ANKARA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

DOPAMİN VE SEROTONİN TAYİNİ İÇİN NANOMALZEME TEMELLİ ELEKTROKİMYASAL SENSÖRLERİN HAZIRLANMASI, KARAKTERİZASYONU VE UYGULAMALARI

Nazlı ŞİMŞEK

KİMYA ANABİLİM DALI

ANKARA
2021

Her hakkı saklıdır

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

DOPAMİN VE SEROTONİN TAYİNİ İÇİN NANOMALZEME TEMELLİ ELEKTROKİMYASAL SENSÖRLERİN HAZIRLANMASI, KARAKTERİZASYONU VE UYGULAMALARI

Nazlı ŞİMŞEK

Ankara Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Kimya Anabilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. Gözde AYDOĞDU TIĞ

Bu tez çalışmasında, dopamin (DA) ve serotonin (5-HT) nörotransmiterlerinin eş zamanlı tayini için yeni, hassas, seçici ve güvenilir bir elektrokimyasal sensör geliştirilmesi amaçlandı. Bu amaçla kullanılan kalem grafit elektrotlar (PGE) çeşitli nanomalzemeler ile modifiye edilmiştir. Elektrokimyasal sensör, ön işlem uygulanan kalem grafit elektrodun (PPGE) altın nanopartikül (AuNPs) ile poli-L-lizin-grafen kuantum nokta (P(L-Lys-GQD)) ile modifiye edilmesine dayanmaktadır. AuNPs, P(L-Lys-GQD) ve pH için optimizasyon çalışmaları yapılmıştır. Hazırlanan elektrokimyasal sensörün yüzey karakterizasyonu dönüşümlü voltametri (CV), elektrokimyasal empedans spektroskopisi (EIS), taramalı elektron mikroskobu (SEM) ve X-ışınları fotoelektron spektroskopisi (XPS) yöntemleri kullanılarak incelenmiştir. Ardından hazırlanan PPGE/AuNps/P(L-Lys)-GQD elektrot yüzeyinde DA ve 5-HT'nin elektrokimyasal davranışları incelenmiştir. Optimum koşullar altında DA ve 5-HT için kalibrasyon eğrileri oluşturulmuş ve sırasıyla doğrusal çalışma aralıkları 0,1 µM–80 µM ve 0,05 µM–200,0 µM olarak bulunmuştur. DA ve 5-HT için gözlenebilme sınırları (LOD) ise 0,03 µM ve 0,017 µM olarak hesaplanmıştır. Geliştirilen DA ve 5-HT sensörü için askorbik asit, asetaminofen, glikoz, fruktoz, L-sistein, üre ve ürik asit varlığında girişim etkisi araştırılmıştır. Ayrıca, fetal bovin serum ve farmasötik formülasyonlarda PGE/AuNps/P(L-Lys)-GQD'da DA ve 5-HT içerikleri DPV tekniği ile belirlenmiş ve yüksek geri kazanım değerleri elde edilmiştir.

Haziran 2021,70 sayfa

Anahtar Kelimeler: Serotonin, Dopamin, Elektrokimya, Sensör, Nanomateryaller

ABSTRACT

Master Thesis

PREPARATION, CHARACTERIZATION AND APPLICATION OF ELECTROCHEMICAL SENSORS BASED ON NANOMATERIAL FOR DETERMINATION OF DOPAMINE AND SEROTONIN

Nazlı ŞİMŞEK

Ankara University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Chemistry

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Gözde AYDOĞDU TIĞ

In this thesis, it was aimed to develop a new, sensitive, selective and reliable electrochemical sensor for the simultaneous determination of dopamine (DA) and serotonin (5-HT) neurotransmitters. For this purpose, pencil graphite (PGE) electrodes were modified with various nanomaterials. The electrochemical sensor is based on modifying the pre-treated pencil graphite electrode (PPGE) with gold nanoparticles (AuNPs) with poly(L-lysine)-graphene quantum dots (P(L-Lys-GQD)). Optimization studies were carried out for AuNPs, P(L-Lys-GQD) and pH. The surface characterization of the prepared electrochemical sensor was examined using cyclic voltammetry (CV), electrochemical impedance spectroscopy (EIS), scanning electron microscopy (SEM) and X-ray photoelectron spectroscopy (XPS) methods. Then, the electrochemical behavior of DA and 5-HT on the PPGE/AuNps/P(L-Lys)-GQD electrode surface was investigated. Under optimum conditions, calibration curves were obtained for DA and 5-HT and the linear working ranges were found as 0.1 μM–80 μM and 0.05 μM–200.0 μM, respectively. The limit of detection (LOD) values for DA and 5-HT were calculated as 0.03 μM and 0.017 μM. In the presence of ascorbic acid, acetaminophen, glucose, fructose, L-cysteine, urea and uric acid, the interference effect of the proposed DA and 5-HT sensor was investigated. In addition, DA and 5-HT contents in fetal bovine serum and pharmaceutical formulations were determined at the PGE/AuNPs/P(L-Lys)-GQD and high recovery values were obtained with DPV technique.

June 2021,70 pages

Key Words: Serotonin, Dopamine, Electrochemistry, Sensor, Nanomaterials

TEŞEKKÜR

Tez konusunun belirlenmesinden tezin tamamlanmasına kadar geçen her aşamada maddi manevi desteğini esirgemeyen, çalışmalarım süresince bana her konuda yardım eden, akademik ortamda olduğu kadar beşeri ilişkilerde de engin fikirleriyle yetişme ve gelişmeme katkıda bulunan değerli hocam Ankara Üniversitesi Fen Fakültesi Kimya Bölümü Biyokimya Anabilim Dalı öğretim üyesi sayın Doç. Dr. Gözde AYDOĞDU TIĞ'ya sonsuz teşekkürleri bir borç bilirim. Her zaman arkamda durarak bana destek olan annem Necla ÖNCÜ, babam Abidin ÖNCÜ, ablam Zeynep ÖNCÜ KILIÇ ve eşimin ailesi Sultan ve Vural ŞİMŞEK'e sonsuz teşekkür ederim. Ayrıca sevgili eşim Adnan ŞİMŞEK'e bana her konuda destek ve yardımda bulunduğu için, ayrıca her zaman arkamda olduğu için çok teşekkür ederim. Sevgili arkadaşlarım Ceren YILDIZ ve İrem ASLANER'e hep yanımda oldukları için teşekkür ederim. Ayrıca tezimi yazarken bana yardımda bulunan Cem ERKMEN teşekkür ederim. Üniversitemiz Ankara Üniversitesi Fen Fakültesi Kimya Bölümü hocalarıma verdikleri tüm destek için teşekkür ederim. Son olarak 20B0430001 proje numaralı Ankara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Kordinatörlüğü'ne teşekkür ederim.

Nazlı ŞİMŞEK
Ankara, Haziran 2021

İÇİNDEKİLER

TEZ ONAY SAYFASI
ETİK ..... **i**
ÖZET ..... **ii**
ABSTRACT ..... **iii**
TEŞEKKÜR ..... **iv**
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ ..... **vii**
ŞEKİLLER DİZİNİ ..... **ix**
ÇİZELGELER DİZİNİ ..... **xi**
1. GİRİŞ **1**
2. KURAMSAL TEMELLER **3**
2.1 Elektrokimyasal Sensörler **3**
2.2 İdeal Bir Elektrokimyasal Sensörün Sahip Olması Gereken Özellikler **4**
2.2.1Kararlılık **4**
2.1.2 Seçicilik **4**
2.1.3 Duyarlılık **5**
2.1.4 Doğrusal çalışma aralığı, alt tayin sınırı ve gözlenebilme sınırı **5**
2.2.5 Cevap süresi **5**
2.2.6 Tekrar üretilebilirlik ve tekrarlanabilirlik **5**
2.2.7 Raf ömrü **6**
2.3 Elektrokimyasal Yöntemler **6**
2.3.1Voltametrik yöntemler **8**
2.3.2 Taramalı elektron mikroskobu (SEM) **12**
2.3.3 X-ışınları fotoelektron mikroskopisi (XPS) **13**
2.4 Kalem Grafit Elektrot (PGE) **13**
2.5 Altın Nanopartiküller (AuNPs) **14**
2.6 Grafen Kuantum Noktalar (GQDs) **15**
2.7 L-Lizin (L-Lys) **16**
2.8 Dopamin (DA) **17**
2.9 Serotonin (5-HT) **18**
3. KAYNAK ARAŞTIRMASI **20**
4. MATERYAL ve YÖNTEM **26**
4.1 Ölçüm Sistemleri ve Kullanılan Elektrotlar **26**
4.2 Kullanılan Kimyasallar **27**
4.2.1 Azot gazı **27**
4.2.2 Kullanılan diğer kimyasallar **28**
4.3 Kullanılan Çözeltiler **28**
4.3.1 Fosfat tamponu **28**
4.3.2 Ferri/ferro siyanür çözeltisi **29**
4.3.3 Tetra kloroaurik asit ($HAuCl_4$) çözeltisi **29**
4.3.4 L-Lizin-GQD çözeltisi **29**
4.3.5 Stok dopamin çözeltisi **29**
4.3.6 Stok serotonin çözeltisi **30**
4.3.7 Girişim yapan türlerin çözeltileri **30**
4.3.8 Gerçek numune çözeltileri **30**
4.4 Deneyin Yapılışı **30**

4.4.1 Modifiye kalem elektrotların hazırlanması 30
4.4.2 Modifiye kalem elektrotların karakterizasyonu 31
4.4.3 DA ve 5-HT'nin modifiye elektrotlarda elektrokimyasal davranışları 32
4.4.4 AuNPs biriktirilmesinde döngü sayısının optimizasyonu 32
4.4.5 GQD miktarının optimizasyonu 33
4.4.6 P(L-Lys)-GQD biriktirilmesinde döngü sayısının optimizasyonu 33
4.4.7 Optimum pH değerinin belirlenmesi 33
4.4.8 DA ve 5-HT'nin için kalibrasyon çalışmaları 34
4.4.9 Tekrar üretilebilirliğin belirlenmesi 34
4.4.10 Depolama kararlılığı çalışması 34
4.4.11 Girişim etkisi 34
4.4.12 Geliştirilen elektrokimyasal sensör ile gerçek numune analizi 35
4.4.13 Taramalı elektron mikroskobu (SEM) ve X-ışınları fotoelektron spektroskopisi (XPS) analizleri 35
5. ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA 36
5.1 Modifiye Kalem Elektrotların Hazırlanması 36
5.2 Modifiye Kalem Elektrotların Karakterizasyonu 38
5.3 DA ve 5-HT'nin Modifiye Elektrotlarda Elektrokimyasal Davranışları 46
5.4 AuNPs Miktarının Optimizasyonu 48
5.5 GQD Miktarının Optimizasyonu 50
5.6 P(L-Lys)-GQD Biriktirilmesinde Döngü Sayısının Optimizasyonu 51
5.7 Optimum pH Değerinin Belirlenmesi 52
5.8 DA ve 5-HT'nin İçin Kalibrasyon Çalışmaları 53
5.9 Tekrar Üretilebilirliğin Belirlenmesi 57
5.10 Modifiye elektrodun depolama kararlılığı çalışması 57
5.11 Girişim Etkisi 58
5.12 Geliştirilen Elektrokimyasal Sensör İle Gerçek Numune Analizi 58
6. SONUÇLAR 60
KAYNAKLAR 63
ÖZGEÇMİŞ 70

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

µL	Mikrolitre
µM	Mikromolar
DA	Dopamin
5-HT	Serotonin (5-Hidroksi triptamin)
PGE	PGE
GODs	Grafen kuantum noktaları
COD	Karbon kuantum nokta
P(L-Lys)	Poli(L-lizin)
AuNPs	Altın nanopartiküller
BSS	Bağıl standart sapma
cm^2	Santimetre kare
CV	Dönüşümlü voltametri
DPV	Diferansiyel puls voltametrisi
CA	Kronaamperometri
SWV	Kare dalga voltametrisi
EIS	Elektrokimyasal impedans spektroskopisi
HPLC	Yüksek performanslı sıvı kromatografisi
i_{pa}	Anodik pik akımı
i_{pk}	Katodik pik akımı
LOD	Gözlenebilme sınırı
LOQ	Alt tayin sınırı
M	Molar
mg	Miligram
mL	Mililitre
mM	Milimolar
nM	Nanomolar
V	Volt
mV	Milivolt
mA	Miliamper
PBS	Fosfat tamponu çözeltisi
R_{et}	Elektron transfer direnci

SEM	Taramalı elektron mikroskobu
SPE	Perde baskılı karbon elektrot
XPS	X-ışınları fotoelektron spektroskopisi
MWNT	Çok duvarlı karbon nanotüp
GCE	Camsı karbon elektrot
AA	Askorbik asit
BOS	Beyin omurilik sıvısı
GO	Grafen oksit
TRP	Triptofan
IL-Grafen	İşlevselleştirilmiş grafen
PPyox	Okside edilmiş polipirol
p-ABSA	p-aminobenzen sülfonik
FT-IR	Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1 Bir elektrokimyasal sensörün çalışma prensibinin şematik gösterimi 3
Şekil 2.2 Elektrokimyasal hücre 7
Şekil 2.3 Elektrokimyasal yöntemler ve alt bölümleri 8
Şekil 2.4 Dönüşümlü voltamogram 10
Şekil 2.5 Diferansiyel puls voltametrisi 11
Şekil 2.6 Elektrokimyasal empedans spektroskopisi 12
Şekil 2.7 PGE'lerin Çeşitli Alanlardaki Uygulamalar 14
Şekil 2.8 Grafen bazlı malzemelerin yapıları.....16
Şekil 2.9 L-Lizin, D-Lizin ve p(L-Lys) yapıları 17
Şekil 2.10 Vücutta dopamin oluşum mekanizması.....18
Şekil 2.11 Vücutta serotoninin sentez mekanizması.....19
Şekil 4.1 AUTOLAB PGSTAT204 elektrokimyasal analiz cihazı.....26
Şekil 4.2 Faber Castell 0.7 2B 75 mm kalem ucu.....27
Şekil 4.3 Geliştirilen modifiye elektrodun hazırlık aşamalarının şematik olarak gösterimi 31
Şekil 5.1 (A) AuNPs'in dönüşümlü voltametri ile PPGE yüzeyine biriktirilmesi (B) P-(L-Lys)-GQD'un dönüşümlü voltametri ile PPGE/AuNPs yüzeyine elektropolimerizasyonu 37
Şekil 5.2 Tarama hızı 50 mV s^{-1}, 5,0 mM $Fe(CN)_6^{3-/4}$ içeren 0,1 M KCl çözeltisi içerisinde yalın PGE (a), PPGE (b), PPGE/AuNPs (c), PPGE/P(L-Lys)-GQD (d) ve PPGE/ AuNPs/P(L-Lys)-GQD (e) elektrotlarının dönüşümlü voltamogram eğrileri 39
Şekil 5.3 PPGE/AuNps/P(L-Lys)-GQD elektrodun farklı tarama hızlarının kar ekökü ile pik akımları grafiği, iç şekil; 10–500 mVs^{-1} arasında tarama hızında elde edilen dönüşümlü voltamogramları 41
Şekil 5.4 Yalın PGE, PPGE, PPGE/AuNPs, PPGE/P(L-Lys), PPGE/P(L-Lys)-GQD ve PPGE/ AuNPs/P(L-Lys)-GQD elektrotlarının Nyquist eğrileri. (1,0 M KCl içeren 5,0 mM $Fe(CN)_6^{-3/-4}$ çözeltisi 42
Şekil 5.5 (A) PPGE (B) PPGE/AuNPs (C) PPGE/P-(L-lys)-GQD (D) PPGE/ AuNPs/P-(L-lys)-GQD elektrotlarına ait SEM görüntüleri 43
Şekil 5.6 (A) (a) PPGE ve (b) PPGE/AuNps/P(L-Lys)-GQD elektrotlarının XPS genel tarama spektrumu. PPGE/AuNps/P(L-Lys)-GQD elektrodunun (B) C1s ve (C) N1s kısmi tarama spektrumları 45
Şekil 5.7 30,0 µM DA ve 3,.0 µM 5-HT'nin yalın PGE (a), PPGE (b), PPGE/ AuNPs (c), PPGE/P(L-Lys) (d), PPGE/ P(L-Lys)-GQD (e), PPGE/ AuNPs/P(L-Lys) (f) ve PPGE/ AuNPs/P(L-Lys)-GQD (g) elektrotlarının dönüşümlü voltamogramları 47
Şekil 5.8 30,0 µM DA varlığında tarama hızı çalışması 48
Şekil 5.9 50,0 µM 5-HT varlığında tarama hızı çalışması.....48
Şekil 5.10 PGE/AuNPs/P(L-Lys)-GQD elektrotta AuNPs elektrobiriktirilmesinde döngü sayısının optimizasyonu (A) Dönüşümlü voltamogramları (B) Dağılım grafiği 49
Şekil 5.11 PGE/AuNPs/P(L-Lys)-GQD elektrotta GQD miktarının optimizasyonu (A) Dönüşümlü voltamogramları (B) Dağılım grafiği 50

Şekil 5.12 PGE/AuNPs/P(L-Lys)-GQD elektrotta P(L-Lys)-GQD elektrobiriktirilmesinde döngü sayısının optimizasyonu (A) Dönüşümlü voltamogramları (B) Dağılım grafiği 51
Şekil 5.13 PPGE/AuNps/P(L-Lys)–GQD elektrodun 30.0 µM DA ve 30.0 µM 5-HT içeren farklı pH değerlerindeki 0,1 M fosfat tamponunda (A) pik akımları (B) pik potansiyelleri ile değişimi 53
Şekil 5.14 PGE/AuNPs/P(L-Lys)-GQD elektrodun (A) DPV eğrileri (B) Dopamin için elde edilen kalibrasyon eğrisi 54
Şekil 5.15 PPGE/AuNPs/P(L-Lys)-GQD elektrodun (A) DPV eğrileri (B) Serotonin için elde edilen kalibrasyon eğrisi 55
Şekil 5.16 PGE/AuNPs/P(L-Lys)-GQD elektrodun (A) DPV eğrileri (B)Dopamin için elde edilen kalibrasyon eğrisi (C) Serotonin için elde edilen kalibrasyon eğrisi 57

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.1 Elektrokimyasal yöntemler, izlenen elektriksel özellikler ve ilgili birimler.. 7

Çizelge 4.1 Çalışmada kullanılan diğer kimyasal maddelerin adları, saflık dereceleri ve temin edilen firmalar 28

Çizelge 5.1 Yalın PGE, PPGE, PPGE/AuNPs, PPGE/P(L-Lys)-GQD ve PPGE/ AuNPs/P(L-Lys)-GQD elektrotlarının elektrokimyasal özelliklerinin karşılaştırılması 39

Çizelge 5.2 20 µM DA ve 10 µM 5-HT tayini için geliştirilen elektrokimyasal sensöre diğer türleri 100 µM içeren çözelti ortamında elde edilen % girişim değerleri 58

Çizelge 5.3 Farklı derişimlerdeki DA ve 5-HT ile gerçek numune analizi sonuçları 59

Çizelge 5.4 Dopadren® (200 mg/5 ml) ile % geri kazanım çalışmaları sonuçları 59

Çizelge 6.1 DA ve 5-HT için geliştrilen elektrokimyasal sensörün diğer yöntemlerle karşılaştırılması 62

1. GİRİŞ

Elektrokimyasal yöntemler kimya, fizik, biyoloji, biyokimya, elekronik ve mühendislik gibi bilim dallarını içine alan disiplinler arası bir çalışma alanıdır. Sensörler örnek matriksteki bir analitin fiziksel miktarını ölçmek için kullanılan küçük analitik cihazlardır. Elektrokimyasal ölçümler, elektrot-çözelti ara yüzeyinin elektriksel özellikleri ve elektrot tepkimeleri ile ilgili uygulamalardır. Kimyasal fazlardan biri, iyonların hareketi ile yükün taşındığı elektrolit kısım, ikinci faz ise elektrotlarla yükün taşındığı elektrot kısmıdır. Sensörler sürekli ve tersinir cevaplar oluştururlar. Elektrokimyasal teknikler insan vücut sıvılarındaki biyolojik bileşiklerin derişimini belirlemek için analitik uygulamalarda ve klinik çalışmalarda kullanılan basit, hızlı ve yüksek hassasiyete sahip yöntemlerdir (Jadon, N. vd. 2016).

Nörotransmitterler, sinir hücrelerindeki bilgi akışını sağlayan küçük kimyasal iletken maddelerdir. Dopamin (DA) ve serotonin (5-hidroksi triptamin, 5-HT), merkezi sinir sisteminde yer alan önemli nörotransmitterlerdir. DA ve 5-HT, iki karbon atomlu bir köprü ile bir aromatik halkaya bağlanan ve aromatik amino asitlerden türetilen bir amino asit içerir. Bu bileşikler, organizmadaki hormonal, kardiyovasküler ve renal sistemler gibi diğer önemli sistemlerin işleyişinde rol oynayan biyolojik olarak önemli endojen kimyasallardır (Cernat, A. vd. 2020).

DA ve 5-HT gibi nörotransmiterlerin tayini için yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC) (Zhao, X.-E. vd. 2015), kütle spektrofotometrisi (Peterson, Z. D. vd. 2004), florimetri (Roshchina, V. V. 2016) ve kapiler elektroforez (Hsieh, M. M. ve Chang, H. T. 2005) gibi analitik yöntemler kullanılmıştır. Bu yöntemlerin uzun analiz süresi, yüksek maliyet, ön işlem gereksinimi ve düşük hassasiyet gibi dezavantajları vardır. Bu nedenle, 5-HT ve DA'yı belirlemek için kolay, hassas ve doğru bir yöntemin geliştirilmesi önemlidir.

Kalem grafit elektrotlar (PGE), üstün elektrokimyasal özellikleri ve ekonomik olmaları nedeniyle son yıllarda yaygın kullanım alanına sahiptir. PGE'ler çok farklı matrislerden

çeşitli organik ve inorganik bileşiklerin analizine olanak sağlamaktadır. PGE düşük maliyet, tek kullanım, yüksek hassasiyet, tekrarlanabilir ve geniş bir yüzey alanı sunması gibi özellikleri nedeniyle sensör geliştirmede sıklıkla tercih edilen elektrot malzemesidir (David, I. G. vd. 2017).

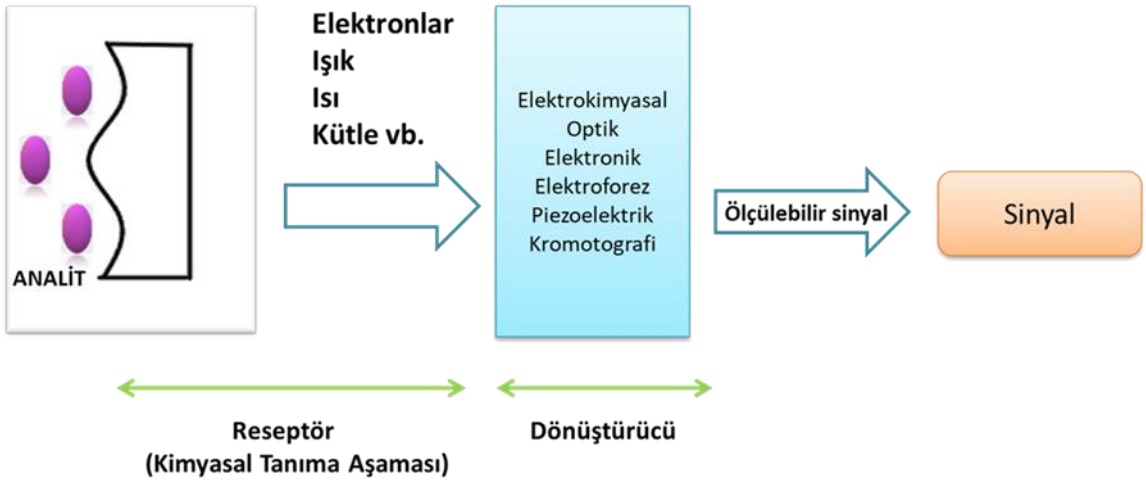
Son yıllarda geleneksel elektrotların performanslarını geliştirmek amacıyla altın nanopartiküller (AuNPs), iletken polimerler, grafen/grafen oksit, karbon nanotüp gibi karbon temelli nanomalzemeler yüksek iletkenliği, kararlılığı, geniş yüzey alanı ve biyouyumluluğu gibi üstün özellikleri nedeniyle modifiye elektrotlarda sıkça tercih edilmektedir (Li, Y. vd. 2012, Li, X. vd. 2015). Fonksiyonel grup içeren polimerlerin son zamanlarda çok yönlü uygulanabilirliği nedeniyle biyosensör tasarımlarında biyouyumluluk, kararlılık ve tekrarlanabilirlik gibi avantajları nedeniyle kullanılmaktadır (Dalkıran, B. vd. 2019).

Bu tez çalışmasında, 5-HT ve DA'nın eş zamanlı tayini için AuNPs, poli(L-Lizin) (P(L-Lys) ve grafen kuantum nokta (GQD) modifiye kalem grafit elektrot (PPGE) (PPGE/AuNPs/P(L-Lys)-GQD) hazırlanmıştır. Hazırlanan nanokompozit, dönüşümlü voltametri (CV), elektrokimyasal empedans spektroskopisi **(**EIS), X-ışını fotoelektron spektroskopisi (XPS) ve taramalı elektron mikroskopisi (SEM) ile karakterize edilmiştir. 5-HT ve DA'nın eş zamanlı tayini için diferansiyel puls voltametrisi (DPV) kullanılmıştır. Yalın elektrotta bu moleküllere ait piklerin tam olarak ayrılmadığı, modifiye elektrotta ise belirgin bir ayrılma ve artan pik akımı elde edilmiştir. PPGE/AuNPs/P(L-Lys)-GQD elektrot 5-HT ve DA'nın elektro-yükseltgenme reaksiyonu için yalın elektroda göre daha yüksek elektrokatalitik özellikler sergilemiştir. Bu modifiye elektrot DA ve 5-HT için geniş doğrusal çalışma aralığı sunmuş ve biyolojik ve farmasötik numunelerde 5-HT ve DA'nin tayini başarıyla gerçekleştirilmiştir.

2. KURAMSAL TEMELLER

2.1 Elektrokimyasal Sensörler

Sensör kelimesinin kökeni Latince "sentire" olan "hissetmek" kelimesinden gelmektedir. Sensör, ışık, ısı, basınç, ses, manyetizma veya akım gibi fiziksel bir uyarana cevap veren, bileşen malzemede gerçekleşen herhangi bir değişikliği ölçmenin bir yolu olarak ortaya çıkan bir elektriksel dürtü ileten küçük analitik cihazlardır. Temel olarak elektrokimyasal sensör, bir dönüştürücüyle birleştirilmiş bir reseptörden (tanıma elemanı) oluşmaktadır (Şekil 2.1). Elektrokimyasal sensörler kimyasal sensör sınıfına girmektedir. Reseptör kısmında, kimyasal bilgiler, örneğin pH veya derişim gibi bir dönüştürücü ile ölçülebilen bir enerji biçimine dönüştürülür. Reseptörün işlevi, analit molekülleri ile etkileşime girebilen, seçici olarak bir reaksiyonu katalizleyebilen veya analit ile birlikte kimyasal bir dengeye katılabilen ince bir tabaka tarafından yerine getirilir. Dönüştürücü, analit hakkındaki kimyasal bilgileri anlamlı bir analitik sinyale dönüştürür.



