

**T.C.
GİRESUN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**ELEKTROT MODİFİKASYONU İLE
FLUKONAZOL' E DUYARLI
ELEKTROKİMYASAL SENSÖR YAPIMI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Öğrencinin Adı SOYADI : KÜBRA UÇARLI

Tezin Enstitüye Verildiği Tarih : 31.01.2022

Enstitü Anabilim Dalı : KİMYA

Tez Danışmanı : Prof. Dr. SAİM TOPÇU

**Ocak 2022
GİRESUN**

T.C.
GİRESUN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**ELEKTROT MODİFİKASYONU İLE
FLUKONAZOL'E DUYARLI ELEKTROKİMYASAL
SENSÖR YAPIMI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Kübra UÇARLI

Enstitü Anabilim Dalı : KİMYA

Bu tez 14/01/2022 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oybirliği / oyçokluğu ile kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Yeliz KARAMAN	Prof. Dr. Saım TOPÇU	Prof. Dr. Temel ÖZTÜRK
Jüri Başkanı	Üye	Üye

Doç.Dr. Bahadır KOZ

Enstitü Müdürü

BEYAN

Tez içindeki tüm verilerin akademik kurallar çerçevesinde tarafımdan elde edildiğini, görsel ve yazılı tüm bilgi ve sonuçların akademik ve etik kurallara uygun şekilde sunulduğunu, kullanılan verilerde herhangi bir tahrifat yapılmadığını, başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunulduğunu, tezde yer alan verilerin bu üniversite veya başka bir üniversitede herhangi bir tez çalışmasında kullanılmadığını beyan ederim.

Kübra UÇARLI

14/01/2022

TEŞEKKÜR

Yüksek Lisans eğitimime başladığım andan itibaren, çalışmalarımın her aşamasında vakit ayıran, sorduğum her soruda değerli bilgi ve tecrübelerinden faydalandığım, her konuda benden güler yüz, yakın ilgi ve desteğini esirgemeyen değerli hocam Prof. Dr. Saim TOPÇU' ya en içten duygularıyla saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

Giresun Üniversitesi Kimya Bölümü Başkanı Prof. Dr. Temel ÖZTÜRK ve bölümün diğer hocalarına emekleri için çok teşekkür ederim.

Laboratuvar çalışmalarımda bana öncülük eden, bilgi birikimleriyle çalışmalarına katkılar sağlayan değerli eşim Dr. Öğretim Üyesi Okan UÇARLI' ya kalbi duygularıyla minnettarım.

Kızlarım Simya ve Oylum' a da bu çalışmayı bitirmemde olanak sağladıkları için çok teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	i
İÇİNDEKİLER	ii
SİMGELER VE KISALTMALAR LİSTESİ.....	v
ŞEKİLLER LİSTESİ	vi
TABLolar LİSTESİ	x
ÖZET.....	xi
THE FABRICATION OF FLUCONAZOLE-SENSITIVE ELECTROCHEMICAL SENSOR WITH ELECTRODE MODIFICATION.....	xii
SUMMARY	xii
 BÖLÜM 1. GİRİŞ	1
 BÖLÜM 2. KAYNAK ARAŞTIRMASI.....	5
2.1. Poli- <i>o</i> -fenilendiamin'in Kimyasal Sentezi.....	5
2.2. Poli- <i>o</i> -fenilendiamin'in Elektrokimyasal Sentezi	6
2.3. Poli- <i>o</i> -fenilendiamin Tabanlı MIP Sensörleri	7
2.4. Flukonazol'un Literatürdeki Yeri	10
 BÖLÜM 3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	13
3.1. Materyal	13
3.2. Cihaz	13
3.3. Yöntem.....	14
3.3.1. PGE aktivasyonu	14
3.3.2. Aktive edilmiş PGE'lerden MIP yapımı ve optimum MIP'in belirlenmesi	15
3.3.3. MIP'lerin elüasyon ve inkübasyon işlemi	16
3.3.4. Optimum çalışma pH'sının belirlenmesi ve PBS tamponunda MIP performansının incelenmesi	17

3.4. Deneysel Teknik.....	17
 BÖLÜM 4. ARAŞTIRMA BULGULARI	19
4.1. PGE Elektrotların Aktive Edilmesi	19
4.1.1. E ₁ Elektrodu aktivasyonu	19
4.1.2. E ₂ Elektrodu aktivasyonu	21
4.2. MIP Hazırlanması	22
4.2.1. E ₀ Elektrodundan MIP yapımı.....	22
4.2.1.1. E ₀ MIP 9 döngü kaplama ve MIP performansının değerlendirilmesi	23
4.2.1.2. E ₀ MIP 18 döngü kaplama ve MIP performansının değerlendirilmesi	25
4.2.1.3. E ₀ MIP 27 döngü kaplama ve MIP performansının değerlendirilmesi	26
4.2.2. E ₁ Elektrodundan MIP yapımı.....	28
4.2.2.1. E ₁ MIP 9 döngü kaplama ve MIP performansının değerlendirilmesi	28
4.2.2.2. E ₁ MIP 18 döngü kaplama ve MIP performansının değerlendirilmesi	30
4.2.2.3. E ₁ MIP 27 döngü kaplama ve MIP performansının değerlendirilmesi	32
4.2.3. E ₂ Elektrodundan MIP yapımı.....	33
4.2.3.1. E ₂ MIP 9 döngü kaplama ve MIP performansının değerlendirilmesi	34
4.2.3.2. E ₂ MIP 18 döngü kaplama ve MIP performansının değerlendirilmesi	35
4.2.3.3. E ₂ MIP 27 döngü kaplama ve MIP performansının değerlendirilmesi	37
4.3. MIP' lerin Elüasyon ve İnkiyasyonu	39
4.4. BR ve PBS Tamponunda MIP Performansının İncelenmesi.....	41
4.4.1. MIP performansı için BR-Tamponunda optimum pH' nın belirlenmesi	41
4.4.2. MIP performansı için BR- tamponunda optimum pH' nın belirlenmesi.....	44
 BÖLÜM 5. TARTIŞMA VE SONUÇ	46
5.1. Aktivasyonun Değerlendirilmesi	46
5.2. MIP İşleminin Değerlendirilmesi.....	48
5.3. E ₁ MIP Sensörlerin Elüasyon ve İnkiyasyon İşlemleri	48
5.4. E ₁ MIP Performansının BR Tamponu Farklı pH' larda Değerlendirilmesi.....	49
5.5. E ₁ -MIP Performansının PBS Ortamında Değerlendirilmesi	50
5.6. Bu Çalışmanın Literatürdeki Yeri	51

KAYNAKLAR.....	52
ÖZGEÇMİŞ	60



SİMGELER VE KISALTMALAR LİSTESİ

AgDs	: Gümüş Dendritler
APS	: Amonyum pesüfat
BR	: Britton Robinson
CV	: Dönüşümlü Voltametri
DPV	: Diferansiyel Puls Voltametrisi
E ₀	: Aktive edilmemiş PGE
E ₁	: Etanol içinde hazırlanmış 0,1 M HCl'de active edilmiş PGE
E ₂	: H ₂ SO ₄ içinde LSV ile active edilmiş PGE
EIS	: Elektrokimyasal Empedans Spektroskopisi
Fluk	: Flukonazol
GCE	: Camsı Karbon Elektrot
HPLC	: Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi
LSV	: Doğrusal Taramalı Voltametri
MIP	: Moleküler Baskılı Polimer
NIPAAm	: Amin ile sonlandırılmış N-izopropilakrilamid
<i>o</i> -PD	: Orto fenilendiamin
PGE	: Kurşun kalem grafit elektrot
P- <i>o</i> -PD	: Ortofenilendiamin Polimeri
SEM	: Taramalı Elektron Mikroskopi
SPME	: Kromatografik ve katı fazlı mikro ekstraksiyon
SWV	: Kare Dalga Voltammetrisi

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1.1. Flukonazol'un açık yapısı	2
Şekil 1.2. Moleküler baskılı polimerler hazırlamanın adımları	3
Şekil 2.1. orto-fenilendiaminden oluşan farklı polimer yapıları	5
Şekil 2.2. Kuvvetli asit ortamında <i>o</i> -PD' nin elektrokimyasal polimerleşmesi	7
Şekil 3.1. EIS verilerinin hesaplanması için önerilen hücre devresi (R_1 = Çözelti direnci R_2 = Elektrot yüzeyindeki polimerin direnci R_3 = Flukonazol' e ait direnç)	18
Şekil 4.1.1. E_0 (□) ve E_1 (...)’ e ait 10 ml 0,1M KCl içerisinde demir redoks çiftine karşı Nyquist diyagramları.....	19
Şekil 4.1.2. E_0 (□) ve E_1 (...)’ e ait demir redoks çiftine karşı CV voltamogramı ...	20
Şekil 4.1.3. E_0 ve E_1 ’ e ait SEM görüntüleri	20
Şekil 4.1.4. E_0 (□) ve E_2 (...)’ e ait 10 ml 0,1 M KCl içerisinde demir redoks çiftine karşı Nyquist diyagramı.....	21
Şekil 4.1.5. E_0 (□) ve E_2 (...)’ e ait demir redoks çiftine karşı CV voltamogramı ...	21
Şekil 4.1.6. E_0 ve E_2 ’ ye ait SEM görüntüleri	22
Şekil 4.2.1. E_0 MIP_9 elektrodunun yapımı	23
Şekil 4.2.2. E_0 MIP_9’un 10^{-12} M - 10^{-6} M Flukonazol ile değişen Nyquist diyagramı	23
Şekil 4.2.3. E_0 MIP_9’un 10^{-12} M - 10^{-6} M Flukonazol ile değişen CV voltamogramları.....	24
Şekil 4.2.4. E_0 MIP_9’un 10^{-12} M - 10^{-6} M Flukonazol ile değişen Nyquist diyagramından elde edilen R_{ct} ’ nin konsantrasyona bağlı değişimi	24
Şekil 4.2.5. E_0 MIP_18 elektrodunun yapımı	25
Şekil 4.2.6. E_0 MIP_18’in 10^{-12} M - 10^{-6} M Flukonazol ile değişen Nyquist diyagramı	25

Şekil 4.2.7. E ₀ MIP_18'in 10 ⁻¹² M - 10 ⁻⁶ M Flukonazol ile değişen CV voltamogramları.....	26
Şekil 4.2.8. E ₀ MIP_18'in 10 ⁻¹² M - 10 ⁻⁶ M Flukonazol ile değişen Nyquist diyagramından elde edilen R _{ct} 'nin konsantrasyona bağlı değişimi	26
Şekil 4.2.9. E ₀ MIP_27 elektrodunun yapımı	27
Şekil 4.2.10. E ₀ MIP_27'nin 10 ⁻¹² M - 10 ⁻⁶ M Flukonazol ile değişen Nyquist diyagramı	27
Şekil 4.2.11. E ₀ MIP_27'nin 10 ⁻¹² M - 10 ⁻⁶ M Flukonazol ile değişen CV voltamogramları.....	27
Şekil 4.2.12. E ₀ MIP_27'nin 10 ⁻¹² M - 10 ⁻⁶ M Flukonazol ile değişen Nyquist diyagramından elde edilen R _{ct} 'nin konsantrasyona bağlı değişimi	28
Şekil 4.2.13. E ₁ MIP_9 elektrotunun yapımı	29
Şekil 4.2.14. E ₁ MIP_9' un 10 ⁻¹³ M - 10 ⁻⁵ M Flukonazol ile değişen Nyquist diyagramı	29
Şekil 4.2.15. E ₁ MIP_9' un 10 ⁻¹³ M - 10 ⁻⁵ M Flukonazol ile değişen CV voltamogramları.....	29
Şekil 4.2.16. E ₁ MIP_9' un 10 ⁻¹³ M - 10 ⁻⁵ M Flukonazol ile değişen Nyquist diyagramından elde edilen R _{ct} 'nin konsantrasyona bağlı değişimi	30
Şekil 4.2.17. E ₁ MIP_18 elektrodunun yapımı	30
Şekil 4.2.18. E ₁ MIP_18' in 10 ⁻¹³ M - 10 ⁻⁵ M Flukonazol ile değişen Nyquist diyagramı	31
Şekil 4.2.19. E ₁ MIP_18' in 10 ⁻¹³ M - 10 ⁻⁵ M Flukonazol ile değişen CV voltamogramları.....	31
Şekil 4.2.20. E ₁ MIP_18' in 10 ⁻¹³ M - 10 ⁻⁵ M Flukonazol ile değişen Nyquist diyagramından elde edilen R _{ct} 'nin konsantrasyona bağlı değişimi	31
Şekil 4.2.21. E ₁ MIP_27 elektrodunun yapımı	32
Şekil 4.2.22. E ₁ MIP_27' nin 10 ⁻¹² M - 10 ⁻⁶ M Flukonazol ile değişen Nyquist diyagramı	32
Şekil 4.2.23. E ₁ MIP_27' nin 10 ⁻¹² M - 10 ⁻⁶ M Flukonazol ile değişen CV voltamogramları.....	33
Şekil 4.2.24. E ₁ MIP_27' nin 10 ⁻¹² M - 10 ⁻⁶ M Flukonazol ile değişen Nyquist diyagramından elde edilen R _{ct} 'nin konsantrasyona bağlı değişimi	33

Şekil 4.2.25. E ₂ MIP_9 elektrodunun yapımı	34
Şekil 4.2.26. E ₂ MIP_9'un 10 ⁻¹³ M - 10 ⁻⁵ M Flukonazol ile değişen Nyquist diyagramı	34
Şekil 4.2.27. E ₂ MIP_9'un 10 ⁻¹³ M - 10 ⁻⁵ M Flukonazol ile değişen CV voltamogramları.....	35
Şekil 4.2.28. E ₂ MIP_9'un 10 ⁻¹² M - 10 ⁻⁵ M Flukonazol ile değişen Nyquist diyagramından elde edilen R _{ct} 'nin konsantrasyona bağlı değişimi	35
Şekil 4.2.29. E ₂ MIP_18 elektrodunun yapımı	36
Şekil 4.2.30. E ₂ MIP_18' in 10 ⁻¹² M - 10 ⁻⁵ M Flukonazol ile değişen Nyquist diyagramı	36
Şekil 4.2.31. E ₂ MIP_18' in 10 ⁻¹² M - 10 ⁻⁵ M Flukonazol ile değişen CV voltamogramları.....	36
Şekil 4.2.32. E ₂ MIP_18' in 10 ⁻¹² M - 10 ⁻⁵ M Flukonazol ile değişen Nyquist diyagramından elde edilen R _{ct} 'nin konsantrasyona bağlı değişimi	37
Şekil 4.2.33. E ₂ MIP_27 elektrodunun yapımı	37
Şekil 4.2.34. E ₂ MIP_27' nin 10 ⁻¹² M - 10 ⁻⁵ M Flukonazol ile değişen Nyquist diyagramı	38
Şekil 4.2.35. E ₂ MIP_27' nin 10 ⁻¹² M - 10 ⁻⁵ M Flukonazol ile değişen CV voltamogramları.....	38
Şekil 4.2.36. E ₂ MIP_27' nin 10 ⁻¹² M - 10 ⁻⁵ M Flukonazol ile değişen Nyquist diyagramından elde edilen R _{ct} 'nin konsantrasyona bağlı değişimi	38
Şekil 4.3.1. E ₁ MIP_18 'in SEM görüntüleri	39
Şekil 4.3.2. E ₁ MIP_18 'in farklı sürelerde elüasyonuna ait Nyquist diyagramları....	40
Şekil 4.3.3. E ₁ MIP_18 'in farklı sürelerde elüasyonuna ait Nyquist diyagramlarından elde edilen R _{ct} değişimleri	40
Şekil 4.3.4. E ₁ MIP_18 'in farklı sürelerde inkübasyonuna ait Nyquist diyagramları	41
Şekil 4.3.5. E ₁ MIP_18 'in farklı sürelerde inkübasyonuna ait Nyquist diyagramlarından elde edilen R _{ct} değişimleri	41
Şekil 4.4.1. Dolu (Çizgili) ve Boş (çizgisiz) E ₁ MIP_18' in BR tamponu farklı pH' larda elde edilen Nyquist diyagramı	42
Şekil 4.4.2. BR tamponu farklı pH' larda MIP' lerin çalışma aralıkları	43

Şekil 4.4.3. BR tamponu pH=6,0'da E ₁ MIP_18 'in 10^{-13} M - 10^{-5} M Flukonazol ile değişen Nyquist diyagramı	43
Şekil 4.4.4. BR tamponu pH=6,0'da E ₁ MIP_18 'in Nyquist diyagramından elde edilen Rct değerlerinin 10^{-13} M - 10^{-5} M Flukonazol ile değişimi	44
Şekil 4.4.5. PBS ortamında E ₁ MIP_9' un 10^{-12} M - 10^{-5} M Flukonazol ile değişen Nyquist diyagramı.....	44
Şekil 4.4.6. PBS ortamında E ₁ MIP_9' un 10^{-13} M - 10^{-5} M Flukonazol ile değişen Nyquist diyagramından elde edilen Rct' nin konsantrasyona bağlı değişimi	45



TABLolar LİSTESİ

Tablo 4.1.1. E ₁ aktivasyonundan önce ve sonra demir redoks çiftine karşı CV akım ve potansiyel değerleri	20
Tablo 4.1.2. E ₂ aktivasyonundan önce ve sonra demir redoks çiftine karşı CV akım ve potansiyel değerleri	22
Tablo.4.4.1. BR tamponu farklı pH' larda Nyquist diyagramından elde edilen boş ve dolu MIP'lere ait R _{ct} değerleri	43
Tablo 5. Flukonazol tayin yöntemlerinin kıyaslanması	51

ELEKTROT MODİFİKASYONU İLE FLUKONAZOL' E DUYARLI ELEKTROKİMYASAL SENSÖR YAPIMI

ÖZET

Flukonazol, oral yoldan alınan bir triazol türevi olan antifungal ilaç etken maddesidir. Bu çalışmada Flukonazol' e (Fluk) duyarlı, moleküler baskılanmış polimer (MIP) ile kaplı bir elektrot yapılması hedeflenmiştir. Bu amaçla 0,7 mm kurşun kalem ucu (PGE) çalışma elektrodu olarak seçilmiş duyarlılığını arttırmak için kimyasal ve elektrokimyasal metotlarla aktive edilmiştir. Yalın PGE ve aktive edilen PGE'ler 20 mM orto-fenilendiamin (o-PD) ve 5,70 mM Flukonazol varlığında 0,5 M H₂SO₄ çözeltisinde dönüşümlü voltametri (CV) tekniğiyle (-0,4 V) ile (+1,3 V) aralığında 9, 18 ve 27 döngüyle MIP'ler hazırlanmıştır. Aktivasyon sonucunda Potasyum Hekzasiyanoferrat(III) / Potasyum Ferrisiyanür redoks çiftinin akım değerleri artmış ve potansiyel değerleri arasındaki fark azalmıştır CV döngü sayısı arttıkça MIP'in elektriksel iletkenliği azalmıştır. Her aşama elektrokimyasal empedans spektroskopisi (EIS) ile takip edilmiştir. Etanol-HCl ortamında aktive edilmiş 9 ve 18 döngü ile hazırlanmış MIP/PGE elektrotların analit konsantrasyona 1×10^{-13} - 1×10^{-5} M aralığında doğrusal olarak duyarlı olduğu belirlenmiştir. BR tamponunda farklı pH' larda MIP performansı incelenmiş ve pH= 6,0'da daha iyi performans gösterdiği kanaatine varılmıştır.

Anahtar kelimeler: Flukonazol, orto-fenilendiamin, Elektrokimyasal Empedans Spektroskopisi, PGE, MIP, Sensör,

THE FABRICATION OF FLUCONAZOLE-SENSITIVE ELECTROCHEMICAL SENSOR WITH ELECTRODE MODIFICATION

SUMMARY

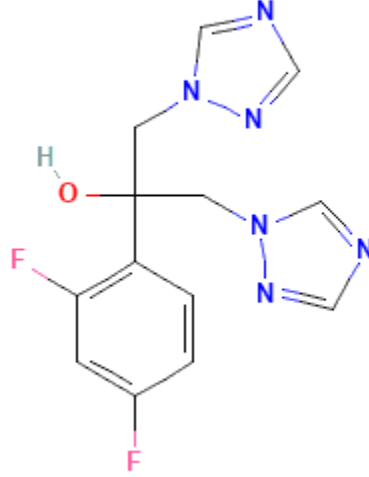
Fluconazole is an orally administered triazole derivative, an antifungal drug active ingredient. This study aims to make an electrode sensitive to Fluconazole (Fluk) and coated with a molecularly imprinted polymer (MIP). For this purpose, a 0.7 mm pencil tip (PGE) was selected as the working electrode and activated by chemical and electrochemical methods to increase its sensitivity. MIP electrodes were prepared by bare PGE and activated PGEs in the presence of 20 mM ortho-phenylenediamine (o-PD) and 5.70 mM Fluconazole in a 0.5 M H₂SO₄ solution. Deposition of MIPs was conducted 9, 18, and 27 cycles in the range of (-0.4 V) to (+1.3V) volts by cyclic voltammetry (CV) technique. The activation of the PGE electrode results in an anodic-cathodic peak separation decrease and an increase in the peak current of the standard redox couple. As the number of CV cycles increased, the electrical conductivity of MIP decreased. Each step was followed by electrochemical impedance spectroscopy (EIS). Activated in ethanol-HCl medium and MIP electrodes prepared with 9 and 18 cycles were linearly sensitive to the analyte concentration in the range of 1×10^{-13} - 1×10^{-5} M. MIP performance in BR buffer at different pH was investigated. It was concluded that it performed better at pH=6.0.

Keywords: Fluconazole, orthophenylenediamine, Electrochemical Impedance Spectroscopy, PGE, MIP, Sensor,

BÖLÜM 1. GİRİŞ

IUPAC adı 2- (2,4-Diflorofenil) -1,3- bis (1 H -1,2,4-triazol-1-il) propan-2-ol olan bileşiğin yaygın adı Flukonazoldur. Flukonazol, oral yoldan alınan bistriazole içeren bir antifungal ajandır [1]. Candida mantarlarının sebep olduğu cilt mantar hastalıklarının yanında immün yetmezliği olan hastalarda (AIDS) yüzeysel ve sistemik hastalıkların tedavisinde kullanılmaktadır. Triazol fonksiyonel grubuna sahip bileşikler AIDS gibi bağışıklık yetersizliği hastalıklarını tedavi etmek için yaygın olarak kullanılır [2,3]. Mantar hücre zarının temel bileşenlerinden biri olan ergosterolün sentezini bloke ederek etki eder. Memeli hücresi, Flukonazol inhibisyonu için çok daha az duyarlıdır. Genellikle, ilaç seviyesinin izlenmesi gerekli değil iken, böbrek yetmezliği veya diyalize giren hastalarda önemli hale gelir [2,4]. Flukonazol yaygın olarak, organizma içinde serbest bırakılmasını kolaylaştıran, 150 mg aktif farmasotik madde içeren kapsüller şeklinde ticarileştirilmiştir [5]. Bazen ilaç içindeki yardımcı maddeler, aktif farmasotik maddeye benzer kimyasal yapılara sahip safsızlıklar içerir [3]. Flukonazol, beyin-omurilik sıvısı da dahil olmak üzere süte ve bütün vücut sıvılarına geçer. Sütte plazma konsantrasyonlarına ulaşır [6,7]. Bütün azoller gibi Flukonazol de hepatik CYP2C9 veya CYP3A4 izoenzimlerini çeşitli oranlarda inhibe eder. Bu izoenzimlerin substratı olarak işlev gören, diğer bir deyişle bu enzimlerle metabolize olan ilaçları (örn. amfoterisin B, antiasitler, varfarin, karbamazepin, fenitoin, rifampin, vorikonazol vd.) Flukonazolle eşzamanlı olarak kullanan hastalarda bu ilaçların kan düzeyi yükselir ve toksisite tehlikesi baş gösterir [8]. Flukonazol' un QT aralığını uzatan diğer ilaçlarla birlikte kullanımı da yakın izlem gerektirir. İdrar, kan, dışkı, anne sütü, tükürük, beyin omurilik sıvısı ve göz sıvıları gibi klinik örneklerde Flukonazol (idrarda %90'ı ve dışkıda %10' yakın izlem gerektirir. İdrar, kan, dışkı, anne sütü, tükürük, beyin omurilik sıvısı ve göz sıvıları gibi klinik örneklerde Flukonazol (idrarda %90'ı ve dışkıda %10' değişmeden kalmaktadır) [9,10] miktarı göz önünde tutulduğunda, bu matris ortamlarında Flukonazol' un değişmemiş formunun yüksek hassasiyetle tayini önem

arz etmektedir [11]. Hemodiyaliz ve periton diyaliziyle kandan uzaklaştırılması mümkündür [6].

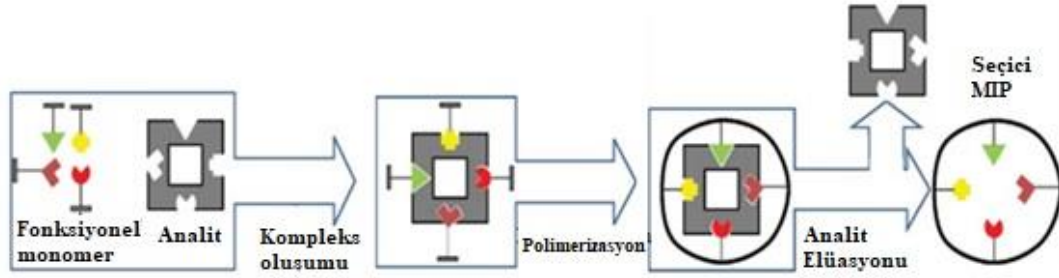


Şekil 1.1. Flukonazol'un açık yapısı

Sensör, ölçülebilir bir algılama sinyali üretmek veya başka bir işlemi kontrol etmek için fiziksel veya kimyasal bir uyarana tepki veren bir cihazdır [12]. Sensörler sayısız uygulamada karşımıza çıkar ve günlük hayatımızın ayrılmaz bir parçası haline gelmiştir. İyon ve molekül tanıyan sensörler alanında alınan büyük ilerleme kemo- ve biyosensörlerin gelişmesine yol açmıştır. Sensör kimyasal bilgiyi analitik olarak kullanışlı bir sinyale dönüştüren ve bilgi veren bir cihazdır. Bu bilgi analitin kimyasal reaksiyonundan veya araştırılan sistemin fiziksel bir özelliğinden kaynaklanabilir [13].

Moleküler baskılama, sensörlere uygulanan sınırlamaların çoğunun üstesinden gelmenin umut verici bir yoludur. Moleküler baskılı polimerler (MIP) kemosensörlerde moleküler tanıma işlemlerinde kullanıldığı gibi kromatografik ve katı fazlı mikro ekstraksiyon (SPME) ayırmaları için uygun malzemelerdir. MIP bazlı materyallerin uygulamaları arasında herbisitlerin, pestisitler, kimyasal silah olarak kullanılan maddeler, çevresel kirleticiler, antibiyotikler vb. tespiti ve

miktarının belirlenmesi yer almaktadır [12, 14-18]. MIP oluşumunun arkasındaki ilham, tek bir şablonu çevreleyen tanımak istenen moleküler sitelere sahip malzeme eldesidir. Diğer bir deyişle analit molekül ve onu çevreleyen bir polimer veya daha genel olarak sentetik bir katıdan oluşan bir sistem tasarlamayı içerir [19]. Böylece şablon kaynaklı bir in situ algılama materyalinde tanıma sitelerinin oluşumu sağlanır. Şablon moleküller malzemeyi moleküler seviyede baskılar daha sonra yapıdan uzaklaştırılan şablon molekülleri geride molekülün boyutu ve şekliyle orantılı bir site (boşluk) bırakır. Analitin güçlü ve seçici bir şekilde yakalanmasını bu boşluklar sağlar. MIP malzemeleri, biyolojik sistemler veya biyomoleküller ile kıyaslandığında sert çevre koşulları altında, MIP reseptörlerinin kararlılığı daha üstündür [17]. Şekil 1.2' de MIP hazırlanması şematize edilmiştir.



