, **1092**, 161-169.