Şekil 2.1 Bir elektrokimyasal sensörün çalışma prensibinin şematik gösterimi.

Tarihsel olarak, elektrokimyasal sensörlerin ilk kullanımı 1950 yıllarında başlamış ve endüstriyel oksijenin izlenmesi için kullanılmıştır (Islam, S. K. ve Haider, M. R. 2009). İşçilerin sağlığı ve güvenliği ile ilgili çalışma yasaları, kapalı alanlarda bulunabilecek toksik gaz ve yakıtların tesipt edilebilmesi için elektrokimyasal sensörlere olan ilgiyi

arttırmıştır. Leland C. Clark kandaki oksijen seviyesini belirlemek için bir oksijen sensörü geliştirmiştir. Daha sonra 1963 soğuk savaş döneminde eski Sovyet Sosyalist Cumhuriyetler Birliği'nde su kalitesini izlemek için farklı bir oksijen sensörü geliştirilmiş ve kullanılmıştır (Nei, L. 2007).

Elektrokimyasal sensörlerin araştırılması ve geliştirilmesi için yapılan çalışmalarda, yeni malzemelerin (nanomalzemeler, polimerler, seramikler, yarı iletkenler, kompozitler veya biyomateryaller) kullanılmasına, farklı özelliklere sahip örneklerin uygulanmasına, yeni üretim yöntemlerine ve seçicilik, algılama sınırlarını geliştirmek için yeni stratejilere izin vermektedir. Elektrokimyasal sensörlerlerdeki bu tip çalışmalar kısa sürede çok geniş ve disiplinler arası bir çalışma alanı haline gelmiştir.

2.2 İdeal Bir Elektrokimyasal Sensörün Sahip Olması Gereken Özellikler

İdeal bir elektrokimyasal sensörün sahip olması gereken özellikler aşağıda kısaca verilmiştir (Hall, E. 1990, Buerk, D. G. 2014).

2.2.1 Kararlılık

Elektrokimyasal sensörün hazırlanmasından sonra uzun süre performansının korunmasıdır. Yani diğer bir deyişle hazırlanan elektrotun ömürünün uzun olmasıdır. Kararlılığın yüksek olması, aynı elektrokimyasal sensörü kullanarak çok sayıda deneysel çalışmanın yapılmasını mümkün kılar.

2.2.2 Seçicilik

İdeal bir elektrokimyasal sensörde en önemli parametrelerden biridir. Hazırlanan elektrot, sadece tayini yapılacak maddenin derişimindeki değişikliklere cevap vermelidir.

2.2.3 Duyarlılık

Tayini yapılacak maddenin derişimine bağlı olarak elektrokimyasal sensör cevabındaki orantısal değişimin elde edilmesi ile belirlenir. Elektrokimyasal sensörün duyarlılığı, elde edilen kalibrasyon grafiğinden hesaplanır. İdeal bir elektrokimyasal sensörün analite karşı yüksek duyarlılık göstermesi beklenir.

2.2.4 Doğrusal çalışma aralığı, alt tayin sınırı ve gözlenebilme sınırı

Elektrokimyasal sensör için hedeflenen doğrusal çalışma aralığı, tayin edilecek analit derişimine karşı sensörde oluşan cevap değişiminin grafiğe geçirilmesi ile elde edilir. Çalışma aralığı tayin edilen düşük derişimden (alt tayin sınırı), kalibrasyon eğrisinin doğrusallıktan sapma gösterdiği derişime kadar olan aralığı içerir. Alt tayin sınırı (LOQ), doğrusal grafiğin en alt sınırıdır. Analizin yapıldığı çözeltinin sıcaklığı, pH'sı, tampon cinsi ve derişimi gibi parametreler gözlenebilme sınırı ve doğrusal çalışma aralığını etkileyen faktörlerdir. Gözlenebilme sınırı (LOD), analizi yapılan madelerin belirdiği ancak kantitatif sınırlar içerisine girmeyen en düşük derişimdir.

2.2.5 Cevap süresi

Hücreye hedef analit eklendiği andan itibaren cevap akımlarının yaklaşık %90'a ulaşması için gereken zaman olarak tanımlanabilir. Bir elektrokimyasal sensörün analite karşı cevap süresinin kısa olması istenir.

2.2.6 Tekrar üretilebilirlik ve tekrarlanabilirlik

Aynı şartlarda hazırlanan farklı elektrokimyasal sensörün birbirleri arasındaki uyumu o sensörün tekrar üretilebilirliğini ifade etmektedir. Hazırlanan bir elektrokimyasal sensörün art arda yapılan ölçümlerinde elde edilen duyarlılıklar o sensörün tekrarlanabilirliğini göstermektedir. Bu parametreler için elde edilen duyarlılıkların

birbirleriyle uyumu geliştirilen sensör ile yapılan analizlerin doğruluğunun ve güvenilirliğinin belirlenebilmesi için oldukça gereklidir.

2.2.7 Raf ömrü

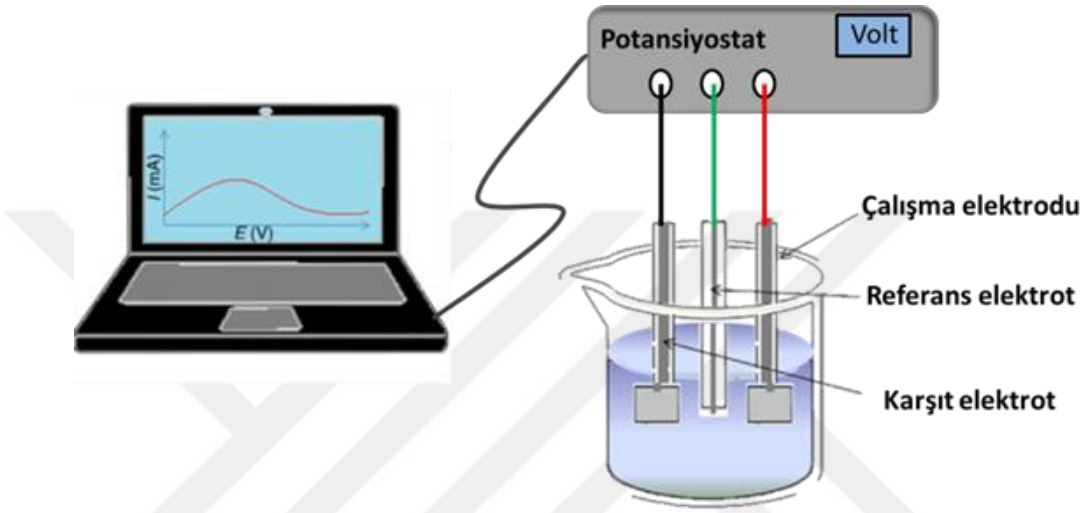
En uygun çalışma koşullarında elektrokimyasal sensörün duyarlılığını devam ettirdiğini gösteren süre, raf ömrü olarak tanımlanmaktadır. Sensörün ömrü, tayini yapılacak maddeye olan duyarlılığın zamana karşı çizilen grafik ile elde edilir. İdeal bir elektrokimyasal sensörün raf ömrünün uzun olması istenmektedir.

2.3 Elektrokimyasal Yöntemler

Elektrokimya, elektrik ve kimya alanındaki çalışmaları bir araya getirerek, maddelerin elektriksel davranışlarını inceleyen bir kimya alt dalı olarak ifade edilmektedir. Bir elektrokimyasal tepkimenin oluşabilmesi için, analizi yapılacak maddeyi içeren bir çözelti, maddenin kimyasal olarak dönüşüme uğradığı elektrot sistemi ve bu elektrot sistemindeki elektrotları birbirine bağlayan bir çevirim sistemi gereklidir.

Elektrokimya alanı, çözelti/elektrot ara yüzeyinde meydana gelen elektron transferi ile ilgilenir. Kimyasal fazlardan biri, iyonların hareketi ile yükün taşındığı elektrolit olarak adlandırılır. İkinci faz ise elektrotlarla yükün taşındığı elektrot olarak adlandırılan kısımdır (yarı iletkenler, metaller). Bir elektrokimyasal hücre, elektrot ve elektrolit arasında oluşan ara yüzeyin bütün özelliklerinin incelendiği sistemdir. Deneyler üçlü elektrot sisteminde gerçekleşmektedir. Bunlar, çalışma elektrodu, karşıt elektrot ve referans elektrotlardır (Şekil 2.2). Çalışma elektrotu karbon, altın, gümüş, platin vb. gibi kimyasal kararlılığa sahip iletken malzemelerden yapılmalıdır. İdeal olarak bir çalışma elektrodunun, iyi bir sinyal-gürültü oranı, tekrarlanabilir yanıt, yüksek elektriksel kararlılık, düşük maliyet, düşük toksisite ve uzun süreli kararlılık gibi avantajları olmalıdır. Çalışma elektrodu, incelenen elektrokimyasal olayın gerçekleştiği elektrottur ve elektrokimyasal ölçüm bölgesini oluşturur. Çalışma elektrodu üzerinde maddenin yükseltgenmesinden kaynaklı oluşan akıma anodik akım, indirgenmesinden kaynaklı

oluşan akıma ise katodik akım denir. Karşıt elektrot olarak iyi iletkenliğe sahip olan platin tel kullanılmaktadır. Karşıt elektrot hücre boyunca akımın geçmesini sağlayan elektrottur ve akım, karşıt elektrot ile çalışma elektrotu arasından geçmektedir. Referans elektrot, sabit bir potansiyele sahip olan ve çalışma elektrodunun potansiyelinin izlenmesini sağlayan elektrottur. Referans elektrodun potansiyelinin kararlı olması ve değişmeye duyarlı olmaması önemlidir.



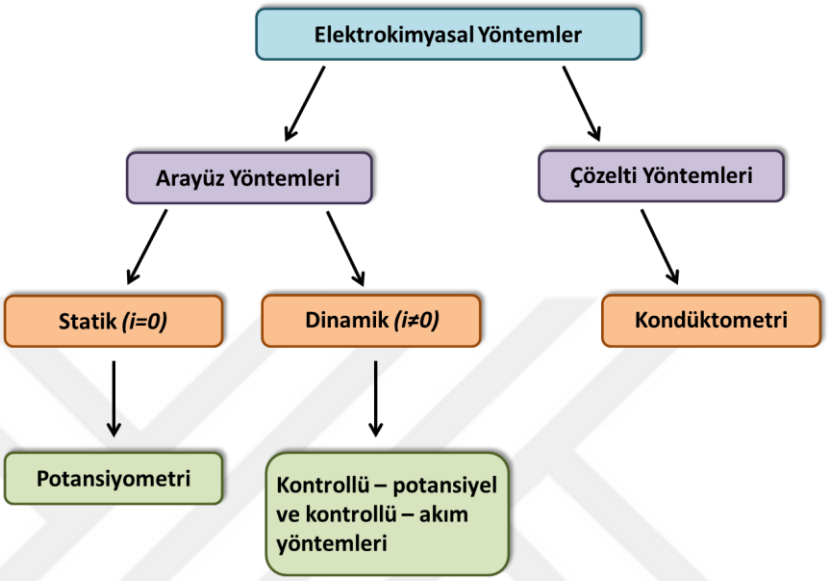
Şekil 2.2 Elektrokimyasal hücre

Elektrokimyasal sensörden gelen sinyal bir analitin verdiği elektriksel bir tepkiden üretilir. Çizelge 2.1'de bazı ana elektrokimyasal yöntemler ve bunların izledikleri elektrik sinyalleri listelenmiştir.

Çizelge 2.1 Elektrokimyasal yöntemler, izlenen elektriksel özellikler ve ilgili birimler

Elektrokimyasal Yöntemler	İzlenen Elektriksel Özellikler	Birimler
Potansiyometri	Potansiyel fark (volt)	V
Kondüktometri	Direnç (ohm)	Ω
Amperometri ve voltametri	Uygulanan potansiyelin bir fonksiyonu olarak akım (amper)	I
Kulometri (Q)	Zamanın bir fonksiyonu olarak akım (coulomb)	$C = I \cdot s$
Kapasitans	Potansiyel yük (farad)	$F = C \cdot V^{-1}$

Elektrokimyasal yöntemler incelendiğinde ara yüzey yöntemleri ve çözelti yöntemleri olmak üzere iki ana gruba ayrılır. Ara yüzey yöntemlerinde; elektrot yüzeyi ile ince çözelti tabakaları arasında kimyasal ve fiziksel dönüşümler gerçekleşir. Çözelti yöntemleri ise çözeltinin elektriksel iletkenliğinin ölçülmesidir (Şekil 2.3).



Şekil 2.3 Elektrokimyasal yöntemler ve alt bölümleri

2.3.1 Voltametrik Yöntemler

Voltametri, bir çalışma veya indikatör elektrodunun polarize olduğu şartlar altında uygulanan potansiyelin bir fonksiyonu olarak akımın ölçüldüğü teknikler için kullanılan elektroanalitik bir yöntemdir. Voltametri, 1920'lerin başında kimyacı Jaroslav Heyrovsky tarafından geliştirilen ve voltametrinin özel bir tipi olan polarografi tekniğine dayanarak geliştirilmiştir. Polarografi, biri polarize edilebilir yani bir kapiler tüpten düzenli aralıklarla damlayan civa diğeri polarize edilmeyen iki elektrotla elektroliz ile çözelti ve elektrotların incelenmesidir. Bu elektrotlar arasındaki potansiyelin değişmesi ve akım akışında ortaya çıkan değişiklikler ölçülür.

1960 ve 1970'ler boyunca voltametri için teoriler, yöntemler ve enstrümantasyonlar geliştirilmiş ve böylece elektroanalitik yöntemlerin duyarlılığı arttırılmıştır. Analitik, anorganik, fizikokimya ve biyokimyacılar tarafından çeşitli ortamlarda meydana gelen

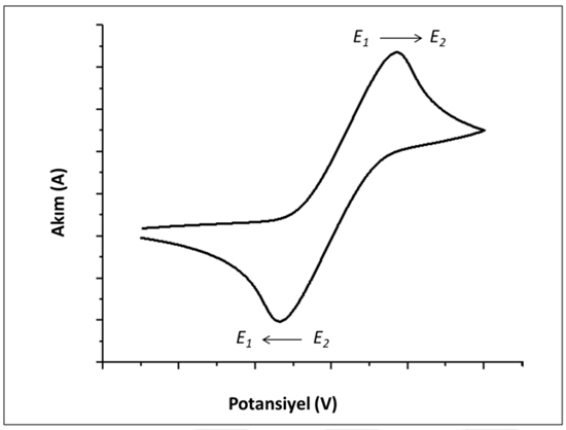
indirgenme ve yükseltgenme olaylarının incelenmesi, kimyasal olarak modifiye edilmiş elektrotların yüzeylerinde gerçekleşen elektron aktarım mekanizmalarını incelenmesi gibi temel çalışmalar için voltametri sıkça kullanılmaktadır (Heyrovský, J. 2012).

Voltametrik teknikler hızlı, güvenilir, hassas ve düşük derişimlerde çoklu analiz imkânı sağlayan ve bu nedenle kimya, fizik, eczacılık ve diğer birçok alandaki bilim insanları tarafından sıklıkla kullanılmaktadır. Bu yöntemlerde çeşitli ortamlarda redoks reaksiyonlarının temel çalışmaları, elektron transfer süreci ve çözeltide bulunan türlerin özelliklerini incelemek vb. gibi çeşitli amaçlar için tercih edilmektedir. Voltametride, çalışma elektrodunun potansiyeli sistematik olarak değiştirilirken akım ölçülür. Elektroda, zamanın bir fonksiyonu olarak çok farklı potansiyellerin uygulanmasıyla oluşan farklı şekillerdeki potansiyel-zaman fonksiyonlarına uyarma sinyali denir. Voltametride en çok kullanılan uyarma sinyalleri; doğrusal taramalı, diferansiyel puls, kare dalga ve üçgen dalgadır (Kounaves, S. P. 1997, Scholz, F. 2015).

Dönüşümlü Voltametri (CV)

Dönüşümlü voltagramların detaylı incelenmesiyle, elektron aktarım kinetiği, indirgenme-yükseltgenme reaksiyonlarının termodinamiği, difüzyon ve adsorpsiyon gibi tutunma ve taşınma olaylarının etkisinin açıklanmasında sıklıkla kullanılmaktadır. Bu nedenle elektrokimyasal yöntemler arasında en çok tercih edilen yöntemdir. Bu nedenle, elektroanalitik çalışmaların çoğunda yapılan ilk deneysel çalışmadır. Bu yöntemde potansiyel, zamanla doğrusal olarak değişmektedir. Potansiyelin zamanla değişmesi tarama hızı olarak adlandırılır. Potansiyel taraması başlangıç potansiyeli E_1 ve bitiş potansiyeli E_2 arasında yapılırsa metot doğrusal taramalı voltametrisi adını alır. Aynı tarama hızıyla E_2 potansiyeline ulaştıktan sonra ilk tarama yönüne ters yönde tarama yapılırsa bu metodun adı dönüşümlü voltametridir. Bu sırada elektrotlarda gerçekleşen tepkimeler sonucunda oluşan akım, taranan potansiyele karşı grafiğe geçirilir (Şekil 2.4). Dönüşümlü voltamogramın en önemli parametreleri, anodik pik akımı, katodik pik akımı, katodik pik potansiyeli ve anadik pik potansiyelidir. CV tekniğinde, pik yüksekliklerinin, tarama hızına bağlı olarak değişmesi, meydana gelen reaksiyon mekanizmasının difüzyon kontrollü ya da adsorpsiyon kontrollü olduğunun

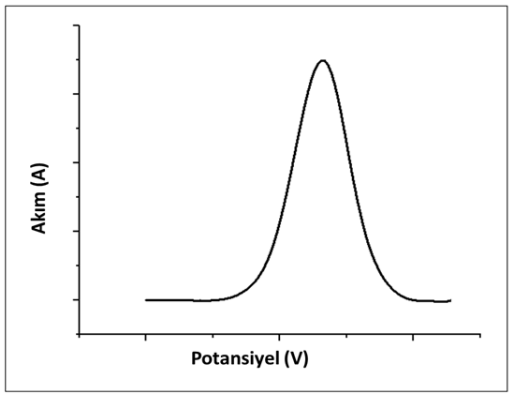
belirlenmesine ve çözelti-elektrot arayüzeyinde aktarılan elektron sayısının hesaplanmasına olanak sağlar (Bard, A. J. ve Faulkner, L. R. 2001).



Şekil 2.4 Dönüşümlü voltamogram

Diferansiyel Puls Voltametrisi (DPV)

Diferansiyel puls voltametrisi Barker ve Jenkin tarafından 1952 yılında geliştirilen ve analitlerin tayin sınırını düşürmek için önerilen bir yöntemdir. Faradayik ve faradayik olmayan akım arasındaki oran arttırılarak, tayin sınırları 10^{-8} M'a kadar düşürülmüştür. Anorganik ve organik türlerinin eser miktarlarının ölçülmesinde son derece önemlidir. DPV'de, çalışma elektroduna belli bir süre doğrusal bir potansiyel artışına göre ayarlanmış sabit büyüklükte pulslar (dE/dt) uygulanır. İki kez akım ölçümü yapılır. İlk ölçüm puls uygulanmadan, ikinci ölçüm ise, pulsun bitmesine yakın bir bölgede alınır. Elde edilen fark, Δ_{Ipuls} olarak verilir. Uygulanan bu potansiyele karşı bu akım farklarının grafiğe geçirilmesiyle diferansiyel puls voltamogramı elde edilir (Monk, P. M. 2008) (Şekil 2.5).



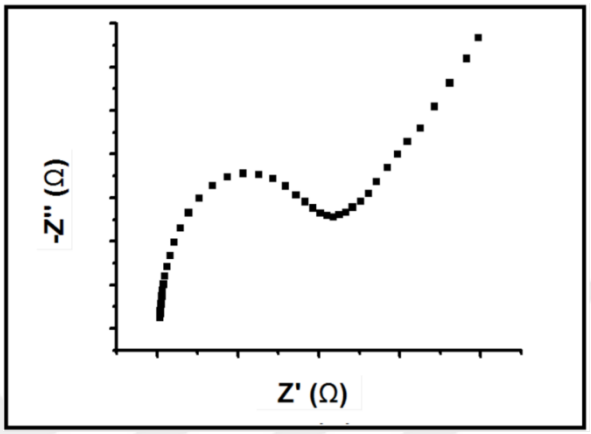
Şekil 2.5 Diferansiyel Puls Voltametrisi

Elektrokimyasal Empedans Spektroskopisi (EIS)

Elektrokimyasal sistemlerin kinetik ve mekanik özellikleri hakkında bilgi veren bir yöntemdir. Zaman sabitleriyle ilişkili olarak elektrot-çözelti arayüzeyi hakkında bilgi edinmeyi amaçlar ve bu özelliğinden dolayı elektrokimyasal empedans spektroskopisi diğer elektrokimyasal tekniklerden farklıdır. Devredeki toplam direncin ölçüsü olan EIS'nin zamanla ilişkisi, belirli frekans aralıkları kullanılarak kapasitans ve indüktif değişimlerden etkilenen direncin ölçümüne dayanır (Şekil 2.6). Karakterizasyon yöntemi olarak kullanılabileceği gibi analiz yöntemi olarak da kullanılabilmektedir.

EIS sensörler, biyosensörler, korozyon, yarı iletken elektrotlar, metal kaplamaları, bataryalar ve yakıt hücreleri, elektrokimyasal kinetik ve mekanizmalar, biyomedikal ve biyolojik sistemler ve katı hal sistemleri ile ilgili araştırmaların gerçekleştirilmesinde büyük ölçüde yarar sağlamaktadır (Wang, Z. vd. 2009). Empedans" bir devrenin toplam direncine verilen addır. Empedans üç elektrik bileşeni ile ilişkilidir. Bunlar; direnç, kapasitör ve indikatördür. Bu elemanların kombinasyonu Randles devresi olarak bilinir (Randviir, E. P. ve Banks, C. E. 2013). Nyquist eğrisi, empedans verilerinin analizi için kullanılır ve tipik olarak empedansın gerçek (Z'-Zr) ve hayali (Z"-Zi) bileşenlerinden oluşur (Islam, M. N. ve Channon, R. B. 2020). Nyquist eğrisinde bir yarım daire ve bu yarım dairenin devamında doğrusal bir kısım vardır. Bu yarım dairenin çapı elektron transfer direncine (R_{ct}), yarım daire ve R_{ct} ekseninin kesiştiği kısım ise çözeltinin direncine (R_s) denk gelmektedir. Düşük frekans aralığında doğrusal kısım görülür ve bu

kısım difüzyon olayını temsil ederken, daha yüksek frekanslarda yarım daire kısmı görülür. Bu kısım da elektron transfer olayını temsil eder. Elektron transfer işlemi çok hızlı bir şekilde gerçekleşirse sadece doğrusal kısım, fakat tam tersi bir şekilde çok yavaş gerçekleşirse sadece yarım daire kısmı gözlenir (Wang, J. 2006).



Şekil 2.6 Elektrokimyasal empedans spektroskopisi

2.3.2 Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM)

Birçok bilim dalında araştırma ve geliştirme çalışmalarında, sanayinin değişik kollarında kriminal, tıpta biyolojik bilimlerde ve hata analizlerinde uygulamalarda taramalı elektron mikroskobu yaygın olarak kullanılmaktadır. İlk ticari kullanımı 1965 yılında kullanılmaya başlanmış ve gelişmeler birbirini izlemiştir. SEM, odaklanmış bir elektron demeti ile örnek yüzeyinin taranması ve görüntü elde edilmesini sağlayan bir elektron mikroskobu tipidir. Gönderilen elektronlar örnek yüzeyindeki atomlarla etkileşerek örnekte bulunan bileşim ve yüzeyin topografisi ile ilgili bilgiler sunan sinyaller üretir. Bu cihazlar yüksek vakum altında, kuru ve iletken yüzeyleri incelemek için kullanılır. SEM ile 1 nm'den daha yüksek çözünürlüğe ulaşılabilmektedir. SEM cihazlarında algılayıcılardan gelen sinyaller dijital sinyallere çevrilip bilgisayar monitörüne verilmektedir. SEM'in kullanım alanını arttıran özellikleri, ayırım gücü ve görüntü duyarlılığı ve analizi birleştirebilmesidir (Karakaya, M. 2013).

2.3.3 X-ışınları fotoelektron spektroskopisi (XPS)

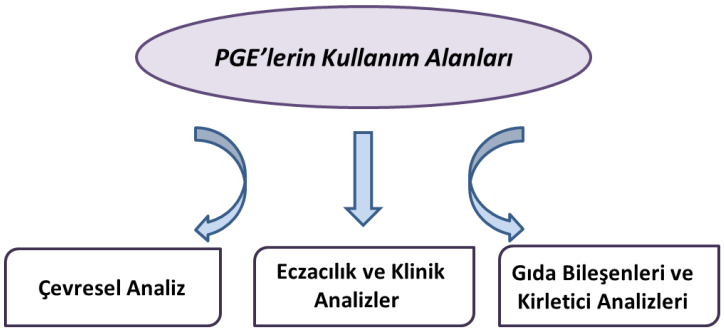
Malzemenin içindeki elementel bileşimi, ampirik formülü, kimyasal ve elektronik durumları ölçmeye yarayan bir cihazdır. XPS, bir yüzey analiz yönemidir ve atomların iç kabuklarındaki enerji seviyelerinde bulunan elektronların fotoelektrik olay sonucu uyarılmasına dayanır. XPS cihazı ile malzemeye X-ışınları gönderilirken malzemenin 1 nm ile 10 nm derinliğindeki yüzeyinin yüzeyden kopan elektron sayısı ve kinetik enerjisi ölçülür. Bu sayede, belli enerjiyle uyarılan elektronların kinetik enerjisininin bilinmesiyle bağlanma enerjileride hesaplanabilir (Istone, W. K. 2020).

2.4 Kalem Grafit Elektrot (PGE)

Karbonun en kararlı şekli olan grafit, yağlı, yumuşak, kağıt üzerinde iz bırakan siyah renkli katı bir maddedir. Tüm karbon atomları sp^3 hibritleşmesi yapmıştır. Grafit hem metalik hem de metalik olmayan özelliklere sahiptir. Bu nedenle elektrot malzemesi olarak kullanılmaktadır. Dünyada grafitin %4'ü, inorganik ve organik bir matrislerle ve grafit tozuyla birleştirilerek kalem uçları üretmek için kullanılmaktadır. Kalem grafit uçları, yaklaşık %60 grafit, %30 kil ve bir bağlayıcı (reçine, mum veya polimer) içeren kompozit malzemelerdir (Alipour, E. vd. 2013) Dünyanın her yerinde çeşitli çap ve uzunluklarda bulunan taşınabilir, düşük maliyetli ve basit bir malzemedir.