Şekil 1.2. Moleküler baskılı polimerler hazırlamanın adımları

Genel olarak, MIP sentezi için termal ve fotopolimerizasyon gibi polimerizasyon yöntemlerin yanında elektrokimyasal metotlar da sıklıkla kullanılmaktadır [20]. Polimerizasyonun elektrokimyasal yolla gerçekleştirilmesi ilk 1949' da rapor edilmiştir [21]. Öte yandan, elektrot yüzeylerinde organik maddelerin elektrolizinin bir sonucu olarak pasif filmlerin büyüme olasılığı uzun zamandır bildirilen bir olaydır. Organik elektroaktif türlerin düşük konsantrasyonlarda çalışılması bu dezavantajı önler, polimerizasyon ise gözlemlenen olaydan sorumlu kimyasal reaksiyon olarak karşımıza çıkması genel bir gözlemdir [22]. Elektrosentez yoluyla iletken polimer oluşturma olasılığının keşfi, malzeme kimyası araştırmalarında bir kilometre taşı temsil etmiştir. İletken polimerlerin sentezi 2000 yılında Heeger, McDiarmid ve Shirakawa' ya Nobel Ödülü'nü kazandırmıştır [22]. Elektrokimyasal polimerizasyon, bir çözelti içinde bir monomer elektrot oksidasyonuna veya

indirgemesine tabi tutulan bir süreçtir ve sonuç olarak çözünmez bir faz veya elektrot filmi olarak bir polimerik malzeme elde edilir. [22].

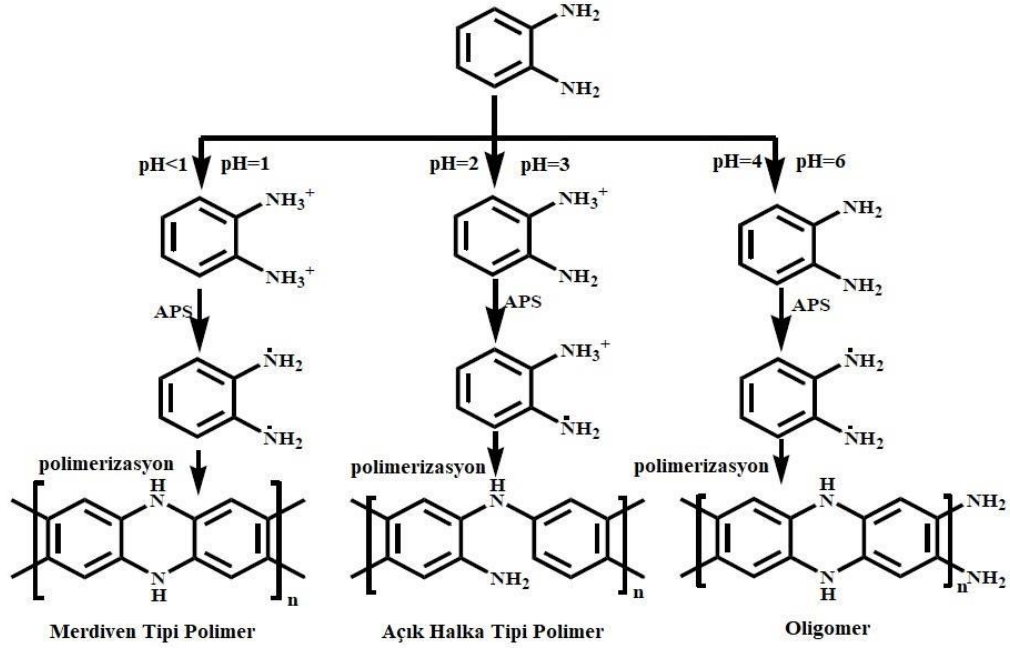
Farklı tanıma mekanizmaları sayesinde, şablonun tamamlayıcı boşluklardan çıkarılması için "evrensel prosedür" yoktur. Çıkarma için, tipik olarak bir dizi çözücü veya deterjan test edilmektedir. Şablon çıkarılırken çözücünün boşluk şekillerine zarar verebileceği konusunda her zaman dikkatli olunması gerekir [20].

Flukonazol ilaç etken maddesinin vücuttaki etki mekanizması göz önünde bulunduğunda bu maddenin analizi ve tayin edilmesi önem kazanmaktadır. Bu çalışmada Flukonazol tayini için elektrokimyasal MIP sensör yapımı hedeflenmiştir. Bu seçimdeki asıl amaç literatürde hali hazır tayin limitlerinden daha düşük derişimlerde tayin etmektir. Bu amaçla kurşun kalem uçları çalışma elektrotu olarak seçilmiş, bu kalem uçları sensör için daha aktif hale getirildikten sonra üzerlerine polimer filmleri Flukonazol' lü ortamda kaplanarak MIP haline getirilmeye çalışılmıştır. Elde edilen MIP' lerin performansı farklı tampon ortamlarında ve farklı pH' larda değerlendirilmeye çalışılmıştır.

BÖLÜM 2. KAYNAK ARAŞTIRMASI

2.1. Poli-*o*-fenilendiamin'in Kimyasal Sentezi

o-fenilendiamin'den (*o*-PD) poli-*o*-fenilendiamin (P-*o*-PD) sentezi için bir çok yöntem mevcuttur. Şekil 2.1' de *o*-PD monomerinin farklı ortamlarda polimerleşmesine ait mekanizma verilmiştir [23].



Şekil 2.1. orto-fenilendiaminden oluşan farklı polimer yapıları

Kimyasal polimerizasyon yöntemiyle farklı pH' larda *o*-PD' den, P-*o*-PD sentezlemek için oksitleyici ajan özelliği taşıyan amonyum persülfat (APS) kullanılarak polimerin iletkenliğinin yapısı ve özelliği araştırılmıştır. Yapısal analiz ile kuvvetli asidik ortamlarda ($\text{pH} < 2$) merdiven tipi polimer oluşurken, $\text{pH} = 2$ ve üstü ortamlarda açık halka tipi polianilin yapısının amin türevi olduğu sonucuna

varılmıştır [23]. Ancak, merdiven tipi dimer veya oligomer pH= 4 veya 6' da oluşturulmuştur. $-NH_2$ gibi serbest uçlu fonksiyonellerin varlığında sentezlenen açık halkalı polimerlerin, aynı zamanda DMSO ve DMF gibi organik çözücülerde iyi çözündüğü sonucuna da varılmıştır. Doplama işlemi 20 mM o-PD'nin olduğu amonyum persülfat ortamında pH'nın HCl ile ayarlanmasıyla gerçekleştirilmiştir ve film oluşması için 10 saat beklenmiştir. HCl içinde doplanan, merdiven polimeri için ortalama iletkenlik 1.7×10^{-7} S/cm iken, aynı şartlarda açık halka polimeri için iletkenlik 8.8×10^{-5} S/cm olarak ölçülmüştür [23].

2.2. Poli-o-fenilendiamin'in Elektrokimyasal Sentezi

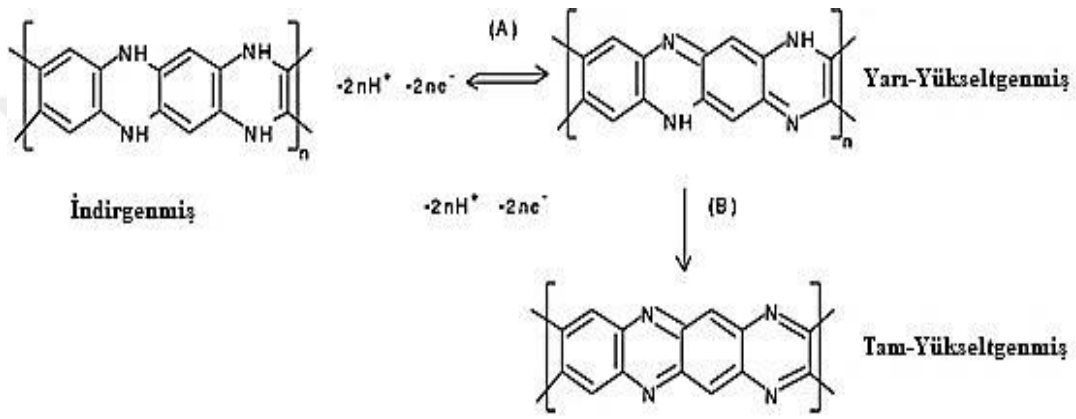
P-o-PD' nin elektrokimyasal sentezi de yapılabilmektedir. H_2O_2 için MIP sensörü geliştirilen çalışmada [24], P-o-PD CV metodu ile camı karbon elektrot (GCE) üzerinde sentezlenmiştir. o-PD içeren pH= 4,2 asetat tamponunda 50 mV/s tarama hızında (-0,4 V) – (+1,0 V) arasında 30 döngü alınarak sentezlenmiştir ve 0,03 μ M peroksit tayini yapılabilmektedir.

Polimerleşmeye ait CV voltamogramları incelendiğinde, +0,54 V (O_1) ve +0,81 V (O_2) da iki ayrı anodik pik ele geçmiştir. O_1 piki tek değerlikli katyon radikalleri oluşturmak için o-PD' nin oksidasyonunu temsil eder. O_2 ise GC yüzeyindeki tek değerli katyon radikalleri tarafından üretilmiş iki değerlikli katyon radikallerinin, daha fazla polimerize olan P-o-PD filminin doğrusal zincir yapısını oluşturmasını temsil eder. Ayrıca bu polimer pikinin tersinmez olduğu da anlaşılmıştır. İkinci anodik taramada, O_1 'e ait pik akımı azalmıştır bu durum P-o-PD' nin hızlıca oluşumunu ve o-PD monomerlerinin elektrot yüzeyine difüzyonunu engellediği anlamına gelmektedir. İkinci taramada -0,25 V' da (O_3) karşımıza çıkan pik ise P-o-PD filminin kendisinin aktif sitelerinden kaynaklıdır. -0,36 V' da ortaya çıkan indirgenme piki ise P-o-PD filminin tersinir pikidir.

P-o-PD filmi bir başka çalışmada ise H_2SO_4 ortamı farklı pH' larda altın elektrot üzerinde CV ile sarılarak kaplanmıştır ve önerilen reaksiyon mekanizması Şekil 2.2'

de verilmiştir [25]. pH'ın artmasıyla, P-o-PD filminin anodik ve katodik pikleri negatif bölgeye kaymış ve redoks aktivitesi büyük ölçüde azalmıştır.

P-o-PD nano tüpleri Poröz alüminyum membran üzerinde monomerin polimerizasyonu çalışıldığında elde edilmiştir. 0,5 M H₂SO₄ ortamında CV ile (-0,2 V) – (+1,2 V) aralığında sentezlenmiştir. Bu çalışmanın sonucunda P-o-PD nanotüplerin elektrokimyasal özellikleri, monomer konsantrasyonundan büyük ölçüde etkilendiği kanaatine varılmıştır [26].



Şekil 2.2. Kuvvetli asit ortamında o-PD' nin elektrokimyasal polimerleşmesi

2.3. Poli-o-fenilendiamin Tabanlı MIP Sensörleri

o-PD' den hazırlanan bir homopolimer olan P-o-PD, elektrosentezlenmiş MIP' in ilk başarılı örneğidir [27]. Bundan sonra, literatürde ortaya çıkan tipik olarak şablonun elektrokimyasal ve piezoelektrik tespiti elektrokimyasal baskı uygulamalarını bildiren çok sayıda çalışma yapılmıştır [28,29]. Bu trend son yıllarda büyümeye devam etti ve elde edilen polimerin iletken olmayan doğası gereği, kendini sınırlayan birikim nedeniyle birkaç nanometre kalınlıkla birlikte elektrot üzerine çöktürülmesi sonlanmaktadır. Elektro-polimerin sulu çözeltilerde kolay bir şekilde hazırlanması ayrı bir avantaj oluşturmaktadır (tipik olarak, pH = 5,2' de asetat tamponda potansiyodinamik olarak gerçekleştirilir). Bu ilginç özellikler, P-o-PD' yi elektrokimyasal baskılama için elektroaktif hedeflerden benzofenon [30] 4-aminobütirik asit [31], glikoz ve früktoz [32], furosemid [33], izokarbofos [34], çalışmaları için çekici bir aday haline getirmiştir. Bu durumlarda, analitin MIP

polimerine seçimli olarak bağlanması ve modifikasyonunun değerlendirilmesi şablon molekül (analit) ile MIP (elektrot üzerinde sentezlenen iletken polimer) etkileşimi dolaylı yöntemle hekzasiyanoferrat(II) / hekzasiyanoferrat(III) redoks çiftinin sinyalleri değerlendirilerek yapılır. Pek çok çalışmada redoks çiftinin elektrokimyasal yanıtı DPV, SWV ve CV teknikleri kullanılarak değerlendirilmiştir. Aynı prensibe dayanarak, elektrokimyasal empedans spektroskopisi (EIS), MIP kaplı elektrotların arayüz özelliklerini incelemek için etkili bir araç olarak da önerilmiştir [35,36]. EIS spektrumu, elektrot yüzeyindeki redoks probunun yük transfer kinetiği ile ilgili olan yük transfer direnci hakkında bilgi sağlar ve böylece moleküler baskılama yapılmış iletken polimerden (MIP elektrot) analit salınması (eluasyon) ve eluasyon işlemi tamamlanmış MIP elektrota (elue-MIP elektrot) analitin tekrar bağlanması (inkübasyon) adımları hakkında bilgi edinilebilmektedir.

Wang ve arkadaşların (2014)' de [37] P-o-PD tabanlı film ile yapılan bir sensör ile glukoz ve früktoz tayini gerçekleştirmişlerdir. P-o-PD sentezini GCE üzerinde pH= 4,8 asetat tamponunda 50 mV/s tarama hızında (-0,4 V) – (+1,0 V) arasında 25 CV döngüsüyle gerçekleştirmişlerdir. Bu işlem sırasında o-PD' ye ait yükseltgenme piklerinin tersinmez olduğunu ve döngü sayısı ile birlikte bu pik akımlarının azaldığını gözlemlemişlerdir. Ayrıca 25. döngüde bu pik en düşük akıma ulaştığı ve bu durumda elektrot yüzeyinde iletken olmayan film meydana geldiği anlamını taşıdığı kanaatine varılmıştır [38].

Başka bir çalışmada [39] bir alkaloid ve ilaç olan Brucine yine P-o-PD tabanlı GCE elektrot ile elektrokimyasal tayin edilmiştir. Yapılan bu çalışmada PBS, ABS ve H₂SO₄ ortamlarında polimer kaplanmış ve en uygun olarak 0,1 M H₂SO₄ ortamı seçilmiştir. Ayrıca MIP polimeri 50 mV/s hızda (0.0 V) – (+ 0,7 V) aralığında 5,10,15 ve 20 CV döngüsü ile sentezlenmiş ve en iyi elektrokimyasal cevabı 10 CV döngüsü sonucu verdiğini gözlemlemişlerdir. Ayrıca P-o-PD elektrosentezi esnasında, Brucine ile o-PD' nin etkileşime girdiği, fenil gruplarının π - π tersinir etkileşimine girdiği ve nitrojen hetero atomlarıyla hidrojen bağı yaptığını öne sürmüşlerdir [39,40].

Shekarchizadeh ve arkadaşları (2013) [41], süktroz tayini için P-*o*-PD tabanlı bir MIP elektrot geliştirmişlerdir. GCE üzerinde, 50 mV/s tarama hızında (-0,4 V) – (+ 1,0 V) aralığında 25 CV döngüsü ile P-*o*-PD filmi sentezlemişlerdir. Süktrozdaki hidroksi grubundaki oksijen ile *o*-PD' de amin grubundaki hidrojenlerin H-bağı yaptığını ve bu bağlanmanın da MIP içinde özel ve karakteristik boşluklar oluşturduğunu öne sürmüşlerdir.

Bottari ve arkadaşları (2020) [42], bir antibiyotik türü olan nafcilinin grafit yüzey baskılı elektrot üzerinde MIP ile belirlenmesi çalışmasında 0,1 M H₂SO₄ içinde 1 mM *o*-PD hazırlamış ve CV ile 100 mV/s hızda (- 0,8 V) – (+ 0,6 V) arasında 3, 5 ve 7 döngü almışlardır. +0,3 V' da azalan piki radikal katyonlardan dolayı oluşan monomerin tersinmez oksidasyonu olarak yorumlarken, (-0,4 V) ve (-0,5 V)' da artan piklerin ise yüzeyde oluşan polimerin piki olduğunu ileri sürmüşlerdir. 3 ve 5 döngüde redoks probuna ait elektron transferi etkilenmez iken 7 döngüde anodik ve katodik pik akımı azalmış ve ΔE_p artmıştır. Bu da 7 sargının kantitatif tayin için daha uygun olduğunu göstermektedir. Empedans ile kontrolünde de yük transfer direncinin döngü sayısına bağlı olduğunu ortaya koymuşlardır.

Elektrokimyasal MIP sentezi çalışmalarının tek hedefi elektroaktif küçük moleküller olarak kalmamıştır. Bunun ötesinde makro moleköl sınıfına dahil edilebilecek protein moleküllerinin de moleküler baskılaması yapılmıştır. İnsan kardiyak troponin için ilk elektrokimyasal sensör örneği de başarıyla uygulanmıştır [43]. Bir insan kan serum numunesinde troponin belirlenmesinde kemosenör performansını spesifik olmayan protein adsorpsiyonundan etkilenmiş olmasına rağmen, yüksek hassasiyet ve kısa tepki süresi ile birlikte tampon çözeltide geniş bir doğrusal konsantrasyon aralığı (0,009–0,8 ng/mL) ve düşük tayin limiti (9 pg/mL) sergilemiştir.

Minoksidil ve mesalamin için bir voltametrik sensörü hibrit baskılı P-*o*-PD çalışmalarda [44], P-*o*-PD kopolimerinden bir MIP filmine elektrokimyasal gümüş dendritlerin (AgDs) biriktirilmesi yapılmıştır. SEM analizinin ortaya koyduğu gibi, nano ölçekli dallara sahip uzun bir merkezi gövdeden oluşan AgD' ler, sensör

performansının geliştirilmesinde, geniş özgül yüzey alanı, yüksek iletkenliği ve kullanışlı elektriksel özellikleri nedeniyle önemli bir rol oynamıştır. Bununla birlikte, kolay hazırlanmaları ve suda yüksek stabiliteleri ile desteklenen AgD' lerin kullanımı, elektrokimyasal tepkileri etkili bir şekilde yükselttiğini göstermişlerdir.

P-o-PD tabanlı MIP'in performansını geliştirmek için başka bir strateji, diğer monomerler ile ko-polimerizasyon gerçekleştirmektir, şablonla potansiyel olarak etkileşime giren daha fazla işlevsellik sunmak amacıyla, bazı durumlarda sayısal bir yaklaşımla rasyonel olarak seçilir [44,45]. Son yıllarda literatürde görülen o-PD bazlı kopolimer örnekleri gallik asit, aminobenzoik asit ve hidrokinon ile P-o-PD ko-polimerizasyonunu içermektedir [44-47]. Amin ile sonlandırılmış N-izopropilakrilamid (NIPAAm) ile P-o-PD ko-polimerizasyon olduğu bir çalışmada, folik asit için sıcaklık kontrollü açma/kapama değiştirilebilir bir MIP sentezlenmiştir [48]. Seçim, poli (NIPAAm)' in termosensitivitesine dayanır, düşük kritik çözelti sıcaklığı (LCST) altında şişmiş bir hidrofilik formdan (22 - 34 °C arasında değişen LCST) yukarıda büzülmüş bir hidrofobik forma dönüşür. Bu temelde, sıcaklığın şablon çıkarma üzerindeki etkisi ve analit bağlanması, 50 °C ve 22 °C sırasıyla, optimum bir değer olduğunu kanıtlanmıştır.

2.4. Flukonazol'un Literatürdeki Yeri

Literatürde insan plazma ve biyolojik örneklerindeki Flukonazol' un kantitatif tayini için bir çok çalışma mevcuttur. Spektrometrik [49, 50] biyolojik tayinler [51] ve gaz kromatografisi [52] bu çalışmalardan bazılarıdır.

Bio-tayinler zaman alıcıdır ve Flukonazol' un in vitro aktivitesi çalışılan ortamdan etkilendiği için bu tayinler çok güvenilir değildir [1]. Gaz kromatografisi çok hassastır, ancak numune hazırlama zahmetlidir ve farmakokinetikte kullanım biyoyararlanım çalışmaları için konsantrasyon aralığı çok dardır (0.01–0.15 µg/mL) Bu dezavantajlar göz önünde tutulduğunda araştırmacılar Flukonazol' un yüksek basınçlı sıvı kromatografisi (HPLC) metodu ile tayinine yönelmiştir [53-56] ve 200–10,000 ng/mL tayin sınırına ancak ulaşabilmişlerdir [1]. Bununla birlikte, bu

yöntemlerin çoğu genellikle zaman alıcıdır ve pahalı ekipman ve malzemeler veya karmaşık ön işlemlere ihtiyaç duymaktadır [2].

Literatürde Flukonazol' un ara yüzey çalışmalarına da rastlanmaktadır. EIS ve AFM teknikleriyle yapılan bir araştırmada 1,0 M HCl çözeltisi içinde Flukonazol yapısında bulunan iki tane triazol halkasındaki N aktif merkezleri ve aromatik π elektronları sayesinde yumuşak çeliğe kimyasal olarak adsorbe olduğu belirlenmiştir. Çeliğin korozyon hızını oldukça düşüren etkin bir inhibitör olduğu belirlenmiştir [57-60].

Flukonazol gibi elektroaktif farmasötik kimya ölçümünde elektrokimyasal teknikler sadece yüksek duyarlılığa sahip değildir aynı zamanda, nano veya piko-molar boyutlarda geniş bir dinamik aralık ve ultra iz algılama sınırı sağlar [11].

Flukonazol' un elektroaktif bir molekül olması, elektroanalitik tekniklerle çalışılabilmesini de sağlamıştır. Elektrokimyanın farmasokimya ve biyokimya çalışmaları için bir çok avantajı bulunmaktadır. Elektrokimyasal tekniklerde küçük örnek hacimlerinde çalışılabilir ve geniş bir dinamik aralıktaki analitin pikogram miktarları üzerinde analize izin verilir. Ayrıca spektroskopik yöntemlere göre, karmaşık numuneler üzerinde elektrokimyasal algılamanın seçiciliği mükemmeldir [11,61].

2011'de Gill ve arkadaşlarının [11], Pt ve karbon elektrot ile yaptığı voltametrik çalışmada Flukonazol' u 48,0–250,0 $\mu\text{g/mL}$ aralığında ve en düşük tayin sınırını 6,3 $\mu\text{g/mL}$ olarak tayin etmişlerdir. Fosfat tamponunda yapılan bu çalışmada Flukonazol tersinmez anodik yükseltgenme sürecine sahip olduğu sonucuna varılmıştır [11]. Bir başka çalışmada Flukonazol damlayan cıva elektrotta DPP voltametrik yöntem ile çalışılmış ancak BR tamponunda indirgenme sinyali gözlemlenememiştir [62].

Zad ve arkadaşlarının (2020) [2], yaptığı çalışmada Flukonazol tayini için elektrokimyasal sensör geliştirilmiştir [11]. Bu çalışmada, Ni@Pd çekirdek-kabuk nanoparçacıklarını sentezlemek için çok yönlü bir yöntem kullanılmış, polianilin kompozitleri ($\text{Fe}_3\text{O}_4\text{@PA}$), $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{@}$ üzerinde immobilize edilmiştir. Ni veya Pd

nanoparçacıkları kullanan elektrot yüzey modifikasyonu, moleküler redoks merkezinden elektrot yüzeyine elektron transferini önemli ölçüde hızlandırabilmektedir [2]. İnşa edilen $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{PA-Ni@Pd}$ kompoziti ve Kitosan, Flukonazol' un yüksek hassasiyetli tayininde karbon iyonik sıvı elektrodun modifikasyonu için kullanılmıştır. Karbon iyonik sıvı elektrot yapımında grafit tozu ve metilimidazolyum hekzaflorofosfat ($[\text{BMIM}][\text{PF}_6]$) kullanılmış ve parafin yerine bağlayıcı olarak kullanılan ($[\text{BMIM}][\text{PF}_6]$) Flukonazol' un doğrudan oksidasyonunda güçlü bir elektrokatalitik aktivite göstermiştir. Geliştirilen bu elektrot DPV yöntemiyle en düşük tayin sınırı 3,5 nM ile birlikte 0,01-400 μM Flukazonol tayin edebilmektedir [2].

BÖLÜM 3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Materyal

Deneyde Flukonazol (merck) ilaç etken maddesinin elektrokimyasal tayini amacıyla $1,41 \times 10^{-3}$ M stok çözeltisi hazırlanmıştır. 0,7 mm 2B (Tombow) grafit kurşun kalem ucu, çalışma elektrot (PGE) amacıyla kullanılmıştır. Elektrot aktivasyonu için HCl (Sigma -Aldrich), etanol (Sigma-Aldrich), H_2SO_4 (Sigma-Aldrich) çözeltileri kullanılmıştır. Elektrot aktivasyonu kontrol amaçlı 0,1 M KCl çözeltisinde 2,5 mM potasyum hekzasiyanoferrat III ($K_3[Fe(CN)_6]$) (Sigma–Aldrich) / potasyum hekzasiyanoferrat II trihidrat ($K_4[Fe(CN)_6].3H_2O$) (Sigma-Aldrich) çözeltileri kullanılmıştır. Moleküler baskılama (MIP) işlemi için orto fenilendiamin monomeri (Sigma-Aldrich) çözeltisi günlük 0,5 M H_2SO_4 çözeltisi içinde hazırlanmıştır. Hazırlanan MIP’lerin performansları Britton-Robinson (BR) tamponu ve 0,1M fosfat tamponu (Sigma-Aldrich) (PBS) içinde ölçülmüştür. MIP’lerin içindeki Flukonazol’ u elüe etmek için asetik asit (Sigma-Aldrich) ile etanol (Sigma-Aldrich) karışımı kullanılmıştır. Britton-Robinson (BR) tamponu için asetik asit (Sigma-Aldrich), borik asit (Sigma-Aldrich) ve fosforik asit (Sigma-Aldrich) kullanılmıştır.

3.2. Cihaz

Tartım amacıyla Shimadzu (Model AUX220) terazi kullanılmıştır. Deiyonize su Sartorius Stedim (Arium*611UV) marka deiyonize saf su cihazı tarafından temin edilmiştir. Eutech Cyberscan 500 model cihaz ile pH ölçümleri gerçekleştirilmiştir. Elektrokimyasal empedans (EIS) ve voltametrik ölçümler Gamry Interface 1000 cihazıyla yapılmıştır. Ölçümler elektrokimyasal hücre içinde üçlü elektrot sistemiyle yapılmıştır. Referans olarak Ag/AgCl elektrot, karşı (yardımcı) elektrot Platin tel ve çalışma elektrodu olarak kurşun kalem grafit ucu (PGE) ve PGE ile yapılan MIP’ ler

kullanılmıştır. Oksijeni uzaklaştırmak için hücre içinden 5 dakika boyunca 1 bar argon gazı geçirilmiştir. Aktivasyon ve MIP işlemlerinin takibi için taramalı elektron mikroskopu (SEM) kullanılmıştır.