Kurşun grafit uçlar, çalışma elektrotu olarak kullanılmasıyla kalem grafit elektrtotlar olarak bilinmektedir. İlk defa kalem grafit elektrotların kullanımı 1989 yılında Aoki ve arkadaşları (Aoki, K. vd. 1989) tarafından bildirilmiştir. PGE'lerin ucuz olmalarının yanısıra, kullanımı kolay, zaman alıcı elektrot yüzey temizleme/parlatma adımlarına gerek yoktur. Ayrıca iyi bir duyarlılık, tekrarlanabilirlik sağladığı bilinmektedir.

PGE'ler, farklı voltametrik yöntemler ile çok çeşitli numulerde çeşitli analitleri ölçmek amacıyla kullanılmaktadır. PGE'lerin pestisitler, farmasötikler, gıda bileşenleri, metal iyonları, antioksidanlar vb. gibi geniş uygulama alanına sahiptir (Şekil 2.7).



Şekil 2.7 PGE'lerin Çeşitli Alanlardaki Uygulamalar

2.5 Altın Nanopartiküller (AuNPs)

Nanomalzemeler ile ilgili yapılan çalışmalar son yıllarda büyük ilgi odağı olmuştur. Nanoboyutlu malzemeler olarak tanımlanan yapılar; partiküller, tüpler, kristaller, teller, çubuklar ve ince filmler gibi farklı sınıflara ayrılmaktadır. Nanoyapılar üzerine ilginin artmasının temel nedeni maddelerin belli boyut aralığında hacimsel yapılarından farklı olarak sıra dışı işlevsellik ve özellikler göstermesinden kaynaklanmaktadır.

Nanopartiküller, ortalama çapı 100 nm'den az olan nanomalzemelerdir (Schmid, G. 2008). Seçicilik, duyarlılık, güvenilirlik, düşük maliyet, imalat ve kullanım kolaylığı gibi iyi analitik özellikler sağladıkları için nanopartiküllerin kullanımı elektrokimyasal sensör tasarımında yoğun araştırma konusudur. Bunlar arasında, algılama, görüntüleme ve optik özellikleri nedeniyle sıklıkla araştırılmaktadır. Soy metaller ve özellikle bu sınıfta bulunan altın, antikanser ve antimikrobiyal ajan olma gibi özelliklerinden dolayı kataliz, fotoğrafçılık, tıp gibi çok çeşitli alan ve dalda birçok araştırmacının dikkatini çekmiştir. Nanopartiküller, diğer partiküllerle kolayca etkileşime girmelerini sağlayan, yüzey alanı/hacim oranı gibi önemli bir özelliğe sahiptir. Bu yüksek yüzey alanı/hacim oranı nanopartiküllerde difüzyona hız katar. Metalik nanopartiküller, sahip oldukları farklı fiziksel ve kimyasal özelliklerinden dolayı dökme metallere göre çeşitli endüstriyel uygulamalarda daha ilgi çekici olmuştur (Lue, J.-T. 2001). AuNPs'lerin sentez teknikleri sürekli gelişmekte ve böylece şekil ve boyutlarında iyileştirmeler sağlamaktadır. AuNPs'lerin sensör hazırlanmasında biyomoleküller için stabil bir

immobilizasyon sağlaması büyük bir avantajdır. Ayrıca AuNPs doğrudan elektron transferine izin verir ve böylece elektrokimyasal algılamanın elektron transfer aracılarına gerek kalmadan gerçekleştirir. Ayrıca AuNPs, hızlı kütle transferi, yüksek iletkenlik, yüksek yüzey alanı ve yüksek biyouyumluluk gibi avantajlarada sahiptir (Liu, S. vd. 2003, Yanez-Sedeno, P. ve Pingarron, J. 2005).

2.6 Grafen Kuantum Noktaları (GQDs)

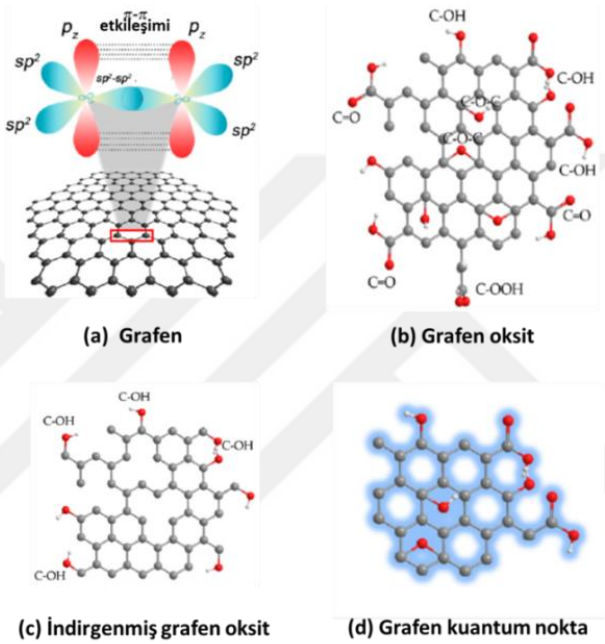
Organizmanın, endüstrinin ve toplumun temel yapı taşı olan karbon, modern bilim ve teknolojinin gelişiminde her zaman önemli bir konuma sahiptir. Karbonun bir allotrobu alan sp^2 bağlı karbon atomlarının bir araya gelerek oluşturduğu grafen yüksek ısıl iletkenliğe, optik geçirgenliğe, mukavemete, kimyasal kararlığına ve geniş yüzey alanına sahip olmasından dolayı çalışmalarda ilgi odağı haline gelmiştir. Ancak grafenin üretimindeki zorluklar ve buna bağlı olarak yüksek maliyetlere ulaşması ile grafen türevlerine ilgi artmış ve bununla ilgili çalışmalar yapılmaya başlanmıştır.

Son yıllardaki karbon bazlı nanomalzemelereki gelişmeler sıfır boyutlu ve ışıldayan karbon kuantum nokta (CQD) ve grafen kuantum noktalarda görülmektedir. GQD ve CQD'ların 10 nm'den küçük floresan karbon nanopartikülleridir. GQD'ları, genellikle grafen veya grafen oksitten türetilen CQD'lerin bir alt kümesidir (Şekil 2.8). GQD'lar, grafeninkine benzer kimyasal ve fiziksel özellikler sergilemektedir. GQD, parçacığı oluşturan 10'dan az grafen tabakası ile yanal boyutları 10 nm'den küçük olana grafen tabaklardan oluşmaktadır. GQD'lar çözünürlüklerini ve biyouyumluluklarını sağlayan çok adımlı bir hazırlık süreci ile sentezlenmektedir. Sentezlenen GQD'ların atom düzlemindeki p-p bağları, grafene kıyasla daha iyi termal ve elektriksel iletkenlik sağlamaktadır (Zhao, X. vd. 2020).

GQD'lar genel olarak nanomalzemelerin üretiminde olduğu gibi yukarıdan aşağıya ve aşağıdan yukarıya iki temel aşamada üretimi yapılmaktadır. Yukarıdan aşağıya sentez yönteminde, yarı iletken olan yığın malzemeler kullanılarak kuantum nokta elde edilmektedir. Bu yöntemde, reaktif-iyon aşındırma, elektron demeti litografisi veya

ıslak kimyasal aşındırma prosesleri yer almaktadır. Aşağıdan yukarı yönteminde ise ıslak kimyasal metot ve buhar faz metodu ile sentez yapılmaktadır (Bera, D. vd. 2010).

Grafen kuantum noktaları yüksek stabilite, biyolojik uyumluluk, düşük maliyet, düşük toksisite ve yüksek parlaklık gibi avantajlara sahiptir. Bu nedenle elektrokimyasal sensörlerde geniş kullanım alanına sahiptir (Campuzano, S. vd. 2019).



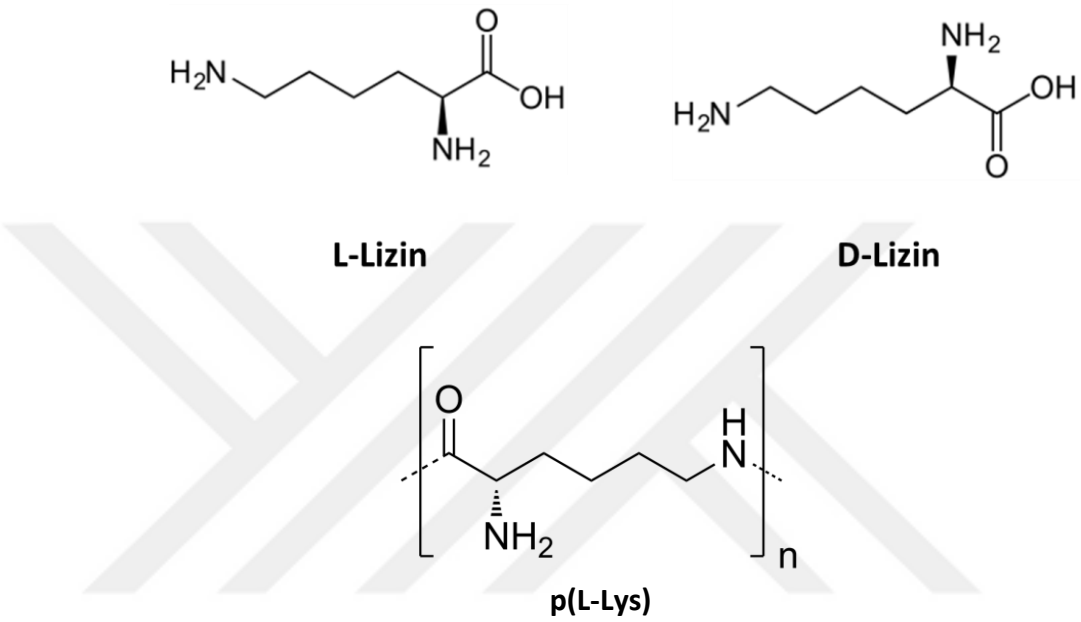
Şekil 2.8 Grafen bazlı malzemelerin yapıları

(a) karbon atamları sp^2-hibritleşmiş grafen, (b) grafen oksit (GO), (c) indirgenmiş grafen oksit (RGO) ve (d) grafen kuantum nokta (GQD)

2.7 L-Lizin (L-Lys)

Hazırlanan bir elektrokimyasal sensörün performansını arttırmak için, sensör yüzeyi çeşitli malzemeler ile modifiye edilmektedir. Bu amaçla polimerler sıklıkla kullanılmaktadır. Polimerler, monemerlerin birbirlerine tekrarlar halinde eklenmesiyle oluşan uzun zincirli moleküllerdir. Lizin, proteinlerde yer alan 22 aminoasitten biridir ve 4-aminobütil (birincil amin) yan zinciri nedeniyle, arginin ve histidin gibi bazik aminoasitler grubunda yer almaktadır. Diğer birçok aminoasitteki gibi hem L- hem de D- izomeri vardır. İzomerlerin kimyasal yapısı Şekil 2.9’ da verilmiştir. pK değerleri

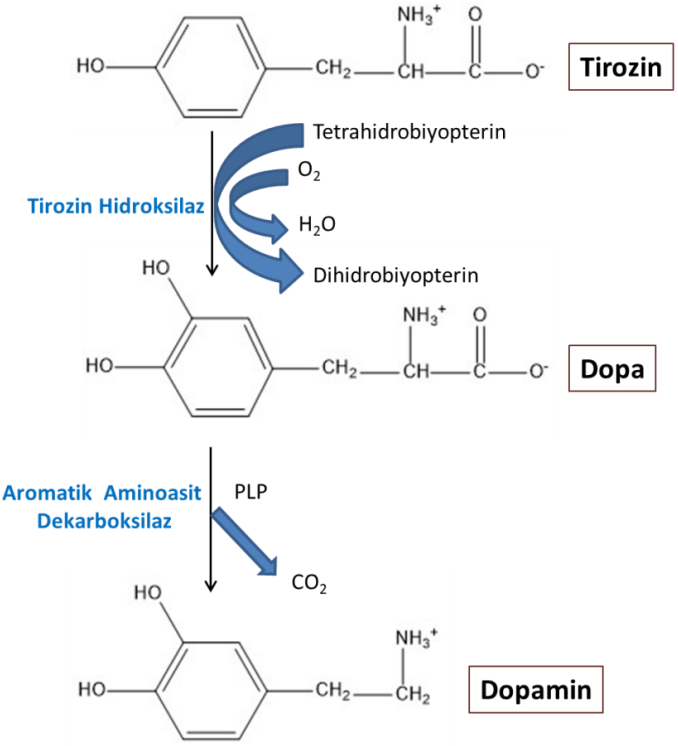
sırasıyla 8,95 ve 10,53'tür. Bu aminoasidin NH2 grubu ile elektrot yüzeyi arasında C-N kovalent bağı oluşturarak elektropolimerleştiği bildirilmiştir (Jiang, C. vd. 2008, Wang, F. vd. 2016). Elektrokimyasal sensör uygulamalarında kullanılan poli-L-Lizin (P-(L-Lys)) uygun gözenek yapısı, kolay uygulanabilirlik ve yüksek kararlılık gibi avantajlar sağlamaktadır (Laurinavičius, L. vd. 2019).



Şekil 2.9 L-Lizin, D-Lizin ve p(L-Lys) yapıları

2.8 Dopamin (DA)

Vücutta doğal olarak üretilen bir kimyasal olan dopamin (DA), monoamin bir nörotransmitterdir. DA, beynin *substantia nigra* ve *ventral tegmental* alanındaki dopaminerjik nöronlarda, aktif bir taşıma mekanizması ile beyine alınan ve bir aminoasit olan tirozinden üretilir. Tirozin, fenilalanin hidroksilaz ile karaciğerde fenilalaninden üretilir. Tirozin daha sonra bir dizi reaksiyonun onu dopamine dönüştürdüğü nöronlara taşınır. Nöronlar içinde tirozin hiroksilaz, bir hidroksi grubunun tirozinin meta konumuna eklenmesini katalizleyerek L-Dopa oluşur. L-Dopa, sitoplazmada bulunan dopa-dekarboksilaz tarafından hızla dopamine dönüşür (Şekil 2.10).



Şekil 2.10 Vücutta dopamin oluşum mekanizması

DA, prolaktin üretiminin engellenmesinde, uyku, dikkat, ruh hali, öğrenme, davranış, bulantı ve kusmanın kontrolü ve ağrıda başrol oynar. Ayrıca duygu, biliş ve hareketinde kontrol edilmesinde katkı sağlamaktadır. Vücutta DA için 5 adet reseptör bulunmaktadır. Bu reseptörler beyin bölgelerinde lokalizasyonu ve çeşitli işlevlerdeki nedeniyle şizofreni, duygu durum bozuklukları, dikkat eksikliği-hiperaktivite, tourette senromu, otizm, parkinson, obsesif kompulsif bozukluğu gibi birçok hastalığın patofizyolojisinde rol oynamaktadır (Ayano, G. 2016). Bu nedenle dopaminin vücut sıvısı içindeki derişiminin hızlı ve doğru bir şekilde tayin edilmesi hastalıkların teşhisi açısından oldukça önemlidir.

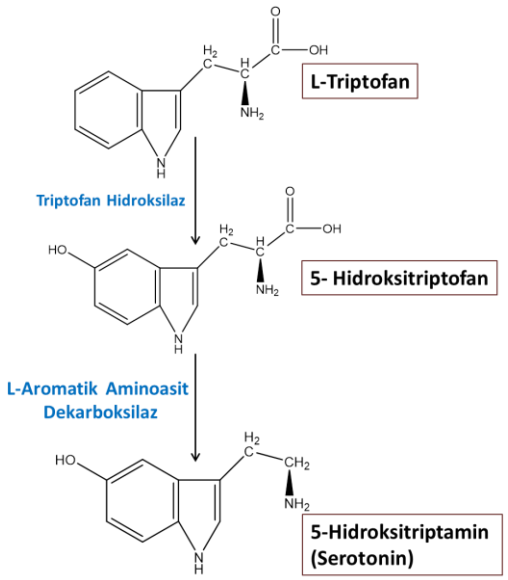
2.9 Serotonin (5-HT)

Serotonin, dopamin, epinefrin, histamin ve norepinefrine benzeyen biyojenik monoamin bir nörotransmitterdir. Düz kaslarda, trombositlerde, gastrointestinal, merkezi ve periferik sinir sistemlerinde bulunmaktadır. Gastrointestinal sistemin enterokromafin hücrelerinde %90, trombositlerde %8 ve geri kalanı %2 beyinde tutulmaktadır. İnsana

mutluluk, zindelik ve canlılık hissi vermektedir. Beyinden serotonin salgılandığında kan damarları kasılarak daralır, seviyesi düştükçe kan damarları genişler (Cernat, A. vd. 2020).

5-HT'nin sentezi, merkezi sinir sistemi ve enterik sinir siteminde gerçekleşmektedir. Bu sistemlerde bulunan hücrelerde sentezin başlayabilmesi için besin yoluyla alınan ve sindirilen triptofanın kana karışıp dolaşıma geçerek hücre içine alınması gerekir. Hücre içine geçebilen triptofanlar sadece serbest triptofanlardır. Serotonin vücutta iki aşamada üretilmektedir. Birinci aşama; triptofan, triptofan hidroksilaz ile 5-hidroksitriptofan'a, ikinci aşamada ise 5-hidroksitriptofan dekarboksillenerek 5-hidrositriptamin (5-HT) yani serotonin oluşmaktadır (Şekil 2.11). Serotoninin oluşması için her iki enziminde gerekli olmasına rağmen, triptofan hidroksilazın hız sınırlayıcı olduğu düşünülmektedir.

Serotonin, ruh hali, uyku, iştah, algılama, biliş, motor aktiviteleri, sıcaklık regülasyonu, ağrı kontrolü ve hormon salgılanması gibi karmaşık davranışlarda önemli rollere sahiptir. Depresyon, yeme bozuklukları, anksiyete, otizm, alkolizm, epilepsi ve obsesif kompulsif bozukluklar gibi çeşitli biyolojik ve psikopatolojik süreçler üzerinde büyük etkiye sahiptir (Chávez, J. L. vd. 2017).



Şekil 2.11 Vücutta serotoninin sentez mekanizması.

3. KAYNAK ARAŞTIRMASI

Wu ve arkadaşlarının (2003) yaptığı bir çalışmada, DA ve 5-HT'nin eşzamanlı olarak belirlenmesi için karbon nanotüp ile kimyasal olarak modifiye edilmiş camsı karbon elektrot (GCE) kullanılmıştır. Çok duvarlı karbon nanotüp (MWNT) kaplı GCE, DA ve 5-HT'nin cevapları üzerinde belirgin bir etki göstermiştir ve yükseltgenme pik potansiyelini daha düşük bölgeye kaydırmıştır. Yalın GCE'de DA ve 5-HT için tek bir geniş pik elde edilirken, MWNT film kaplı GCE'de ise iyi ayırımlı iki yükseltgenme piki gözlenmiştir. Çeşitli deneysel parametreler optimize edilmiş ve aynı anda DA ve 5-HT'nin eş zamanlı belirlenmesi için doğrudan bir elektrokimyasal yöntem önerilmiştir. Askorbik asitin (AA) girişim etkisi araştırılmıştır ve sonuçlar, fazla miktarda AA'nın DA ve 5-HT'nin voltametrik cevaplarına bir etkisinin olmadığını göstermiştir. Modifiye edilmiş elektrot, insan kan serumunda 5-HT ve DA analizi için başarıyla uygulanmıştır (Chávez, J. L. vd. 2017).

Jin ve arkadaşlarının 2004 yılında yaptığı bir çalışmada, kolin (Ch) ve asetilkolin (ACh) ile modifiye edilmiş camsı karbon elektrotlar, XPS, UV-Vis, EIS ve CV ile hazırlanmış ve karakterize edilmiştir. Asetilkolinin modifikasyonu, yeni bir kolin/asetat bağlanması oluşacak şekilde, kolin ile modifiye edilmiş katmana adsorbe edilen asetat anyonları eşliğinde elektrot yüzeyine kovalent olarak bağlanması sağlanmıştır. Bu modifiye elektrot, DA, 5-HT ve AA elektrokatalitik yükseltgenmesine uygulanmış ve üç tane iyi ayrılmış pik elde edilmiştir. Modifiye elektrot, üç farklı türün bir karışımda eş zamanlı tespiti için kullanılmıştır. Hazırlanan elektrotun stabilitesi 30 gün olarak bulunmuştur (Jin, G.-P. vd. 2004).

Goyal ve arkadaşlarının 2007'de yaptığı çalışmada ise yüksek AA derişimi varlığında DA ve 5-HT'nin belirlenmesi için altın nanoparçacıklar ile modifiye edilmiş ITO(Au/ITO) elektroduna dayanan yeni, hızlı, kullanışlı ve hassas bir elektrokimyasal yöntem geliştirilmiştir. Elektrokatalitik yanıt, DPV ile değerlendirilmiş ve modifiye elektrot, DA ve 5-HT'in yükseltgenmesi için çıplak ITO elektrotuna göre sırasıyla 70 mV ve 240 mV daha düşük bir pik potansiyeli ve daha iyi elektrokatalitik özellikler göstermiştir. Doğrusal kalibrasyon eğrileri, DA ve 5-HT için sırasıyla $1{,}0\times10^{-9}$–

$5{,}0\times10^{-4}$ M ve $1{,}0\times10^{-8}$–2.5×10^{-4} M ve gözlenebilme sınırı ise sırasıyla 0,5 nM ve 3,0 nM olarak bulunmuştur. Au/ITO elektrodu, fazla miktarda askorbik asit varlığında bile her iki biyomolekülü de tayin etmiştir. Geliştirilen yöntemin uygulanabilirliği, dopamin hidroklorür enjeksiyonlarında DA içeriğinin belirlenmesine uygulanarak değerlendirilmiştir. Önerilen prosedür aynı zamanda insan serumu ve idrarında DA ve 5-HT'ni eş zamanlı tayin etmek için başarıyla kullanılmıştır (Goyal, R. N. vd. 2007).

Li ve Lin'nin yaptığı 2007'deki bir çalışmada, altın nanotaneciklerin, aşırı oksidize edilmiş-polipirol (PPyox) film modifiye GCE üzerinde elektrobiriktirilmesi ile yeni bir elektrokimyasal biyosensör geliştirilmiştir. Au-nano/PPyox kompozit kaplı GCE, DA ve 5-HT yükseltgenmesine karşı kararlı ve hassas akım cevapları göstermiş ve aynı zamanda DA ve 5-HT'i tayin etmek için kullanılmıştır. Sensör 5-HT, DA ve AA türlerin bir karışım içinde eş zamanlı olarak DPV ile tayini için iyi tanımlanmış üç voltametrik pike dönüştürmüştür. 5-HT için derişim aralığı $7{,}0\times10^{-9}$–$2{,}2\times10^{-6}$ M, gözlenebilme sınırı ise $1{,}0\times10^{-9}$ M bulunmuştur. DA için ise derişim aralığı $7{,}5\times10^{-8}$–$2{,}0\times10^{-5}$ M ve gözlenebilme sınırı $1{,}5\times10^{-8}$ M (s/n = 3) olarak elde edilmiştir. Geliştirilen sensör, insan kan serumunda 5-HT ve DA'nın belirlenmesi için başarıyla uygulanmış ve iyi sonuçlar elde edilmiştir (Li, J. ve Lin, X. 2007).

Li ve arkadaşlarının 2009 yılında yaptığı çalışmada, 5-HT'nin GCE yüzeyine kovalent modifikasyonu ile hazırlanarak elektrokimyasal bir biyosensör geliştirilmiştir. Elde edilen 5-HTP/GCE, XPS, CV ve DPV yöntemleri ile karakterize edilmiştir. Karşılaştırma için triptofan (TRP) modifiye GCE (TRP/GCE) ve serotonin modifiye GCE (5-HT/GCE) elektrotları aynı şekilde hazırlanmıştır. Bu elektrotların elektrokatalitik aktivitesinin, DA ve 5-HT'nin yükseltgenmesi için sırasıyla 5-HTP/GCE>TRP/GCE>5-HT/GCE olduğu bulunmuştur. Hazırlanan sensör, DA ve 5-HT'yi içeren karışımda eş zamanlı tayin için de kullanılmıştır. DA için doğrusal aralık ve LOD değeri sırasıyla $5{,}0\times10^{-7}$–$3{,}5\times10^{-5}$ M ve $3{,}1\times10^{-7}$ M olarak bulunmuştur. 5-HT için ise doğrusal aralık ve LOD değeri sınırı sırasıyla $5{,}0\times10^{-6}$ –$3{,}5\times10^{-5}$ M ve $1{,}7\times10^{-6}$ M olarak elde edilmiştir (Li, Y. vd. 2009).

Babaei ve Taheri 2013'de yaptığı bir çalışmada, Nafion/$Ni(OH)_2$-çok duvarlı karbon nanotüp modifiye GCE (Nafion/$Ni(OH)_2$-MWNTs/GCE) hazırlanmış, DA ve 5-HT 'nin elektrokimyasal yükseltgenmesi araştırılmıştır. CV, DPV ve kronoamperometri yöntemleri kullanılmıştır. Modifiye edilmiş elektrot, AA varlığında DA ve 5-HT için başarılı olmuştur ve DA ve 5-HT'nin anodik pikleri iyi ayrılmıştır. DA ve 5-HT için gözlenebilme sınırı 0,015 μM (S / N = 3,0) ve 0,003 μM, doğrusal çalışma aralığı ise 0,05–25 μM, 0,008–10 μM olarak bulunmuştur (Babaei, A. ve Taheri, A. R. 2013).

Han ve arkadaşlarının 2014'te yaptığı bir çalışmada, kovalent olarak bağlanmış grafen oksit (GO) ve 5,15-pentaflorofenil-10,20-p-aminofenilporfirinin (P) (GO-P), hazırlanmıştır. Hazırlanan GO-P, FT-IR, UV-vis spektroskopisi, XPS ve FE-SEM ile karakterize edilmiştir. GO-P pH 5,0 PBS çözeltisinde elektrokimyasal olarak indirgenmiştir. Elde edilen ERGO-P, DA ve 5-HT nörotransmitterlerinin tayini için kullanılmıştır. DA ve 5-HT'nin tayini için GO-P miktarı ve pH (4.04–9.01) optimize edilmiştir. DA ve 5-HT'nin gözlenebilme sınırı sırasıyla 3.5×10^{-2} μM ve 4.9×10^{-3} μM olarak bulunmuştur. Girişim etkisi AA ile incelenmiş ve ihmal edilebilir bir etki gösterdiği bulunmuştur (Han, H. S. vd. 2014).

2015'de Liu ve arkadaşlarının yaptığı diğer bir çalışmada, 5-HT ve DA eşzamanlı belirlenebilmesi için elektrokimyasal sensör geliştirilmiş ve bu çalışmada kullanılmak üzere iyonik sıvı ile işlevselleştirilmiş grafen (IL-grafen) ile modifiye edilmiş camsı karbon elektrot hazırlanmıştır. IL-grafen kompozitlerinin oluşumunu karakterize etmek için SEM, FT-IR ve TGA kullanılmıştır. İyonik sıvının işlevselleşmesi nedeniyle, IL-grafen sadece sulu çözeltilerde iyi dağıtılamaz, aynı zamanda güçlü bir pozitif yük de sergiler. Dönüşümlü voltametri ve diferansiyel puls voltametrisi yöntemlerinde 5-HT ve DA'nın modifiye elektrotta pik-pik ayrımı 164 mV olarak bulunmuştur. Optimize edilmiş koşullar altında, 5-HT için çalışma aralığı $2{,}0\times10^{-7}$ to $1{,}0\times10^{-5}$ M, gözlenebilme sınırı ise $6{,}7\times10^{-8}$ M, DA için ise çalışma aralığı $1{,}0\times10^{-6}$ to $1{,}0\times10^{-4}$ M, gözlenebilme sınırı ise $3{,}3\times10^{-7}$ M olarak bulunmuştur. Ayrıca, tasarlanan sensör ile insan serum örneklerinde eş zamanlı olarak 5-HT ve DA tayin edilmiştir. Bu sensörün mükemmel performansı, 5-HT ve DA'nın eş zamanlı tayini için geniş yüzey alanı sağlayan IL-grafenin ağ benzeri yapısına atfedilmiştir (Liu, P. vd. 2015).

Mani ve arkadaşlarının 2016' da yaptığı bir çalışmada, hassas ve seçici DA tayini için grafen nanoyapraklar ve çok duvarlı karbon nanotüpler üzerine immobilize edilen molibden sülfit çiçeklerinden oluşan hibrit yapı (GNS-CNTs/MoS_2) GCE yüzeyine modifiye edilmiştir. GNS-CNTs/MoS_2 nanokompozit hidrotermal yöntemle hazırlanmış, SEM, TEM, EDX, CV, DPV ve EIS ile karakterize edilmiştir. Elektrokimyasal çalışmalar, kompozitin geniş bir elektrokimyasal aktif yüzey, yüksek kapasitans akımı, geniş potansiyel penceresi, yüksek iletkenlik ve gözeneklilik gibi özelliklere sahip olduğunu göstermiştir. Modifiye edilen GCE, DA'nin yükseltgenmesi için yüksek elektrokatalitik aktivite göstermiştir. DA için 0,15 V gibi düşük bir potansiyelde (Ag/AgCl'ye karşı), 100 nM-100 μM derişim aralığında doğrusal cevap vermiştir. Gözlenebilme 50 nM ve duyarlılık 10,81 (±0,26) $\mu A \cdot \mu M^{-1} \cdot cm^{-2}$ olarak bulunmuştur. Sensörün iyi bir seçiciliğe, kararlılığa, tekrarlanabilirliğe ve tekrar üretilebilirliğe sahip olduğu bildirilmiştir. Biyolojik ve farmasötik örneklerde dopamin tayini için uygulanmıştır (Mani, V. vd. 2016).

Wang ve arkadaşları tarafından 2016'da yapılan bir çalışmada, DA ve 5-HT'nin beyin omurilik sıvısında (BOS) MWNTs-SiO2-kitosan kompozitleri modifiye edilmiş perde baskılı elektrot (SPE) kullanılarak doğrudan ve aynı anda tayin edilmesi sağlanmıştır. Kompozitlerin yüksek katalitik aktivitesi nedeniyle, modifiye edilmiş elektrodun DA ve 5-HT'nin tayinini önemli ölçüde geliştirerek artan bir elektroaktivite gösterdiği bulunmuştur. Optimum deneysel koşullarda MWNTs-SiO2-kitosan kompozitleri modifiye edilmiş SPE DA ve 5-HT'nin belirlenmesi için sırasıyla 1 μM–20 μM ve 0,1 μM–2 μM'lik geniş çalışma aralıkları sunmuş ve LOD değerleri ise 0,2 μM ve 0,01 μM olarak bulunmuştur. Ayrıca, geliştirilen sensör sıçan BOS numunelerinde DA ve 5-HT'nin belirlenmesi için başarıyla kullanılmıştır. Sonuçlara bakıldığında hazırlanan elektrodun hızlı cevap süresi, geniş doğrusal çalışma aralığı ve iyi tekrarlanabilirlik gösterdiği bildirilmiştir (Wang, S. vd. 2016).

2017 yılında Raj ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada, grafen ve poli(4-amino-3-hidroksi-1-naftalensülfonik asit) modifiye perde baskılı elektrot kullanılarak DA ve 5-HT'nin eş zamanlı tayini için yeni ve hassas bir elektrokimyasal sensör geliştirilmiştir. Elektrokimyasal ölçümler, dönüşümlü voltametri ve kare dalga voltametrisi

kullanılarak incelenirken, modifiye edilmiş sensörün yüzey morfolojisi EIS ve FE-SEM ile karakterize edilmiştir. Geliştirlen sensörde, DA ve 5-HT için derişim aralığı 0,05–100 μM ve 0,05–150 μM, gözlenebilme sınırı ise sırasıyla 2 nM and 3 nM olarak bulunmuştur. Geliştirilen sensör ile plazma örneklerinde 5-HT'nin belirlenmesi araştırılmış ve önerilen yöntemin seçiciliği, biyolojik sıvılarda bulunan yaygın metabolitlerin varlığında DA ve 5-HT'nin analizi ile belirlenmiştir (Raj, M. vd. 2017).

Mahanthesha ve arkadaşlarının 2018 yılında yaptığı bir çalışmada ise, voltametrik DA ve 5-HT analizinde elektrot olarak PGE kullanıldı. Elektrokimyasal araştırmalar, 0,2 M fosfat tampon çözeltisi içinde 0,05 Vs^{-1} tarama hızında PGE'de gerçekleştirildi. PGE'de 0,05 Vs^{-1} tarama hızında dopamin ve serotonin elektrokimyasal yükseltgenmesi sonucu iki redoks piki göstermiştir. Hazırlanan modifiye PGE, 5-HT varlığında DA için iyi bir sensör görevi görmüştür (Mahanthesha, K. R. vd. 2018).

2019 yılında Chung ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada, göğüs kanseri hücresi ve insan plazma örneklerinde aynı anda 5-HT ve DA tayini için bir paladyum kompleksi ($Pd(C_2H_4N_2S_2)_2$) ile iletken bir polimer kullanarak elektrokimyasal sensör geliştirmişledir. Hazırlanan elektrot, altın ile hazırlanmış indirgenmiş grafen oksit (AuNPs@rGO) üzerine ($Pd(C_2H_4N_2S_2)_2$) kompleksi poli2,2: 5,2–tertiofen–3–(p-benzoik asit) (pTBA) kullanılarak üretilmiştir. Sensör performansını etkileyen deneysel parametreler olan AuNPs@rGO derişimi, elektropolimerizasyon döngüsü sayısı, ($Pd(C_2H_4N_2S_2)_2$)'nin immobilizasyon süresi ve pH optimize edilmiştir. Serotonin ve dopamin için çalışma aralığı sırasıyla 0,02 μM-200 μM ve 0,1 μM- 200 μM, gözlenebilme sınırları ise 2,5 nM ve 24,0 nM bulunmuşur. Önerilen sensörün uygulanabilirliği klinik uygulamalarda kanser hücreleri kullanılarak değerlendirilmiştir (Chung, S. vd. 2020).

Deepa ve arkadaşlarının 2020'de yaptıkları bir çalışmada, voltametrik olarak DA ve 5-HT birlikte tayini için sitikolin sodyum ile modifiye edilmiş karbon pasta elektrot (CDP-Kolin/MCPE) kullanılarak bir elektrokimyasal sensör tasarlanmıştır. Tarama hızı, pH ve çalışma aralığı, seçicilik gibi sensör parametreleri araştırılmıştır. DA'nın

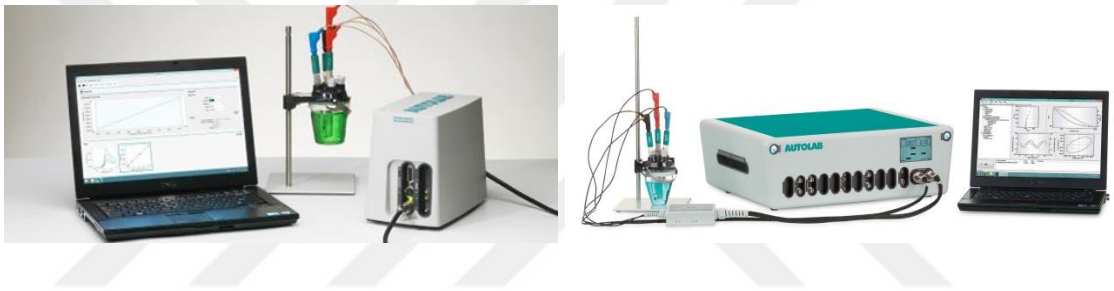
modifiye elektrottaki yükseltgenme reaksiyonu adsorpsiyon kontrollü ve 5-HT'nin ise difüzyon kontrollü olduğu bulunmuştur. CDP-Kolin/MCPE kullanılarak DA ve 5-HT için çalışma aralığı 10 mM–100 mM ve 10 mM–30 mM olarak bulunmuş, gözlenebilme sınırı ise 3,96 mM ve 5,81 mM olarak hesaplanmıştır. DA ve 5-HT için yükseltgenme pik-pik potansiyel ayrımı, CV tekniği ile yaklaşık 0,176 V bulunmuştur. DPV yönteminde DA ve 5-HT için sırasıyla 0,112 V ve 0,302 V'de yükselgenme pikleri gözlenmiştir (Deepa, S. vd. 2020).

2020 yılında Ran ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada, elektropolimerizasyon ile oluşturulan p-aminobenzensülfonik asit (p-ABSA) film ve ardından yüzeye grafen oksit damlatılarak elektrokimyasal bir sensör hazırlanmıştır. DA ve 5-HT için doğrusal çalışma aralığı 0,3–20 μmol dm^{-3} ve 0,6–20 μmol dm^{-3}, gözlenebilme sınırı 0,09 μmol dm^{-3} ve 0,2 μmol dm^{-3} olarak bulunmuştur. DA ve 5-HT standartları eklenerek elektrokimyasal sensör serum örneğine uygulanmıştır. Sonuçlar, GO ve p-ABSA'nın elektrokimyasal sensörsörlerde kullanımı için uygun nanomalzemeler olduğunu göstermektedir (Ran, G. vd. 2020).

4. MATERYAL ve YÖNTEM

4.1 Ölçüm Sistemleri ve Kullanılan Elektrotlar

Bu tez çalışması kapsamında, elektrokimyasal ölçümler bilgisayar bağlantılı Autolab-PGSTAT 204 ve PGSTAT 302N potansiyostat/galvanostat cihazları (Şekil 4.1) ve BASi marka elektrokimyasal hücre standı kullanılarak dönüşümlü voltametri (CV), kronoamperometri (CA), diferansiyel puls voltametrisi (DPV) ve elektrokimyasal empedans spektroskopisi (EIS) teknikleriyle yapıldı. Çalışmalar sonunda elde edilen veriler, Nova 2.1.4 yazılımı ile incelendi.



Şekil 4.1 AUTOLAB PGSTAT204 ve PGSTAT 302N elektrokimyasal analiz cihazı

Deneyler esnasında kullanılan çözeltileri hazırlamak için ELGA Purelab Optimum-Q cihazı ile distile edilmiş ultra saf su kullanıldı.

Bandelin Sonorex marka ultrasonikasyon cihazı hazırlanan çözeltileri karıştırmak ve çözmek amacıyla kullanıldı.

Deneysel ölçümler için kullanılacak deney çözeltilerinin pH'ları, ORION 912600 numaralı kombine pH elektrotu kullanılarak ORION 720A pH metre cihazı ile ayarlandı. Cihazın kalibrasyonu, pH'ları 4,0 ve 7,0 olan ticari tampon çözeltileri kullanılarak yapıldı.

Çözeltilerin karıştırılmasında ISOLAB marka vorteks ve Chiltern marka MS21S model manyetik karıştırıcı kullanıldı.

Çözeltilerin hazırlanması sırasında katı kimyasalları tartmak için KERN, ABT 220-5DM terazi kullanıldı.

Çözelti ilaveleri için Eppendorf research plus marka mikro pipetler kullanıldı. Çalışmalar sırasında, çalışma elektrotu olarak Şekil 4.2'de gösterilen Faber Castell 0.7 2B 75 mm kalem ucu kullanılmıştır. Karşıt elektrot olarak platin tel elektrot (MW1034), referans elektrot olarak da Ag/AgCl referans elektrodu (MF 2052) kullanılmıştır.



Şekil 4.2 Faber Castell 0.7 2B 75 mm kalem ucu

4.2 Kullanılan Kimyasallar

4.2.1 Azot gazı

Yüksek saflıktaki azot gazı elektropolimerizasyon işlemi boyunca moleküler oksijenin giderilmesi ve inert bir ortam sağlamak amacıyla kullanıldı.

4.2.2 Kullanılan diğer kimyasallar

Deneysel çalışmalar sırasında kullanılan kimyasal maddeler ve temin edildikleri firmalar Çizelge 4.1'de verilmiştir.

Çizelge 4.1 Kullanılan kimyasal maddeler, saflık dereceleri ve temin edildikleri firmalar

Kimyasal Madde	**Saflık Dereceleri**	**Temin Edildiği Firma**
Dopamin hidroklorür		Sigma
Serotonin hidroklorür	%98	Abcr
Tetra kloroaurik asit (HAuCl4)	Au %49 min.	Alfa Aesar
L-Lizin	≥%98	Sigma
DRP-GQD		Metrohm
Potasyum klorür	%99	Sigma-Aldrich
Sodyum dihidrojenfosfat-2-hidrat	%98	Sigma-Aldrich
Disodyum monohidrojenfosfat-2-hidrat	%98	Sigma-Aldrich
Potasyum hekzasiyanoferrat(III)	≥%99	Sigma-Aldrich
Potasyum hekzasiyanoferrat(II)-3-hidrat	≥%99,5	Sigma-Aldrich
L-Askorbik Asit	%99,9	Sigma
Asetaminofen	%98	Sigma-Aldrich
D-(-)- Fruktoz	≥%99	Sigma
D-(+)-Glukoz	≥%99,5	Fluka
L-Sistein	≥%99	Merck
Ürik Asit	≥%99	Fluka
Üre	≥%99,5	Fluka
Dopadren© (200 mg/mL dopamin hidroklorür)		Vem
Fetal bovin serum		Biological Industries (BI)

4.3 Kullanılan Çözeltiler

4.3.1 Fosfat tampon çözeltisi (PBS)

0,1 M derişimde fosfat tamponu hazırlamak için hesaplanan miktarlardaki $Na_2HPO_4.2H_2O$ ve $NaH_2PO_4.2H_2O$ katıları tartıldı ve uygun miktarda ultra saf su

içerisinde çözüldü. Çözeltinin pH'sını ayarlamak için 0,1 M NaOH ve 0,1 M HCl çözeltileri kullanıldı. Hazırlanan tampon çözeltisi buzdolabında +4 ^{o}C'de muhafaza edildi.

4.3.2 Ferri/ferro siyanür çözeltisi

5,0 mM ferri/ferrosiyanür içeren 0.1 M KCl çözeltisini hazırlamak için uygun miktarlarda katı potasyum hekzasiyanoferrat (III) ve potasyum hekzasiyanoferrat (II).3H_2O (1:1) ve 0,1 M KCl çözeltisi için kimyasallar uygun miktarda tartıldı ve ultra saf su ile çözüldü. Kullanılmadığı zamanlarda +4 ^{o}C'de saklandı.

4.3.3 Tetra kloroaurik asit ($HAuCl_4$) çözeltisi

50,0 mM $HAuCl_4$ stok çözeltisinden 40 µl alındı ve derişimi 0,6 mM olacak şekilde 0,1 M KCl ile tamamlandı.

4.3.4 L-Lizin-GOD çözeltisi

5,0 mM stok lizin çözeltisi hazırlamak için 36,5 mg lizin tartıldı ve 0,1 M KCl içeren 50 mL PBS (0,1 M, pH 8,0) çözeltisi içinde karıştırıldı. Hazırlanan lizin çözeltisinden 4,990 mL alındı ve ticari olarak alınmış GQD'dan 10 µL ilave edilerek hacmi 5 mL'ye tamamlandı ve bu çözelti 30 dk ultrasonike edildi.

4.3.5 Stok dopamin çözeltisi

Derişimi 0,01 M olacak şekilde hazırlanan stok dopamin çözeltisi için tartılan dopamin saf su ile çözüldü. Hazırlanan stok dopamin çözeltileri kullanılarak farklı derişimde dopamin çözeltileri hazırlandı.

4.3.6 Stok serotonin çözeltisi

Derişimi 0,01 M olacak şekilde hazırlanan stok serotonin çözeltisi için tartılan serotonin saf su ile çözüldü. Hazırlanan stok serotonin çözeltileri kullanılarak farklı derişimde serotonin çözeltileri hazırlandı.

4.3.7 Girişim yapan türlerin çözeltileri

Dopamin ve serotonin eş zamanlı tayini sırasında girişim etkisi yapabilecek olan maddeler asetaminofen, askorbik asit, glukoz, fruktoz, L-sistein, ürik asit ve üre için stok çözeltileri her birinin derişimi 0,01 M olacak şekilde ölçülü balon jojelerde hazırlanmıştır.

4.3.8 Gerçek numune çözeltileri

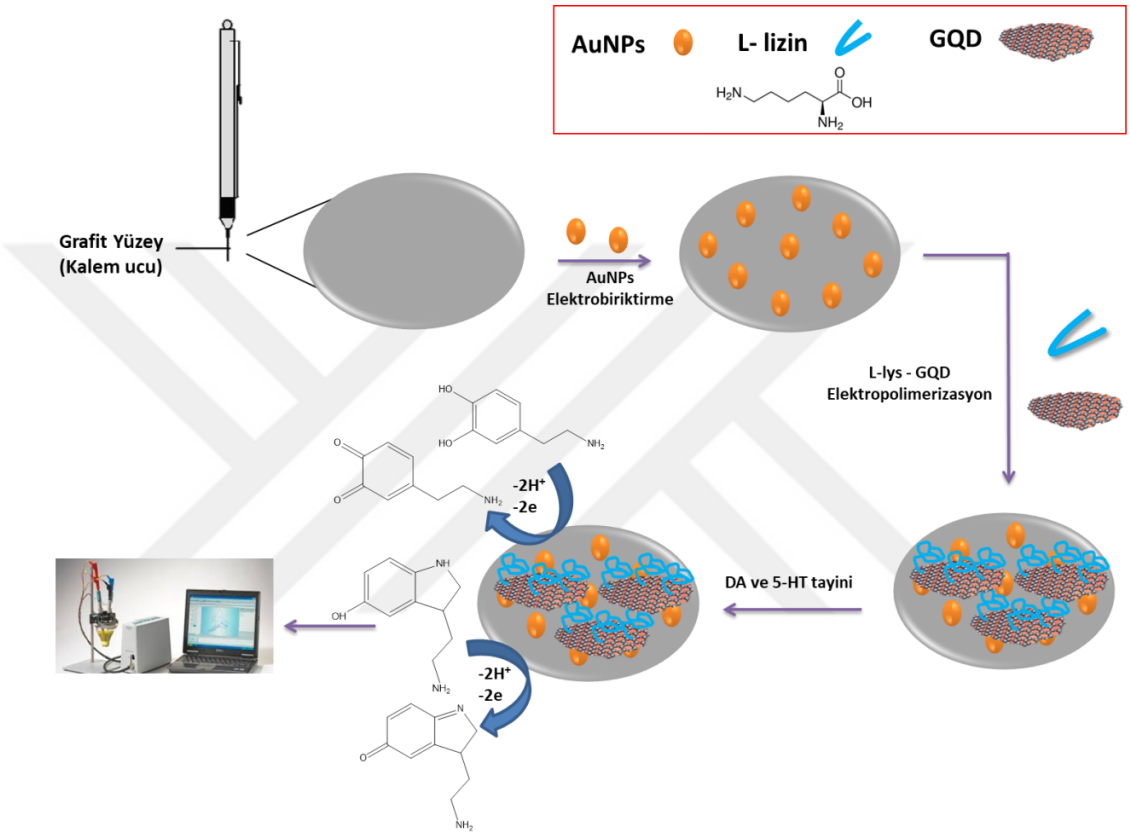
Gerçek numune analizleri için fetal bovin serum 1:10 oranında 0,1 M PBS (pH 8,0) ile seyreltilerek hazırlandı. Ayrıca Dopadren® (200 mg/5 ml) farmasötik preparatı enjeksiyon çözeltisi ile de ölçümler alındı.

4.4 Deneyin Yapılışı

4.4.1 Modifiye kalem grafit elektrotların hazırlanması

PGE modifikasyonu, Autolab PGSTAT204 potantiostat/galvanostat cihazı kullanılarak gerçekleştirildi. İlk olarak PGE'ye kronoamperometrik yöntemle 120 saniye boyunca +1,4 V uygulanarak yüzeyi aktive edildi. Daha sonra PGE'lerin elektrodun yüzey alanını genişletmek amacıyla AuNPs ile elektrobiriktirme yapıldı. Bu amaç doğrultusunda, 0,6 mM $HAuCl_4$ çözeltisi ve 0,1 M KCl hazırlandı. Hazırlanan KCl çözeltisinde 2960 µL ve $HAuCl_4$ çözeltisinden 40 µL bir hücre içerisine alındı (TIĞ, G. A. 2018). Ardından elektrot yüzeyinde (–0,3 V)-(+1,2 V) arasında, 15 döngü sayısı ile dönüşümlü voltametri tekniği kullanılarak biriktirildi. Daha sonra altın nanopartikül ile kaplanan PPGE Bölüm 4.3.4'te anlatıldığı şekilde hazırlanan L-lizin-GQD çözeltisine daldırıldı. PPGE/AuNPs elektroduna (–1,1 V)-(+2,2 V) arasında, 50 mV/s tarama

hızında 7 ardışık döngü ile dönüşümlü voltametri tekniği kullanılarak elektropolimerizasyon işlemi uygulandı. Hazırlanan modifiye elektrodun hazırlık aşaması Şekil 4.3'de gösterilmiştir.



Şekil 4.3 Geliştirilen modifiye elektrodun hazırlık aşamalarının şematik olarak gösterimi

4.4.2 Modifiye kalem grafit elektrotların elektrokimyasal karakterizasyonu

Yalın PGE, PPGE, PPGE/AuNPs, PPGE/P(L-Lys)-GQD ve PPGE/AuNPs/P(L-Lys)-GQD elektrotlarının elektrokimyasal karakterizasyonları 5,0 mM $Fe(CN)_6^{3-/4-}$ (1:1) türlerini içeren 0,1 M KCl çözeltisi (redoks prob çözeltisi) kullanılarak gerçekleştirildi. CV ve EIS ölçümleri alınarak her elektrot için anodik (ip_a), katodik (ip_k) pik akımları, pik-pik potansiyeli değerleri (ΔE_p) ve R_{et} değerleri hesaplandı ve sonuçlar karşılaştırıldı.

CV ölçümleri (-0,2)-(+0,6) V potansiyel aralığında ve 50 mVs^{-1} tarama hızında Ag/AgCl referans elektroda karşı alındı. PPGE ve hazırlanan elektrotların elektrokatalitik özelliklerinin karşılaştırılması için anodik ve katodik pik akımları (sırasıyla I_{pa} ve I_{pk}) ve pik-pik ayrım potansiyelleri ($\Delta E_{\mathbf{p}}$) belirlendi.

EIS ölçümleri için elektrotlar, 5,0 mM $[Fe(CN)_6]^{3-/4-}$ içeren 0,1 M KCl çözeltisinin bulunduğu elektrokimyasal hücreye daldırıldı ve 10^5-10^{-2} frekans aralığında açık devre potansiyelinde 5 mV pertüsbasyonda EIS ölçümleri alındı. Her bir elektrot için elde edilen spektrumlar (Nyquist eğrisi) kaydedildi elektrotlar için elektron transfer direnç değerleri önerilen eşdeğer devre modellerine göre hesaplandı.

4.4.3 DA ve 5-HT'nin modifiye elektrotlarda elektrokimyasal davranışları

DA ve 5-HT'nin davranışları, yalın PGE, PPGE, PPGE/AuNPs, PPGE/P(L-Lys), PPGE/P(L-Lys)-GQD, PPGE/AuNPs/P(L-Lys) ve PPGE/AuNPs/P(L-Lys)-GQD elektrotlarında incelenmiştir. Bunun için, 0,1 M pH 8,0 olan tampon çözeltide (-0,2 V)-(+0,8 V) aralığında dönüşümlü voltametri tekniği kullanılarak ölçümler alındı ve pik akımları incelendi.

4.4.4 AuNPs biriktirilmesinde döngü sayısının optimizasyonu

Hazırlanan PPGE/AuNPs/P(L-Lys)-GQD modifiye elektrodun en uygun bileşimini belirlemek için ilk olarak AuNPs biriktirilmesinde döngü sayısı optimize edildi. Bunun için, 10, 15, 20, 25 ve 30 olmak üzere beş farklı döngü sayısında Bölüm 4.4.1'de anlatıldığı şekilde elektrotlar hazırlandı. Ardından modifiye elektrotlar 0,10 M PBS (pH 8,0) içerisine alındı ve stok DA ve 5-HT çözeltilerinden belirli miktarda ekleme yapılarak (-0,2 V)-(+1,2 V) arasında dönüşümlü voltamogramları kaydedildi. DA ve 5-HT için elde edilen pik akımları incelenerek optimum döngü sayısı belirlendi.

4.4.5 GQD miktarının optimizasyonu

En uygun GQD miktarının optimizasyonu için P(L-Lys) çözeltisi içerisine 5, 10, 15 ve 20 µL/ml GQD eklenerek Bölüm 4.4.1'de anlatıldığı şekilde dört farklı PPGE/AuNPs/P-(L-Lys)-GQD elektrot hazırlandı. Modifiye elektrotların DA ve 5-HT'ye yanıtları stok çözeltilerinden belirli miktarlarda eklenerek (–1,1 V)-(+2,2 V) arasında dönüşümlü voltametri tekniği ile incelendi ve optimum GQD miktarı belirlendi.