3.3. Yöntem

Bu çalışmada Flukonazol ilaç etken maddesine duyarlı elektrokimyasal impedimetrik sensör yapımı hedeflenmiştir. Bunun için öncelikle PGE aktivasyonu 2 farklı yöntemle gerçekleştirilmiştir. Aktivasyon kontrolü için voltametri, EIS ve SEM teknikleri kullanılmıştır. Sonra aktive edilen elektrotlar üzerine moleküler baskılama (MIP) yapılmıştır. Moleküler baskılama o-PD ve Flukonazol çözeltilerinin birlikte olduğu voltametrik hücre içinde dönüşümlü voltametri (CV) tekniğiyle PGE üzerinde 9, 18 ve 27 döngü alınarak yapılmıştır. Hazırlanan MIP'ler asetik asit etanol karışımı içinde bekletilerek MIP içinden Flukonazoller elüe edilmiş ve böylece elimize şablon geçmiştir. Daha sonra şablonlar doldurularak optimum MIP elektrot için, aktive elektrot ve bu elektroda ait CV döngü sayısı 0,1 M KCl içinde belirlenmiştir. Optimum MIP elektrot belirlendikten sonra BR tamponu içinde optimum çalışma pH'sı belirlenmiştir.

3.3.1. PGE aktivasyonu

Literatür çalışmalarında karbon tabanlı çalışma elektrotlarının aktifleştirilmesi büyük bir öneme sahiptir ve aktivasyon birçok yöntemle gerçekleştirilmektedir. Bu çalışmada PGE' nin 3 farklı aktivasyonu uygulanmıştır;

- i) Kimyasal aktivasyon için; 0,1M HCl çözeltisi etanol içerisinde hazırlanmıştır. Sonra bu çözelti içerisinde PGE 15 dakika bekletilmiştir. Bu işlem sonucunda elektrokimyasal özelliği değiştirilen elektrot E₁ olarak adlandırılmıştır.
- ii) Elektrokimyasal aktivasyon için; Elektrokimyasal hücre içerisine 10 ml 0,5 M H₂SO₄ eklenmiştir. Hücre içerisine daldırılan PGE ile (+ 0,5 V) – (+ 2,5 V) arasında 10 mV/s hızda LSV uygulanır. Bu işlem sonucunda elektrokimyasal özelliği değiştirilen elektrot E₂ olarak adlandırılmıştır.

Aktivasyon işlemlerini kıyaslamak için, hiçbir işlem yapılmamış PGE ise E_0 olarak adlandırılmıştır. Aktivasyon işlemlerinin kontrolü ve CV, EIS ve SEM teknikleriyle yapılmıştır:

- a) 2,5 mM ($K_3[Fe(CN)_6]$) / ($K_4[Fe(CN)_6].3H_2O$) (demir redoks çifti) içeren 0,1 M KCl çözeltisine önce E_0 daldırılarak (- 0,2 V) – (+ 0,6 V) aralığında CV ölçümü alınır. Ardından aktifleştirilen E_1 ve E_2 elektrot için de bu işlem tekrarlanır. Bu işlemin amacı $[Fe(CN)_6]^{3+}/[Fe(CN)_6]^{2+}$ redoks çiftinin akım ve potansiyel değerlerini aktivasyon öncesinde ve aktivasyon sonrasında irdelemektir.
- b) 2,5 mM ($K_3[Fe(CN)_6]$) / ($K_4[Fe(CN)_6].3H_2O$) içeren 0,1 M KCl çözeltisine önce E_0 daldırılarak 10000Hz-0,1Hz aralığında EIS ölçümü alınır. Ardından aktifleştirilen E_1 ve E_2 elektrot için de bu işlem tekrarlanır. EIS ile alınan Nyquist diyagramlarına göre yüzeydeki dirençler aktivasyon öncesi ve sonrasına göre kıyaslanır.
- c) E_0 , E_1 ve E_2 elektrotlarının SEM görüntüleri birbirleri ile kıyaslanarak aktivasyon işleminin oluşturduğu farklılıklar kontrol edilir.

3.3.2. Aktive edilmiş PGE' lerden MIP yapımı ve optimum MIP'in belirlenmesi

Literatür çalışmalarında çalışma elektrotları üzerine *o*-PD monomerlerinden *P-o*-PD polimeri yapımı farklı elektrotlar üzerinde farklı tekniklerle uygulanmaktadır. Bu çalışmada, çalışma elektrotları 100 mV/s hızda (- 0,4 V) – (+ 1,3 V) potansiyel aralığında 9, 18 ve 27 döngü CV alınarak MIP haline getirilmiştir. Çalışma hücresinde bulunan kaplama çözeltisinde 10 ml 0,5 M H_2SO_4 içerisinde çözünmüş 20 mM *o*-PD ve 5,70 mM Flukonazol bulunmaktadır. Çalışma elektrodu olarak sırasıyla E_0 , E_1 ve E_2 kullanılmıştır ve bu işlem sonucunda sırasıyla E_0 MIP elektrokimyasal yöntemle oluşturulmuştur. MIP işlemlerinin kontrolü CV ve EIS teknikleriyle yapılmıştır:

- a) 2,5 mM ($K_3[Fe(CN)_6]$) / ($K_4[Fe(CN)_6].3H_2O$) içeren 0,1 M KCl çözeltisine önce E_0 daldırılarak (-0,2 V) – (+0,6 V) aralığında CV ölçümü alınır. Ardından E_0 MIP'in 9,18 ve 27 sargısı için de bu işlem tekrarlanır. Bu işlemler E_1 MIP ve E_2 MIP' in 9,18 ve 27 sargısı için ayrı ayrı gerçekleştirilmiştir. Bu işlemin amacı demir redoks çiftinin akım ve potansiyel değerlerini MIP işlemi öncesinde ve MIP işlemi sonrasında irdelemektir.

b) 2,5 mM ($K_3[Fe(CN)_6]$) / ($K_4[Fe(CN)_6].3H_2O$) içeren 0,1M KCl çözeltisine önce E_0 daldırılarak 10000 Hz - 0,1 Hz aralığında EIS ölçümü alınır. Ardından E_0MIP için de bu işlem tekrarlanır. Bu işlemler E_1 ve E_2 için daha sonra da E_0MIP , E_1MIP ve E_2MIP için ayrı ayrı gerçekleştirilmiştir. EIS ile alınan Nyquist diyagramlarına göre yüzeydeki dirençler aktivasyon öncesi ve sonrasına göre kıyaslanır.

E_0 , E_1 ve E_2 elektrotlarından E_0MIP , E_1MIP ve E_2MIP 'lerin 9,18 ve 27 CV döngüleri ayrı ayrı hazırlanmıştır. Bu işlemler sonucunda 3 ayrı elektrodun 3 farklı sargılarıyla toplam 9 farklı MIP hazırlanmıştır:

E_0MIP_9 , E_0MIP_18 , E_0MIP_27

E_1MIP_9 , E_1MIP_18 , E_1MIP_27

E_2MIP_9 , E_2MIP_18 , E_2MIP_27

MIP performanslarını değerlendirmek için öncelikle hazırlanan MIP' ler belirli bir süre 0,1M KCl içinde bekletilmiş ve MIP' in dengeye gelmesi belirli zaman aralıklarıyla EIS ile 2,5 mM ($K_3[Fe(CN)_6]$) / ($K_4[Fe(CN)_6].3H_2O$) içeren 10 mL 0,1 M KCl çözeltisinde kontrol edilmiştir. Dengeye geldiği anlaşılan MIP ile Flukonazol' un farklı konsantrasyonlarına bağlı ele geçen Nyquist diyagramları, 2,5 mM ($K_3[Fe(CN)_6]$) / ($K_4[Fe(CN)_6].3H_2O$) içeren 10 mL 0,1M KCl çözeltisinde izlenir ve derişimin logaritmasına karşı önerilen hücre devresinden elde edilen dirençler grafiğe geçirilir. Ayrıca EIS ile işlem yapılan her bir adımda demir redoks çiftinin akım ve potansiyel kaydedilerek MIP performansları CV yöntemiyle de incelenmiştir.

3.3.3. MIP' lerin elüasyon ve inkübasyon işlemi

Literatürde MIP çalışmaları tarandığında elüasyon işleminin, yani analit hedef molekülün, şablondan çıkarılması geniş yer tutmaktadır. Bu çalışmada elüasyon işlemi için, MIP' ler % 20 etanol ve %80 0,1 M asetik asit çözeltisinde bekletilmiştir. Şablondan çıkan Flukonazol moleküllerinin takibi, EIS ve CV yöntemleriyle, 2,5

mM ($K_3[Fe(CN)_6]$) / ($K_4[Fe(CN)_6].3H_2O$) içeren 10 mL 0,1M KCl çözeltisinde belirli zaman aralıklarıyla incelenmiştir.

İnkübasyon amacıyla, elüasyon işlemi yapılmış şablonlar ise 200 μ L 1×10^{-3} M Flukonazol ve 2,5 mM ($K_3[Fe(CN)_6]$) / ($K_4[Fe(CN)_6].3H_2O$) içeren 10 mL 0,1M KCl çözeltisinde bekletilerek belirli zaman aralıklarıyla EIS ve CV değişimleri incelenerek değişimler konsantrasyonlara karşı grafiğe geçirilmiştir.

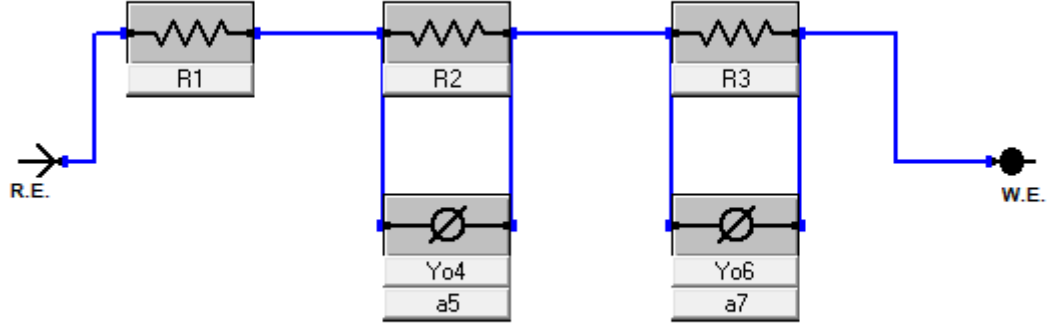
3.3.4. Optimum çalışma pH'ının belirlenmesi ve PBS tamponunda MIP performansının incelenmesi

Literatürde MIP'lerin uygun kimyasal ortamlarda ve uygun pH'larda çalışması önem arz etmektedir. Bu yüzden Britton Robinson (BR) tamponunda geniş bir pH aralığında MIP performansı EIS ve CV yöntemleriyle izlenmiştir. 2,5 mM ($K_3[Fe(CN)_6]$) / ($K_4[Fe(CN)_6].3H_2O$) içeren 10 mL BR tamponu pH: 4,0, 5,0, 6,0, 7,0 ve 8,0'de 1×10^{-13} M - 1×10^{-5} M Flukonazol'un EIS yöntemiyle elde edilen R_{ct} değerleri grafiğe geçirilmiştir. BR tamponunda belirlenen optimum pH'daki MIP performansı ayrıca değerlendirilmiştir. Fosfat tamponu ilaç analizlerinde önemli bir alanı kaplamaktadır ve 0,1 M fosfat tamponu pH= 7,2' de aynı şekilde kontrol edilmiş ve 1×10^{-13} M - 1×10^{-5} M Flukonazol'un EIS yöntemiyle elde edilen R_{ct} değerleri grafiğe geçirilmiştir.

3.4. DeneySEL Teknik

Bu çalışmada Flukonazol' e duyarlı moleküler baskılı elektrot hazırlanıp, Elektrokimyasal Empedans Spektroskopisi tekniğiyle ölçümler gerçekleştirilmiştir. Bu ölçümler Gamry Interface 1000 cihazıyla yapılmış ve veriler kaşıma Nyquist diyagramına göre çıkmıştır. Empedans ölçümleri gerçekleştirilmeden önce Açık Devre Potansiyelinin (OCP) sabitlenmesi beklenmiştir. Karşıma çıkan Nyquist eğrilerine göre Bölüm 2.5'de detaylı bahsedilen devreler çizilerek Flukonazol' e ait Direnç değerleri Gamry Echem Analyst programı yardımıyla hesaplanmıştır. Hesaplama yapılmadan önce her bir veriye ait Nyquist Diyagramı Kramers-Kronig testine tabi tutularak verilerin doğruluğuna karar verilmiştir. Elde edilen verilere ait

grafikler Microsoft Office programı ile oluşturulmuştur. Yapılan bu MIP çalışmasında Şekil 3.1’ deki devreye göre çizilip elde edilen veriler kullanılmıştır.



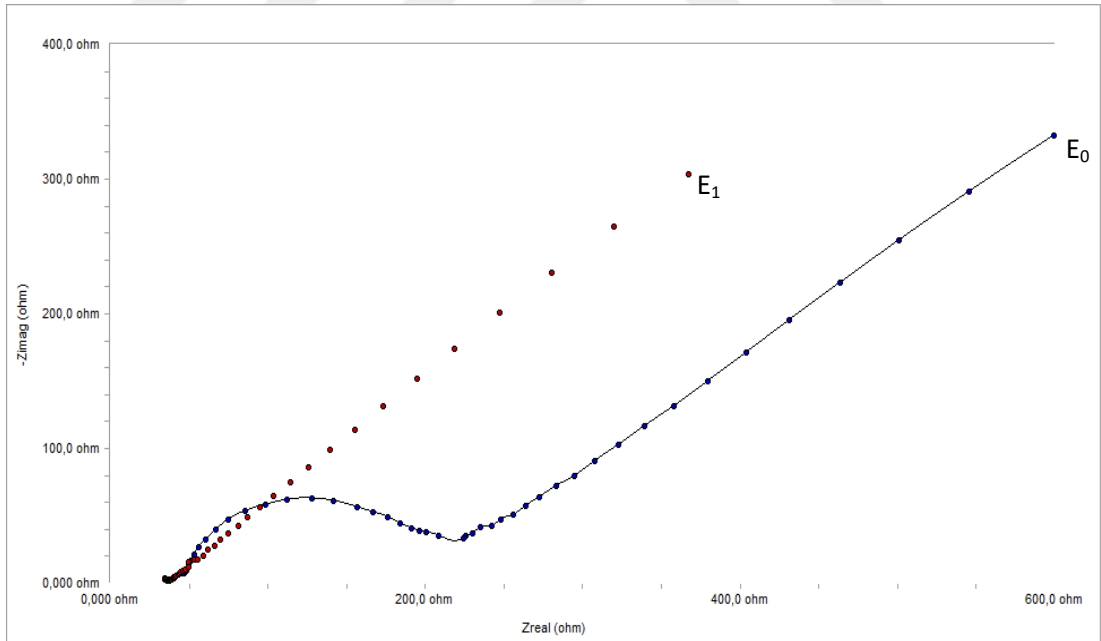
Şekil 3.1. EIS verilerinin hesaplanması için önerilen hücre devresi (R_1 = Çözelti direnci
 R_2 = Elektrot yüzeyindeki polimerin direnci R_3 = Flukonazol’ e ait direnç)

BÖLÜM 4. ARAŞTIRMA BULGULARI

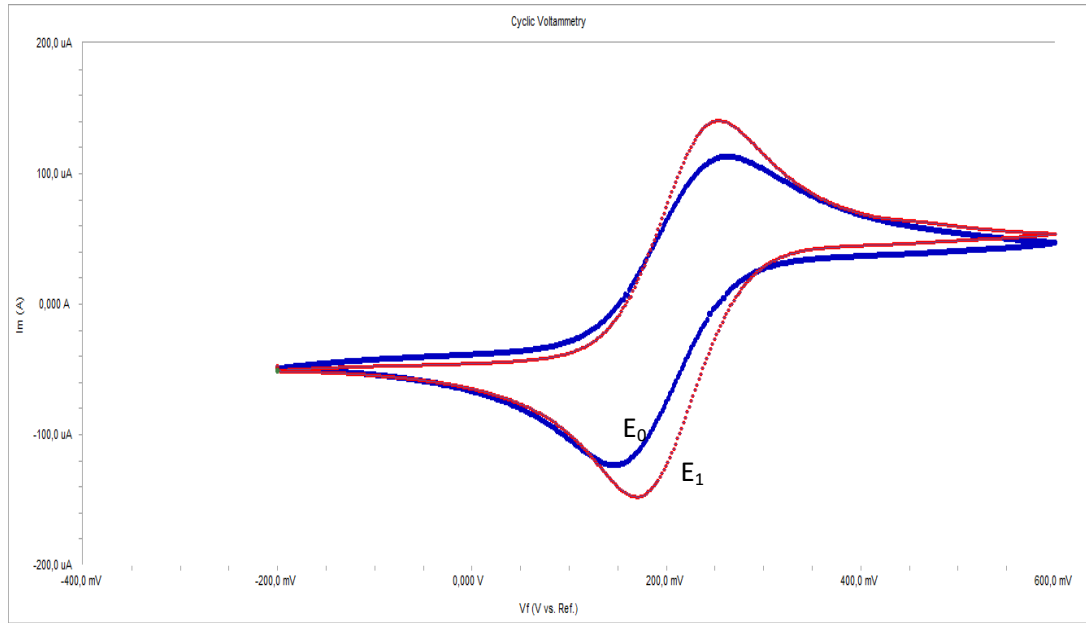
4.1. PGE Elektrotların Aktive Edilmesi

4.1.1. E₁ Elektrodu aktivasyonu

Deneysel metot bölümünde bahsedildiği üzere E₁ elektrodu PGE (E₀) elektrodun 15 dakika etanol içinde hazırlanmış 0,1 M HCl çözeltisinde bekletilmesiyle yapılmıştır. Aktivasyonu kontrol amacıyla 2,5 mM demir redoks çifti içeren 0,1M KCl çözeltisinde davranışı incelenmiştir. Nyquist diyagramı Şekil 4.1.1’ de, CV değişimi Şekil 4.1.2’ de, CV değerlerinden okunan potansiyel ve akım değerleri Tablo 4.1.1’ de ve SEM görüntüleri Şekil 4.1.3’ de verilmiştir.



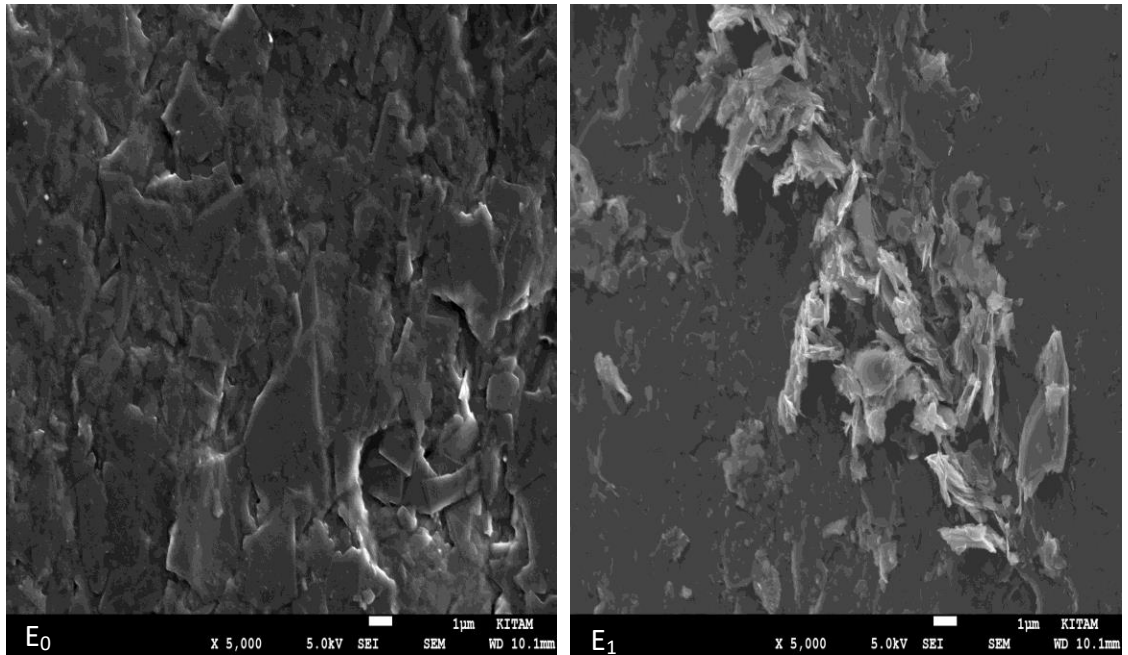
Şekil 4.1.1. E₀ (—) ve E₁ (---)’ e ait 10 ml 0,1M KCl içerisinde demir redoks çiftine karşı Nyquist diyagramları



Şekil 4.1.2. E_0 (—) ve E_1 (...)’ e ait demir redoks çiftine karşı CV voltamogramı

Tablo 4.1.1. E_1 aktivasyonundan önce ve sonra demir redoks çiftine karşı CV akım ve potansiyel değerleri

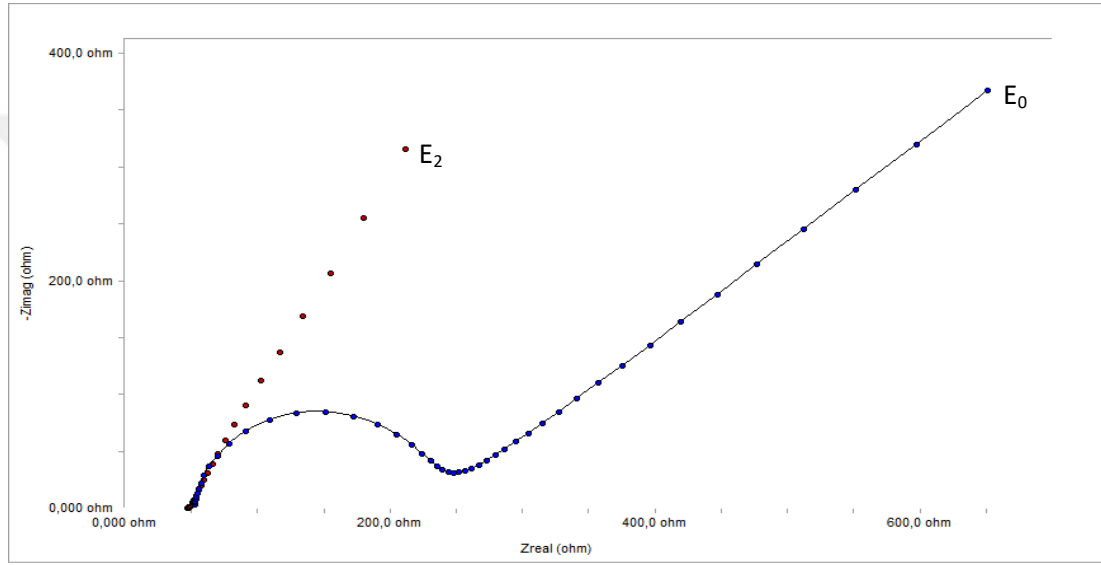
	I_A (μA)	I_C (μA)	ΔI	V_A (mV)	V_C (mV)	ΔV
E_0	113,1	-123,5	236,6	263,9	145,8	118,1
E_1	140,6	-147,7	288,8	253,5	169,5	84,0



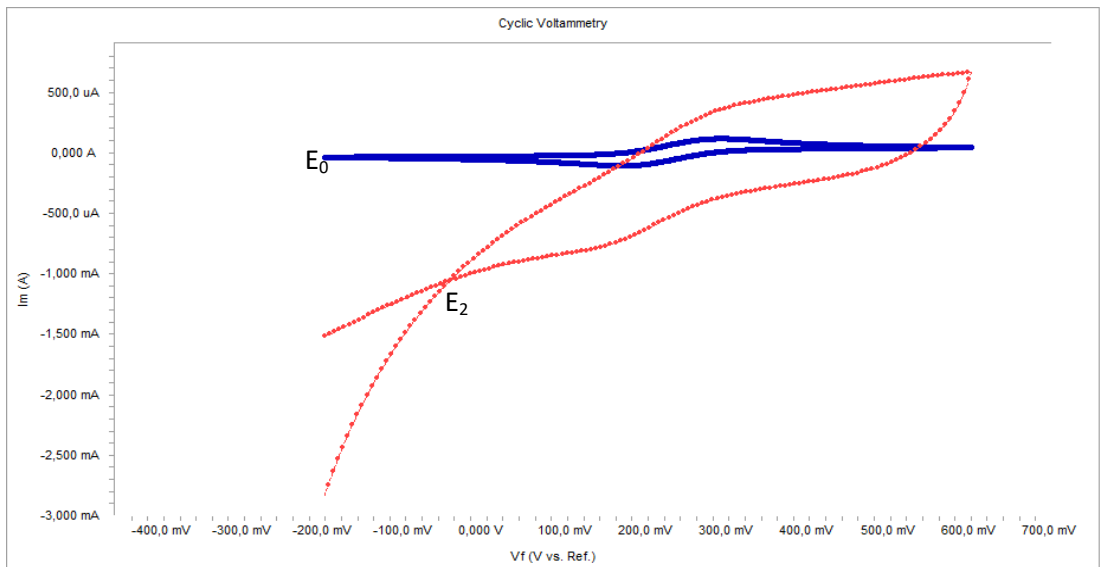
Şekil 4.1.3. E_0 ve E_1 ’ e ait SEM görüntüleri

4.1.2.E₂ Elektrodu aktivasyonu

Deneysel metot bölümünde bahsedildiği üzere, PGE (E₀) elektroda, 15 mL 0,5 M H₂SO₄ bulunan voltametrik hücrede (+0,5 V) – (+2,5 V) 10 mV/s hızda LSV uygulanmasıyla E₂ elektrodu yapılmıştır. Aktivasyonu kontrol amacıyla 2,5 mM demir redoks çifti içeren 0,1M KCl çözeltisinde davranışı incelenmiştir. Nyquist diyagramı Şekil 4.1.4’de, CV değişimi Şekil 4.1.5’de, CV değerlerinden okunan potansiyel değerleri Tablo 4.1.2’ de ve SEM görüntüleri Şekil 4.1.6’ da verilmiştir.