4.4.6 P(L-Lys)-GQD biriktirilmesinde döngü sayısının optimizasyonu

P(L-Lys)-GQD kompozitin elde PPGE/AuNPs yüzeyinde elde edilmesi için 5, 7, 10, 15 ve 20 beş farklı döngü sayısında elektropolimerizasyon işlemi uygulandı ve Bölüm 4.4.1'de anlatıldığı şekilde PPGE/AuNPs/P(L-Lys)-GQD elektrotlar hazırlandı. Ardından modifiye elektrotlar 0,1 M PBS (pH 8,0) içerisine alındı ve stok DA ve 5-HT çözeltilerinden belirli miktarda ekleme yapılarak (–0,2 V)-(+1,2 V) arasında dönüşümlü voltamogramları kaydedildi. DA ve 5-HT için elde edilen pik akımları incelenerek optimum döngü sayısı belirlendi.

4.4.7 Optimum pH değerinin belirlenmesi

Yapılan deneysel çalışmalarda destek elektrolitin pH değeri, analitin pik akımını etkileyen değişkenlerden biridir ve bu nedenle elektrokimyasal davranışlar üzerinde oluşabilecek etkilerini incelemek önemlidir (Goyal, R. N. vd. 2005). Altın nanopartikül ve P(L-Lys)-GQD ile hazırlanan modifiye elektrodun cevabına optimum pH değerinin belirlenmesi amacıyla, 0,10 M derişimde pH değerleri 4,0; 5,0; 6,0; 7,0; 7,5; 8,0; 8,5; 9,0 olan sekiz farklı fosfat tamponu hazırlandı. Hazırlanan modifiye elektrotlar her bir tamponda ilk önce (–0,2 V)-(+0,8 V) aralığında DPV yöntemi kullanılarak elektrot yüzeyi kararlı hale getirildi. Ardından çalışma ortamına hazırlanan stok DA ve 5-HT çözeltilerinden ekleme yapıldı. Aynı potansiyel aralığında ilaveler sonrası akım değerleri kaydedildi ve en uygun tampon pH'sı belirlendi.

4.4.8 DA ve 5-HT'nin için kalibrasyon çalışmaları

Belirlenen en uygun koşullarda DPV yöntemi kullanılarak DA ve 5-HT tayini için ayrı ayrı ve eş zamanlı yapılan ölçümler sonucu elde edilen akım değerleri ile kalibrayon grafikleri oluşturuldu. Burada ilk olarak 5-HT'nin sabit tutularak DA'nin artan derişimlerdeki akım değerleri ölçüldü. Ardından DA'nin sabit tutularak 5-HT'nin artan derişimlerdeki akım değerleri ölçüldü. Son olarak ise DA ve 5-HT'nin eş zamanlı artan derişimlerdeki akım değerleri ölçüldü. Elde edilen akım değerleri DA ve 5-HT'nin derişimine karşı grafiğe geçirilerek üç ayrı kalibrasyon grafiği çizildi.

4.4.9 Tekrar üretilebilirliğin belirlenmesi

Elektrokimyasal sensörlerin analizlerde kullanılabilirliği onların güvenilir, doğru ve aynı koşullarda tekrardan üretilip üretilemedikleriyle ilgilidir. Bu nedenle yeni geliştirilen bir elektrokimyasal sensörün incelenmesi gereken en önemli özelliklerinden biri de o biyosensörün tekrar üretilebilirliğin belirlenmesidir. Bu nedenle birbirinden bağımsız elektrotlar hazırlanarak ölçümler alındı ve elde edilen sonuçlar ile % bağıl standart sapma (%BSS) değeri hesaplandı.

4.4.10 Depolama kararlılığı çalışması

PPGE/AuNPs/P(L-Lys)-GQD modifiye elektrodun depolama kararlılığının belirlenmesi için, belirli zaman aralıklarında DA ve 5-HT'e voltametrik cevabı ölçüldü. Bunun için, 0,10 M pH 7,0 fosfat tamponuna stok DA ve 5-HT çözeltilerinden 20 µl eklenerek DPV yöntemi ile voltametrik cevaplar elde edildi. Geçen zaman aralığı içerisinde elektrodun cevabındaki % değişim kararlılığı incelendi. Elektrot kullanılmadığı zamanlarda +4°C'de kuru halde saklandı.

4.4.11 Girişim etkisi çalışması

Geliştirilen elektrokimyasal sensörün sadece DA ve 5-HT'ye özgü olduğunu kanıtlamak için, Bölüm 4.3.7'de anlatıldığı gibi hazırlanan asetaminofen, askorbik asit, glukoz,

fruktoz, sistein, ürik asit ve üre çözeltileri kullanıldı. DPV yöntemi ile önce DA ve 5-HT için cevaplar ölçüldü. Ardından DA, 5-HT ve girişim etkisi incelenen tür ekledikten sonra 3 ölçüm alınarak sonuçlar kaydedilmiştir. Kaydedilen bu sonuçlar birbiriyle karşılaştırıldı ve her bir tür için %girişim değerleri aşağıdaki formüle göre hesaplandı;

$\%girişim=[(I_x-I_0)/I_0]\times100$

I_x; 30μM DA, 30 μM 5-HT ve girişim yapan türü içeren çözeltinin DPV sinyali

I_0; 30 μM DA ve 30 μM 5-HT içeren çözeltinin DPV sinyali

4.4.12 Geliştirilen elektrokimyasal sensör ile gerçek numune analizi

Bu aşamada geliştirilen PPGE/AuNPs/P(L-Lys)-GQD elektrodu kullanılarak, standart ekleme metodu ile fetal sığır serum örneğinde DA ve 5-HT eş zamanlı tayini gerçekleştirildi. Ayrıca DA için piyasada farmasötik preparatı enjeksiyon çözeltisi halinde bulunan Dopadren® (200 mg/5 ml) kullanılarak gerçek numune analizi yapıldı.

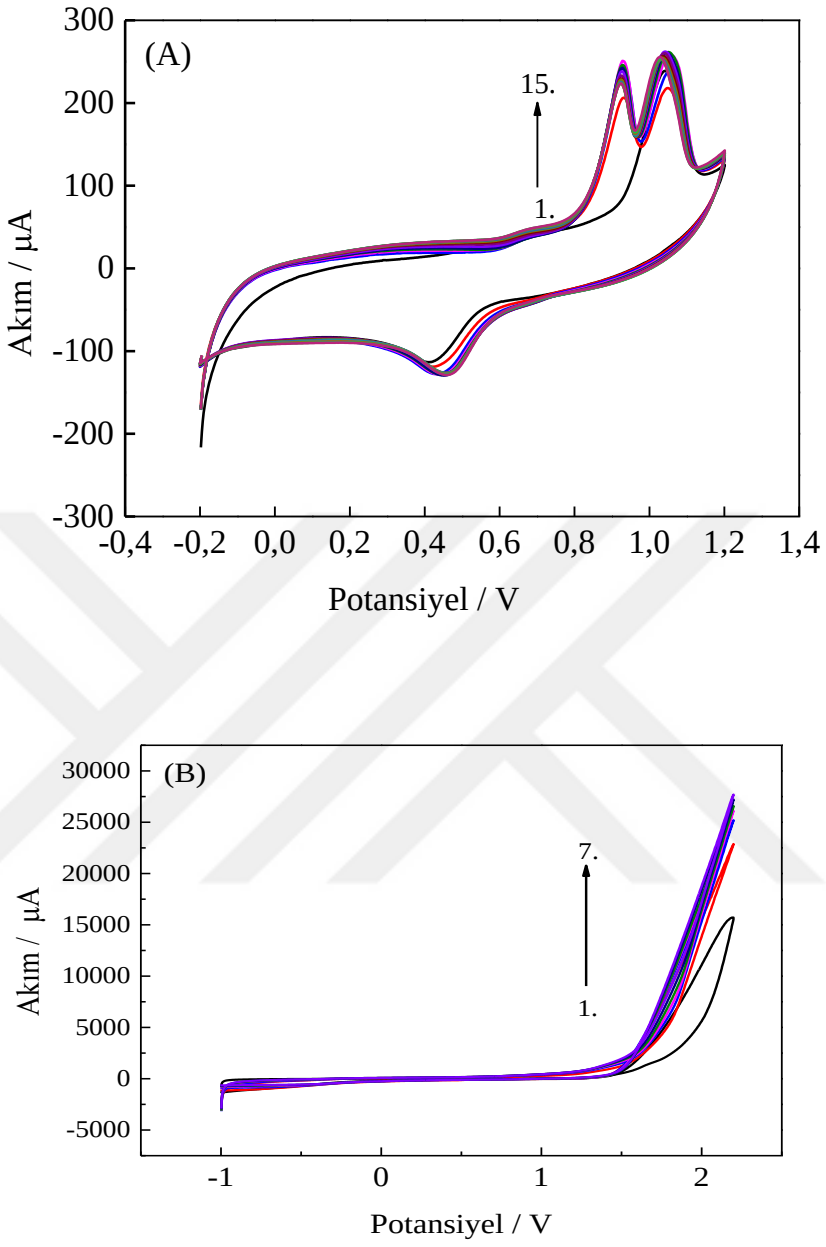
4.4.13 Taramalı elektron mikroskobu (SEM) ve X-ışınları fotoelektron spektroskopisi (XPS) analizleri

Hazırlanan elektrotların yüzey karakterizasyonları SEM tekniği kullanılarak incelendi. Ayrıca, elektrot yüzeylerinin incelenmesinde kullanılan X-ışınları fotoelektron spektroskopisi (XPS) tekniği ile de ölçümler alındı. Yalın ve modifiye elektrotların yüzey görüntüleri Orta Doğu Teknik Üniversitesi MERLAB biriminde bulunan alan etkili alan emisyonlu taramalı elektron mikroskobu FE-SEM (QUANTA 400F FEI, The Netherlands) ile elde edilmiştir. Ayrıca modifiye elektrotların elemental kompozisyonları monokromatik Al Kα X-ray kaynaklı (hυ = 1486.6 eV) X-ışınları fotoelektron spektroskopisi (XPS) (PHI 5000 Versa Probe, Physical Electronics, USA) ile incelenmiştir.

5. ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA

5.1 Modifiye Kalem Grafit Elektrotların Hazırlanması

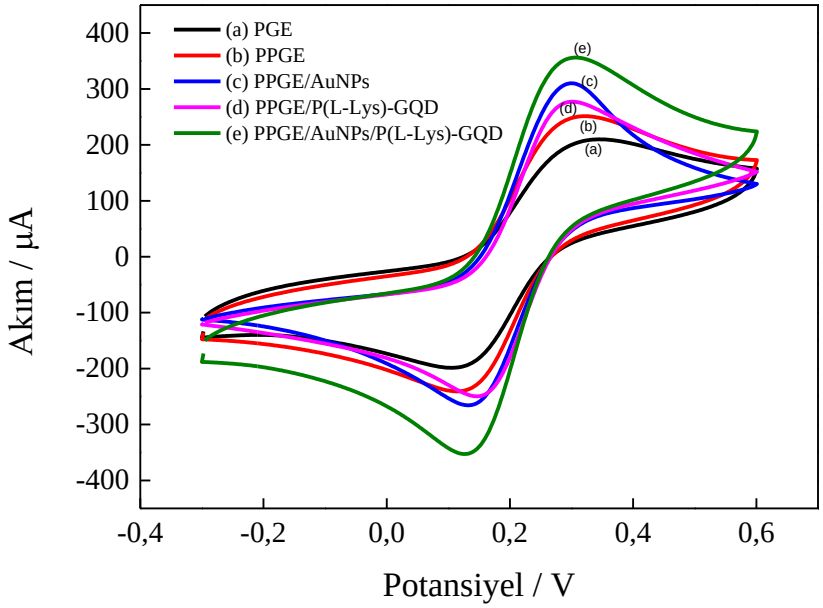
Bölüm 4.4.1'de anlatıldığı gibi, ilk olarak yalın PGE elektrot yüzeyine ön işlem olarak kronoamperometri yöntemi ile 120 saniye boyunca +1,4 V potansiyel uygulanarak yüzeyi aktive edildi. Uygulanan bu elektrokimyasal ön işlem ile PGE elektroda iyi bir adsorpsiyon özelliği sağladığı ve elektrot yüzeyinin hidrofilik özelliğini arttırdığı bilinmektedir (Dilgin, Y. vd. 2012, Vu, D. L. vd. 2014). Ayrıca ön işlem uygulanan PGE, ön işlem uygulanmayan PGE'ye göre daha hızlı elektron transferi sağladığı ve yüzey alanını daha fazla arttırdığı yapılan çalışmalarda görülmüştür (Buleandra, M. vd. 2019). Ardından PPGE elektrot yüzeyinde Bölüm 4.4.4'te anlatıldığı şekilde CV yöntemi ile AuNPs biriktirildi. Elektrodun modifikasyon işlemine ait dönüşümlü voltamogramı Şekil 5.1 (A)'da gösterildi. Şekil incelendiğinde AuNPs'in +0,93, 1,05 V'da iki tane yükseltgenme, 0,43V'da ise bir tane indirgenme piki bulunmaktadır. Döngü sayısı arttıkça pik akımlarının artması PPGE yüzeyinde AuNP'lerin biriktiği sonucuna varılabilir (Saberi, R. S. vd. 2013). PPGE/AuNPs elektrodu L-Lys-GQD içeren çözelti içerisine daldırılarak Bölüm 4.4.6'da anlatıldığı şekilde elektropolimerizasyon işlemi uygulandı. Şekil 5.1 (B) incelendiğinde dönüşümlü voltamogramda her bir döngüden sonra pik akımlarındaki artış ile PPGE/AuNPs yüzeyine polimerin ve GQD'un birikmeye başladığı söylenebilir.



Şekil 5.1 (A) AuNPs'in dönüşümlü voltametri ile PPGE yüzeyine biriktirilmesi (B) P(L-Lys)-GQD'un dönüşümlü voltametri ile PPGE/AuNPs yüzeyinde elektropolimerizasyonu

5.2 Modifiye Kalem Grafit Elektrotların Karakterizasyonu

Bölüm 4.4.2'de anlatıldığı gibi yalın PGE, PPGE, PPGE/AuNPs, PPGE/P(L-Lys)-GQD ve PPGE/AuNPs/P(L-Lys)-GQD, elektrotlarının karakterizasyonları 5 mM $Fe(CN)_6^{3-/4-}$ (1:1) türlerini içeren 0,1 M KCl çözeltisi kullanılarak gerçekleştirildi. Şekil 5.2 yalın ve modifiye elektrotların dönüşümlü voltamogramlarını göstermektedir. Yalın PGE yüzeyine ön işlem uygulandıktan sonra $Fe(CN)_6^{3-/4-}$ redoks probunun anodik ve katodik pik akımlarının arttığı ve pik-pik ayrımı değerinin (ΔE_p) azaldığı gözlendi (Şekil 5.2(b)). PPGE elektrot yüzeyi AuNPs ile kaplandığında elektrodunun anodik (ip_a) ve katodik (ip_k) akım değerlerinin PPGE elektroduna göre daha yüksek olduğu gözlendi (Şekil 5.2(c)). Buradan PPGE yüzeyinde biriktirilen AuNPs'lerin çözelti ve elektrot ara yüzeyinde elektrot transferini hızlandırarak elektrot performansını arttırdığı sonucuna varılabilir (Fan, L. vd. 2013). PPGE yüzeyi P(L-Lys)-GQD kaplandığında ise elektrodunun anodik (ip_a) ve katodik (ip_k) akım değerlerinin yine PPGE elektroduna göre daha yüksek olduğu gözlendi (Şekil 5.2(d)). Ancak PPGE/ AuNPs/P(L-Lys)-GQD modifiye elektrotta diğer tüm elektrotlara göre en yüksek akım değerleri elde edildi (Şekil 5.2(e)). Yalın PGE, PPGE, PPGE/AuNPs, PPGE/P(L-Lys)-GQD ve PPGE/AuNPs/P(L-Lys)-GQD elektrotlarının ΔE_p, ip_a, ip_k değerleri Çizelge 5.1'de gösterildi.



Şekil 5.2 Tarama hızı 50 mV s^{-1}, 5,0 mM $Fe(CN)_6^{3-/4-}$ içeren 0,1 M KCl çözeltisi içerisinde yalın PGE (a), PPGE (b), PPGE/AuNPs (c), PPGE/P(L-Lys)-GQD (d) ve PPGE/AuNPs/P(L-Lys)-GQD (e) elektrotlarının dönüşümlü voltamogramları

Çizelge 5.2 Yalın PGE, PPGE, PPGE/AuNPs, PPGE/P(L-Lys)-GQD ve PPGE/AuNPs/P(L-Lys)-GQD elektrotlarının elektrokimyasal özelliklerinin karşılaştırılması

Elektrot	**Ep_a / V**	**Ep_c / V**	**ΔE_p / V**	**Ip_a / µA**	**Ip_k / µA**
Yalın PGE	0,313	0,125	0,188	143,55	–173,27
PPGE	0,298	0,127	0,171	188,03	–221,88
PPGE/AuNPs	0,291	0,139	0,151	287,13	–279,14
PPGE/P(L-Lys)-GQD	0,288	0,154	0,134	248,32	–267,84
PPGE/AuNPs/P(L-Lys)-GQD	0,303	0,144	0,151	300,24	–336,06

Elektrot karakterizasyonu için PGE, PPGE, PPGE/AuNPs, PPGE/P(L-Lys)-GQD ve PPGE/AuNPs/P(L-Lys)-GQD elektrotların elektron transfer kapasiteleri elektrokimyasal empedans spektroskopisi (EIS) ile incelendi. Elde edilen Nyquist eğrileri Şekil 5.4'te verildi. Nyquist eğrisi olarak gösterilen bir EIS spektrumunda

yüksek frekanslar yarım daire kısmını, düşük frekanslar ise doğrusal kısmı ifade etmektedir. Nyquist eğrileri, yüksek frekansta kaydedilmiş olan yarım dairenin çapının artması, elektrot yüzeyindeki elektron aktarım hızının yavaş olduğunu gösterirken, çapın azalması ise yüzeydeki elektron aktarım hızının yüksek olduğunu göstermektedir. Yarım dairenin çapı elektron veya yük transfer direncine (R_{et}) eşittir. Elde edilen Nyquist eğrilerinden yararlanarak, yalın PGE, PPGE, PPGE/AuNPs, PPGE/P(L-Lys), PPGE/P(L-Lys)-GQD ve PPGE/ AuNPs/P(L-Lys)-GQD elektrotlarının R_{et} değerleri sırasıyla 3440, 1500, 351, 144, 94,7 ve 61,8 ohm olarak bulundu. R_{et} değerlerinin düşmesi çözelti/elektrot ara yüzeyindeki elektron transfer hızının arttığını göstermektedir. Elde edilen sonuçların incelendiğinde AuNPs/P(L-Lys)-GQD elektrodunun yüzey direncinin düşük ve bunun nedeniyle iletkenliğinin diğer elektrotlara göre daha yüksek olduğu sonucuna varıldı.

Elektrot reaksiyon kinetikleri, tarama hızının pik akımları üzerine etkisi çalışarak araştırıldı. Bu amaçla, PPGE/AuNPs/P(L-Lys)-GQD elektrodun farklı tarama hızlarında (25-250 mV s^{-1}), 5,0 mM $Fe(CN)_6^{3-/4-}$ ve 0,1 M KCl içeren hücre ortamında CV'leri kaydedildi (Şekil 5.3). Modifiye elektrot için tarama hızının artışı ile pik akımlarının artığı gözlemlendi. Bunun yanında, Şekil 5.3'teki veriler kullanılarak tarama hızının karekköküne karşılık anodik ve katodik pik akımları grafiğe geçirildi. Şekil incelendiğinde, modifiye elektrotta, tarama hızının karekköküne karşı pik akımların geçirilmesi ile elde edilen grafiklerin doğrusal olduğu görülebilir. Bu durum, elektrot reaksiyonunun başlıca difüzyon kontrollü işlemle yürüdüğünü göstermektedir. Difüzyon kontrollü prosesler özellikle nicel tayinler için ideal bir kütle aktarım yoludur (Mobin, S. M. vd. 2010).

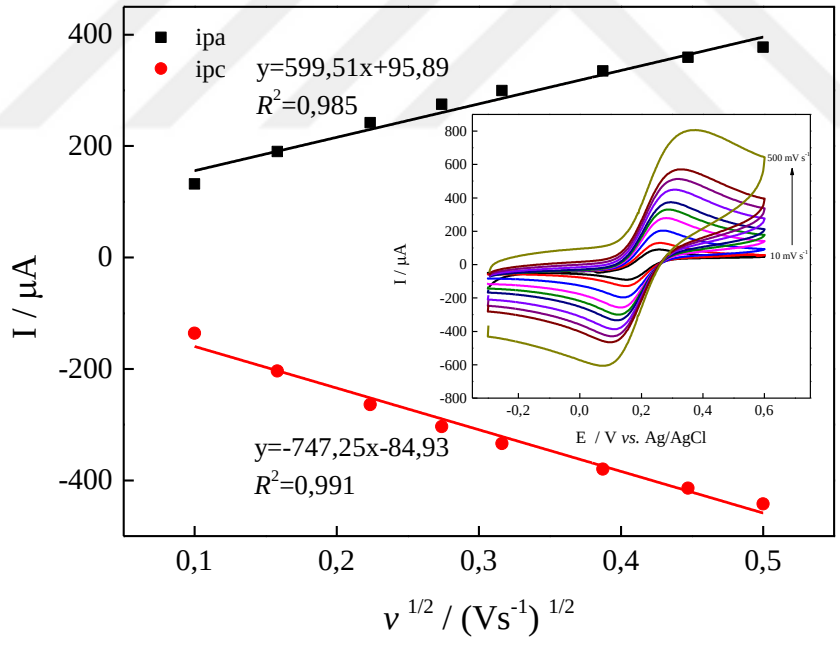
Hazırlanan elektrotun elektro-aktif yüzey alanı Randles-Sevcik denklemi kullanılarak hesaplandı.

$$i_p = (2.69 \times 10^5) n^{3/2} A C D^{1/2} v^{1/2}$$

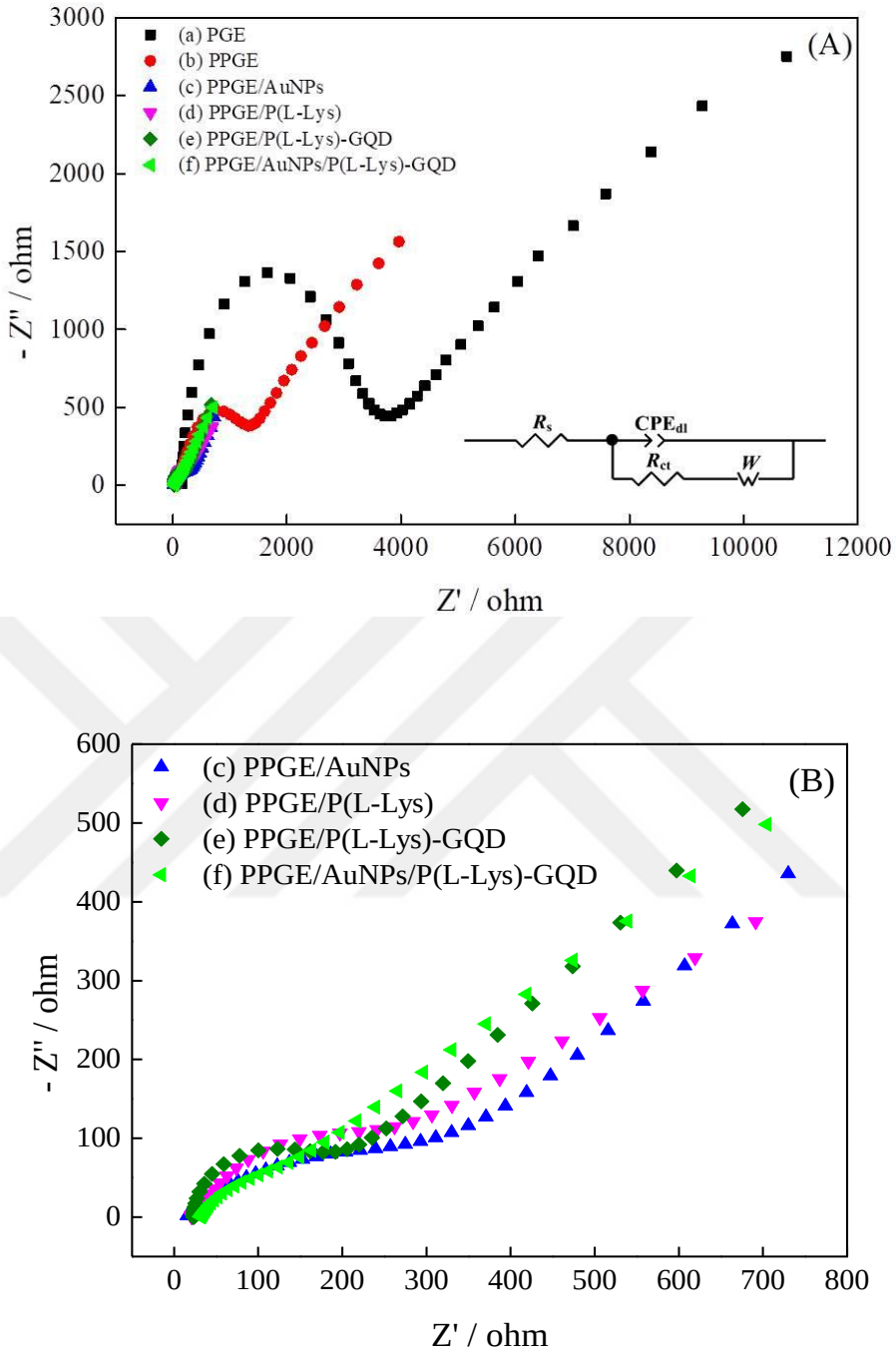
Bu denklemde ip tepe akımı (A), n elektron sayısı (n = 1), A elektrotun görünen elektroaktif yüzey alanı (cm^2), C redoks prob derişimi ($molcm^{-3}$), D ise difüzyon

katsayısı (ferrisiyanür için 6,67 × 10^{-6} cm^2s^{-1}), v tarama hızını göstermektedir (Vs^{-1}) (Yao, Y. ve Shiu, K.-K. 2007) .

Yalın ve modifiye elektrotların yüzey alanları 0,1 M KCl içeren 5,0 mM $Fe(CN)_6^{3-/4}$ redoks probu içerisinde CV'leri Ip'nin $\upsilon^{1/2}$ karşı grafiğe geçirilmesi ile hesaplandı (Şekil 5.3). PGE, PPGE, PPGE/AuNPs, PPGE/P (L-Lys)-GQD ve PPGE/AuNPs/P(L-Lys)-GQD sırasıyla elektrotların elektroaktif yüzey alanları 0,261 cm^2, 0,342 cm^2, 0,520 cm^2, 0,452 cm^2 ve 0,550 cm^2 olarak bulundu. En yüksek elektro-aktif yüzey alanının AuNPs/P(L-Lys)–GQD modifiye PPGE'de elde edilmesinin, hazırlanan kompozitin geniş yüzey alanı, iyi elektrokatalitik davranışı ve iletkenlik özelliklerine bağlı olduğu söylenebilir. Bu sonuçlardan yola çıkarak AuNPs/P(L-Lys)–GQD nanokompozit modifiye elektrodun bir nanosensör hazırlanması için kullanılabileceği düşünülmektedir.

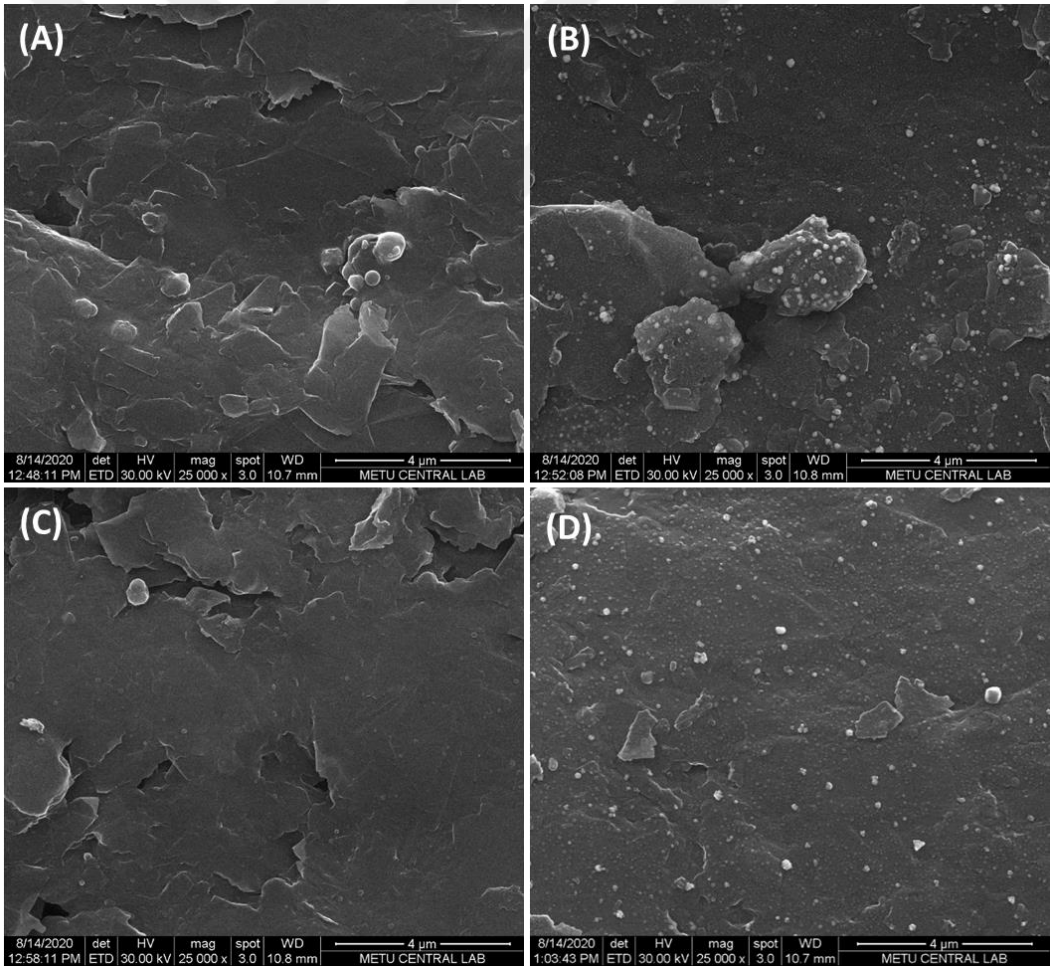


Şekil 5.3 PPGE/AuNps/P(L-Lys)-GQD elektrodun farklı tarama hızlarının karekökü ile pik akımları grafiği, iç şekil; 10–500 mVs^{-1} arasında tarama hızında elde edilen dönüşümlü voltamogramları



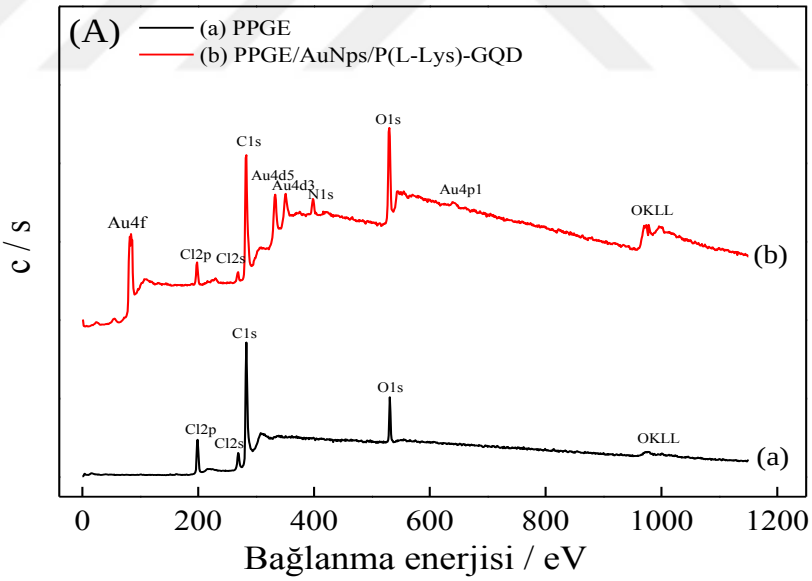
Şekil 5.4 Yalın PGE, PPGE, PPGE/AuNPs, PPGE/P(L-Lys), PPGE/P(L-Lys)-GQD ve PPGE/AuNPs/P(L-Lys)-GQD elektrotlarının Nyquist eğrileri. (1,0 M KCl içeren 5,0 mM $Fe(CN)_6^{3-/4}$ çözeltisi

Geliştirilen elektrokimyasal sensörün her aşaması SEM ile görüntülenerek yüzey morfolojisindeki değişim incelendi. Elde edilen sonuçlar Şekil 5.5'te gösterildi. Şekil 5.5 (A) yalın PGE elektrodun grafit katmanlarından oluştuğunu gösteren bir görüntüdür. Şekil 5.5 (B)'de kalem grafit elektrota altın nanopartiküllerin kaplanması sonucu SEM görüntüsüdür. AuNPs noktalar halinde görülmektedir. Şekil 5.5 (C) yine kalem grafit elektrota polimer ve grafen kuantum nokta ile elektopolimerizasyon sonucu oluşan görüntüdür. Elektropolimerizasyon sonrası P(L-Lys)-GQD'un homojen ince bir tabaka olarak kaplandığı görülmektedir. Son olarak PPGE/AuNPs/P(L-Lys)-GQD elektrot yüzeyi incelendi. Şekil 5.5 (D). Modifiye elektrot yüzeyinde de görüldüğü gibi hem AuNPs'lerin hem de P(L-Lys)-GQD'in homojen olarak elektrot yüzeyinde dağıldığı görüldü.

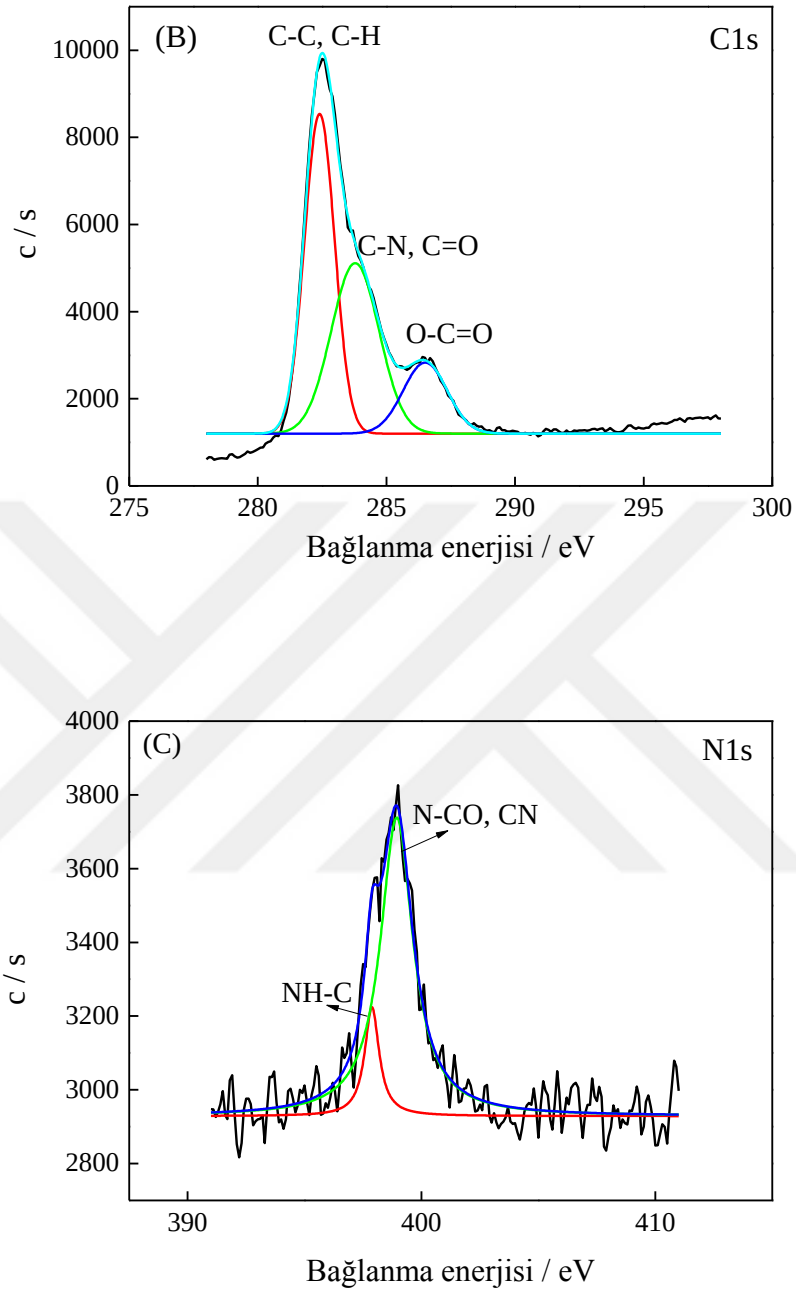


Şekil 5.5 (A) PPGE (B) PPGE/AuNPs (C) PPGE/P(L-lys)-GQD (D) PPGE/AuNPs/P(L-lys)-GQD elektrotlarına ait SEM görüntüleri

Modifiye elektrotların elementel karakterizasyonunu araştırmak için XPS ölçümleri alındı. Şekil 5.6 (a) PPGE ve (b) PPGE/AuNps/P(L-Lys)-GQD elektrotlarının XPS spektrumlarını göstermektedir. Yalın PPGE yalnızca C1s (283.0 eV), O1s, Cl2p (198.0 eV), Cl2s (269 eV) ve OKLL piklerine sahiptir. Yalın PPGE'de Cl2p ve Cl2s piklerinin varlığı, NaCl içeren ABS çözeltisinde gerçekleştirilen aktivasyon prosedüründen kaynaklanabilir. PPGE/AuNps P(L-Lys)-GQD elektrot ise C1s (283 eV), N1s (398 eV), Au4p1 (639 eV), Au4d3 (351 eV), Au4d5 (333 eV) ve Au4f (84 eV) piklerine sahiptir. Şekil 5.6 (B)'de gösterilen PPGE/AuNps/P(L-Lys)-GQD elektrodun C1s kısmi tarama spektrumu incelendiğinde 282.4, 283.8, and 286.5 eV'da gözlenen piklerin C–C, C–N ve C–O/C=O bağlarına karşılık gelmektedir (Zhao, Q. vd. 2019). N1s kısmi tarama XPS spektrumu incelendiğinde (Şekil 5.6 (C)), 397.9 eV ve 399 eV'da elde edilen piklerin sırasıyla NH–C ve N–CO bağlarına karşılık geldiği düşünülmektedir (Niedziałkowski, P. vd. 2015). Bu sonuçlardan yola çıkılarak PPGE yüzeyinde AuNPs ve P(L-Lys)-GQD'un başarılı bir şekilde kaplandığı söylenebilir.



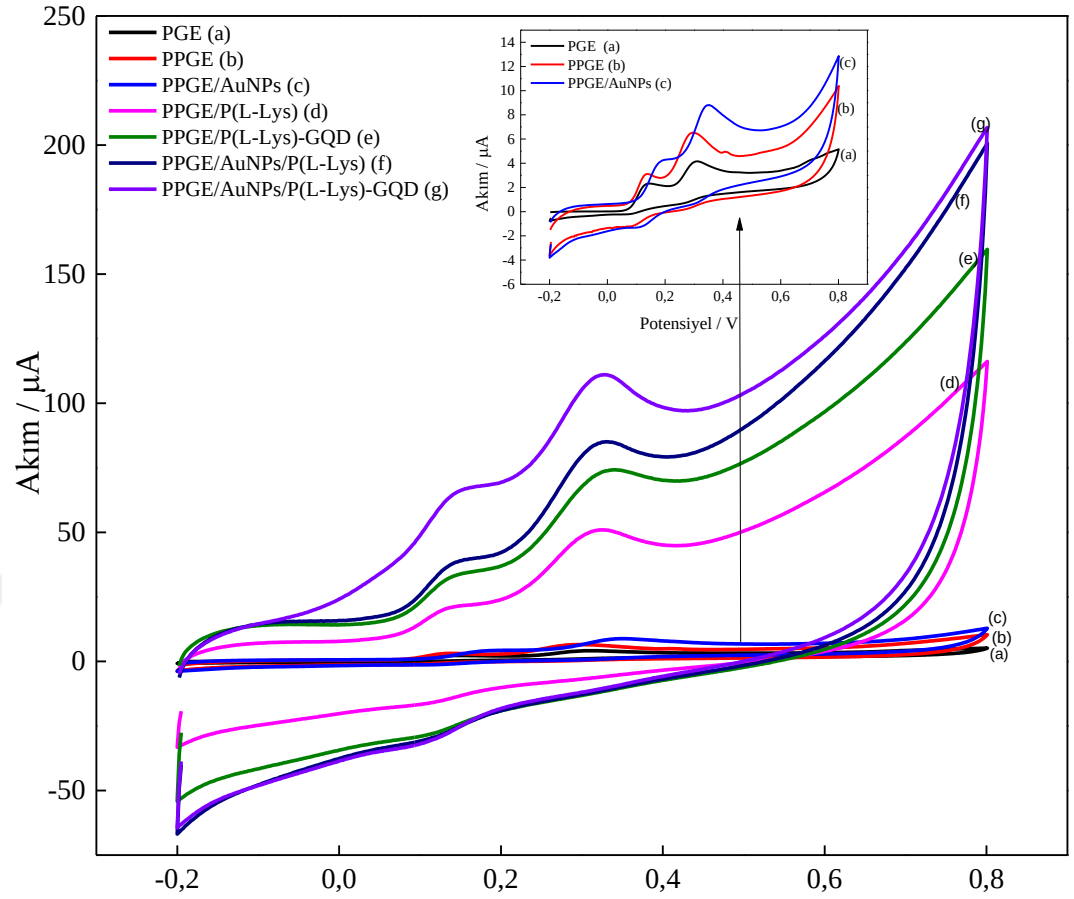
Şekil 5.6 (A) (a) PPGE ve (b) PPGE/AuNps/P(L-Lys)-GQD elektrotlarının XPS genel tarama spektrumu. PPGE/AuNps/P(L-Lys)-GQD elektrodunun (B) C1s ve (C) N1s kısmi tarama spektrumları



Şekil 5.6 (A) (a) PPGE ve (b) PPGE/AuNps/P(L-Lys)-GQD elektrotlarının XPS genel tarama spektrumu. PPGE/AuNps/P(L-Lys)-GQD elektrodunun (B) C1s ve (C) N1s kısmi tarama spektrumları (devam)

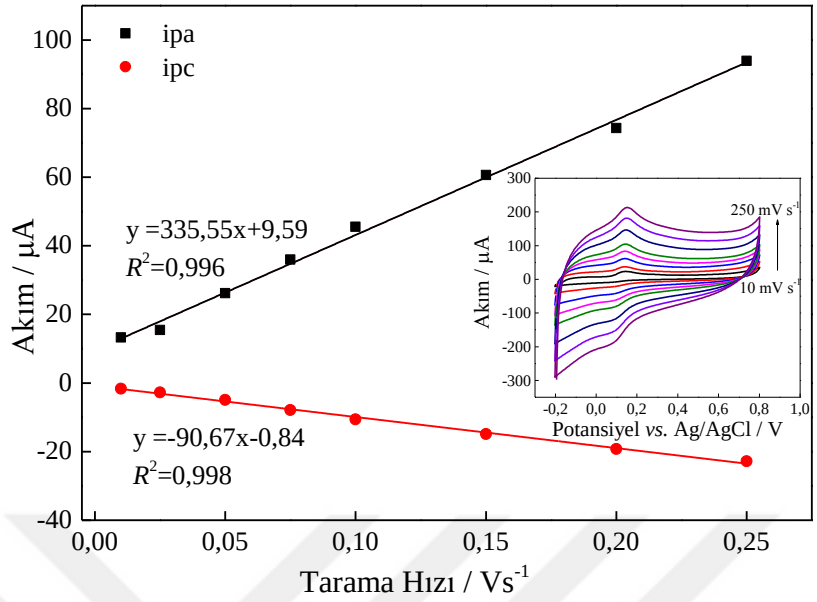
5.3 DA ve 5-HT'nin Modifiye Elektrotlarda Elektrokimyasal Davranışları

Bölüm 4.4.3'de anlatıldığı şekilde yapılan çalışmalar sonucunda DA ve 5-HT'nin yalın PGE, PPGE, PPGE/AuNPs, PPGE/P(L-Lys), PPGE/P(L-Lys)-GQD, PPGE/AuNPs/P(L-Lys) ve PPGE/AuNPs/P(L-Lys)-GQD elektrotlarındaki cevapları incelendi. (–0,2)-(+0,8) V aralığında dönüşümlü voltametri tekniği ile 0,1 M pH 8,0 olan tampon çözeltide ölçümler alındı. DA VE 5-HT'nin pikleri ilk olarak yalın PGE ile incelendiğinde en düşük akım değerleri elde edildi (Şekil 5.7 (a)). Daha sonra PGE yüzeyine ön işlem uygulandı akım değerleri PPGE'de daha yüksek olarak elde edildi (Şekil 5.7 (b)). PPGE yüzeyi AuNPs ile kaplandığında ise akım değerleri hem PGE hem de PPGE yüzeyine göre bir artış gösterdi (Şekil 5.7 (c)). PPGE yüzeyinde L-lizin, P(L-Lys) film oluşturarak elektropolimerize edildi. P(L-Lys) elektrot yüzeyinde iyi bir stabilite, iyi bir geçirgenlik ve seçilik sağladığı bildirilmiştir (Wei, Y. vd. 2014). Bu nedenle hazırlanan PPGE/P(L-Lys) elektrodunda DA ve 5-HT pik akım değerleri yükseldi (Şekil 5.7 (d)). PPGE elektrodu P(L-Lys)-GQD ile elektropolimerize edildiğinde ise PPGE/P(L-Lys) elektroduna göre pik akım değerlerinin arttığı görüldü. GQD'lar hazırlanan modifiye elektrodun aktif yüzey alanını genişleterek yüksek iletkenlik sağlar (Ganjali, M. R. vd. 2018). Bu sayede hazırlanan PPGE/P(L-Lys)-GQD elektrotta PPGE/P(L-Lys) elektroda göre daha yüksek pik akımları elde edildi. Sonuç olarak hazırlanan PPGE/AuNPs/P(L-Lys)-GQD elektrodun ise AuNPs, P(L-Lys) ve GQD arasındaki sinerjetik etki sayesinde en yüksek DA ve 5-HT pik akım değerleri sunduğu gözlendi. Buradan PPGE/AuNPs/P(L-Lys)-GQD'un DA ve 5-HT tayini için başarılı bir şekilde kullanılabileceği düşünüldü.

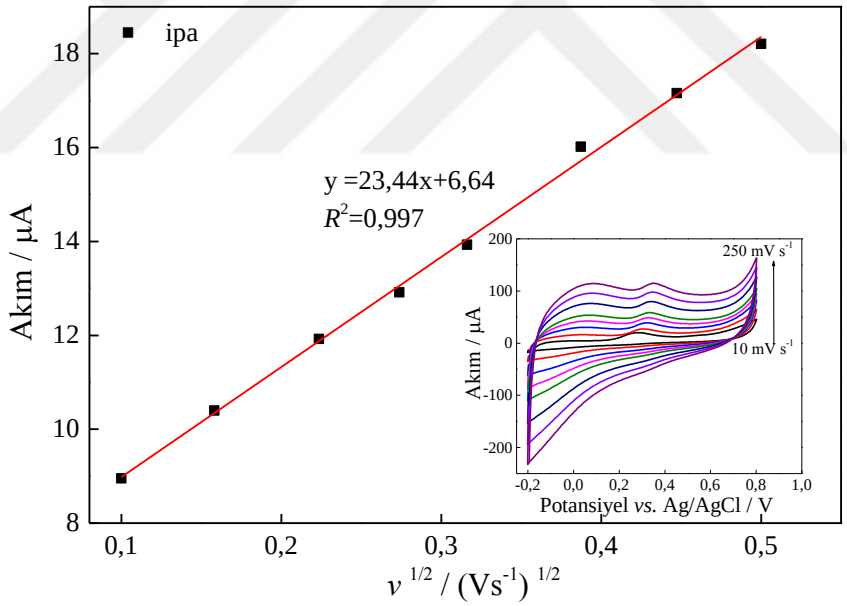


Şekil 5.7 30,0 µM DA ve 30,0 µM 5-HT'nin yalın PGE (a), PPGE (b), PPGE/AuNPs (c), PPGE/P(L-Lys) (d), PPGE/P(L-Lys)-GQD (e), PPGE/AuNPs/P(L-Lys) (f) ve PPGE/AuNPs/P(L-Lys)-GQD (g) elektrotlarının dönüşümlü voltamogramları (0,1 M pH 8,0 PBS)

Yapılan diğer bir çalışmada ise DA ve 5-HT'nin modifiye elektrotlarda elektrokimyasal davranışları için tarama hızı çalışması yapılmıştır. DA için Şekil 5.8 incelendiğinde, 10 mVs^{-1}-250 mVs^{-1} tarama hızı aralığında, tarama hızı arttıkça pik akımlarının arttığı gözlendi. Tarama hızına karşı DA için elde edilen yükseltgenme ve indirgenme pik akımları grafiğe geçirildi ve doğrusallık elde edildi. Buradan DA'in elektrot yüzeyinde yükseltgenme reaksiyonunun adsorpsiyon kontrollü olduğu sonucuna ulaşıldı (Deepa, S. vd. 2020). 5-HT için de tarama hızı çalışması yapıldı ve Şekil 5.9 incelendiğinde, 10 mVs^{-1}-250 mVs^{-1} tarama hızı aralığında, tarama hızının karekköküne karşı yükseltgenme pik akımları grafiğe geçirildi ve iyi bir doğrusallık elde edildi. Bu sonuçlardan 5-HT'nin elektrot yüzeyindeki yükseltgenmesinin difüzyon kontrollü olduğu sonucuna ulaşıldı (Han, H. S. vd. 2014, Mahanthesha, K. R. vd. 2018).



Şekil 5.8 30,0 µM DA varlığında tarama hızı çalışması (0,1 M pH 8.0 PBS)

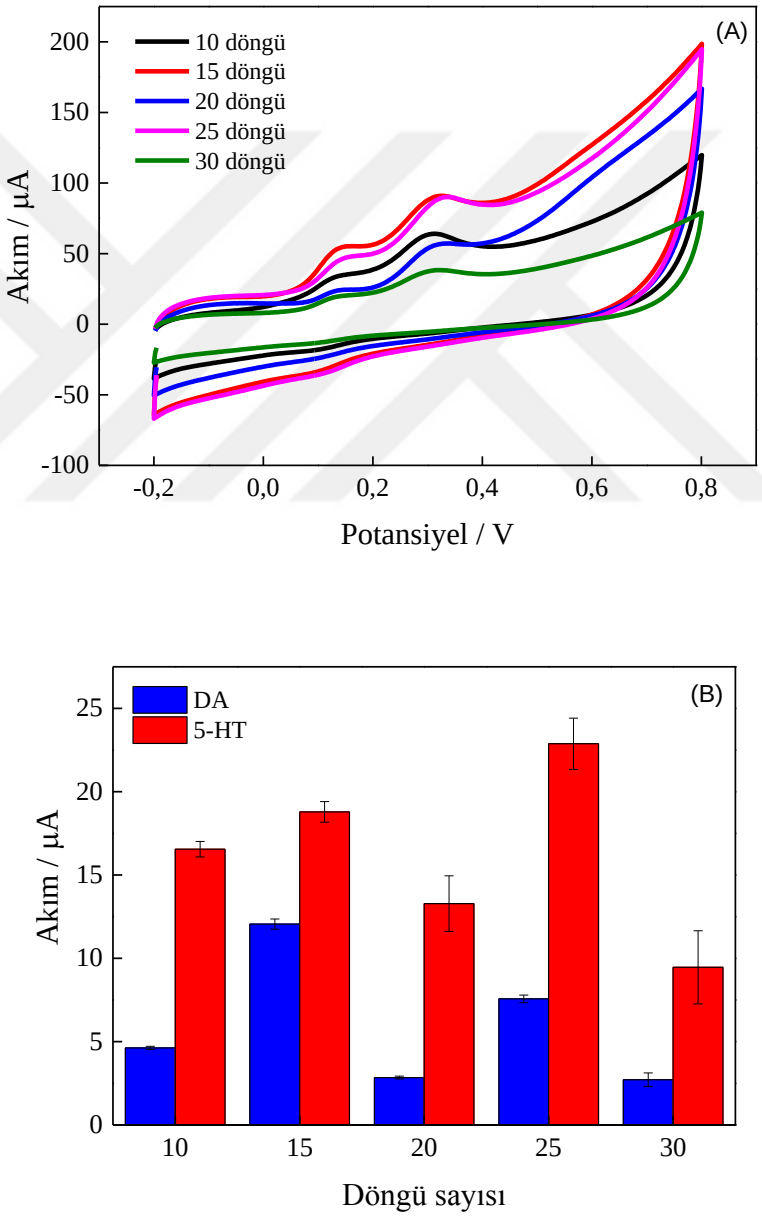


Şekil 5.9 50 µM 5-HT varlığında tarama hızı çalışması (0,1 M pH 8,0 PBS)

5.4 AuNPs Döngü Sayısının Optimizasyonu

AuNPs elektrot yüzeyinde biriktirilmesinde en uygun döngü sayısının belirlenmesi amacıyla, Bölüm 4.4.4'de anlatıldığı şekilde dönüşümlü voltametri tekniği kullanılarak

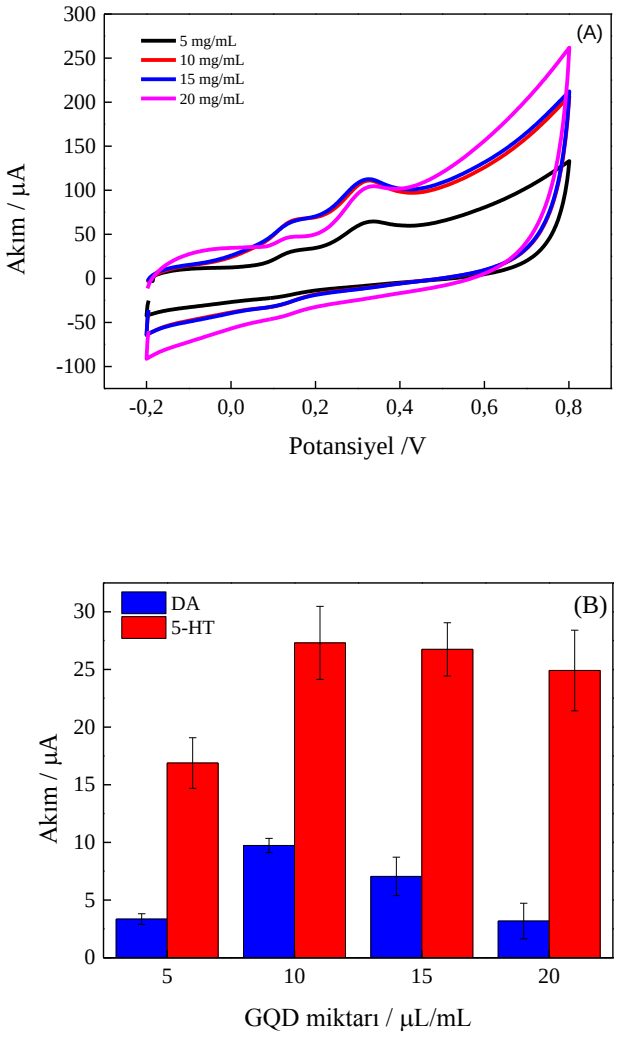
elektrot yüzeyine AuNPs'ler kaplandı. Bu amaçla 10, 15, 20, 25 ve 30 olmak üzere beş farklı döngü sayısında kaplanan elektrotlar hazırlandı. Hazırlanan elektrotlar ile 30,0 µM DA ve 30,0 µM 5–HT içeren 0,1 M pH 8.0 PBS ortamında ölçümler yapıldı. Bu ölçümler sonucunda DA ve 5-HT'nin varlığında her ikisi içinde en uygun pik akımları 15 döngüde elde edildi. Bu nedenle uygun döngü sayısı 15 olarak belirlendi. Elde edilen bu optimum döngü sayısının literatürdeki sonuçlar ile uyumlu olduğu görüldü (Tığ, G. A. vd. 2017).