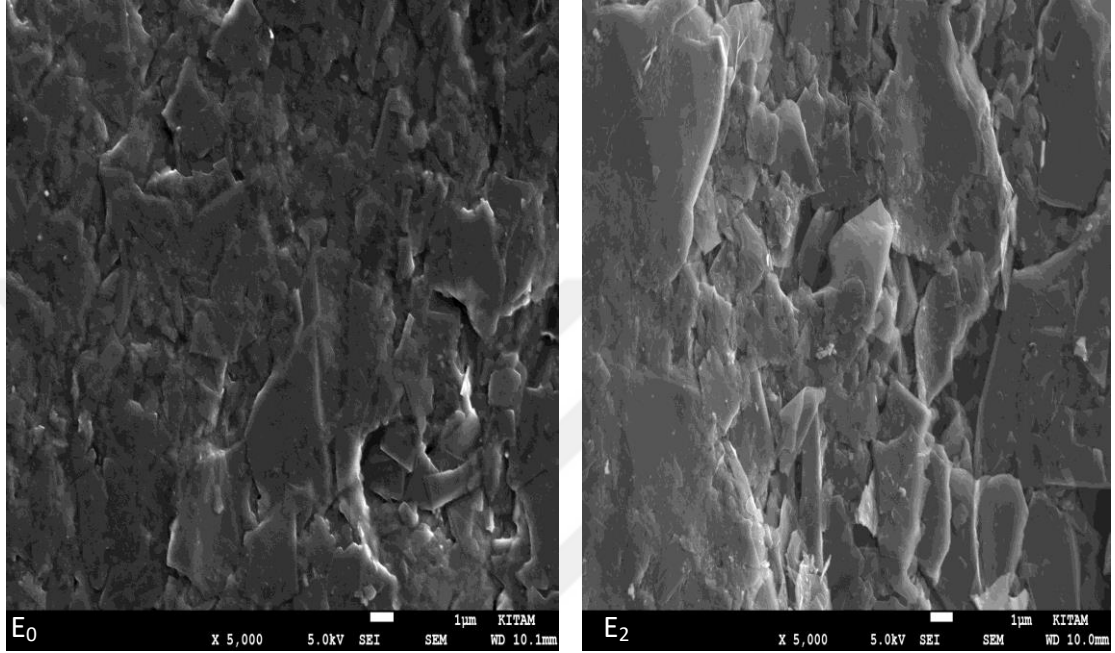
Şekil 4.1.4. E₀ (—) ve E₂ (...)’ e ait 10 ml 0,1 M KCl içerisinde demir redoks çiftine karşı Nyquist diyagramı



Şekil 4.1.5. E₀ (—) ve E₂ (...)’ e ait demir redoks çiftine karşı CV voltamogramı

Tablo 4.1.2. E₂ aktivasyonundan önce ve sonra demir redoks çiftine karşı CV akım ve potansiyel değerleri

	I _A (μA)	I _C (μA)	ΔI	V _A (mV)	V _C (mV)	ΔV
E ₀	116,1	-107,9	224	290,0	168,0	122
E ₂	-----	-----	-----	295,6	159,7	135,9



Şekil 4.1.6. E₀ ve E₂' ye ait SEM görüntüleri

4.2. MIP Hazırlanması

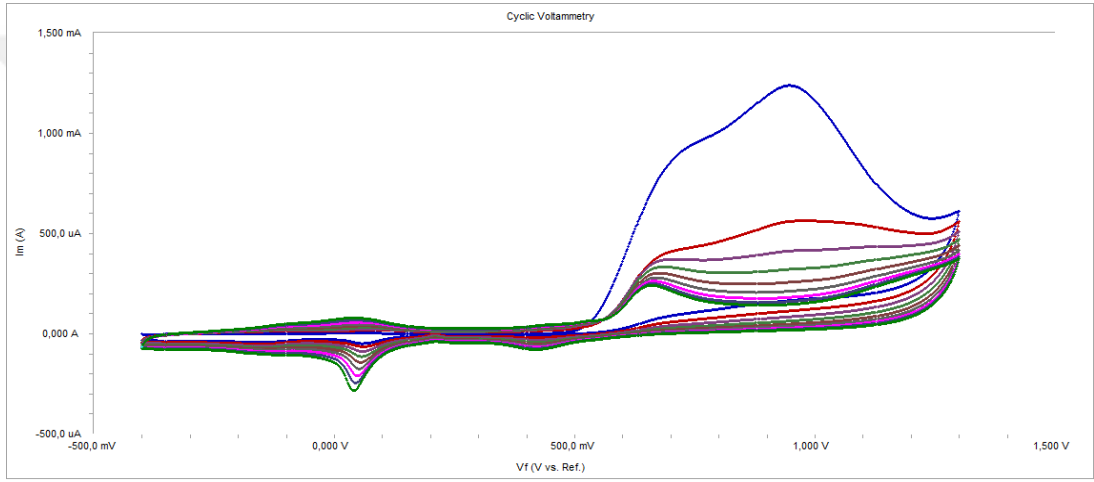
Bu çalışmada, çalışma elektrotları CV yöntemiyle (-0,4 V) – (+1,3 V) potansiyel aralığında 100 mV/s hızda 9, 18 ve 27 döngü ile sarım yapılarak MIP haline getirilmiştir. E₀, E₁ ve E₂ elektrotlarından sırasıyla E₀MIP, E₁MIP ve E₂MIP yapılmıştır. Deneysel şartlara ait detaylar deneysel metot bölümünde verilmiştir.

4.2.1. E₀ Elektrodundan MIP yapımı

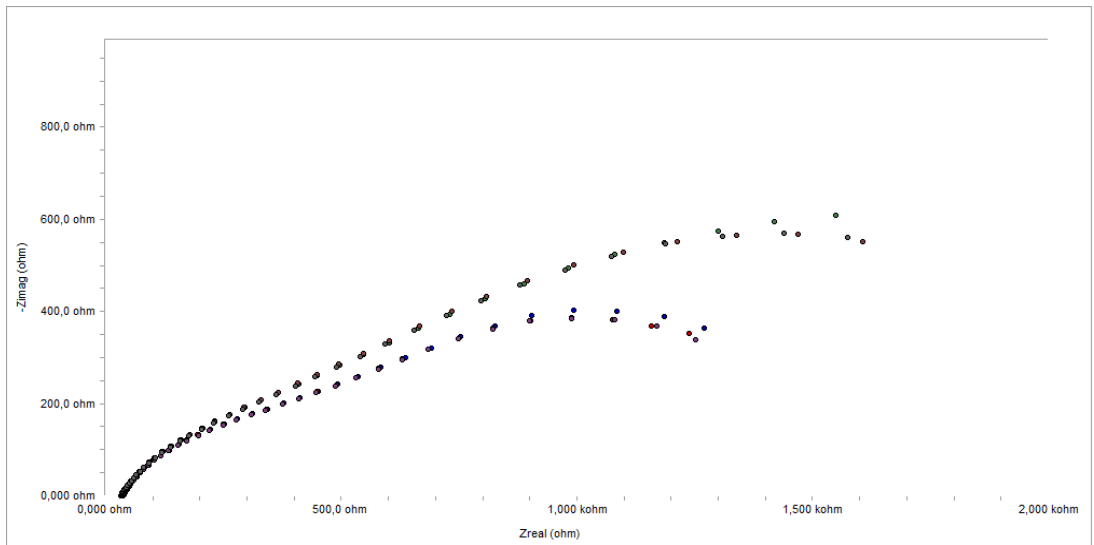
Bölüm 2.1.' de belirtildiği gibi, hiçbir kimyasal ve fiziksel işlem görmemiş PGE, E₀ elektrodu olarak adlandırılmıştır. 3 farklı E₀ alınarak voltametrik hücre içerisinde çalışma elektrodu olarak bağlanmıştır ve sırasıyla CV tekniğiyle (-0,4 V) – (+1,3 V) aralığında sırasıyla 9, 18 ve 27 döngü yapılarak E₀MIP 9 döngü kaplama, E₀MIP 18 döngü kaplama, E₀MIP 27 döngü kaplama olmak üzere 3 ayrı MIP yapılmıştır.

4.2.1.1. E₀MIP 9 döngü kaplama ve MIP performansının değerlendirilmesi

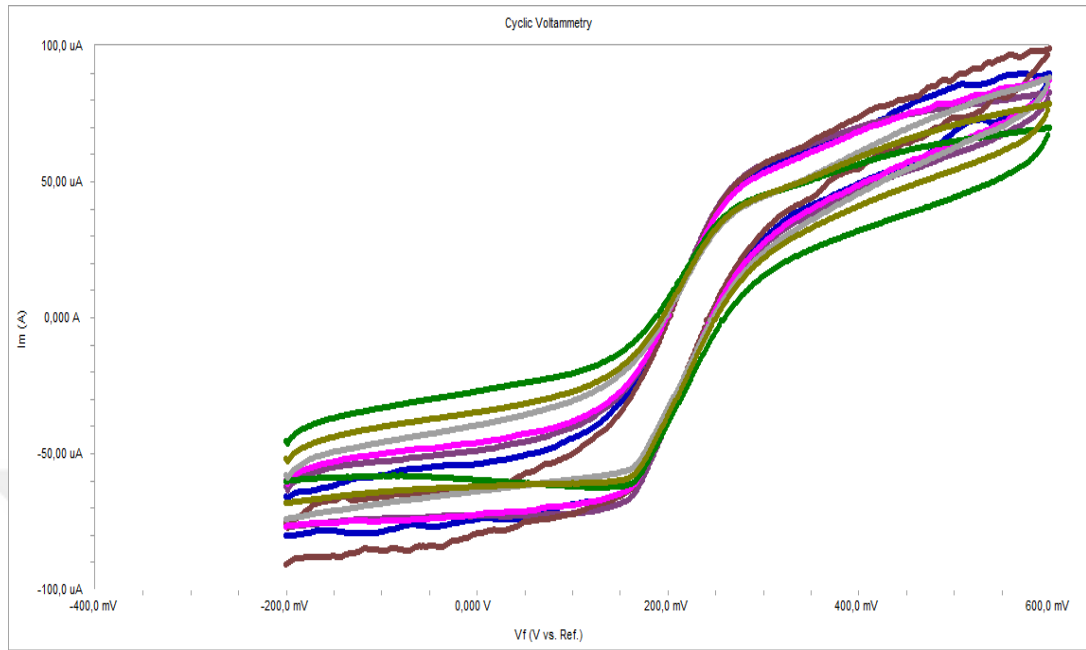
Deneysel metotta belirtilen şartlarda E₀ elektrodu üzerinde CV ile 9 döngü kaplama Flukonazol ve o-PD içeren çözelti içerisinde gerçekleştirilmiştir (Şekil 4.2.1). E₀MIP 9 döngü kaplama MIP KCl içerisinde dengeye bırakıldıktan sonra 10⁻¹² M - 10⁻⁶ M Flukonazol konsantrasyonuna bağlı Nyquist diyagramı Şekil 4.2.2’de ve CV voltamogramları Şekil 4.2.3’ de incelenmiştir. Nyquist diyagramına ait Flukonazol konsantrasyonuna bağlı veriler grafiğe geçirilmiştir (Şekil 4.2.4).



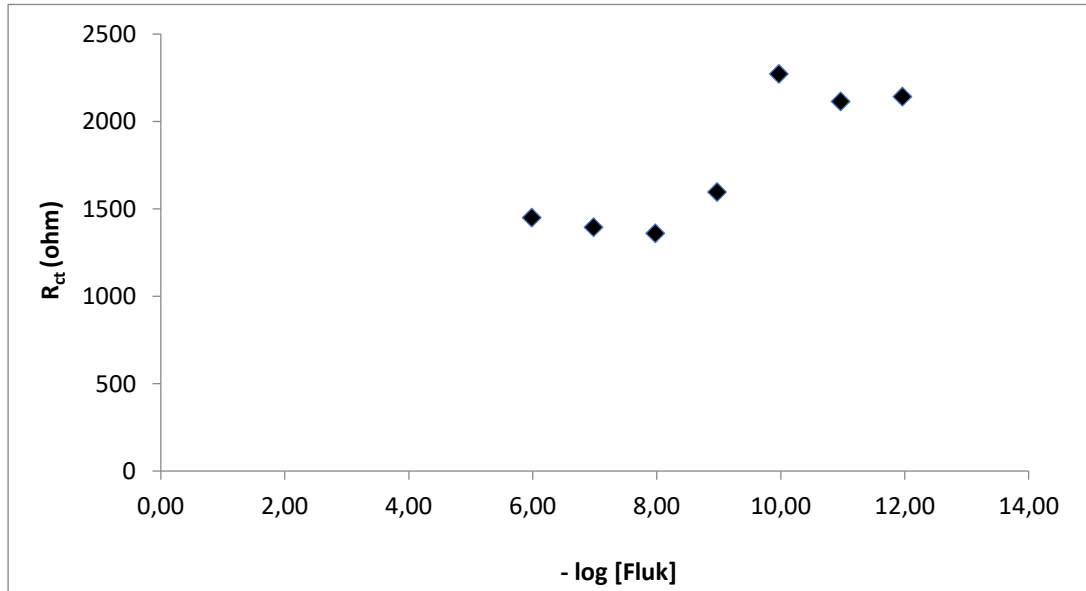
Şekil 4.2.1. E₀MIP_9 elektrodunun yapımı



Şekil 4.2.2. E₀MIP_9’un 10⁻¹² M - 10⁻⁶ M Flukonazol ile değişen Nyquist diyagramı



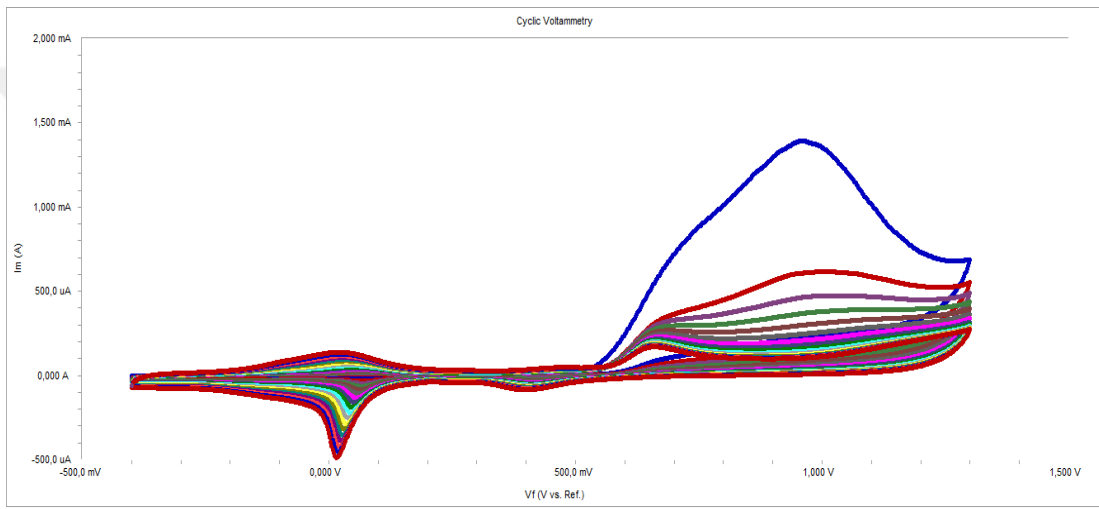
Şekil 4.2.3. E₀MIP₉' un 10⁻¹² M - 10⁻⁶ M Flukonazol ile değişen CV voltamogramları



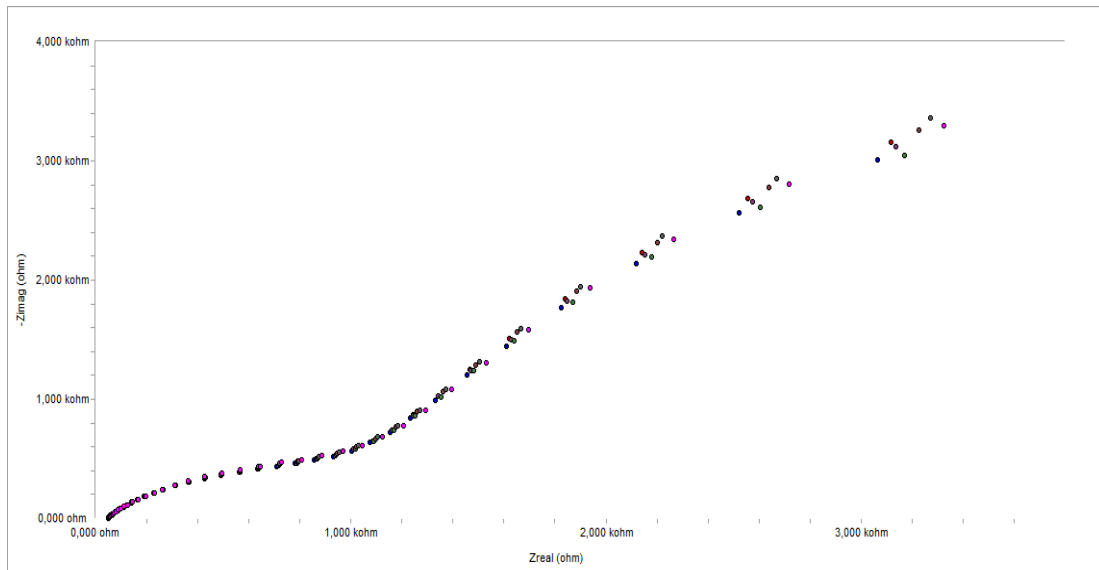
Şekil 4.2.4. E₀MIP₉' un 10⁻¹² M - 10⁻⁶ M Flukonazol ile değişen Nyquist diyagramından elde edilen R_{ct}' nin konsantrasyona bağlı değişimi

4.2.1.2. E₀MIP 18 döngü kaplama ve MIP performansının değerlendirilmesi

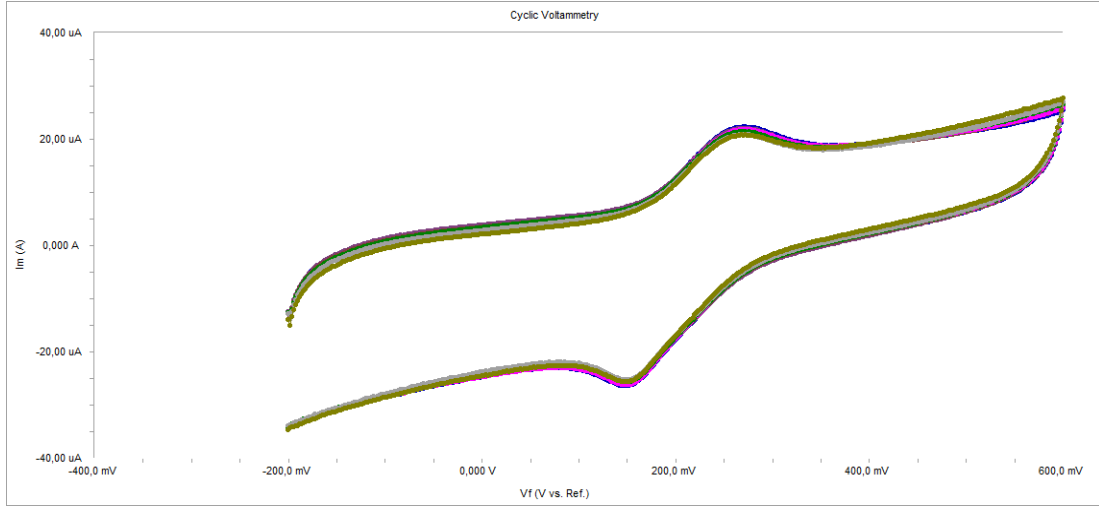
Deneysel metotta belirtilen şartlarda E₀ elektrodu üzerinde CV ile 18 döngü kaplama Flukonazol ve *o*-PD içeren çözelti içerisinde gerçekleştirilmiştir (Şekil 4.2.5). E₀MIP 18 CV döngü kaplama MIP, KCl içerisinde dengeye bırakıldıktan sonra Flukonazol'un 10^{-12} M - 10^{-6} M konsantrasyonuna bağlı Nyquist diyagramı Şekil 4.2.6' da ve CV voltamogramları Şekil 4.2.7' de incelenmiştir. Nyquist diyagramına ait Flukonazol konsantrasyonuna bağlı veriler grafiğe geçirilmiştir (Şekil 4.2.8).



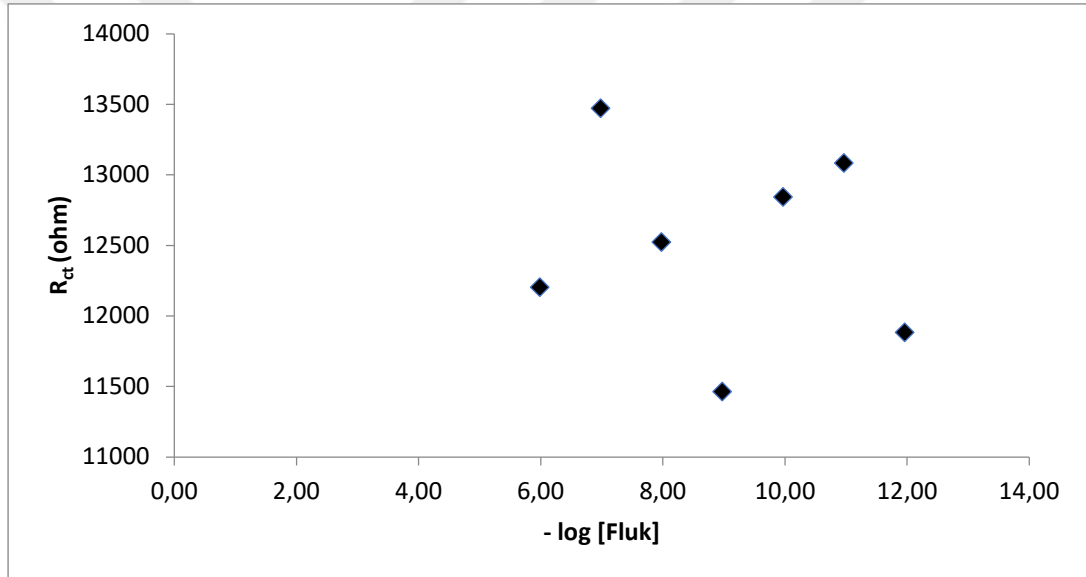
Şekil 4.2.5. E₀MIP_18 elektrodunun yapımı



Şekil 4.2.6. E₀MIP_18'in 10^{-12} M - 10^{-6} M Flukonazol ile değişen Nyquist diyagramı



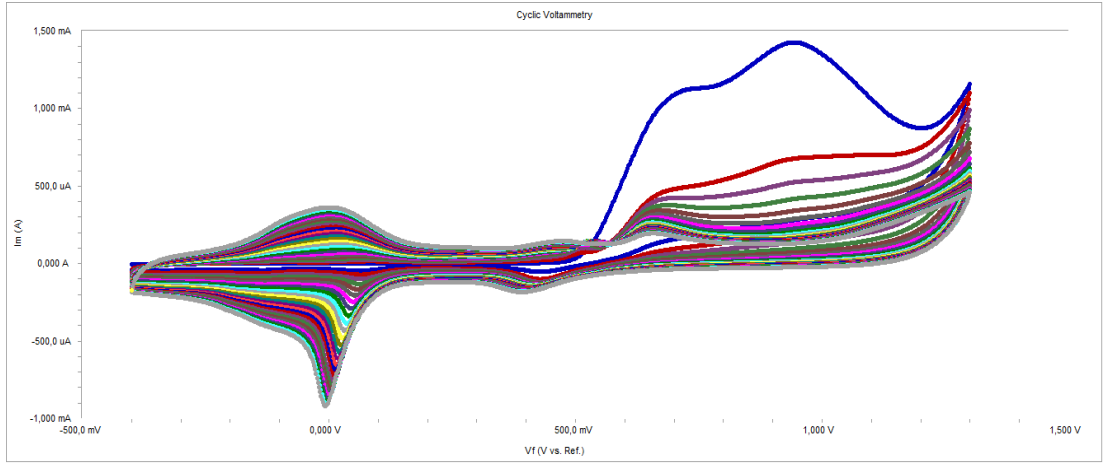
Şekil 4.2.7. E₀MIP_18'in 10^{-12} M - 10^{-6} M Flukonazol ile değişen CV voltamogramları



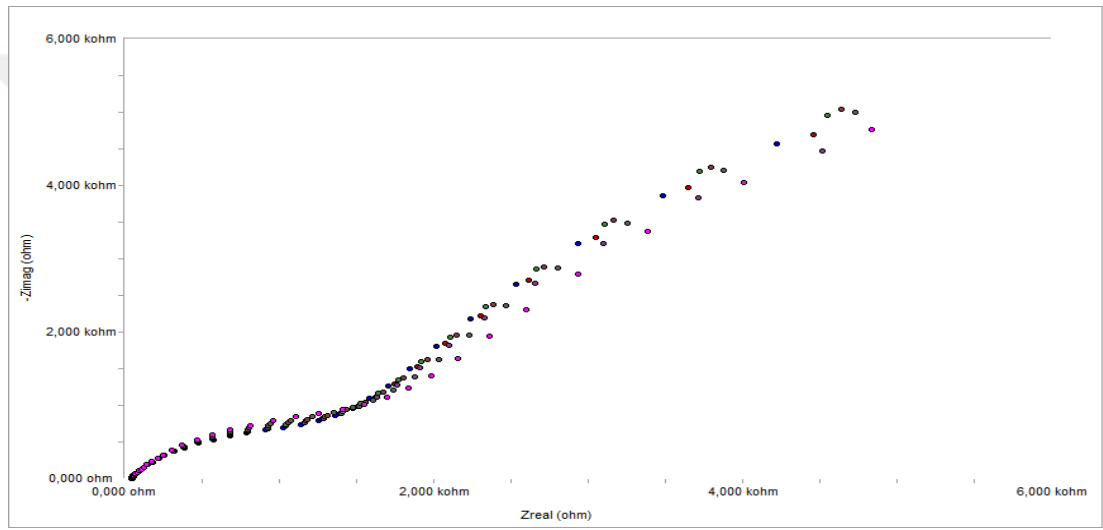
Şekil 4.2.8. E₀MIP_18'in 10^{-12} M - 10^{-6} M Flukonazol ile değişen Nyquist diyagramından elde edilen R_{ct}'nin konsantrasyona bağlı değişimi

4.2.1.3. E₀MIP 27 döngü kaplama ve MIP performansının değerlendirilmesi

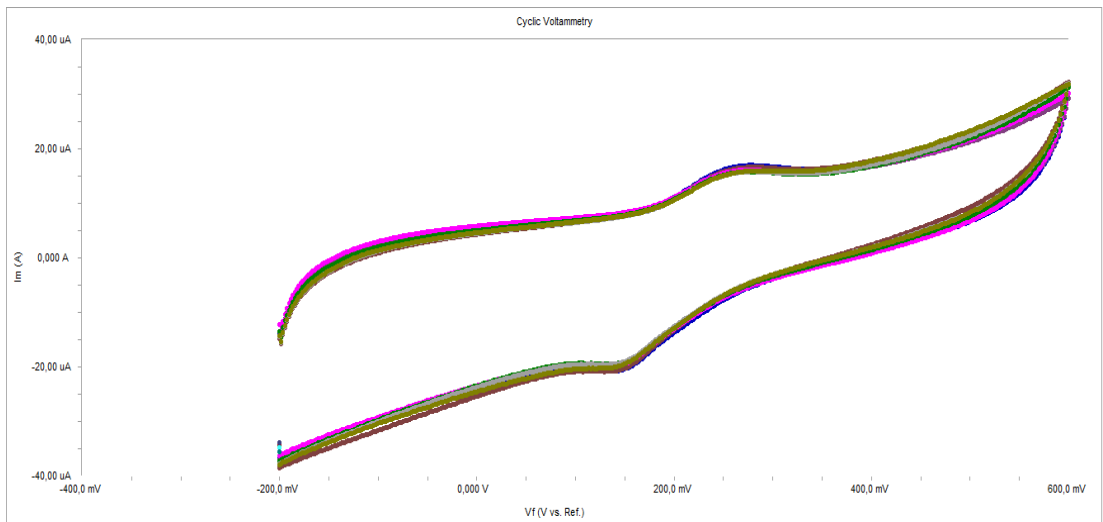
Deneysel metotta belirtilen şartlarda E₀ elektrodu üzerinde CV ile 27 döngü kaplama Flukonazol ve o-PD içeren çözelti içerisinde gerçekleştirilmiştir (Şekil 4.2.9). E₀MIP 27 CV döngü kaplama MIP, KCl içerisinde dengeye bırakıldıktan sonra 10^{-12} M - 10^{-6} M Flukonazol konsantrasyonuna bağlı Nyquist diyagramı Şekil 4.2.10' da ve CV voltamogramları Şekil 4.2.11' de incelenmiştir. Nyquist diyagramına ait Flukonazol konsantrasyonuna bağlı veriler grafiğe geçirilmiştir (Şekil 4.2.12).



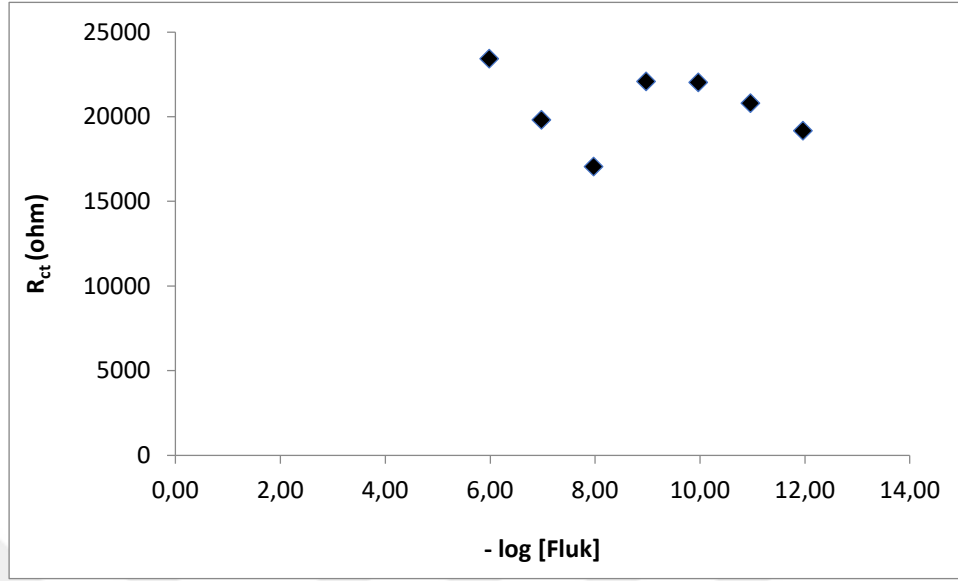
Şekil 4.2.9. E₀MIP_27 elektrodunun yapımı



Şekil 4.2.10. E₀MIP_27'nin 10^{-12} M - 10^{-6} M Flukonazol ile değişen Nyquist diyagramı



Şekil 4.2.11. E₀MIP_27'nin 10^{-12} M - 10^{-6} M Flukonazol ile değişen CV voltamogramları



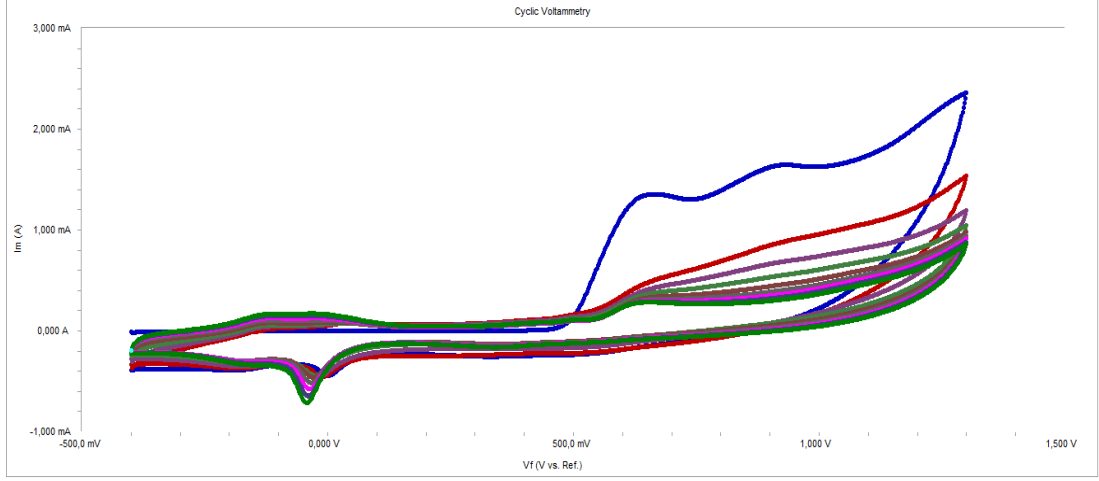
Şekil 4.2.12. E₀MIP_27'nin 10⁻¹² M - 10⁻⁶ M Flukonazol ile değişen Nyquist diyagramından elde edilen R_{ct}'nin konsantrasyona bağlı değişimi

4.2.2. E₁ Elektrodundan MIP yapımı

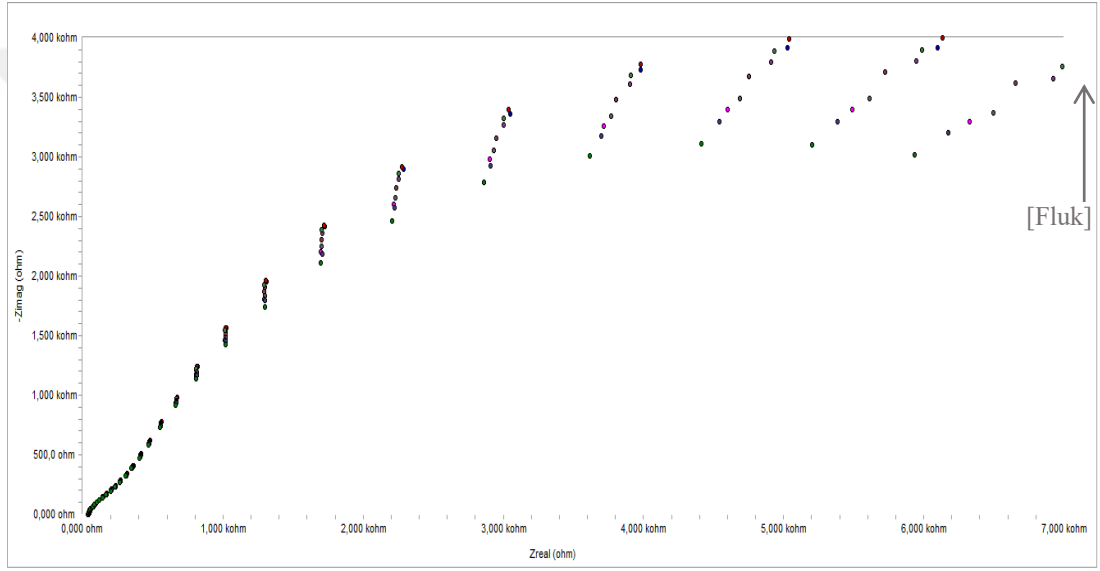
Bölüm 2.1.' de belirtildiği üzere etanolde hazırlanmış 0,1M HCl içinde 15 dakika bekletilerek aktive edilen PGE, E₁ elektrodu olarak adlandırılmıştır. 3 farklı E₁ alınarak voltametrik hücre içerisinde çalışma elektrodu olarak bağlanmıştır ve sırasıyla CV tekniğiyle (-0,4 V) – (+1,3 V) aralığında sırasıyla 9, 18 ve 27 döngü yapılarak E₁MIP 9 döngü kaplama, E₁MIP 18 döngü kaplama, E₁MIP 27 döngü kaplama olmak üzere 3 ayrı MIP yapılmıştır.

4.2.2.1. E₁MIP 9 döngü kaplama ve MIP performansının değerlendirilmesi

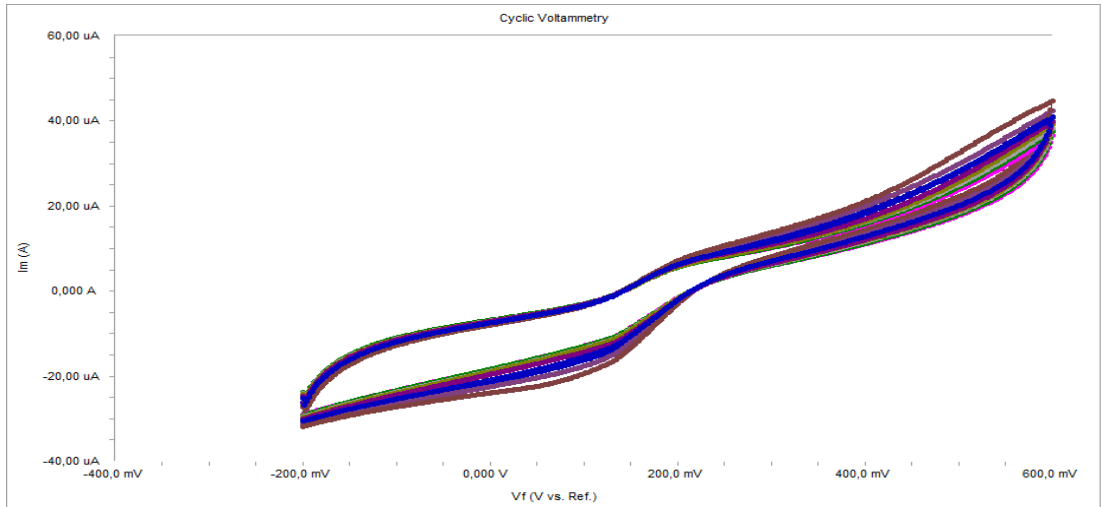
Deneyssel metotta belirtilen şartlarda E₀ elektrodu üzerinde CV ile 9 döngü kaplama Flukonazol ve o-PD içeren çözelti içerisinde gerçekleştirilmiştir (Şekil 4.2.13). E₁MIP 9 döngü kaplama MIP KCl içerisinde dengeye bırakıldıktan sonra 10⁻¹³ M - 10⁻⁵ M Flukonazol konsantrasyonuna bağlı Nyquist diyagramı Şekil 4.2.14' de ve CV voltamogramları Şekil 4.2.15' de incelenmiştir. Nyquist diyagramına ait Flukonazol konsantrasyonuna bağlı veriler grafiğe geçirilmiştir (Şekil 4.2.16).



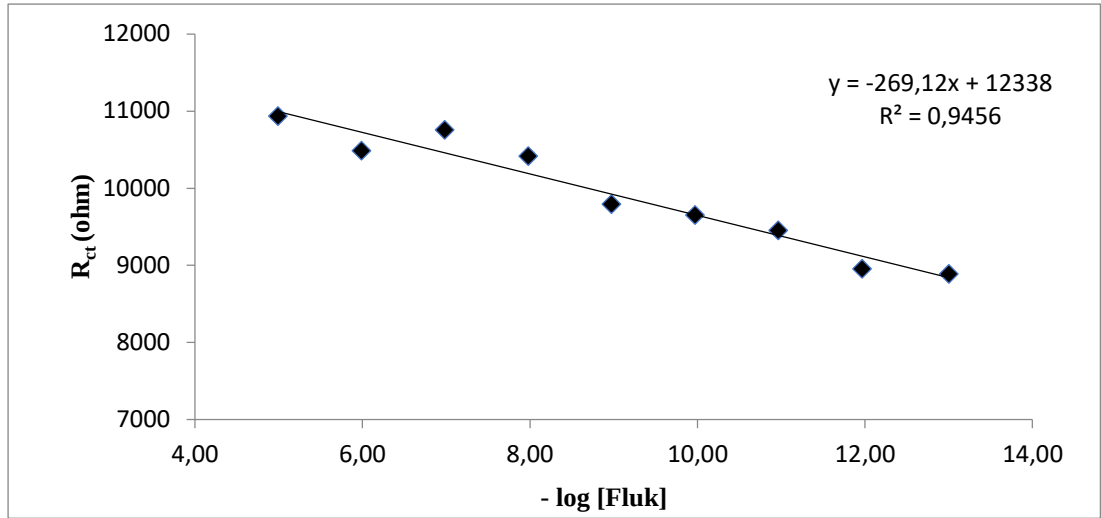
Şekil 4.2.13. E₁MIP_9 elektrotunun yapımı



Şekil 4.2.14. E₁MIP_9' un 10^{-13} M - 10^{-5} M Flukonazol ile değişen Nyquist diyagramı



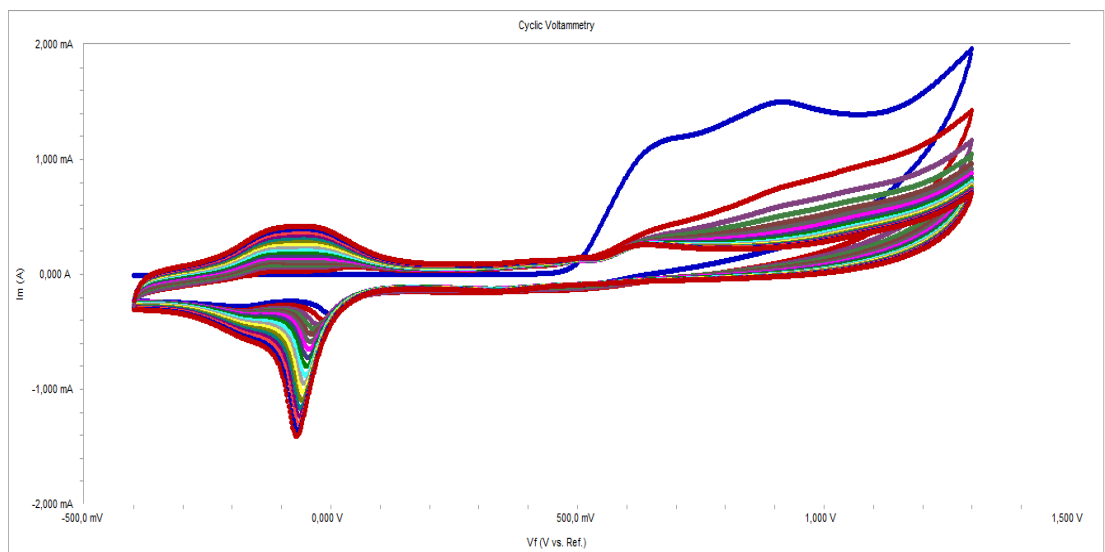
Şekil 4.2.15. E₁MIP_9' un 10^{-13} M - 10^{-5} M Flukonazol ile değişen CV voltamogramları



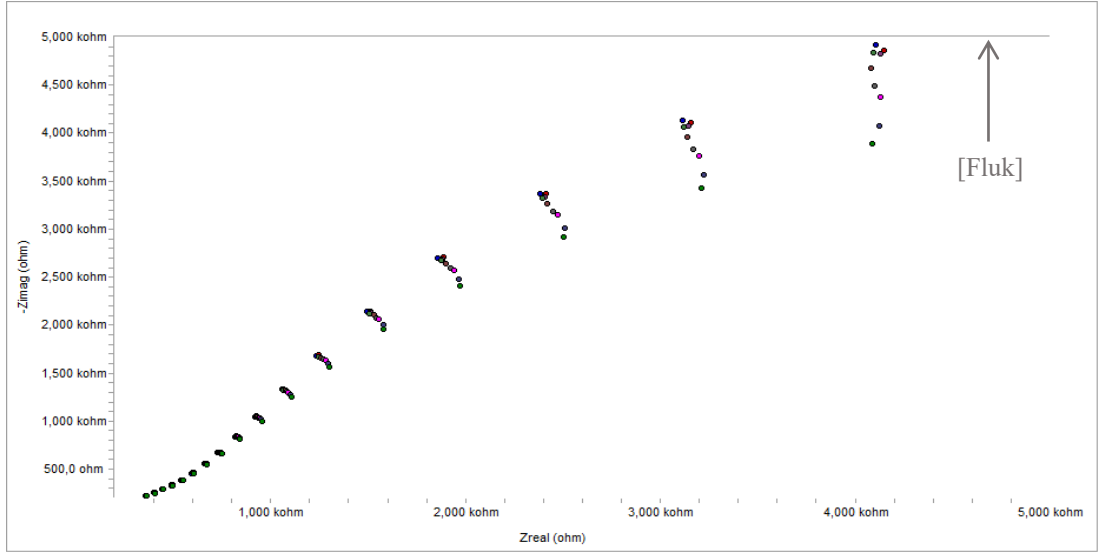
Şekil 4.2.16. E₁MIP_9' un 10^{-13} M - 10^{-5} M Flukonazol ile değişen Nyquist diyagramından elde edilen R_{ct}' nin konsantrasyona bağlı değişimi

4.2.2.2. E₁MIP 18 döngü kaplama ve MIP performansının değerlendirilmesi

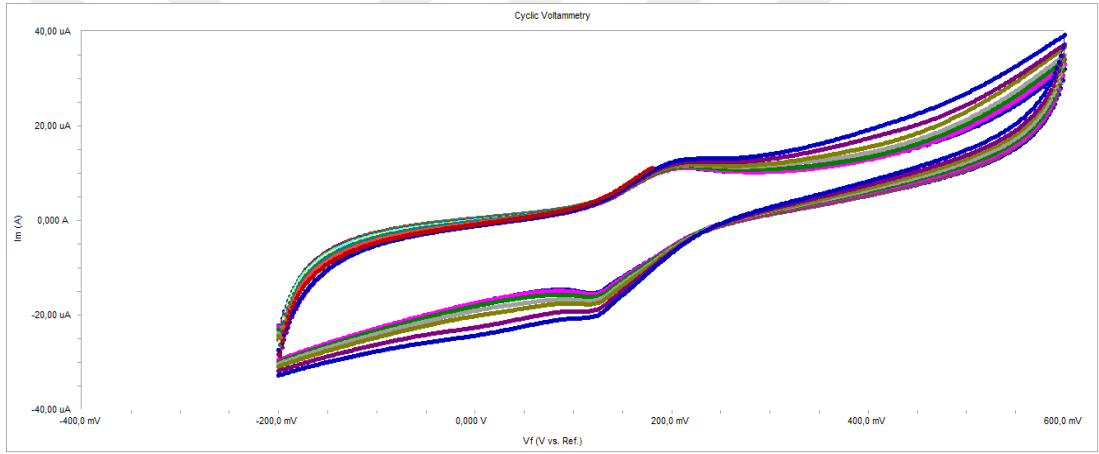
Deneysel metotta belirtilen şartlarda E₁ elektrodu üzerinde CV ile 18 döngü kaplama Flukonazol ve o-PD içeren çözelti içerisinde gerçekleştirilmiştir (Şekil 4.2.17). E₁MIP 18 döngü kaplama MIP KCl içerisinde dengeye bırakıldıktan sonra 10^{-13} M - 10^{-5} M Flukonazol konsantrasyonuna bağlı Nyquist diyagramı Şekil 4.2.18' de ve CV voltamogramları Şekil 4.2.19' da incelenmiştir. Nyquist diyagramına ait Flukonazol konsantrasyonuna bağlı veriler grafiğe geçirilmiştir (Şekil 4.2.20).



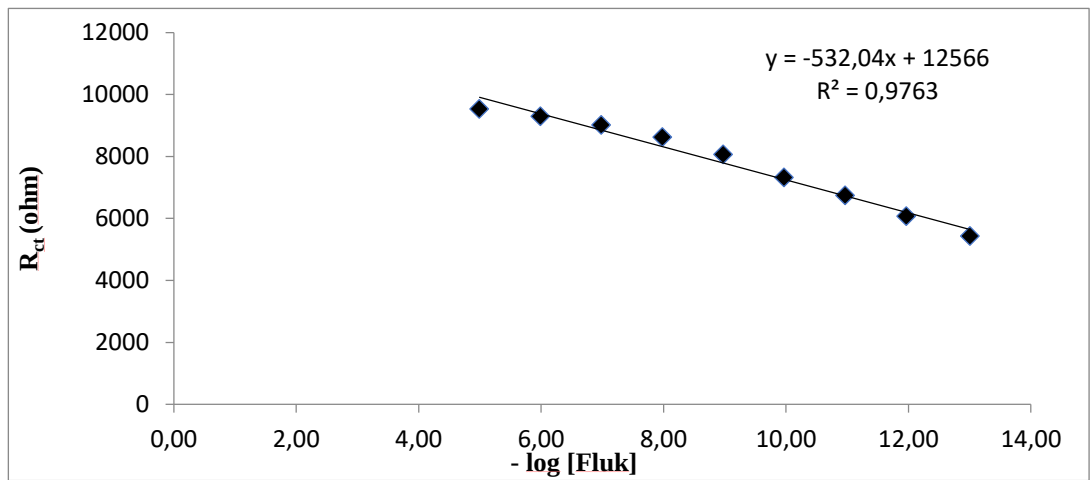
Şekil 4.2.17. E₁MIP_18 elektrodunun yapımı



Şekil 4.2.18. $E_1MIP_{18'}$ in $10^{-13} \text{ M} - 10^{-5} \text{ M}$ Flukonazol ile değişen Nyquist diyagramı



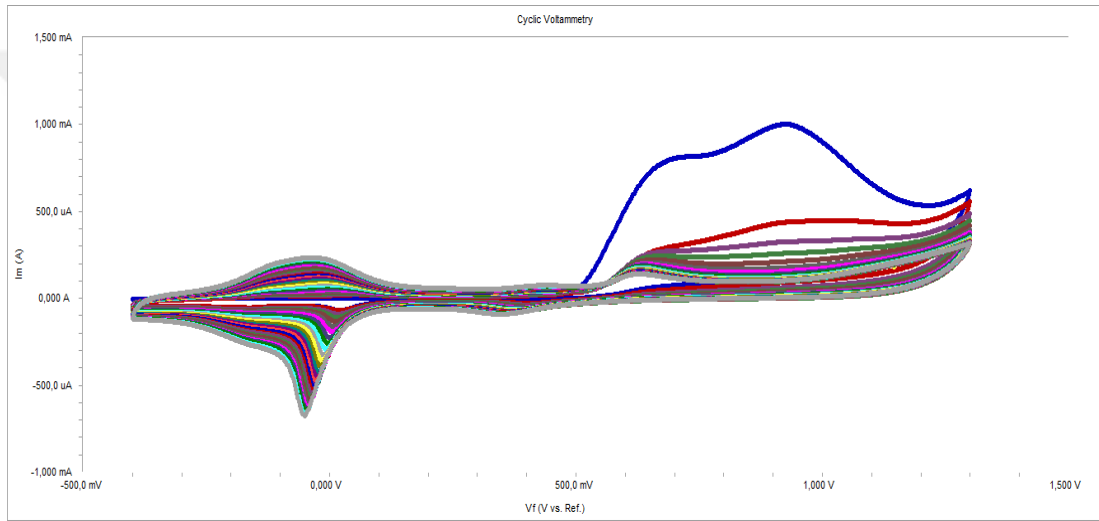
Şekil 4.2.19. $E_1MIP_{18'}$ in $10^{-13} \text{ M} - 10^{-5} \text{ M}$ Flukonazol ile değişen CV voltamogramları



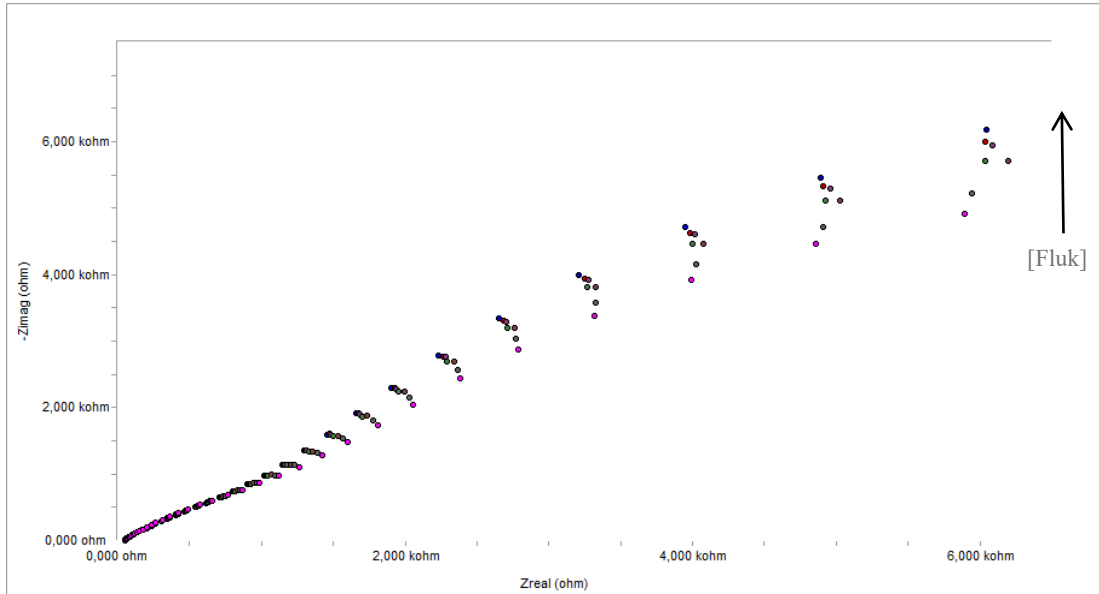
Şekil 4.2.20. $E_1MIP_{18'}$ in $10^{-13} \text{ M} - 10^{-5} \text{ M}$ Flukonazol ile değişen Nyquist diyagramından elde edilen R_{ct} nin konsantrasyona bağlı değişimi

4.2.2.3. E₁MIP 27 döngü kaplama ve MIP performansının değerlendirilmesi

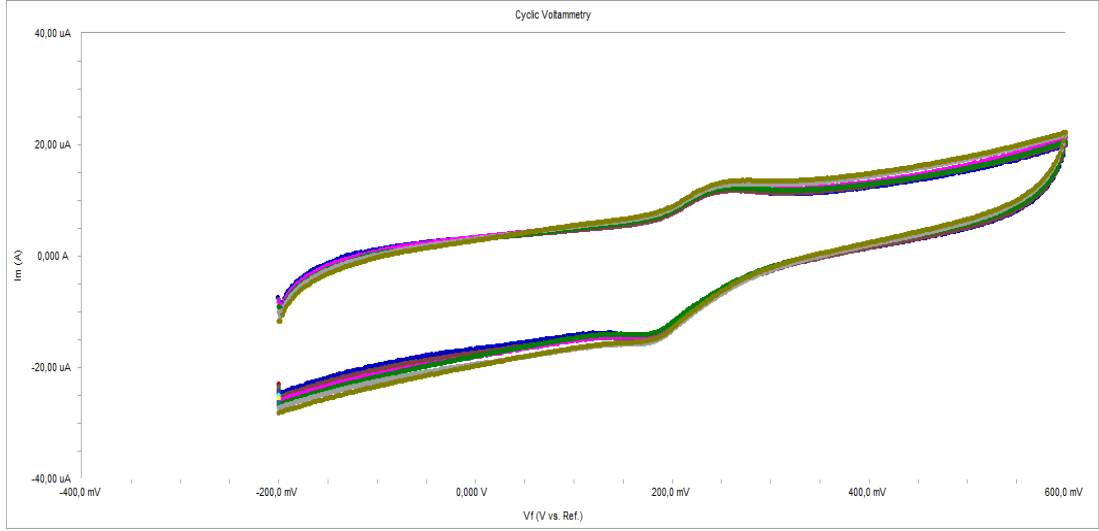
Deneysel metotta belirtilen şartlarda E₁ elektrodu üzerinde CV ile 27 döngü kaplama Flukonazol ve o-PD içeren çözelti içerisinde gerçekleştirilmiştir (Şekil 4.2.21). E₁MIP 27 döngü kaplama MIP KCl içerisinde dengeye bırakıldıktan sonra 10⁻¹² M - 10⁻⁶ M Flukonazol konsantrasyonuna bağlı Nyquist diyagramı (Şekil 4.2.22) ve CV voltamogramları (Şekil 4.2.23) incelenmiştir. Nyquist diyagramına ait Flukonazol konsantrasyonuna bağlı veriler grafiğe geçirilmiştir (Şekil 4.2.24).