Şekil 5.10 PPGE/AuNPs/P(L-Lys)-GQD elektrotta AuNPs elektrobiriktirilmesinde döngü sayısının optimizasyonu (A) Dönüşümlü voltamogramları (B) Dağılım grafiği (30,0 µM DA ve 30,0 µM 5–HT içeren 0,1 M pH 8.0 PBS)

5.5 GQD Miktarının Optimizasyonu

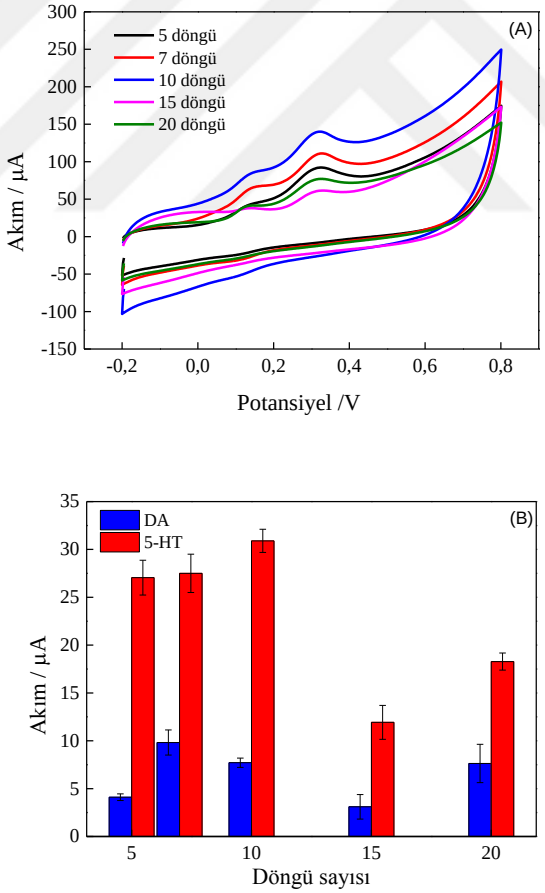
Bölüm 4.4.5 anlatıldığı şekilde yapılan çalışmalar sonucunda en uygun GQD miktarının belirlenmesi için 5, 10, 15 ve 20 µL/mL olacak şekilde dört farklı GQD derişimi içeren P(L-Lys)-GQD çözeltileri hazırlandı. Hazırlanan modifiye elektrotlar 30,0 µM DA ve 30,0 µM 5–HT içeren 0,1 M pH 8.0 PBS tampon çözeltisinde (–0,2 V)-(+0,8 V) aralığında dönüşümlü voltametri tekniği ile ölçüm yapıldı. Şekil 5.11(A) ve (B) incelendiğinde her iki tür için de en yüksek pik akımları 10 µL/mL GQD kullanıldığında elde edildiği belirlendi ve sonraki çalışmalarda bu miktar kullanıldı.



Şekil 5.11 PPGE/AuNPs/P(L-Lys)-GQD elektrotta GQD miktarının optimizasyonu (A) Dönüşümlü voltamogramları (B) Dağılım grafiği (30,0 µM DA ve 30,0 µM 5–HT içeren 0,1 M pH 8,0 PBS)

5.6 P(L-Lys)-GQD Biriktirilmesinde Döngü Sayısının Optimizasyonu

En uygun P(L-Lys)-GQD biriktirilmesindeki döngü sayısının belirlenmesi için, Bölüm 4.4.6 anlatıldığı gibi P(L-Lys)-GQD optimizasyonu için PPGE/AuNPs/P(L-Lys)-GQD beş farklı modifiye elektrot 5, 7, 10, 15 ve 20 döngü sayılarında hazırlandı. PPGE/AuNPs/P(L-Lys)-GQD modifiye elektrotların (–0,2 V)-(+0,8 V) arasında dönüşümlü voltametri tekniği ile 30,0 µM DA ve 30,0 µM 5-HT içeren fosfat tamponunda (0,1 M, pH 8,0) ölçümleri alındı. Döngü sayısı arttıkça DA'nin akım değerlerinin 10. döngüye kadar arttığı ve daha sonra düştüğü görüldü. 5-HT için ise bakıldığında 7. döngüye kadar akım değerinin arttığı ardından azaldığı görüldü. Sonuç olarak Şekil 5.12 incelendiğinde P(L-Lys)-GQD biriktirilmesindeki DA ve 5-HT için en uygun döngü sayısı 7 olarak bulundu.

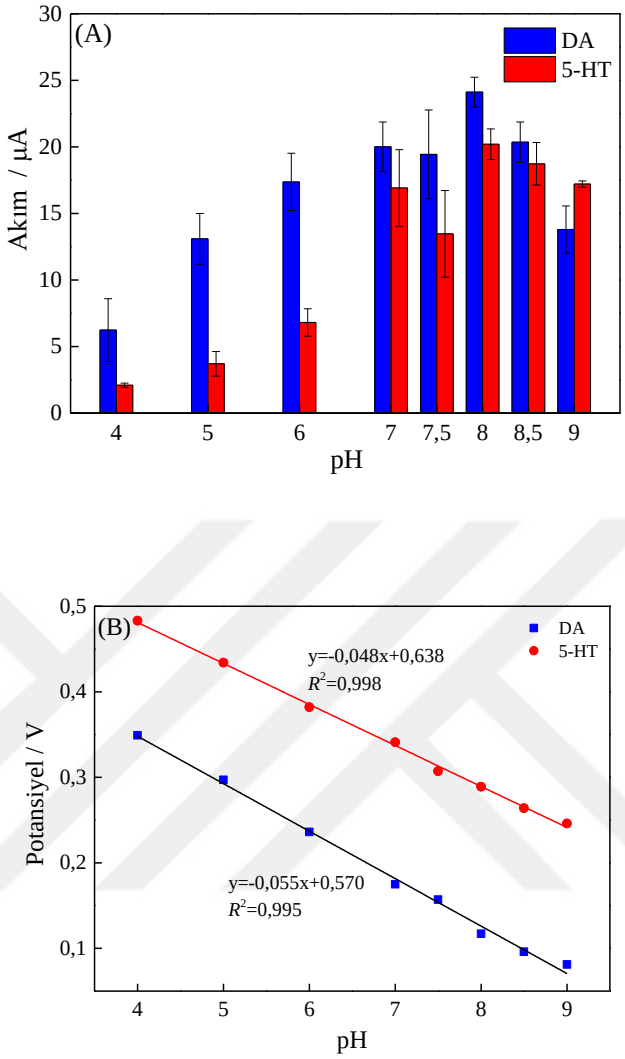


Şekil 5.12 PPGE/AuNPs/P(L-Lys)-GQD elektrotta P(L-Lys)-GQD elektro-biriktirilmesinde döngü sayısının optimizasyonu (A) Dönüşümlü voltamogramları (B) Dağılım grafiği (30,0 µM DA ve 30,0 µM 5–HT içeren 0,1 M pH 8,0 PBS)

5.7 Optimum pH Değerinin Belirlenmesi

Bölüm 4.4.7'de anlatıldığı gibi PPGE/AuNPs/P(L-Lys)-GQD modifiye elektrodun 30,0 μM DA ve 30,0 μM 5-HT'a karşı voltametrik cevapları, 4,0; 5,0; 6,0; 7,0; 7,5; 8,0; 8,5; 9,0 olmak üzere sekiz farklı pH değerindeki fosfat tamponu çözeltisinde belirlendi. Elde edilen akım değerleri tampon pH'sına karşı grafiğe geçirildi (Şekil 5.13 (A)). Bu grafik incelendiğinde DA ve 5-HT için en yüksek akım değerlerinin pH 8,0'de elde edildiği ve daha düşük ve yüksek tampon değerlerinde akım değerlerinin düştüğü gözlemlendi.

Ayrıca, PPGE/AuNps/P(L-Lys)–GQD elektrot için farklı pH değerleri pik potansiyellerine karşı grafiğe geçirildi. Şekil 5.13 (B) incelendiğinde pH değeri arttıkça pik potansiyellerinin doğrusal bir şekilde negatif değere kaydığı görüldü. DA ve 5-HT için doğrusal regresyon denklemleri sırasıyla E(V) = –0,055 pH +0,570 (R^2= 0,995) ve E(V) = –0,048 pH +0,638 (R^2= 0,998) olarak elde edilmiştir. Eşitliklerden elde edilen –0,055 V/pH ve –0,048 V/pH değerleri teorik değer olan –0,059V/pH'e oldukça yakın olduğundan DA ve 5-HT için elektro-yükseltgenme reaksiyonlarında eşit sayıda elektron ve proton aktarıldığını göstermektedir (Samie, H. A. ve Arvand, M. 2019) (Kumar, M. vd. 2020).



Şekil 5.13 PPGE/AuNps/P(L-Lys)–GQD elektrodun 30,0 µM DA ve 30,0 µM 5-HT içeren farklı pH değerlerindeki 0,1 M PBS'de (A) pik akımları (B) pik potansiyelleri ile değişimi

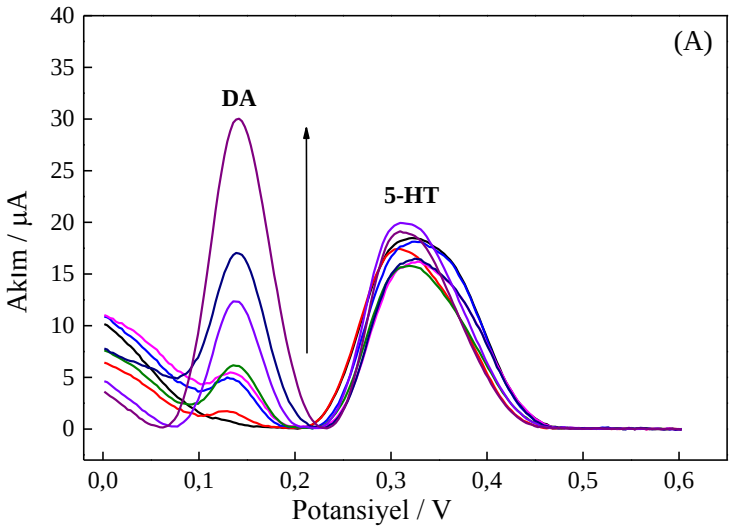
5.8 DA ve 5-HT'nin İçin Kalibrasyon Çalışmaları

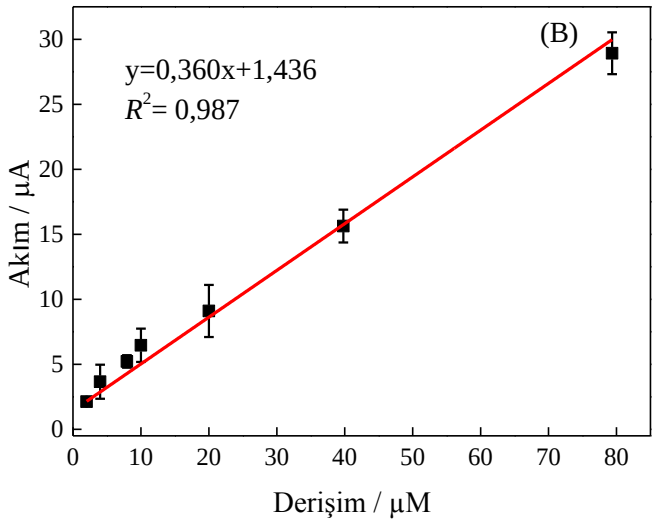
Çalışmanın bu aşamasında ilk olarak 5-HT derişimi sabit tutularak DA'nın farklı derişimlerdeki artışı incelendi. Hazırlanan PGE/AuNPs/P(L-Lys)-GQD elektrodu 0,1 M pH 8,0 PBS tampon çözeltisi içerisine sabit derişimde 20,0 µM 5-HT ilave edildi ve ardından ortamdaki derişimi 1,0-195,69 µM aralığında olacak şekilde DA çözeltileri eklenerek DPV ölçümleri alındı. Dopamin için 0,1 µM–80,0 µM çalışma aralığında, y=349,961x+1,823 (R^2=0,987) eşitliğine uyan doğrusal bir çalışma aralığı elde edildi.

DA için gözlenebilme sınırı (LOD) ve alt tayin sınırı (LOQ) aşağıdaki formüllere göre hesaplandı (Tığ, G. A. vd. 2016). DA için LOD ve LOQ değerleri sırasıyla 0,03 µM ve 0,103 µM olarak bulundu (Şekil 5.14).

$$LOD = 3{,}3s/m$$

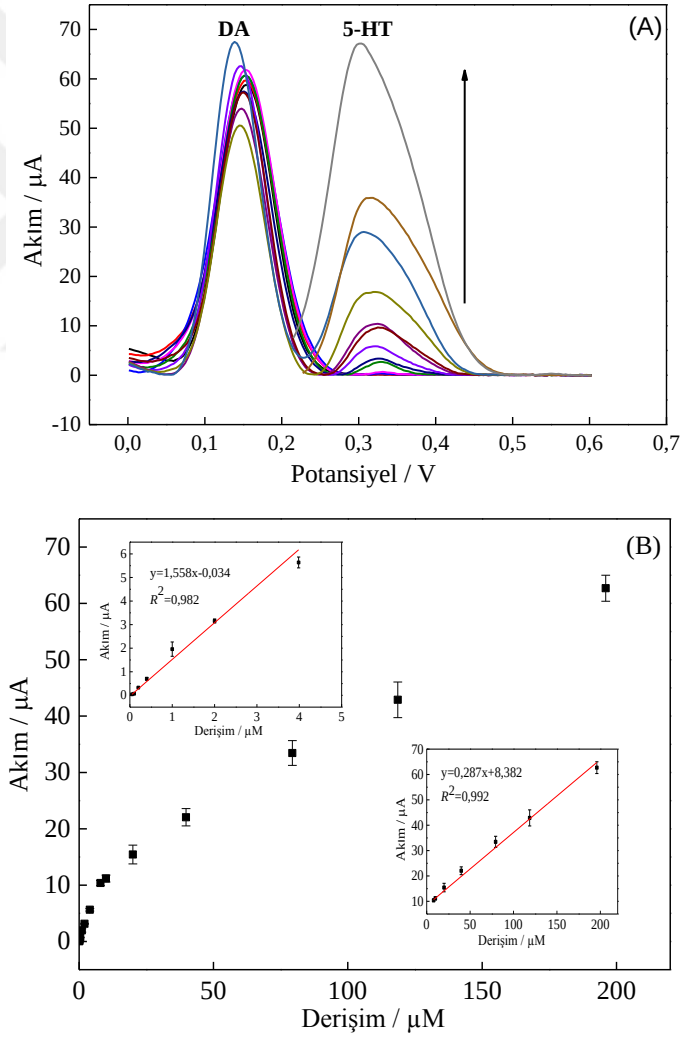
$$LOQ = 10s/m$$





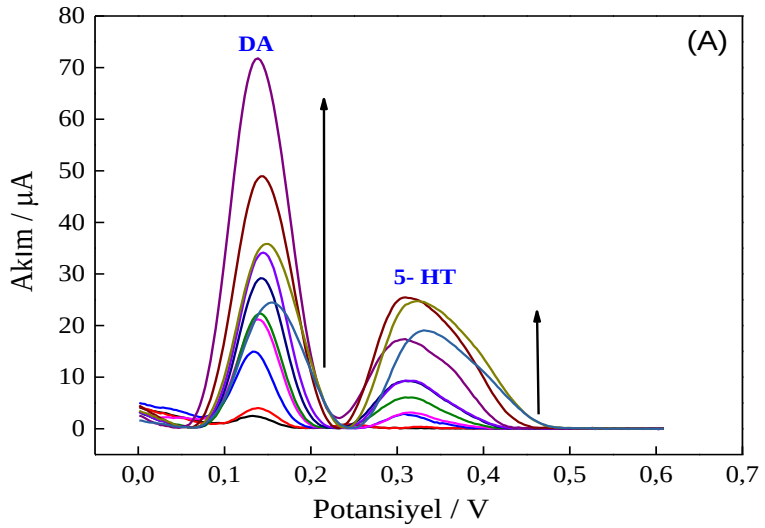
Şekil 5.14 PPGE/AuNPs/P(L-Lys)-GQD elektrodun (A) DPV eğrileri (B) Dopamin için elde edilen kalibrasyon eğrisi (20,0 µM 5-HT ve 0,1-80,0 µM DA içeren 0,1 M PBS, pH 8,0)

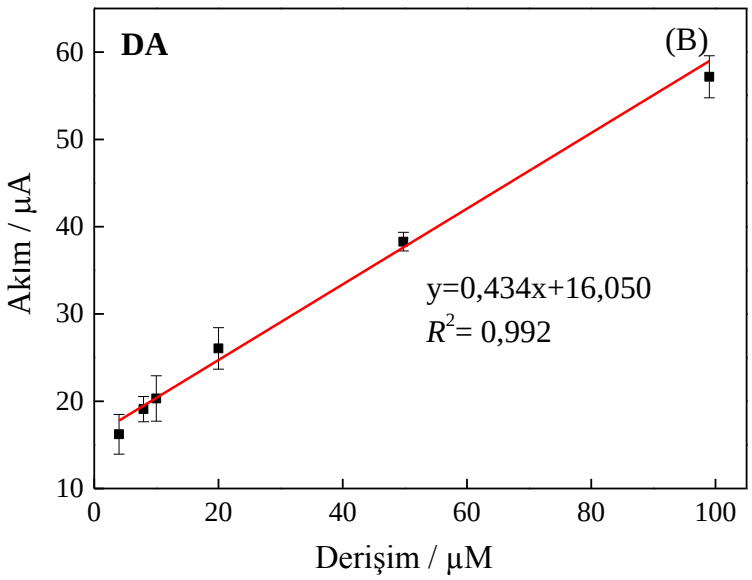
Çalışmanın devamında DA derişimi sabit tutularak 5-HT'nin farklı derişimlerindeki artış incelendi. Hazırlanan PGE/AuNPs/P(L-Lys)-GQD elektrodu 0,1 M pH 8,0 PBS tampon çözeltisi içerisine sabit derişimde 40,0 µM DA eklendi ve 0,05 µM–200,0 µM aralığında değişecek şekilde 5-HT çözeltisinden eklemeler yapılarak DPV ölçümleri alındı. 5-HT için 0,05 µM–4,0 µM doğrusal çalışma aralığında, y=1550,49x+0,034 (R^2=0,991) ve 4,0 µM–200,0 µM aralığında y=287,63x+8,382 (R^2=0,992) eşitliğine uyan doğrusal bir çalışma aralığı elde edildi. Yukarıda belirtilen formüle göre yapılan hesaplamalar doğrultusunda 5-HT için LOD ve LOQ değerleri sırasıyla 0,017 µM ve 0,053 µM olarak bulundu (Şekil 5.15).

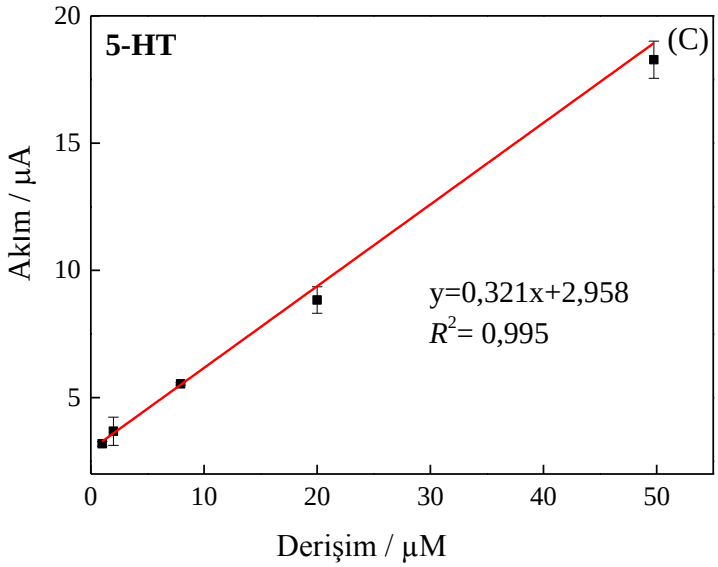


Şekil 5.15 PPGE/AuNPs/P(L-Lys)-GQD elektrodun (A) DPV eğrileri (B) Serotonin için elde edilen kalibrasyon eğrisi (40,0 µM DA ve 0,05 µM –200,0 5-HT içeren 0,1 M PBS, pH 8,0)

Kalibrasyon çalışmalarının son aşamasında ise hazırlanan PPGE/AuNPs/P(L-Lys)-GQD elektrodu ile 0,1 M pH 8,0 PBS tampon çözeltisi içerisinde hem DA ve hem de 5-HT içeren çözelti ortamında DPV ile tayini yapıldı. Bu çalışma doğrultusunda her iki analitin derişimi doğrusal olarak arttırıldı. DA ve 5-HT'nin miktarı arttıkça her iki yükseltgenme piklerinin arttığı görüldü. DA için 4,0 µM–100 µM doğrusal çalışma aralığında, y=433,596x+16,050 (R^2=0,992), 5-HT için ise 1,0 µM–50,0 µM doğrusal çalışma aralığında, y=321,088x+2,958 (R^2=0,995) eşitliğine uyan doğrusal bir çalışma aralığı elde edildi (Şekil 5.16).







Şekil 5.16 PGE/AuNPs/P(L-Lys)-GQD elektrodun (A) DPV eğrileri (B) Dopamin için elde edilen kalibrasyon eğrisi (C) Serotonin için elde edilen kalibrasyon eğrisi (4,0 µM–100,0 µM DA ve 1,0 µM–49,75 µM 5-HT içeren 0,1 M PBS, pH 8,0)

5.9 Tekrar Üretilebilirliğin Belirlenmesi

Geliştirilen elektrokimyasal sensörün tekrar üretilebilirliğinin belirlenmesi için birbirinden bağımsız olarak DA için 6 elektrot hazırlanarak DPV ölçümleri alındı. Elde edilen sonuçlar doğrultusunda %BSS değeri 8,39 olarak hesaplandı. 5-HT için yapılan ölçümlerde ise 8 elektrot hazırlanarak aynı şekilde DPV ölçümleri alındı ve %BSS sonuçları %6,42 olarak hesaplandı. Elde edilen sonuçlara dayanarak DA ve 5-HT için elde edilen düşük %BSS değerine sahip olan sensörün tekrar üretilebilirliğin oldukça iyi olduğuna ve DA ve 5-HT'nin hızlı ve duyarlı bir şekilde tayinine olanak sağladığı söylenebilir.

5.10 Modifiye Elektrodun Depolama Kararlılığı Çalışması

Hazırlanan PGE/AuNPs/P(L-Lys)-GQD modifiye elektrot Bölüm 4.4.10'da anlatıldığı gibi 1., 6., 9. günlerde 0,1 M, pH 8,0 fosfat tamponunda 20 µL DA ve 5-HT içeren çözelti ortamında DPV ölçümleri alındı. Sonuç olarak geliştirilen elektrodun

kararlılığını 10. günde DA için %54,96, 5-HT için ise %57,94 oranında korunduğu bulundu.

5.11 Girişim Etkisi

Askorbik asit, asetaminofen, glukoz, fruktoz, L-sistein, üre ve ürik asit kullanılarak girişim etkisi incelendi ve sonuçlar Çizelge 5.2'de gösterildi. Çizelge 5.2 incelendiğinde her bir tür için hesaplanan %girişim değerlerinin %10'un altında olduğu belirlendi. Girişim yapabilecek türler arasında 100 µM asetaminofenin 10 µM 5-HT cevabı için %12,61'lik bir %girişim etkisi gösterdiği bulundu. Bu sonuçlar doğrultusunda DA ve 5-HT tayinini önemli ölçüde etkilemediği sonucuna varıldı.