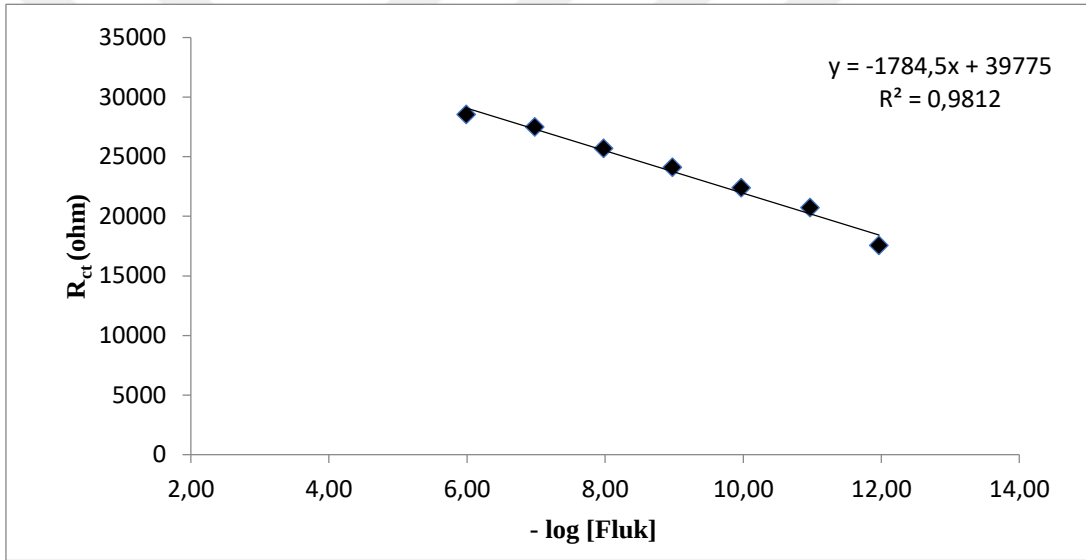
Şekil 4.2.21. E₁MIP_27 elektrodunun yapımı



Şekil 4.2.22. E₁MIP_27' nin 10⁻¹² M - 10⁻⁶ M Flukonazol ile değişen Nyquist diyagramı



Şekil 4.2.23. E₁MIP_27' nin 10⁻¹² M - 10⁻⁶ M Flukonazol ile değişen CV voltamogramları



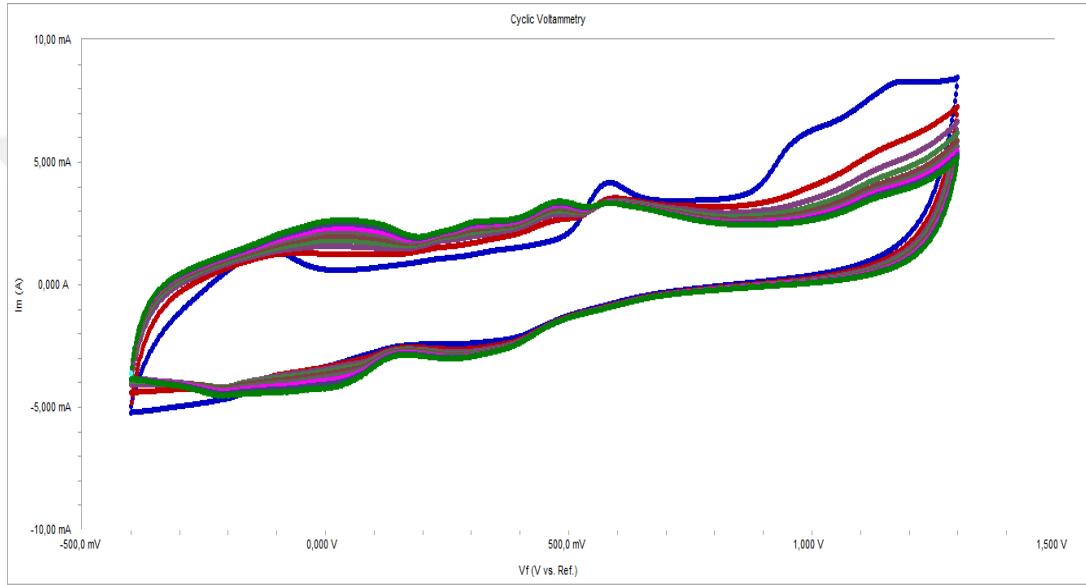
Şekil 4.2.24. E₁MIP_27' nin 10⁻¹² M - 10⁻⁶ M Flukonazol ile değişen Nyquist diyagramından elde edilen R_{ct}' nin konsantrasyona bağlı değişimi

4.2.3. E₂ Elektrodundan MIP yapımı

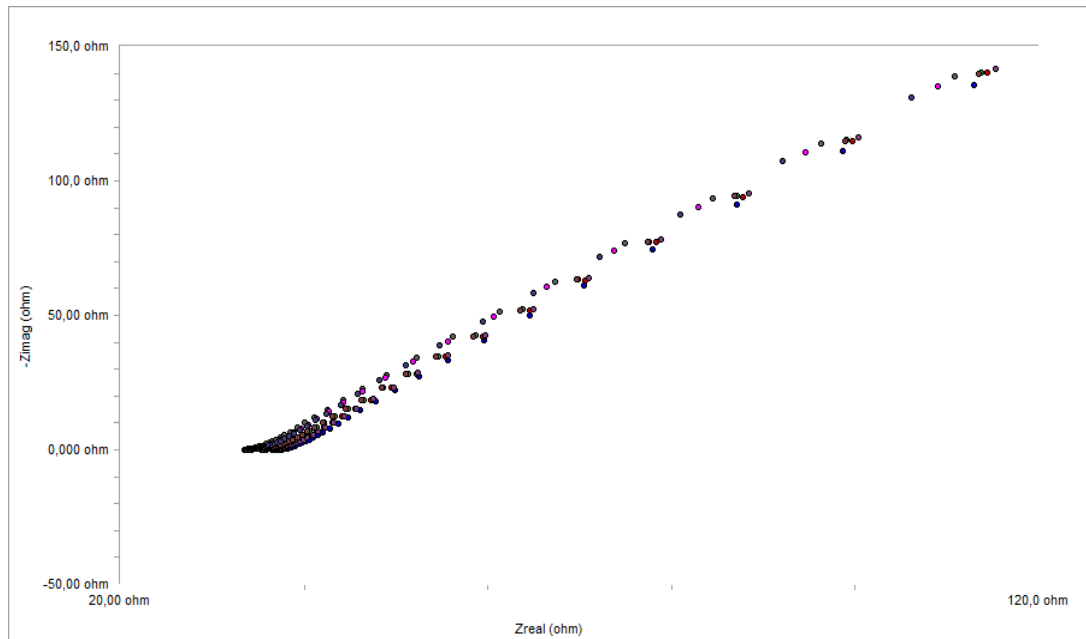
Bölüm 2.1.' de belirtildiği üzere 0,5 M H₂SO₄ ortamında LSV ile aktive edilen PGE, E₂ elektrodu olarak adlandırılmıştır. 3 farklı E₂ alınarak voltametrik hücre içerisinde çalışma elektrodu olarak bağlanmıştır ve sırasıyla CV tekniğiyle (-0,4 V) – (+1,3 V) aralığında sırasıyla 9, 18 ve 27 döngü yapılarak E₂MIP 9 döngü kaplama, E₂MIP 18 döngü kaplama, E₂MIP 27 döngü kaplama olmak üzere 3 ayrı MIP yapılmıştır.

4.2.3.1. E₂MIP 9 döngü kaplama ve MIP performansının değerlendirilmesi

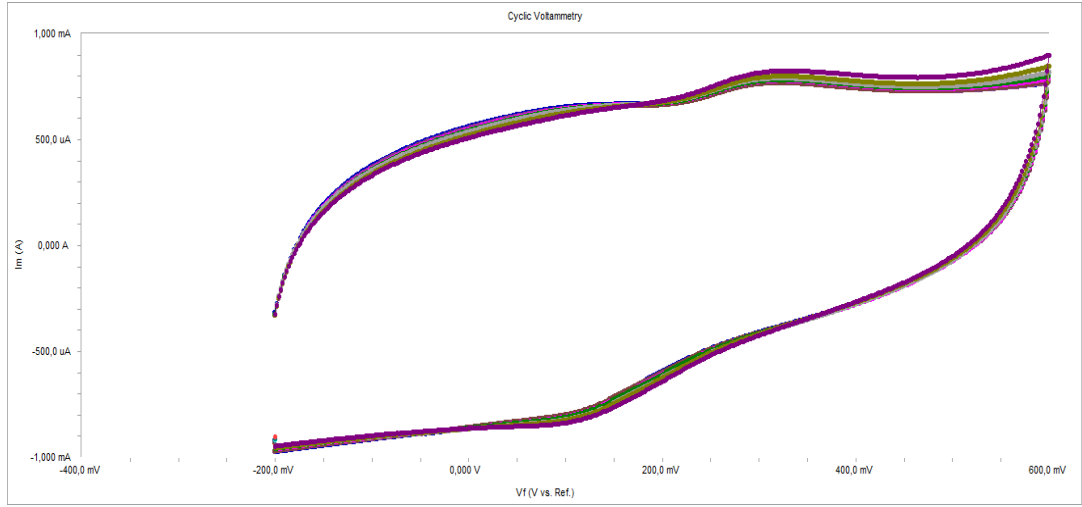
Deneysel metotta belirtilen şartlarda E₂ elektrodu üzerinde CV ile 9 döngü kaplama Flukonazol ve o-PD içeren çözelti içerisinde gerçekleştirilmiştir (Şekil 4.2.25). E₂MIP 9 döngü kaplama MIP KCl içerisinde dengeye bırakıldıktan sonra 10^{-12} M - 10^{-5} M Flukonazol konsantrasyonuna bağlı Nyquist diyagramı Şekil 4.2.26’ da ve CV voltamogramları Şekil 4.2.27’ de incelenmiştir. Nyquist diyagramına ait Flukonazol konsantrasyonuna bağlı veriler grafiğe geçirilmiştir (Şekil 4.2.28).



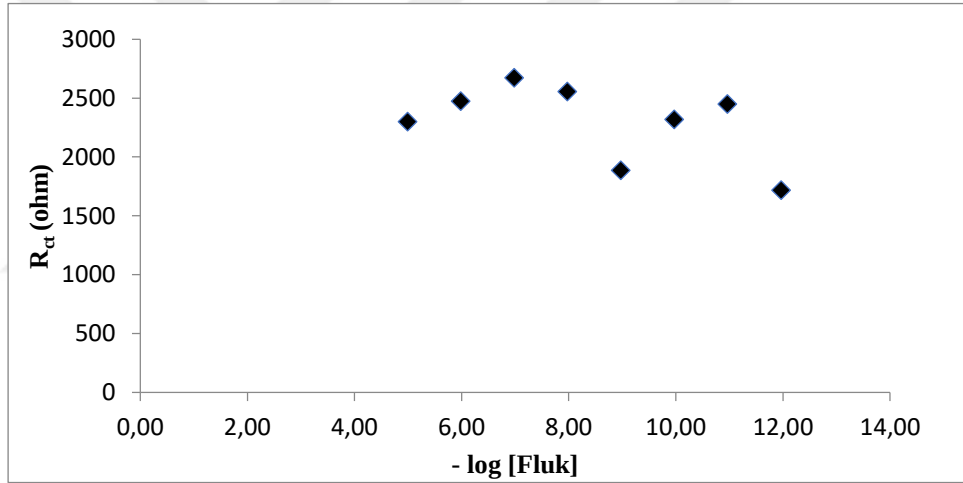
Şekil 4.2.25. E₂MIP_9 elektrodunun yapımı



Şekil 4.2.26. E₂MIP_9’un 10^{-13} M - 10^{-5} M Flukonazol ile değişen Nyquist diyagramı



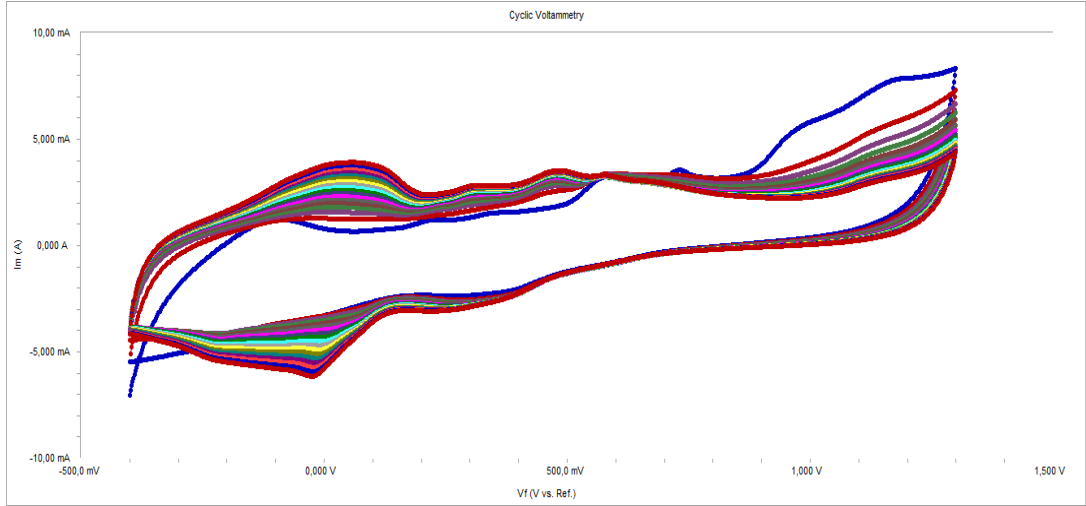
Şekil 4.2.27. E₂MIP_9'un 10^{-13} M - 10^{-5} M Flukonazol ile değişen CV voltamogramları



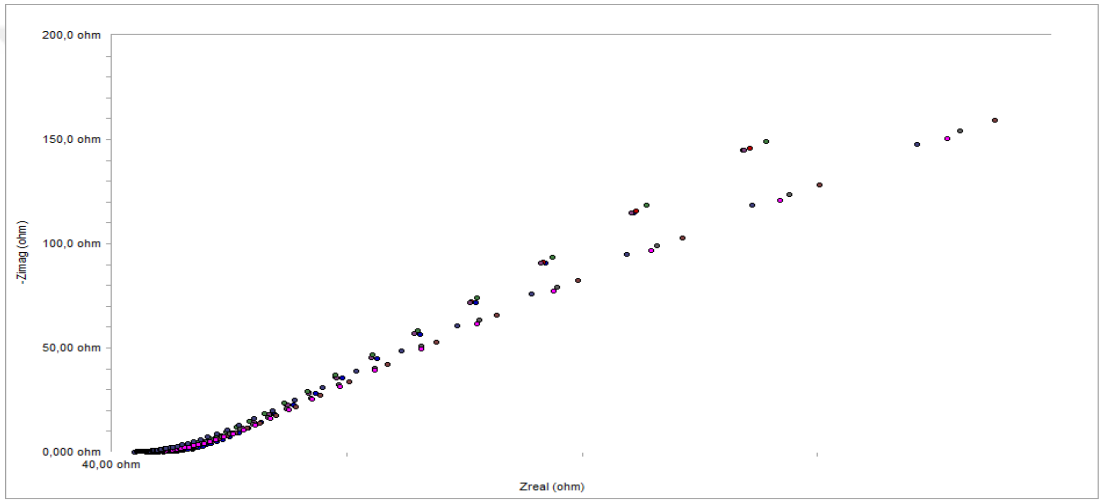
Şekil 4.2.28. E₂MIP_9'un 10^{-12} M - 10^{-5} M Flukonazol ile değişen Nyquist diyagramından elde edilen R_{ct} 'nin konsantrasyona bağlı değişimi

4.2.3.2. E₂MIP 18 döngü kaplama ve MIP performansının değerlendirilmesi

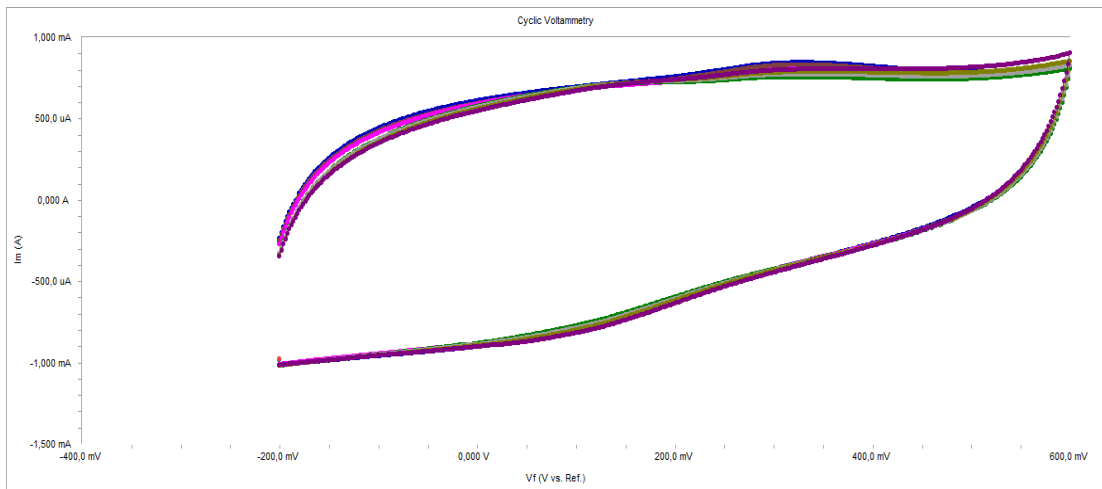
Deneysel metotta belirtilen şartlarda E₂ elektrodu üzerinde CV ile 18 döngü kaplama Flukonazol ve o-PD içeren çözelti içerisinde gerçekleştirilmiştir (Şekil 4.2.29). E₂MIP 18 döngü kaplama MIP KCl içerisinde dengeye bırakıldıktan sonra 10^{-12} M - 10^{-5} M Flukonazol konsantrasyonuna bağlı Nyquist diyagramı Şekil 4.2.30' da ve CV voltamogramları Şekil 4.2.31' de incelenmiştir. Nyquist diyagramına ait Flukonazol konsantrasyonuna bağlı veriler grafiğe geçirilmiştir (Şekil 4.2.32).



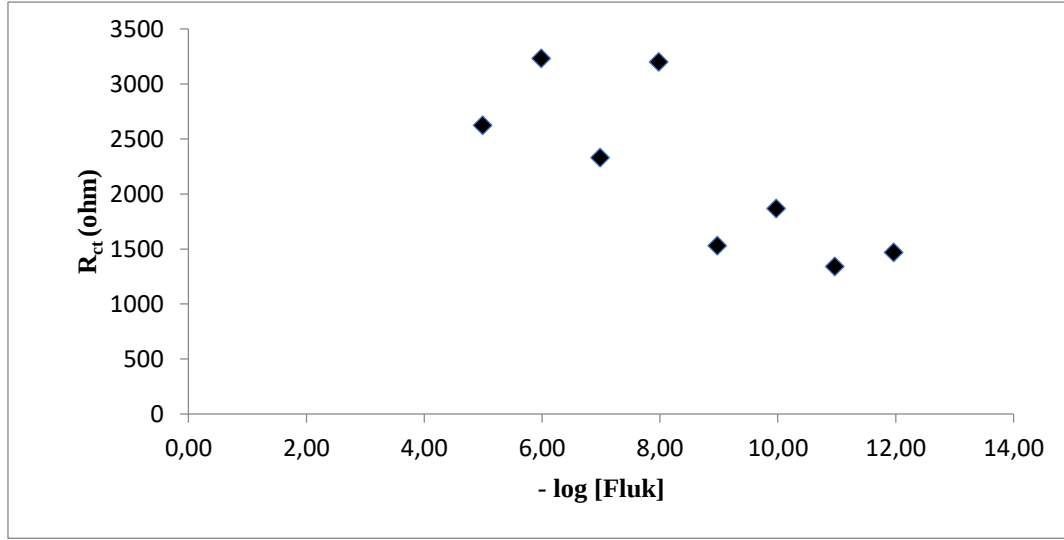
Şekil 4.2.29. E₂MIP_18 elektrodunun yapımı



Şekil 4.2.30. E₂MIP_18' in 10^{-12} M - 10^{-5} M Flukonazol ile değişen Nyquist diyagramı



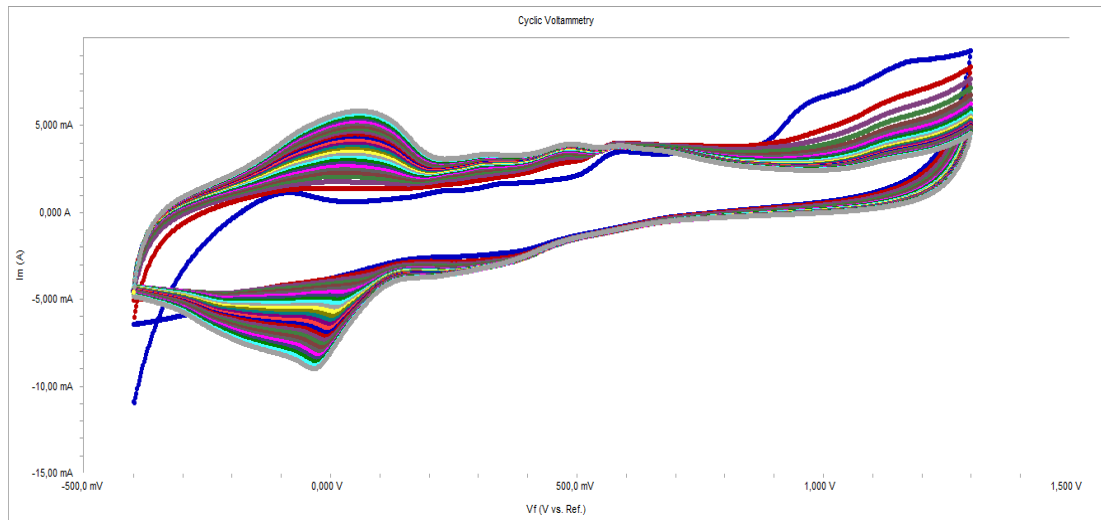
Şekil 4.2.31. E₂MIP_18' in 10^{-12} M - 10^{-5} M Flukonazol ile değişen CV voltamogramları



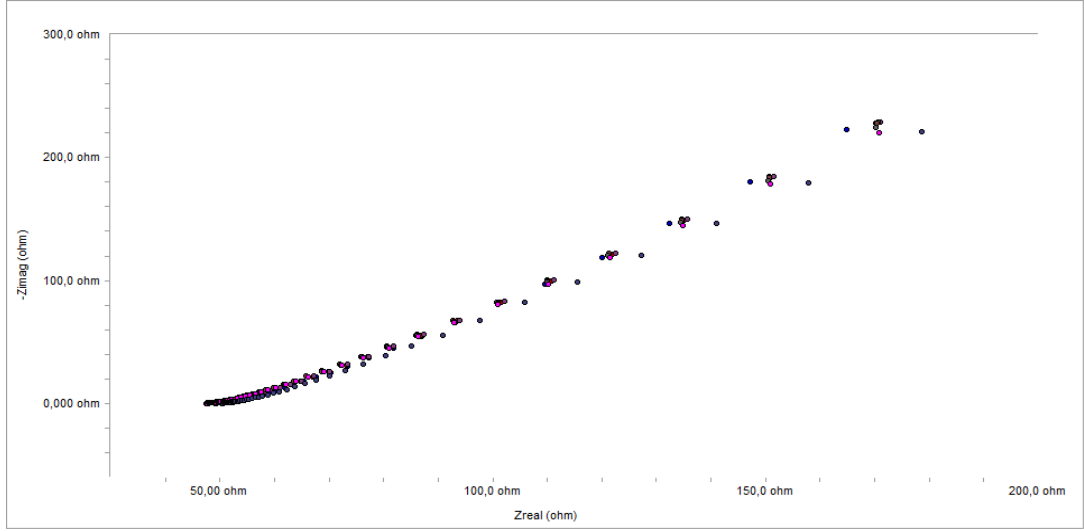
Şekil 4.2.32. E₂MIP_18' in 10^{-12} M - 10^{-5} M Flukonazol ile değişen Nyquist diyagramından elde edilen R_{ct} nin konsantrasyona bağlı değişimi

4.2.3.3. E₂MIP 27 döngü kaplama ve MIP performansının değerlendirilmesi

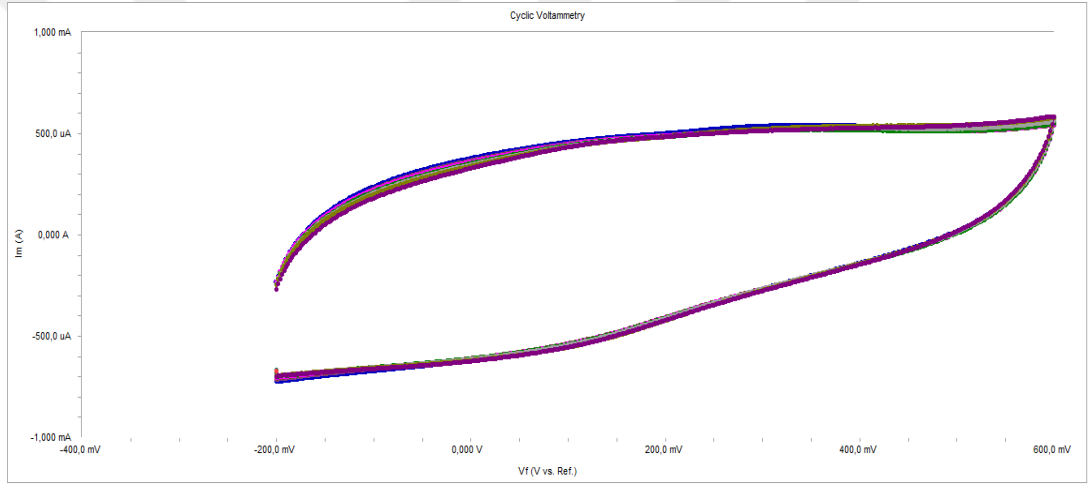
Deneysel metotta belirtilen şartlarda E₂ elektrodu üzerinde CV ile 18 döngü kaplama Flukonazol ve o-PD içeren çözelti içerisinde gerçekleştirilmiştir (Şekil 4.2.33). E₂MIP 18 döngü kaplama MIP KCl içerisinde dengeye bırakıldıktan sonra 10^{-12} M - 10^{-3} M Flukonazol konsantrasyonuna bağlı Nyquist diyagramı Şekil 4.2.34' de ve CV voltamogramları Şekil 4.2.35' de incelenmiştir. Nyquist diyagramına ait Flukonazol konsantrasyonuna bağlı veriler grafiğe geçirilmiştir (Şekil 4.2.36).



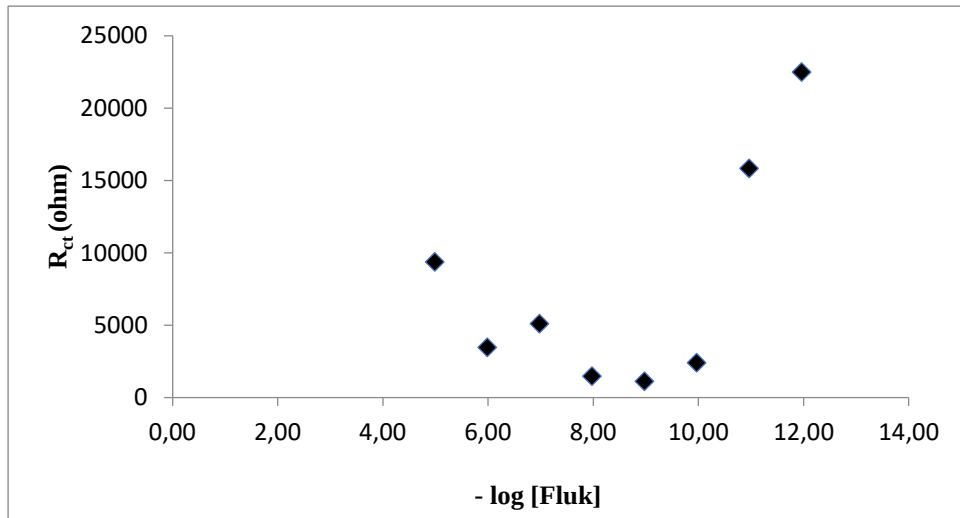
Şekil 4.2.33. E₂MIP_27 elektrodunun yapımı



Şekil 4.2.34. E₂MIP_27' nin 10^{-12} M - 10^{-5} M Flukonazol ile değişen Nyquist diyagramı



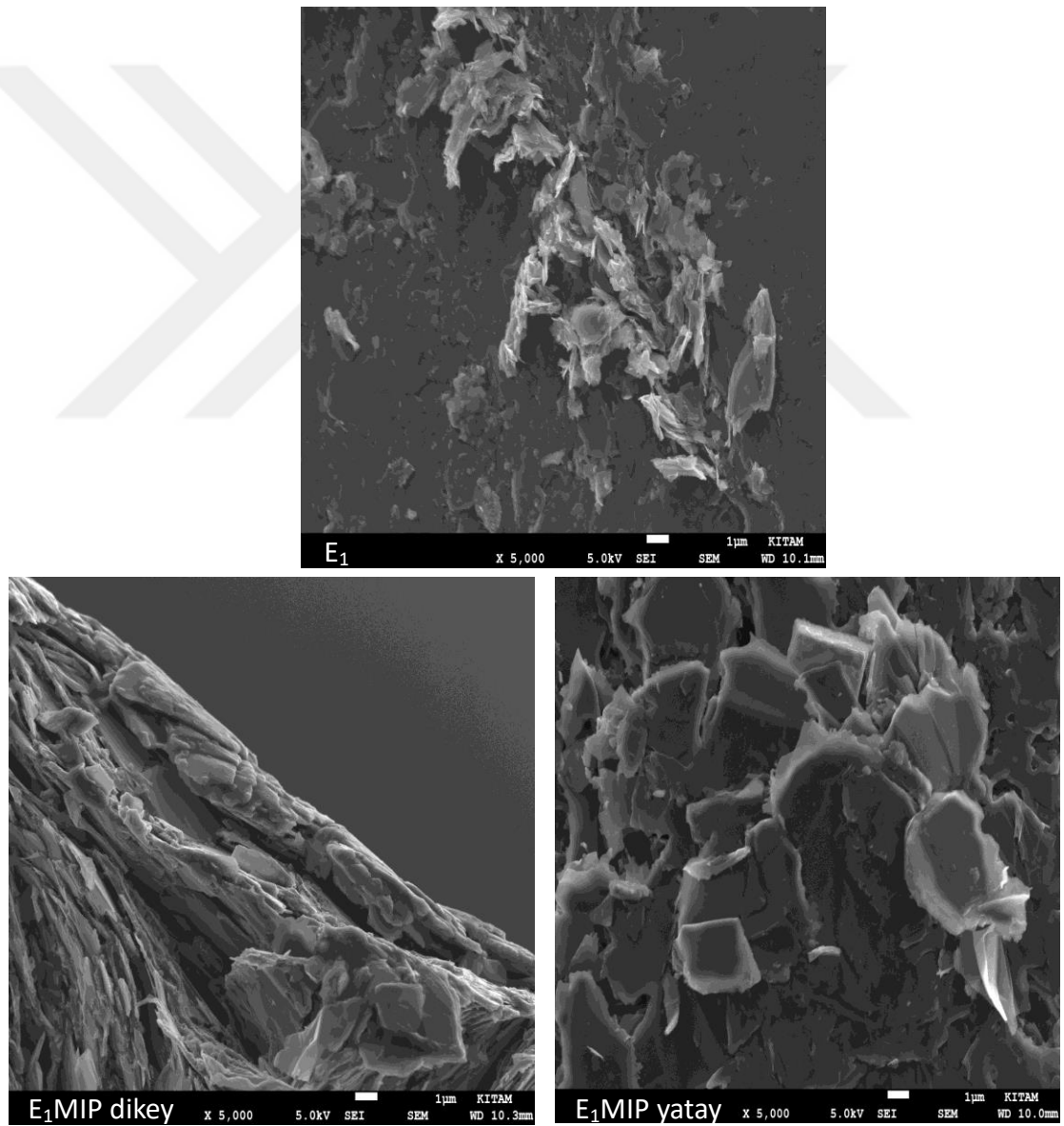
Şekil 4.2.35. E₂MIP_27' nin 10^{-12} M - 10^{-5} M Flukonazol ile değişen CV voltamogramları



Şekil 4.2.36. E₂MIP_27' nin 10^{-12} M - 10^{-5} M Flukonazol ile değişen Nyquist diyagramından elde edilen R_{ct}' nin konsantrasyona bağlı değişimi

4.3. MIP' lerin Elüasyon ve İnhibasyonu

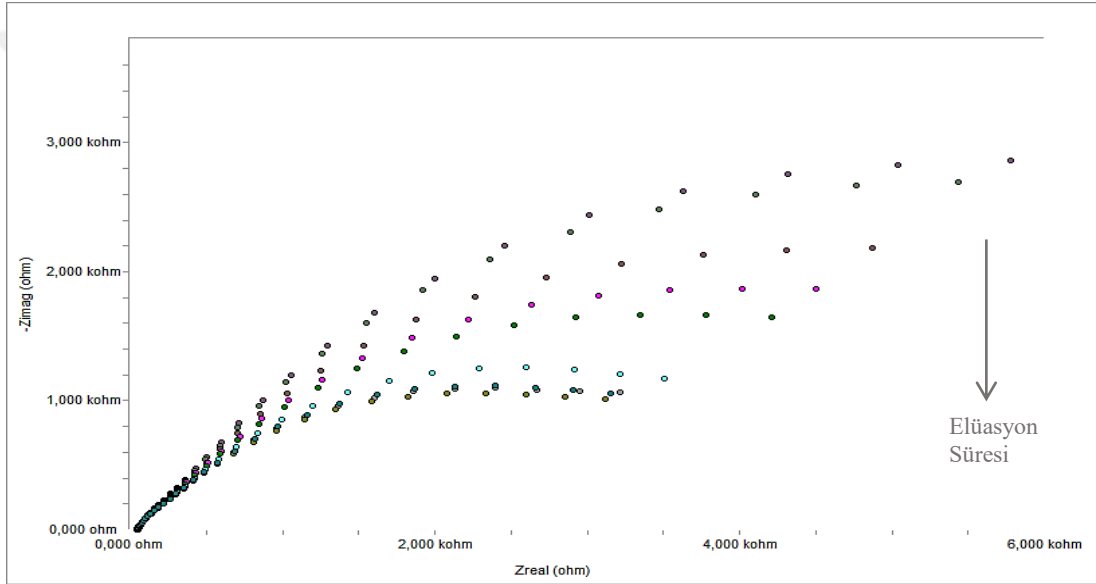
Bölüm 4.2.' de aktive edilen elektrotlar MIP haline getirilmeye çalışılmış ve deneysel çalışmalar grafiğe geçirilmiştir. MIP işlemleri ve oluşturulan grafiklere ait değişimler incelendikten sonra en iyi çalışan MIP' in etanolde hazırlanan 0,1M HCl' de aktive edilen yani E₁MIP olduğuna karar verilmiştir. 18 CV döngülü E₁MIP'e ait SEM görüntüleri Şekil 4.3.1'de verilmiştir.



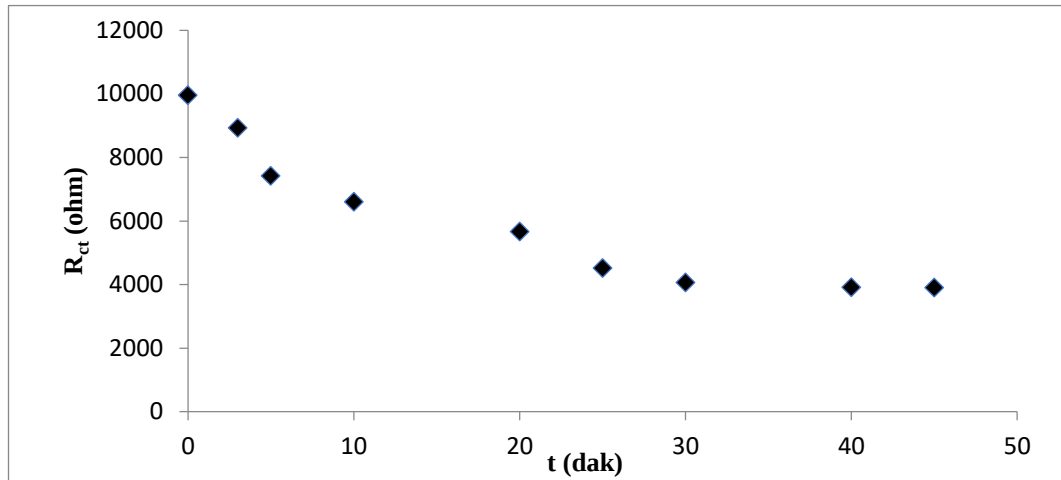
Şekil 4.3.1. E₁MIP₁₈ 'in SEM görüntüleri

Elüasyon işlemleri için MIP'ler öncelikle 10 ml 1×10^{-3} M Flukonazol çözeltisinde bekletilmiş, % 20 etanol ve %80 0,1 M asetik asit çözeltisinde belirli sürelerde elüe edilmiştir. Elüe işleminden sonra ortaya çıkan değişimler 2,5 mM ($K_3[Fe(CN)_6]$) / ($K_4[Fe(CN)_6].3H_2O$) içeren 10 mL 0,1 M KCl çözeltisinde EIS yöntemiyle takip edilmiştir. 18 CV döngülü E_1MIP 'lerin eluasyonuna ait değişimler Şekil 4.3.2' de ve Şekil 4.3.3' de verilmiştir.

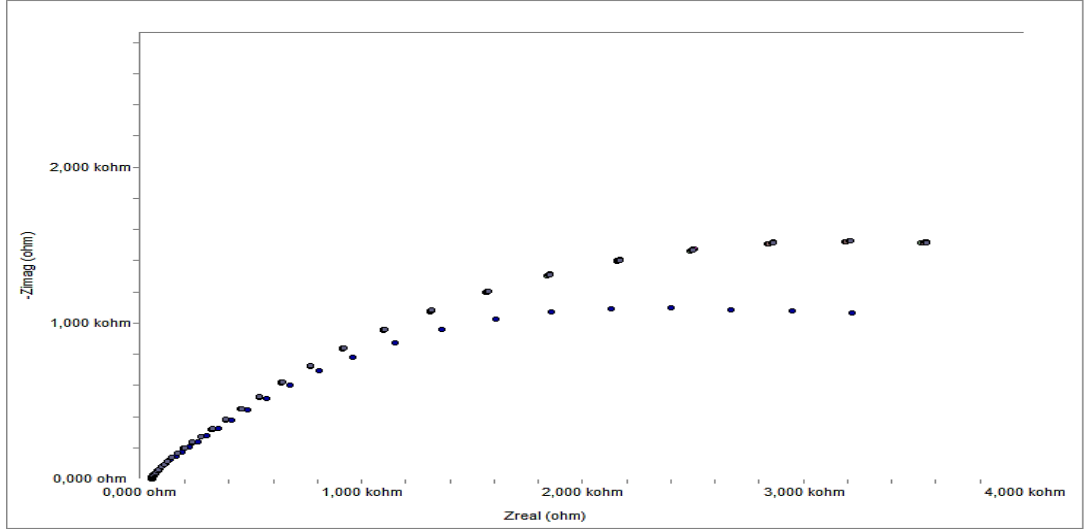
İnkübasyon işlemi için, boş MIP'ler 1×10^{-5} M Flukonazol ve 2,5 mM ($K_3[Fe(CN)_6]$) / ($K_4[Fe(CN)_6].3H_2O$) içeren 10 mL 0,1 M KCl çözeltisinde bekletilerek belirli süre aralığında EIS ölçümleri alınmıştır. 18 CV döngülü E_1MIP 'lerin inkübasyonuna ait değişimler Şekil 4.3.4'de ve Şekil 4.3.5'de verilmiştir.



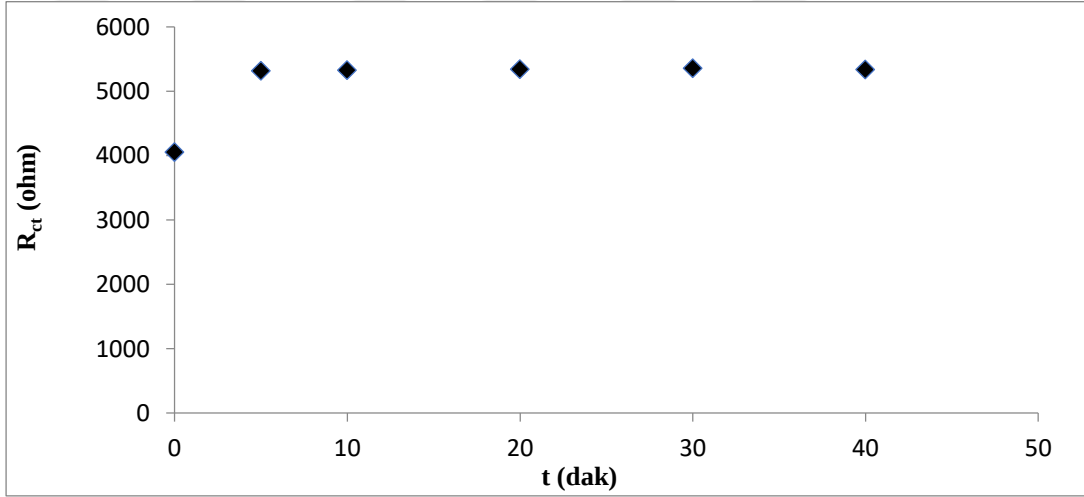
Şekil 4.3.2. E_1MIP_{18} ' in farklı sürelerde elüasyonuna ait Nyquist diyagramları



Şekil 4.3.3. E_1MIP_{18} ' in farklı sürelerde elüasyonuna ait Nyquist diyagramlarından elde edilen R_{ct} değişimleri



Şekil 4.3.4. E₁MIP_18' in farklı sürelerde inkübasyonuna ait Nyquist diyagramları



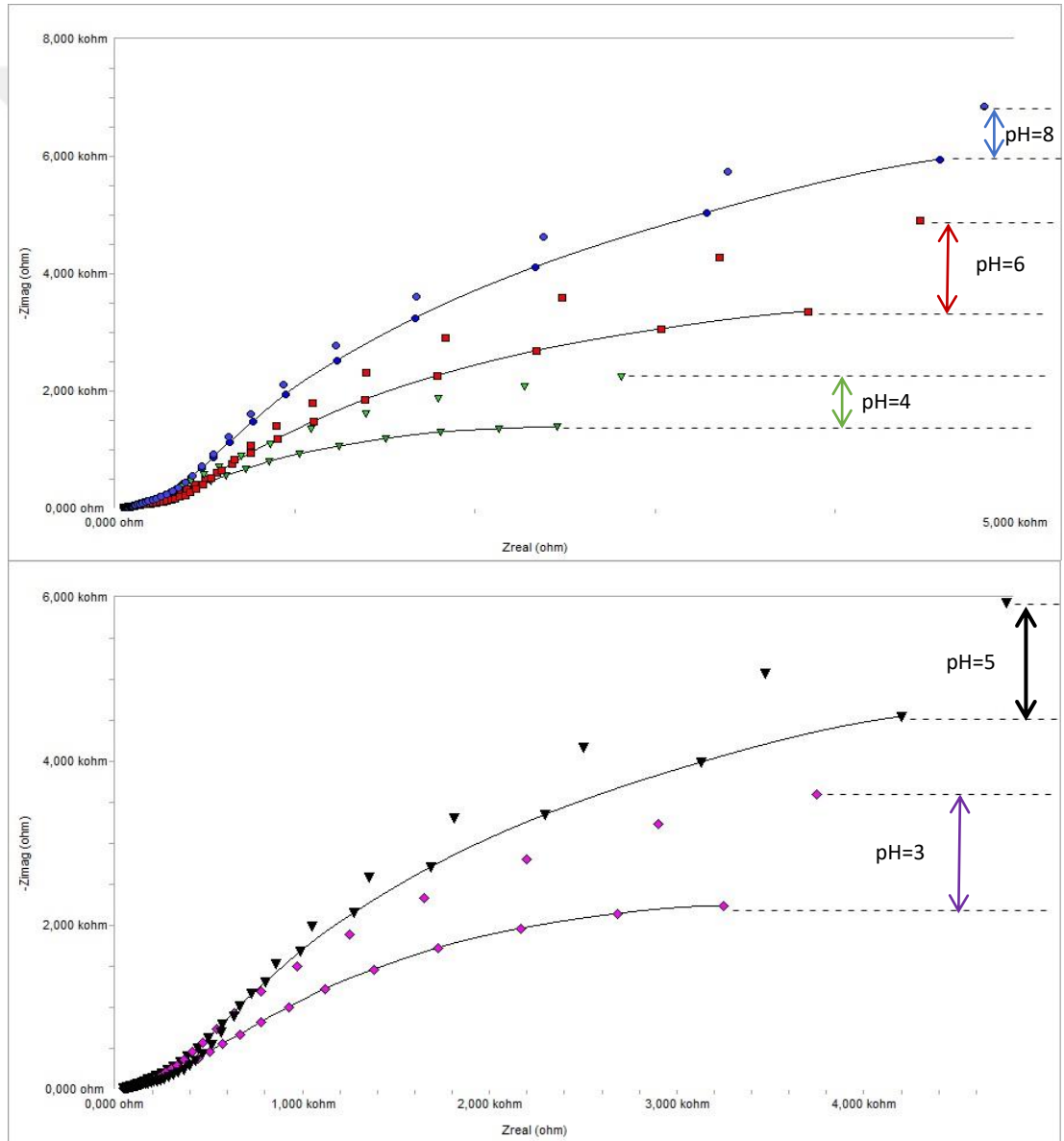
Şekil 4.3.5. E₁MIP_18' in farklı sürelerde inkübasyonuna ait Nyquist diyagramlarından elde edilen Rct değişimleri

4.4. BR ve PBS Tamponunda MIP Performansının İncelenmesi

4.4.1. MIP performansı için BR-Tamponunda optimum pH' nın belirlenmesi

BR tamponu geniş bir pH 'da (pH: 2,0 - 12,0) çalışılabilen bir tampondur. BR tamponunun bu özelliğinden yararlanarak, MIP performanslarının pH: 4,0, 5,0, 6,0, 7,0 ve 8,0' da gösterdiği performanslar incelenmiş, MIP' lerin Flukonazol' un değişen konsanrasyonlarına bağlı gösterdiği EIS yanıtları incelenmiş ve en iyi performansı gösterdiği pH seçilmiştir. Bunun için sabit voltametrik hücre içerisinde

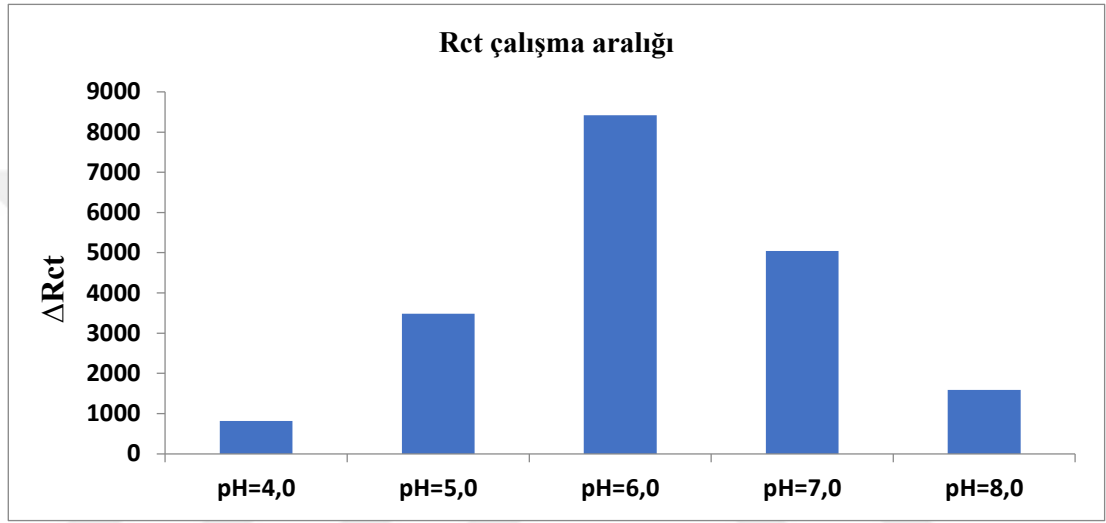
bulunan pH= 4,0' a ayarlanmış 10 ml BR tamponuna bir seri değişik konsantrasyonda Flukonazol çözeltisi eklenerek EIS cevapları incelenmiştir. Aynı işlemler pH: 5,0, 6,0, 7,0 ve 8,0' da ayrı ayrı yapılmıştır. Bu incelemeler 18 CV döngü E₂MIP üzerinde gerçekleştirilmiştir. DeneySEL şartlar metot bölümünde detaylı bir şekilde verilmiştir. Bu değişimlere ait Nyquist diyagramları Şekil 4.4.1'de ve bu diyagramdan elde edilen R_{ct} değerleri Tablo 4.4.1' de ve çalışma aralıkları Şekil 4.4.2' de verilmiştir. Tabloya göre optimum seçilen pH'da Flukonazol' un değişen konsantrasyonlarına karşı Nyquist diyagramları Şekil 4.4.3' de ve bu diyagramlardan elde edilen R_{ct} değerleri ise Şekil 4.4.4' de verilmiştir.



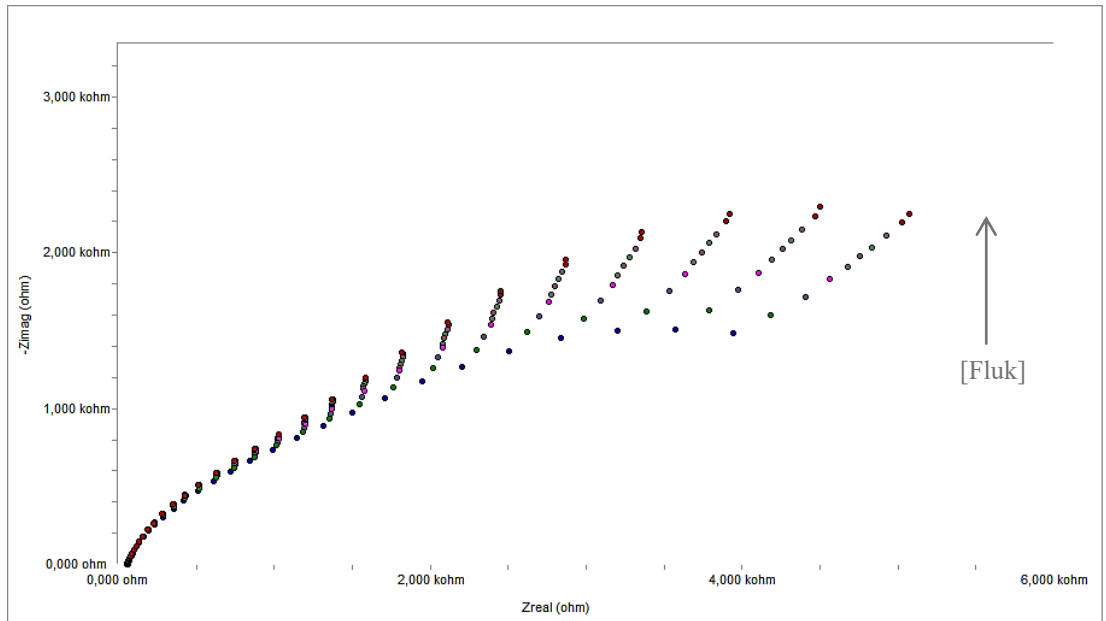
Şekil 4.4.1. Dolu (Çizgili) ve Boş (çizgisiz) E₁MIP_18' in BR tamponu farklı pH' larda elde edilen Nyquist diyagramı

Tablo.4.4.1. BR tamponu farklı pH' larda Nyquist diyagramından elde edilen boş ve dolu MIP'lere ait R_{ct} değerleri

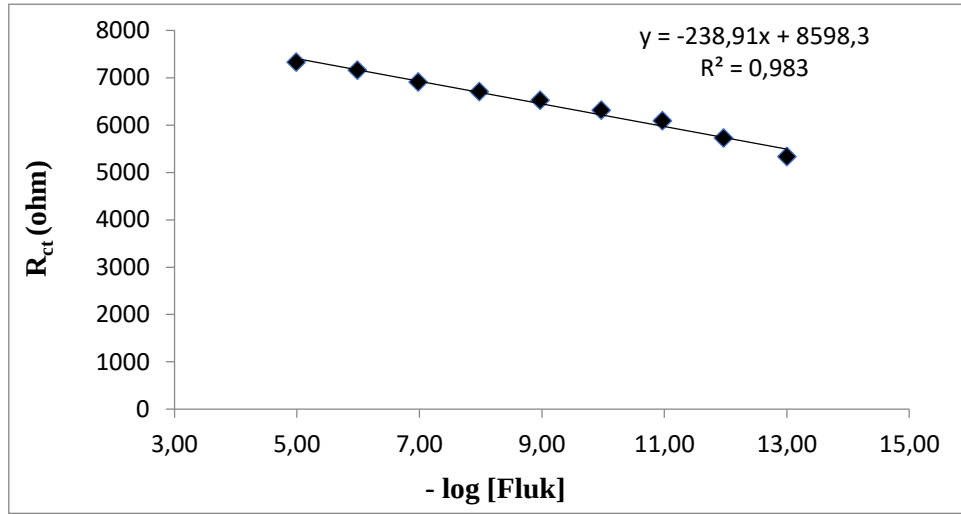
pH	4,0	5,0	6,0	7,0	8,0
Boş R_{ct} (ohm)	4736	4696	5355	10980	14070
Dolu R_{ct} (ohm)	5557	8177	13770	16020	15660
ΔR_{ct}	821	3481	8415	5040	1590



Şekil 4.4.2. BR tamponu farklı pH' larda MIP' lerin çalışma aralıkları



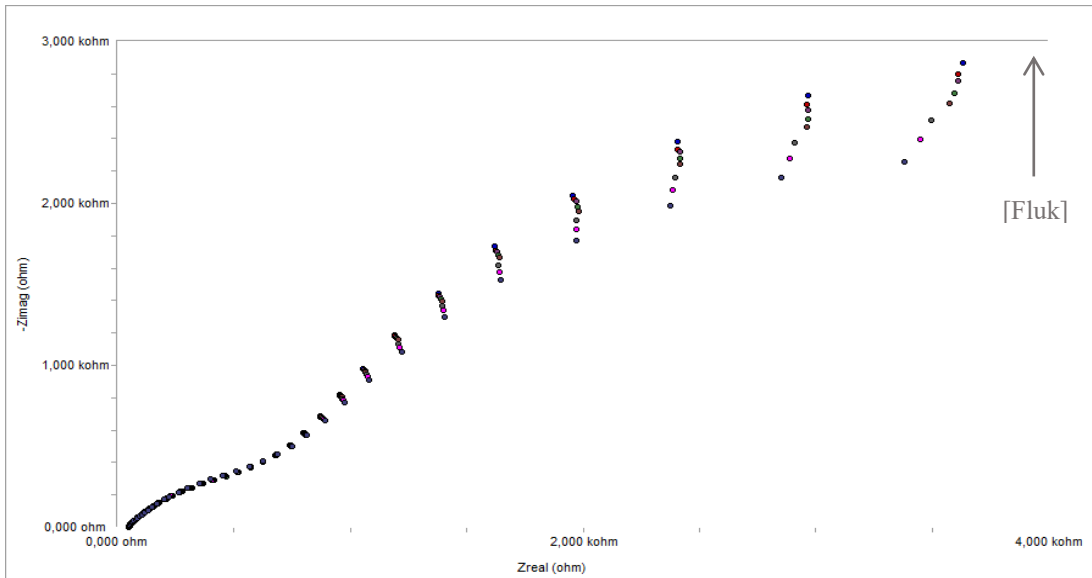
Şekil 4.4.3. BR tamponu pH=6,0'da E_1MIP_{18} 'in 10^{-13} M - 10^{-5} M Flukonazol ile değişen Nyquist diyagramı



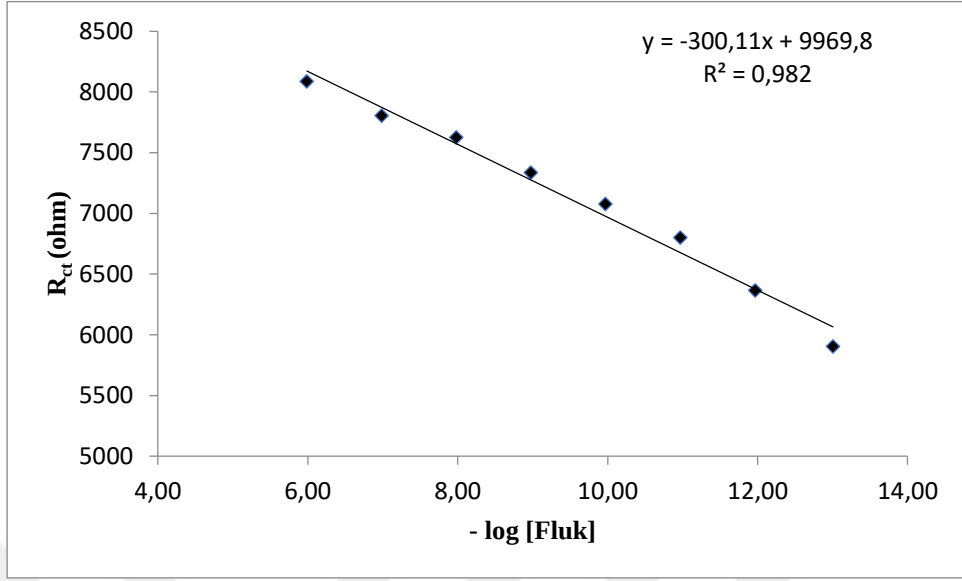
Şekil 4.4.4. BR tamponu pH=6,0'da E₁MIP_18' in Nyquist diyagramından elde edilen R_{ct} değerlerinin 10⁻¹³ M - 10⁻⁵ M Flukonazol ile değişimi

4.4.2. MIP performansı için BR- tamponunda optimum pH'nın belirlenmesi

PBS tamponu pH= 7,2 deneysel çalışmalar için ayrı bir önem taşımaktadır. Bu yüzden MIP performansı bir de bu ortamda kontrol edilmiştir. PBS tamponu pH= 7,2' de MIP'lerin Flukonazol' un değişen konsantrasyonlarına bağlı gösterdiği EIS yanıtları incelenmiş Nyquist diyagramları Şekil 4.4.5' de bu diyagramlardan elde edilen Flukonazol konsantrasyonlara bağlı R_{ct} değerlerine karşı değişimler Şekil 4.4.6'de verilmiştir. Deneysel şartlar metot bölümünde detaylı olarak verilmiştir.