Çizelge 5.2 20 µM DA ve 10 µM 5-HT tayini için geliştirilen elektrokimyasal sensöre diğer türleri 100 µM içeren çözelti ortamında elde edilen % girişim değerleri

Girişim yapan tür	**%Girişim DA**	**%Girişim 5-HT**
Askorbik asit	7,14	4,64
Asetaminofen	1,34	12,61
Glukoz	0,45	7,35
Fruktoz	-1,96	-2,27
L-sistein	-0,76	-0,71
Üre	1,92	-7,67
Ürik asit	-2,75	-1,44

5.12 Geliştirilen Elektrokimyasal Sensör İle Gerçek Numune Analizi

Geliştirilen elektrokimyasal sensörün yapılan analizlerdeki uygulanabilirliğini test etmek amacıyla, bölüm 4.4.12'da anlatıldığı gibi, geliştirilen PPGE/AuNPs/P(L-Lys)-

GQD sensörün uygulanabilirliği fetal sığır serum örneklerinde yapıldı. Standart ekleme yöntemi kullanılarak DPV ile DA ve 5-HT miktarları belirlendi ve %geri kazanım değerleri hesaplandı. Çizelge 5.3'de gösterildiği gibi geri kazanım değerlerinin %99,10 ile %106,0 arasında olduğu bulundu. Bu da hazırlanan sensörün DA ve 5-HT tayini için oldukça uygun olduğunu gösterdi.

Tez çalışması kapsamında ayrıca DA için piyasada farmasötik preparatı enjeksiyon çözeltisi halinde bulunan Dopadren® (200 mg/5 ml) ile % geri kazanım çalışmaları yapıldı ve elde edilen sonuçlar Çizelge 5.4'te sunuldu. Çizelge 5.4 incelendiğinde geri kazanım değerlerinin %10'dan daha küçük BSS ile geri kazanım değerlerinin %97,5-105,5 aralığında olduğu belirlenmiştir. Buradan geliştirilen elektrokimyasal nanosensörün farmasötik preparatta DA'nın tayini için kullanlabilceğinin göstergesidir.

Çizelge 5.3 Farklı derişimdeki DA ve 5-HT ile gerçek numune analizi sonuçları

Serum örneği	**Eklenen (µM)**		**Bulunan (µM)**		**Geri kazanım (%)**		**BSS (%)**	
	DA	**5-HT**	**DA**	**5-HT**	**DA**	**5-HT**	**DA**	**5-HT**
1	8,0	2,0	8,48	2,038	106,0	101,9	6,84	4,21
2	20,0	10,0	20,02	10,32	100,1	100,32	4,56	2,55
3	40,0	20,0	40,21	19,82	100,53	99,10	0,92	0,69

Çizelge 5.4 Dopadren® (200 mg/5 ml) ile % geri kazanım çalışmaları sonuçları

Eklenen (µM)	**Bulunan (µM)**	**Geri kazanım (%)**	**BSS (%)**
0,08	0,078	97,5	0,96
0,2	0,204	102,0	1,62
0,4	0,422	105,5	1,01
0,8	0,824	103,0	1,50

6. SONUÇLAR

Tez çalışması kapsamında elde edilen sonuçlar bu bölümde özetlenmiştir.

- İlk olarak AuNPs/P(L-Lys)-GQD ile modifiye edilmiş kalem grafit elektrotlar hazırlanmıştır. Hazırlanan elektrodun karakterizasyonu elektrokimyasal olarak; CV ve EIS yöntemleri ile yapılmış, ardından yüzey morfolojisini SEM ve XPS yöntemleri ile incelenmiştir.

- Geliştirilen PPGE/AuNPs/P(L-Lys)-GQD ön işlem parametreleri AuNPs elektrobiriktirilmesinde döngü sayısı optimize edilmiştir. Ardından GQD miktarları ve L-lizin- GQD elektropolimerizasyonunda döngü sayıları optimize edilmiştir. Ayrıca optimum pH çalışmaları da yapılmıştır.

- PPGE/AuNPs/P(L-Lys)-GQD elektrot yüzeyinde DA ve 5-HT'nin elektrokimyasal davranışları incelenmiş ve buna göre elektroyükseltgenme reaksiyonlarının DA için adsorpsiyon kontrollü 5-HT için ise difüzyon kontrollü olduğu bulunmuştur.

- Çalışmada hem DA ve 5-HT hem de eş zamanlı olarak kalibrasyon grafikleri çizilmiştir. Buna göre sadece DA için LOD 0,03 µM, LOQ 0,103 ve doğrusal çalışma aralığı 0,1 µM–80,0 µM bulunmuştur. Sadece 5-HT için yapılan çalışmada LOD 0,017 µM, LOQ 0,053 µM ve doğrusal çalışma aralığı 0,05 µM–200,0 µM olarak bulunmuştur. Son olarak DA ve 5-HT'nin eş zamanlı tayini için kalibrasyon grafiği çizilmiştir. DA için 4,0 µM–100 µM 5-HT için ise 1,0 µM–50,0 µM için doğrusal çalışma aralığı bulunmuştur. Daha sonra bu sonuçlar son yıllardaki literatürler ile karşılaştırılmıştır. Karşılaştırma sonuçları ile literatürlerin çoğuna göre yöntemin daha duyarlı olduğu ve diğer yöntemlere göre kullanılan elektrodun yeni bir nanosensör olduğu sonucuna varıldı.

- Ayrıca, geliştirilen elektrokimyasal sensörün DA ve 5-HT'ye özgü olduğunu kanıtlamak için askorbik asit, asetaminofen, glukoz, fruktoz, L-sistein, üre ve ürik asit gibi girişim yapabilecek türlerin için %girişim değerleri hesaplandı. Elde edilen

sonuçlar incelendiğinde, girişim etkisinin oldukça düşük olduğu ve DA ve 5-HT tayinini önemli ölçüde etkilemediği sonucuna varıldı.

- Hazırlanan modifiye elektrotta tekrar üretilebilirliğin incelenmesi sonucu, DA için 6 elektrot hazırlanarak %BSS değeri 8,39 olarak hesaplandı. 5-HT için yapılan ölçümlerde ise 8 elektrot hazırlanarak %BSS sonuçları 6,42 olarak elde edilen sonuçlar doğrultusunda %BSS değerlerine bakıldığında tekrar üretilebilirliğinin oldukça iyi olduğu bulundu.

- PPGE/AuNPs/P(L-Lys)-GQD elektrodu için ömür çalışması yapıdığında ise 1., 6., 9. günlerde yapılan çalışmalarda elektrodun ömrünün 10. günde DA için %54,96, 5-HT için ise %57,94 oranında korunduğu bulundu.

- Geliştirilen sensörün gerçek numunelere uygulanabilirliği de test edilmiştir. DA ve 5-HT için geri kazanım değerleri %99,10 ile %106,0 arasında olduğu bulunmuştur. Bu da hazırlanan sensörün DA ve 5-HT tayini için oldukça uygun olduğunu göstermiştir. Aynı zamanda geliştirilen nanosensör DA için farmasötik preparatında uygulandığında geri kazanım değerlerinin %97,5-105,5 aralığında olduğu belirlenmiştir.

Bu tez çalışması kapsamında hazırlanan önemli nörotransmiterler olan DA ve 5-HT'nin hızlı, güvenilir ve duyarlı bir biçimde tespit edebilecek PPGE/AuNPs/P(L-Lys)-GQD elektrokimyasal sensör geliştirilmesi amaçlanmıştır. Geliştirilen elektrokimyasal sensörün nörotransmiterlerin tayinlerinde yaygın olarak kullanılan HPLC, GC-MS ve ELISA gibi geleneksel yöntemlere göre basit, hızlı ve maliyetinin düşük olması, uygulama alanlarının daha geniş olması, daha düşük tayin sınırlarında ve daha kısa sürede analiz yapma imkanı sunması gibi avantajlara sahip olduğu görülmüştür.

Çizelge 6.1'de DA ve 5- HT tayini için hazırlanan elektrokimyasal sensör için optimizasyon parametreleri ve elde edilen sonuçlar aşağıda verilerek diğer sensörler ile karşılaştırıldı.

Çizelge 6.1 DA ve 5-HT için geliştrilen elektrokimyasal sensörün diğer yöntemlerle karşılaştırılması

Kullanılan Elektrot	**Yöntem**	**Doğrusal Çalışma Aralığı (µM)**		**Gözlenebilme Sınırı (µM)**		**Kaynak**
		DA	**5-HT**	**DA**	**5- HT**	
NiO/CNT/PEDOT/GCE	DPV	0,03–20	0,3–35	0,026	0,063	(Sun, D. vd. 2018)
MWNTs-SiO_2-kitosan/SPE	DPV	1,0-20	0,1-1,0	0,2	0,01	(Wang, S. vd. 2016)
CS/GCE	DPV	20–150	40–750	2,0	0,7	(Zhou, J. vd. 2013)
IL-graphene/GCE	DPV	1,0-100	0,2-10	0,33	0,067	(Liu, P. vd. 2015)
DNA–PPyox/CFE	DPV	0,3-10	0,01-1,0	0,05	0,007	(Jiang, X. ve Lin, X. 2005)
ACh/GCE	DPV	0,7-5	1-30	0,3	0,5	(Jin, G.-P. vd. 2004)
Poly(alanine)/NaOH/ MoS_2/MWCNTs	DPV	0,6-45	0,8-24,8	0,08	0,1	(Kumar, M. vd. 2020)
poly(p-ABSA)/GCE	DPV	0,3–20	0,6–20	0,09	0,2	(Ran, G. vd. 2020)
5-HTP/GCE	DPV	0,5-35	5,0-35,0	031	1,7	(Li, Y. vd. 2009)
Nafion/$Ni(OH)_2$/MWNTs/GCE	DPV	0,05–25	0,008–10	0,015	0,003	(Babaei, A. ve Taheri, A. R. 2013)
CDP-Choline/MCPE	CV	10,0-100,0	10,0-30,0	3,96	5,81	(Deepa, S. vd. 2020)
nano-Au/PPyox/GCE	DPV	0,075-20	0,007-2,2	0,015	0,001	(Li, J. ve Lin, X. 2007)
GR/p-AHNSA/SPCs	SWV	0,05-100,0	0,05-150,0	0,002	0,003	(Raj, M. vd. 2017)
PPGE/AuNPs/P(L-Lys)-GQD	DPV	0,1 – 80,0	0,05– 200,0	0,03	0,017	Bu çalışma

KAYNAKLAR

Alipour, E., Majidi, M. R., Saadatirad, A., mahdi Golabi, S. ve Alizadeh, A. M. 2013. Simultaneous determination of dopamine and uric acid in biological samples on the pretreated pencil graphite electrode. Electrochimica Acta, 91, 36-42.

Aoki, K., Okamoto, T., Kaneko, H., Nozaki, K. ve Negishi, A. 1989. Applicability of graphite reinforcement carbon used as the lead of a mechanical pencil to voltammetric electrodes. Journal of electroanalytical chemistry and interfacial electrochemistry, 263,(2), 323-331.

Ayano, G. 2016. Dopamine: receptors, functions, synthesis, pathways, locations and mental disorders: review of literatures. J Ment Disord Treat, 2,(120), 2.

Babaei, A. ve Taheri, A. R. 2013. Nafion/Ni (OH) 2 nanoparticles-carbon nanotube composite modified glassy carbon electrode as a sensor for simultaneous determination of dopamine and serotonin in the presence of ascorbic acid. Sensors and Actuators B: Chemical, 176, 543-551.

Bard, A. J. ve Faulkner, L. R. 2001. Fundamentals and applications. Electrochemical Methods, 2,(482), 580-632.

Bera, D., Qian, L., Tseng, T.-K. ve Holloway, P. H. 2010. Quantum dots and their multimodal applications: a review. Materials, 3,(4), 2260-2345.

Buerk, D. G. (2014). Biosensors: Theory and applications, Crc Press.

Buleandra, M., Popa, D. E., David, I. G., Bacalum, E., David, V. ve Ciucu, A. A. 2019. Electrochemical behavior study of some selected phenylurea herbicides at activated pencil graphite electrode. Electrooxidation of linuron and monolinuron. Microchemical Journal, 147, 1109-1116.

Campuzano, S., Yáñez-Sedeño, P. ve Pingarrón, J. M. 2019. Carbon dots and graphene quantum dots in electrochemical biosensing. Nanomaterials, 9,(4), 634.

Cernat, A., Ştefan, G., Tertiş, M., Cristea, C. ve Simon, I. 2020. An overview of the detection of serotonin and dopamine with graphene-based sensors. Bioelectrochemistry, 107620.

Chávez, J. L., Hagen, J. A. ve Kelley-Loughnane, N. 2017. Fast and selective plasmonic serotonin detection with aptamer-gold nanoparticle conjugates. Sensors, 17,(4), 681.

Chung, S., Akhtar, M. H., Benboudiaf, A., Park, D. S. ve Shim, Y. B. 2020. A Sensor for Serotonin and Dopamine Detection in Cancer Cells Line Based on the Conducting Polymer− Pd Complex Composite. Electroanalysis, 32,(3), 520-527.

Dalkıran, B., Erden, P. E., Kaçar, C. ve Kılıç, E. 2019. Disposable Amperometric Biosensor Based on Poly- L- lysine and Fe3O4 NPs- chitosan Composite for the Detection of Tyramine in Cheese. Electroanalysis, 31,(7), 1324-1333.

David, I. G., Popa, D.-E. ve Buleandra, M. 2017. Pencil graphite electrodes: a versatile tool in electroanalysis. Journal of analytical methods in chemistry, 2017.

Deepa, S., Swamy, B. K. ve Pai, K. V. 2020. Electrochemical sensing performance of citicoline sodium modified carbon paste electrode for determination of dopamine and serotonin. Materials Science for Energy Technologies, 3, 584-592.

Dilgin, Y., Kızılkaya, B., Ertek, B., Işık, F. ve Dilgin, D. G. 2012. Electrocatalytic oxidation of sulphide using a pencil graphite electrode modified with hematoxylin. Sensors and Actuators B: Chemical, 171, 223-229.

Fan, L., Zhao, G., Shi, H., Liu, M. ve Li, Z. 2013. A highly selective electrochemical impedance spectroscopy-based aptasensor for sensitive detection of acetamiprid. Biosensors and Bioelectronics, 43, 12-18.

Ganjali, M. R., Dourandish, Z., Beitollahi, H., Tajik, S., Hajiaghababaei, L. ve Larijani, B. 2018. Highly sensitive determination of theophylline based on graphene quantum dots modified electrode. Int. J. Electrochem. Sci, 13, 2448-2461.

Goyal, R. N., Gupta, V. K., Oyama, M. ve Bachheti, N. 2005. Differential pulse voltammetric determination of paracetamol at nanogold modified indium tin oxide electrode. Electrochemistry communications, 7,(8), 803-807.

Goyal, R. N., Gupta, V. K., Oyama, M. ve Bachheti, N. 2007. Gold nanoparticles modified indium tin oxide electrode for the simultaneous determination of dopamine and serotonin: application in pharmaceutical formulations and biological fluids. Talanta, 72,(3), 976-983.

Hall, E. 1990. Biosensors, Ch. 1: Biosensors in context. Open University Press, İngiltere.

Han, H. S., Lee, H. K., You, J.-M., Jeong, H. ve Jeon, S. 2014. Electrochemical biosensor for simultaneous determination of dopamine and serotonin based on electrochemically reduced GO-porphyrin. Sensors and Actuators B: Chemical, 190, 886-895.

Heyrovský, J. 2012. Reproduction of: J. Heyrovský, Chemické Listy 1922, 16, 256-264. Chemical record (New York, NY), 12,(1), 17-25.

Hsieh, M. M. ve Chang, H. T. 2005. Discontinuous electrolyte systems for improved detection of biologically active amines and acids by capillary electrophoresis with laser- induced native fluorescence detection. Electrophoresis, 26,(1), 187-195.

Islam, M. N. ve Channon, R. B. (2020). Electrochemical sensors. Bioengineering Innovative Solutions for Cancer, Elsevier**:** 47-71.

Islam, S. K. ve Haider, M. R. (2009). Sensors and low power signal processing, Springer Science & Business Media.

Istone, W. K. (2020). X-ray photoelectron spectroscopy (XPS). Surface analysis of paper, CRC Press**:** 235-268.

Jadon, N., Jain, R., Sharma, S. ve Singh, K. 2016. Recent trends in electrochemical sensors for multianalyte detection–A review. Talanta, 161, 894-916.

Jiang, C., Yang, T., Jiao, K. ve Gao, H. 2008. A DNA electrochemical sensor with poly-l-lysine/single-walled carbon nanotubes films and its application for the highly sensitive EIS detection of PAT gene fragment and PCR amplification of NOS gene. Electrochimica Acta, 53,(6), 2917-2924.

Jiang, X. ve Lin, X. 2005. Overoxidized polypyrrole film directed DNA immobilization for construction of electrochemical micro-biosensors and simultaneous determination of serotonin and dopamine. Analytica chimica acta, 537,(1-2), 145-151.

Jin, G.-P., Lin, X.-Q. ve Gong, J.-m. 2004. Novel choline and acetylcholine modified glassy carbon electrodes for simultaneous determination of dopamine, serotonin and ascorbic acid. Journal of Electroanalytical Chemistry, 569,(1), 135-142.

Kounaves, S. P. 1997. Voltammetric techniques. Prentice Hall, Upper Saddle River, NJ, USA**,** 709-726.

Kumar, M., Wang, M., Swamy, B. K., Praveen, M. ve Zhao, W. 2020. Poly (alanine)/NaOH/MoS2/MWCNTs modified carbon paste electrode for simultaneous detection of dopamine, ascorbic acid, serotonin and guanine. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, 196, 111299.

Laurinavičius, L., Radzevič, A., Ignatjev, I., Niaura, G., Vitkutė, K., Širšinaitis, T., Trusovas, R. ve Pauliukaite, R. 2019. Investigation of electrochemical polymerisation of L-lysine and application for immobilisation of functionalised graphene as platform for electrochemical sensing. Electrochimica Acta, 299, 936-945.

Li, J. ve Lin, X. 2007. Simultaneous determination of dopamine and serotonin on gold nanocluster/overoxidized-polypyrrole composite modified glassy carbon electrode. Sensors and Actuators B: Chemical, 124,(2), 486-493.

Li, X., Rui, M., Song, J., Shen, Z. ve Zeng, H. 2015. Carbon and graphene quantum dots for optoelectronic and energy devices: a review. Advanced Functional Materials, 25,(31), 4929-4947.

Li, Y., Huang, X., Chen, Y., Wang, L. ve Lin, X. 2009. Simultaneous determination of dopamine and serotonin by use of covalent modification of 5-hydroxytryptophan on glassy carbon electrode. Microchimica Acta, 164,(1-2), 107-112.

Li, Y., Ye, Z., Zhou, J., Liu, J., Song, G., Zhang, K. ve Ye, B. 2012. A new voltammetric sensor based on poly (L-arginine)/graphene–Nafion composite film modified electrode for sensitive determination of Terbutaline sulfate. Journal of Electroanalytical Chemistry, 687, 51-57.

Liu, P., Dong, M., Lu, J., Guo, H., Lu, X. ve Liu, X. 2015. Simultaneous determination of 5-hydroxytryptamine and dopamine using ionic liquid functionalized graphene. Ionics, 21,(4), 1111-1119.

Liu, S., Leech, D. ve Ju, H. 2003. Application of colloidal gold in protein immobilization, electron transfer, and biosensing. Analytical letters, 36,(1), 1-19.

Lue, J.-T. 2001. A review of characterization and physical property studies of metallic nanoparticles. Journal of physics and chemistry of solids, 62,(9-10), 1599-1612.

Mahanthesha, K. R., Swamy, B. E. K. ve Chandra, U. 2018. Simultaneous determination of dopamine in presence of serotonin at a graphite pencil electrode: A voltammetric study. Analytical & Bioanalytical Electrochemistry, 10,(8), 1064-1079.

Mani, V., Govindasamy, M., Chen, S.-M., Karthik, R. ve Huang, S.-T. 2016. Determination of dopamine using a glassy carbon electrode modified with a graphene and carbon nanotube hybrid decorated with molybdenum disulfide flowers. Microchimica Acta, 183,(7), 2267-2275.

Mobin, S. M., Sanghavi, B. J., Srivastava, A. K., Mathur, P. ve Lahiri, G. K. 2010. Biomimetic sensor for certain phenols employing a copper (II) complex. Analytical chemistry, 82,(14), 5983-5992.

Monk, P. M. (2008). Fundamentals of electroanalytical chemistry, John Wiley & Sons.

Nei, L. 2007. Some milestones in the 50-year history of electrochemical oxygen sensor development. ECS Transactions, 2,(25), 33.

Niedziałkowski, P., Ossowski, T., Zięba, P., Cirocka, A., Rochowski, P., Pogorzelski, S., Ryl, J., Sobaszek, M. ve Bogdanowicz, R. 2015. Poly-l-lysine-modified boron-doped diamond electrodes for the amperometric detection of nucleic acid bases. Journal of Electroanalytical Chemistry, 756, 84-93.

Peterson, Z. D., Lee, M. L. ve Graves, S. W. 2004. Determination of serotonin and its precursors in human plasma by capillary electrophoresis–electrospray ionization–time-of-flight mass spectrometry. Journal of Chromatography B, 810,(1), 101-110.

Raj, M., Gupta, P., Goyal, R. N. ve Shim, Y.-B. 2017. Graphene/conducting polymer nano-composite loaded screen printed carbon sensor for simultaneous determination of dopamine and 5-hydroxytryptamine. Sensors and Actuators B: Chemical, 239, 993-1002.

Ran, G., Li, Y. ve Xia, Y. 2020. Graphene oxide and electropolymerized p-aminobenzenesulfonic acid mixed film used as dopamine and serotonin electrochemical sensor. Monatshefte für Chemie-Chemical Monthly, 1-7.

Randviir, E. P. ve Banks, C. E. 2013. Electrochemical impedance spectroscopy: an overview of bioanalytical applications. Analytical Methods, 5,(5), 1098-1115.

Roshchina, V. V. 2016. The fluorescence methods to study neurotransmitters (biomediators) in plant cells. Journal of fluorescence, 26,(3), 1029-1043.

Saberi, R. S., Shahrokhian, S. ve Marrazza, G. 2013. Amplified electrochemical DNA sensor based on polyaniline film and gold nanoparticles. Electroanalysis, 25,(6), 1373-1380.

Samie, H. A. ve Arvand, M. 2019. RuO2 nanowires on electrospun CeO2-Au nanofibers/functionalized carbon nanotubes/graphite oxide nanocomposite modified screen-printed carbon electrode for simultaneous determination of serotonin, dopamine and ascorbic acid. Journal of Alloys and Compounds, 782, 824-836.

Schmid, G. (2008). Clusters and colloids: from theory to applications, John Wiley & Sons.

Scholz, F. 2015. Voltammetric techniques of analysis: the essentials. ChemTexts, 1,(4), 1-24.

Sun, D., Li, H., Li, M., Li, C., Dai, H., Sun, D. ve Yang, B. 2018. Electrodeposition synthesis of a NiO/CNT/PEDOT composite for simultaneous detection of dopamine, serotonin, and tryptophan. Sensors and Actuators B: Chemical, 259, 433-442.

TIĞ, G. A. 2018. Gold Nanoparticle and Poly Arginine Modified GCE for Simultaneous Determination of Hydroquinone and Catechol. Hacettepe Journal of Biology and Chemistry, 45,(3), 443-451.

Tığ, G. A., Günendi, G. ve Pekyardımcı, Ş. 2017. A selective sensor based on Au nanoparticles-graphene oxide-poly (2, 6-pyridinedicarboxylic acid) composite for simultaneous electrochemical determination of ascorbic acid, dopamine, and uric acid. Journal of Applied Electrochemistry, 47,(5), 607-618.

Tığ, G. A., Zeybek, B. ve Pekyardımcı, Ş. 2016. Electrochemical DNA biosensor based on poly (2, 6-pyridinedicarboxylic acid) modified glassy carbon electrode for the determination of anticancer drug gemcitabine. Talanta, 154, 312-321.

Vu, D. L., Ertek, B., Červenka, L. ve Dilgin, Y. 2014. Determination of insulin using a pretreated pencil graphite electrode. Sensing in Electroanalysis.(K. Kalcher, R. Metelka, I. Švancara, K. Vytřas; Eds.). 2013/2014, Volume 8.

Wang, F., Gong, W., Wang, L. ve Chen, Z. 2016. Selective recognition of d-tryptophan from d/l-tryptophan mixtures in the presence of Cu (II) by electropolymerized l-lysine film. Analytical biochemistry, 492, 30-33.

Wang, J. 2006. Study of electrode reactions and interfacial properties. Analytical electrochemistry, 29-37.

Wang, S., Wang, Y., Min, Q., Shu, T., Zhu, X., Peng, A. ve Ding, H. 2016. Simultaneous electrochemical determination of dopamine and serotonin in rat cerebrospinal fluid using screen-printed electrode modified with MWNTs-SiO2-chitosan composites. Int. J. Electrochem. Sci, 11, 2360-2376.

Wang, Z., Zhu, Q., Kiely, J. ve Luxton, R. (2009). Hilbert Huang transform impedance measurement data for cellular toxicity monitoring. 2009 International Conference on Networking, Sensing and Control, IEEE.

Wei, Y., Luo, L., Ding, Y., Si, X. ve Ning, Y. 2014. Highly sensitive determination of methotrexate at poly (l-lysine) modified electrode in the presence of sodium dodecyl benzene sulfonate. Bioelectrochemistry, 98, 70-75.

Yanez-Sedeno, P. ve Pingarron, J. 2005. Gold nanoparticle-based electrochemical biosensors. Analytical and bioanalytical chemistry, 382,(4), 884-886.

Yao, Y. ve Shiu, K.-K. 2007. Electron-transfer properties of different carbon nanotube materials, and their use in glucose biosensors. Analytical and bioanalytical chemistry, 387,(1), 303-309.

Zhao, Q., Yuan, Z., Duan, Z., Jiang, Y., Li, X., Li, Z. ve Tai, H. 2019. An ingenious strategy for improving humidity sensing properties of multi-walled carbon nanotubes via poly-L-lysine modification. Sensors and Actuators B: Chemical, 289, 182-185.

Zhao, X.-E., Zhu, S., Yang, H., You, J., Song, F., Liu, Z. ve Liu, S. 2015. Simultaneous determination of amino acid and monoamine neurotransmitters in PC12 cells and rats models of Parkinson's disease using a sensitizing derivatization reagent by UHPLC–MS/MS. Journal of Chromatography B, 995, 15-23.

Zhao, X., Gao, W., Zhang, H., Qiu, X. ve Luo, Y. 2020. Graphene quantum dots in biomedical applications: recent advances and future challenges. Handbook of nanomaterials in analytical chemistry, 493-505.

Zhou, J., Sheng, M., Jiang, X., Wu, G. ve Gao, F. 2013. Simultaneous determination of dopamine, serotonin and ascorbic acid at a glassy carbon electrode modified with carbon-spheres. Sensors, 13,(10), 14029-14040.