Şekil 4.4.5. PBS ortamında E₁MIP_9' un 10⁻¹² M - 10⁻⁵ M Flukonazol ile değişen Nyquist diyagramı



Şekil 4.4.6. PBS ortamında E_1MIP_9 ' un 10^{-13} M - 10^{-5} M Flukonazol ile değişen Nyquist diyagramından elde edilen R_{ct} ' nin konsantrasyona bağlı değişimi

BÖLÜM 5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Bu çalışmada Flukonazol' e duyarlı elektrokimyasal sensör yapılması hedeflenmiştir. Bunun için çalışma elektrodu üzerine moleküler baskılama polimerizasyonu (MIP) yapılarak Flukonazol' e bağlı sinyaller EIS tekniği ile incelenmiştir. Literatürde MIP sensörlerin yapılması ve çalışma prensibi oldukça geniş bir alana sahiptir. Mevcut çalışmada Flukonazol için tasarladığımız sensörün yapımı 3 basamakta gerçekleştirilmiştir:

- i) Çalışma elektrodu olarak kurşun kalem uçlarının yalın ve aktive edilmiş hallerinin sensör kullanımında değerlendirilmesi,
- ii) Çalışma elektrodu üzerinde o-PD monomerlerinin şablon molekül varlığında polimerleştirilerek MIP haline getirilmesi,
- iii) Oluşturulan MIP elektrotlarının performanslarının farklı ortamlarda ve pH' larda değerlendirilmesi yapılmıştır.

5.1. Aktivasyonun Değerlendirilmesi

Elektrokimyasal ölçümlerde çalışma elektrodunun işlevi oldukça önemlidir. Çalışma amacına göre elektrot seçimi de önem arz etmektedir. Kullanılan her bir elektrodun çalışma konularına göre avantaj ve dezavantajı vardır. Bu çalışmada günümüzde ekonomik olarak en ucuza alınabilecek kurşun kalem ucu (PGE) çalışma elektrodu olarak seçilmiştir. Grafitte tüm karbonlar sp^2 hibritleşmiştir ve yüksek iletkenlik ve analitin elektroda kolay adsorpsiyonu bu sp^2 hibritlenmesi sayesinde [63, 64]. PGE, geniş kullanılabilirliği, düşük teknolojisi, düşük maliyeti, iyi mekanik sertliği, kimyasal inertliği, elverişli elektrokimyasal özellikleri, düşük arka plan akımı, geniş potansiyel penceresi, analizlerin adsorpsiyonu, modifikasyon kolaylığı ve minyatürleştirme gibi özelliklere sahiptir [65, 66]. Daha da önemlisi, PGE' ler daha basit ve yenilenebilir bir yüzey sağlayabilir ve parlatma ve temizleme gibi ön

prosedürlerin olmaması ve sonuçlar ayrı yüzeyler için iyi bir tekrarlanabilirlik sağlaması GCE dahil diğer katı elektrotlarına nazaran daha avantajlı hale gelir [65, 67]. Bu yönden bakıldığında diğer elektrotlara göre ayrıca ekonomik olarak üstünlüğü vardır. Elektrokimyasal ölçümlerde çalışma elektrodunun iletkenliği büyük bir önem arz etmektedir. PGE elektrokimyasal açıdan değerlendirildiğinde neredeyse bir metal kadar iletkenliğe sahip olması bir diğer avantajıdır. Literatür çalışmaları incelendiğinde grafit tabanlı PGE' lerin yaygın bir şekilde kullanıldığı görülmektedir.

Karbon elektrotların elektron transfer özelliklerinin bazı ön işlemlerle geliştirilmesine aktivasyon denmektedir. Bu çalışmada literatüre bağlı olarak PGE E_0 , etanol içinde hazırlanan 0,1M HCl içinde 15 dakika bekletilerek E_1 haline [68], 0,5 M H_2SO_4 [69,70], içinde (+0,5 V) - (+2,5 V) arasında 100 mV/s hızda LSV alınarak E_2 haline getirilerek aktive edilmiştir. Aktivasyonun kontrolü EIS, CV ve SEM ile yapılmıştır. Bölüm 4.1.1'de E_1 aktivasyonuna ait değişimler verilmiştir. E_1 , E_0 ile kıyaslandığında, EIS Nyquist diyagramı incelendiğinde elektrot yüzeyine ait direncin E_1 elektrodunda azaldığı yani iletkenliği arttığı görülmektedir [71]. CV değişimleri incelendiğinde demir redoks çiftinin akım ve potansiyel değerleri irdelendiğinde, indirgenme ve yükseltgenme piklerine ait akım değerlerinde artma görülmüş ayrıca bu piklere ait potansiyel değerleri arasındaki fark azalmıştır. Bu durum E_1 elektrodunun daha üstün bir elektroaktiviteye sahip olduğunu işaret etmektedir. Ayrıca bu aktivasyon sayesinde, tam tersinir bir elektrot reaksiyona sahip Ferrisiyanür³⁻/Ferrosiyanür⁴⁻ redoks çiftinin potansiyeli Nerst eşitliğindeki 59 mV potansiyel farkına daha da yaklaşmıştır [68]. SEM şekillerine bakıldığında ise aktivasyon sonucunda PGE' lerin yüzeyleri değişmiştir. Bölüm 4.1.2'de E_2 aktivasyonuna ait değişimler verilmiştir. EIS Nyquist diyagramı incelendiğinde elektrot yüzeyine ait direncin E_2 'de azaldığı görülmektedir [71]. CV değişimlerine bakıldığında, demir redoks çiftine karşı akım ve potansiyel değerleri irdelendiğinde, indirgenme ve yükseltgenme piklerine ait potansiyel değerleri arasındaki fark değişmiştir. Ancak bu redoks çiftine ait akım değerleri okunamamaktadır.

5.2. MIP İşleminin Değerlendirilmesi

Bölüm 4.2.' de, PGE ve aktifleştirilmiş PGE' ler üzerinde, Flukonazol bulunan ortamda o-PD' nin polimerleşmesiyle MIP yapılar elde edilmiştir. CV tekniğiyle 9, 18 ve 27 döngü alınarak E_0 , E_1 ve E_2 elektrotlarının üzerinde polimer filmlerin oluşması sağlanmıştır. CV işlemlerin ilk döngülerinde +900 mV civarında görülen oksidasyon piki o-PD monomerine, +700 mV civarındaki ise radikalik piklerdir. 2. Sargıyla beraber bu pikler azalmakta -10 mV civarında ise polimere ait tersinir indirgenme ve yükseltgenme piki belirlemektedir. Döngü sayıları artmasıyla monomere ait pikler azalmakta, hatta +900 mV civarında görülen oksidasyon piki kaybolmakta, polimere ait tersinir pikler artmaktadır [24-26]. Bu durum literatürdeki diğer çalışmalarla uyumludur. Polimerleşme elektrot yüzeyinde film şeklinde karşımıza çıkmış olup döngü sayısı arttıkça yüzeydeki polimer filmin iletkenliği azalmaktadır ve bu durum EIS Nyquist diyagramlarından açıkça görülmektedir. Polimer filmin kaplanmasından önce ve sonra demir redoks çiftinin davranışı CV ile incelenmiş olup, yapılan her bir MIP' in demir redoks çiftine karşı elektrokimyasal duyarlılığı azalmıştır[30-34,72].

Flukonazol bulunan ortamda o-PD' nin polimerleşmesiyle hazırlanan MIP' lerden Flukonazol' un uzaklaştırılmasıyla sensor hazır hale gelmiştir. Hazırlanan MIP' lerin performansı öncelikle demir redoks çiftinin olduğu 0,1M KCl ortamında kontrol edilmiştir. Flukonazol' un değişen konsantrasyonlarına karşı EIS ölçümleri alınmış ve konsantrasyonlara karşı Nyquist diyagramlarından elde edilen direnç değerleri grafiğe geçirilmiştir. Bu değişimlere göre E_0 ve E_2 elektrotları ile yapılan MIP' ler analitik yönden değerlendirmeye değer düzeyde bir performans göstermemiştir. Ancak E_1 elektrodu ile 9, 18 ve 27 döngü ile yapılan MIP' ler için durum farklıdır. 10^{-13} M– 10^{-5} M Flukonazol konsantrasyonlarına karşı EIS cevapları analitik yönden değerlendirilebilir olup bu değişimler grafiklerden rahatça görülmektedir.

5.3. E_1 MIP Sensörlerin Elüasyon ve İnkübasyon İşlemleri

MIP'lerin elue işlemi sensörlerin en önemli basamağını oluşturmaktadır. MIP' ler elue edilirken polimer filminin zarar görmemesi gerekir çünkü zarar gören bir filme

analit tekrar spesifik olarak yerleşemez. Bu durum göz önünde bulundurulduğunda analitin polimer filmi ile kovalent bağ yapması istenmez. Çünkü kovalent bağ kırıldığında analite özel boşluklar zarar görmektedir. Bu yüzden analitin polimer filmine adsorpsiyonu, Van der Waals etkileşimi, London Kuvveti, π - π etkileşimi ve H- bağı ile tutunması tercih edilir. Yani analitin polimere tutunabileceği kadar kuvvetli ve ayrılabilmesi kadar da zayıf etkileşimin olması istenir [20]. Eluasyon işlemi analitin doğasına bağlı olarak gerçekleşir, bu yüzden literürde bir çok yöntem mevcuttur [73-76]. Bu çalışmada eluasyon işlemi için literatüre bağlı olarak birçok yöntem denenmiş ve % 20 etanol içeren 0,1 M asetik asit çözeltisinde bekletmenin, eluasyon için en uygun yöntem olduğuna karar verilmiştir. Bu çözelti içerisinde bekletilen 18 CV döngülü MIP E_1 'e ait zamana karşı R_{ct} değerleri Şekil 4.3.3'de verilmiştir. Bu değişimlere göre 25 dakikaya kadar R_{ct} değerleri azalmış ve 25. dakikada sabitlenmiştir. Bu değişim MIP üzerinde Flukonazol' un ayrılarak uzaklaştığını 25. dakikadan sonra ise MIP üzerindeki ayrılmanın durduğunu ifade eder. Bu işlemten sonra artık Flukonazol yerleşebileceği spesifik boşluklar oluşmaktadır. Bu işlemin ardından elue edilen MIP, 1×10^{-5} M Flukonazol ve 2,5 mM $K_3[Fe(CN)_6]/K_4[Fe(CN)_6]$ içeren 10 mL 0,1 M KCl çözeltisinde bekletilerek belirli süre aralığında EIS ölçümleri aynı çözelti içerisinde alınmış ve bu değişimler Şekil 4.3.4'de ve Şekil 4.3.5'de verilmiştir. Bu değişimlere göre 5 dakika sonunda elue edilen MIP'in Flukonazol ile dolduğu görülmektedir. MIP'in eluasyon işleminden sonra yeniden inkübe edilmesi ve aynı Nyquist eğrilerinin tekrar ortaya çıkması eluasyon işlemin başarılı olduğunu göstermektedir. Ayrıca eluasyonun başarılı olması da Flukonazol' un o-PD polimerine kovalent bağdan daha zayıf etkileşimlerle tutunduğunu göstermektedir [72,77].

5.4. E_1 MIP Performansının BR Tamponu Farklı pH' larda Değerlendirilmesi

Bölüm 4.2'.de yapılan çalışmalarda MIP performansları incelenmiş olup, en iyi performansın E_1 -MIP elektrodu ile sağlandığına karar vermiştir. Demir redoks çiftinin bulunduğu 0,1M KCl çözeltisi içinde bir seri Flukonazol konsantrasyonuna karşı Nyquist eğrilerinden hesaplanan R_{ct} değerlerine karşı değişimler incelendiğinde, konsantrasyonun artmasına bağlı olarak R_{ct} değerleri artmıştır.

Bölüm 4.4.’ de ise E₁-MIP’in BR pH: 4,0, 5,0, 6,0, 7,0 ve 8,0 tamponlarında EIS performansı izlenmiştir. Bu çalışmada her bir pH’ da asetik asit-etanol ortamında elue edilen MIP’ lere BR tamponu ortamında Flukonazol’ un bir seri derişimi ilave edilerek EIS Nyquist diyagramları irdelenmiştir. Flukonazol konsantrasyonlarına karşı, bu diyagramlardan elde edilen R_{ct} değerleri kaydedilmiştir. Şekil 4.4.1’ de BR-tamponu farklı pH’ larda boş MIP’ ler ile 10⁻⁵M Flukonazol varlığındaki doldurulmuş MIP’ lere ait Nyquist diyagramları, Tablo 4.4.1’de ise bu diyagramlardan elde edilen boş ve dolu MIP’ lere ait R_{ct} değerleri ve farkları verilmiştir. Bu verilere göre, MIP içinde tutulan şablon molekülün çıkarılması ve yeniden polimer filmine doldurulması sırasında yük transfer direncindeki farkın en fazla pH=6,0’ da olduğu belirlenmiştir. Analit molekülleri MIP’ den elue olduğunda, Flukonazol için spesifik olan boşluklar elektron aktarımı için kullanılabilir hale geldiğinden yük transferi kolaylaşır ve empedans spektrumunda R_{ct} değeri küçülür. Analitin bu boşluklara tekrar girmesiyle R_{ct} değerleri tekrar büyür [77]. Elektrokimyasal empedans spektroskopisi ile elde edilen R_{ct} değerinin konsantrasyona bağlı değişim göstermesi sensör olarak kullanımını sağlamaktadır [78]. Dolu ve boş MIP’ deki R_{ct} farkının büyük olması konsantrasyon değişimlerinin daha net izlenebileceği anlamını taşımaktadır. Bu yüzden pH=6,0 optimum çalışma pH’ sı olarak seçilmiştir. Şekil 4.4.3.’de BR tamponu pH=6,0 Flukonazol’ a ait kalibrasyon eğrisi verilmiştir. 10⁻¹³M–10⁻⁵M konsantrasyon aralığında R²=0,983 değişimi ile MIP sensörünün analitik çalışma performansı klasik voltametrik ölçümlerden yüksek bulunmuştur.

5.5. E₁-MIP Performansının PBS Ortamında Değerlendirilmesi

PBS tamponu biyokimyasal moleküllerin ve ilaç etken maddelerinin analizleri için oldukça öneme sahiptir [69,77]. Çünkü hücre içi sıvıda fosfat miktarı oldukça yüksek olup pH değerinin ayarlanmasında rol oynar. pKa= 6,80 değeri fizyolojik pH’ ya çok yakındır. Bölüm 4.5.’ de E₁-MIP’in PBS ortamı pH= 7,2’ de gösterdiği performans EIS ile izlenmiş ve elde edilen datalar grafiğe geçirilmiştir. Bu değişimlere göre, regresyon değeri de göz önünde bulundurulduğunda, E₁-MIP performansı BRT tamponunda olduğu gibi fosfat tamponu ortamında da etkin bir şekilde çalıştığı görülmüştür.

5.6. Bu Çalışmanın Literatürdeki Yeri

Teorik bölümde de bahsedildiği üzere Flukonazol ilaç etken maddesinin vücuttaki önemi göz önünde bulundurulduğunda tayini de ayrıca önem arz kazanmaktadır. Tablo 5.' de Flukonazol' un tayin yöntemleri ve tayin sınırları verilmektedir.

Tablo 5. Flukonazol tayin yöntemlerinin kıyaslanması

Yöntem	Çalışma aralığı	En düşük tayin limiti	Referans
Gaz kromatografisi	0,01–0,15 µg/mL	50 ng/mL	Debruyne et al., 1988 [52]
HPLC	200–10,000 ng/mL	200 ng/mL	Wattananat ve Akarawut (2005) [53]
Anodik Voltametri	48,0 – 250,0 µg /mL	6,3 µg/mL	Gill ve arkadaşları (2011) [11]
Diferansiyel Puls Voltametrisi	76,5 -105683 µg/L	24,48 µg/mL	Zad ve arkadaşları (2018) [2]
UV Spektroskopisi	122–450 µg/L	4,37 µg/mL	Göger ve Enien (2001) [50]
MIP/İmpedimetri	0,03pg/mL – 3 µg /mL	< 0,1 pg/mL	Bu Çalışma

KAYNAKLAR

- [1] Wattananat, T., & Akarawut, W. (2006). Validated HPLC method for the determination of fluconazole in human plasma. *Biomedical Chromatography*, 20(1), 1-3.
- [2] Zad, Z. R., Davarani, S. S. H., Taheri, A., & Bide, Y. (2018). A yolk shell Fe₃O₄@ PA-Ni@ Pd/Chitosan nanocomposite-modified carbon ionic liquid electrode as a new sensor for the sensitive determination of fluconazole in pharmaceutical preparations and biological fluids. *Journal of Molecular Liquids*, 253, 233-240.
- [3] Manzoor, S., Buffon, R., & Rossi, A. V. (2015). Molecularly imprinted solid phase extraction of fluconazole from pharmaceutical formulations. *Talanta*, 134, 1-7.
- [4] Galgiani, J. N. (1990). Fluconazole, a new antifungal agent. *Annals of internal medicine*, 113(3), 177-179.
- [5] Porta, V., Chang, K. H., & Storpirtis, S. (2005). Evaluation of the bioequivalence of capsules containing 150 mg of fluconazole. *International journal of pharmaceutics*, 288(1), 81-86.
- [6] Öncel, S., & Keçeli, S. A. (2018). Flukonazol. *Mantar Dergisi*, 9(1), 67-75.
- [7] Force R. W. Fluconazole concentrations in breast milk, *Pediatr. Infect. Dis. J.*, 14(3):235-236 (1995).
- [8] Kisgen J., Lippincott Illustrated Reviews: Pharmacology 6th edition, Wolters Kluwer, Hong Kong (2015).
- [9] Hardman, J. G.; Gilman, A. G.; Limbird, L. E., eds.; Goodman and Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics, 10th ed., Mc-Graw Hill: New York, NY, 2005.
- [10] Rang, H. P.; Dale, M. M.; Ritter, J. M.; Flower, R. J.; Pharmacology, 6th ed., Churchill Livingstone, Elsevier: London, 2008.
- [11] Gil, É. D. S., Cordeiro, D. D., Matias, A. E., & Serrano, S. H. (2011). Electrochemical behavior and determination of fluconazole. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 22(4), 767-771.

- [12] Hillberg, A. L., Brain, K. R., & Allender, C. J. (2005). Molecular imprinted polymer sensors: implications for therapeutics. *Advanced drug delivery reviews*, 57(12), 1875-1889.
- [13] Hulanicki, A., Glab, S., & Ingman, F. O. L. K. E. (1991). Chemical sensors: definitions and classification. *Pure and applied chemistry*, 63(9), 1247-1250.
- [14] Kröger, S., Turner, A. P., Mosbach, K., & Haupt, K. (1999). Imprinted polymer-based sensor system for herbicides using differential-pulse voltammetry on screen-printed electrodes. *Analytical Chemistry*, 71(17), 3698-3702.
- [15] Haupt, K., & Mosbach, K. (2000). Molecularly imprinted polymers and their use in biomimetic sensors. *Chemical reviews*, 100(7), 2495-2504.
- [16] Dickert, F. L., & Hayden, O. (1999). Imprinting with sensor development—On the way to synthetic antibodies. *Fresenius' journal of analytical chemistry*, 364(6), 506-511.
- [17] Piletsky, S. A., Turner, N. W., & Laitenberger, P. (2006). Molecularly imprinted polymers in clinical diagnostics—Future potential and existing problems. *Medical engineering & physics*, 28(10), 971-977.
- [18] Wulff, G. (1995). Molecular imprinting in cross-linked materials with the aid of molecular templates a way towards artificial antibodies. *Angewandte Chemie International Edition in English*, 34(17), 1812-1832.
- [19] Andersson, L. I., Müller, R., Vlatakis, G., & Mosbach, K. (1995). Mimics of the binding sites of opioid receptors obtained by molecular imprinting of enkephalin and morphine. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 92(11), 4788-4792.
- [20] Lee, S. W., & Kunitake, T. (Eds.). (2012). *Handbook of molecular imprinting: advanced sensor applications*. CRC press.
- [21] Dineen, E., Schwan, T. C., & Wilson, C. L. (1949). Electrolytic Reduction of Organic Compounds: V. Cathodic Initiation of Vinyl Polymerization in Acrylic Acid, Ethyl Acrylate, and Methacrylate. Carbonyl Reduction in Crotonic Acid. *Journal of The Electrochemical Society*, 96(4), 226.
- [22] Kutner, W., & Sharma, P. S. (Eds.). (2018). *Molecularly imprinted polymers for analytical chemistry applications (Vol. 28)*. Royal Society of Chemistry.
- [23] Samanta, S., Roy, P., & Kar, P. (2015). Influence of pH of the Reaction Medium on the Structure and Property of Conducting Poly (o-Phenylenediamine). *Materials Today: Proceedings*, 2(4-5), 1301-1308.

- [24] Zhai, W., Tian, X., Yan, Y., Xu, Y., Zhao, Y., & Liu, Y. (2013). Preparation and characterization of a poly-o-phenylenediamine film modified glassy carbon electrode as a H₂O₂ sensor. *Canadian Journal of Chemistry*, 91(11), 1077-1084.
- [25] Bilal, S., & Holze, R. (2006). Electrochemical copolymerization of o-toluidine and o-phenylenediamine. *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 592(1), 1-13.
- [26] Prună, A., & Brânzoi, F. (2012). Electrochemical activity and microscopy of electrosynthesised poly (o-phenylenediamine) nanotubes. *Journal of Polymer Research*, 19(6), 1-8.
- [27] Malitesta, C., Losito, I., & Zambonin, P. G. (1999). Molecularly imprinted electrosynthesized polymers: new materials for biomimetic sensors. *Analytical Chemistry*, 71(7), 1366-1370.
- [28] Turco, A., Mazzotta, E., Di Franco, C., Santacroce, M. V., Scamarcio, G., Monteduro, A. G., & Malitesta, C. (2016). Templateless synthesis of polypyrrole nanowires by non-static solution-surface electropolymerization. *Journal of Solid State Electrochemistry*, 20(8), 2143-2151.
- [29] Malitesta, C., Mazzotta, E., Picca, R. A., Poma, A., Chianella, I., & Piletsky, S. A. (2012). MIP sensors—the electrochemical approach. *Analytical and bioanalytical chemistry*, 402(5), 1827-1846.
- [30] Li, H., Guan, H., Dai, H., Tong, Y., Zhao, X., Qi, W., ... & Xu, G. (2012). An amperometric sensor for the determination of benzophenone in food packaging materials based on the electropolymerized molecularly imprinted poly-o-phenylenediamine film. *Talanta*, 99, 811-815.
- [31] Zheng, X., Lin, R., Zhou, X., Zhang, L., & Lin, W. (2012). Electrochemical sensor of 4-aminobutyric acid based on molecularly imprinted electropolymer. *Analytical Methods*, 4(2), 482-487.
- [32] Wang, Q., Paim, L. L., Zhang, X., Wang, S., & Stradiotto, N. R. (2014). An Electrochemical Sensor for Reducing Sugars Based on a Glassy Carbon Electrode Modified with Electropolymerized Molecularly Imprinted Poly-o-phenylenediamine Film. *Electroanalysis*, 26(7), 1612-1622.
- [33] Kor, K., & Zarei, K. (2016). Development and characterization of an electrochemical sensor for furosemide detection based on electropolymerized molecularly imprinted polymer. *Talanta*, 146, 181-187.
- [34] Yan, X., Deng, J., Xu, J., Li, H., Wang, L., Chen, D., & Xie, J. (2012). A novel electrochemical sensor for isocarboxiphos based on a glassy carbon

electrode modified with electropolymerized molecularly imprinted terpolymer. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 171, 1087-1094.

- [35] Karimian, N., Vagin, M., Zavar, M. H. A., Chamsaz, M., Turner, A. P., & Tiwari, A. (2013). An ultrasensitive molecularly-imprinted human cardiac troponin sensor. *Biosensors and Bioelectronics*, 50, 492-498.
- [36] Yan, X., Deng, J., Xu, J., Li, H., Wang, L., Chen, D., & Xie, J. (2012). A novel electrochemical sensor for isocarbophos based on a glassy carbon electrode modified with electropolymerized molecularly imprinted terpolymer. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 171, 1087-1094.
- [37] Prună, A., & Brânzoi, F. (2012). Electrochemical activity and microscopy of electrosynthesised poly (o-phenylenediamine) nanotubes. *Journal of Polymer Research*, 19(6), 1-8.
- [38] Wang, Q., Paim, L. L., Zhang, X., Wang, S., & Stradiotto, N. R. (2014). An Electrochemical Sensor for Reducing Sugars Based on a Glassy Carbon Electrode Modified with Electropolymerized Molecularly Imprinted Poly-o-phenylenediamine Film. *Electroanalysis*, 26(7), 1612-1622.
- [39] Liu, P., Zhang, X., Xu, W., Guo, C., & Wang, S. (2012). Electrochemical sensor for the determination of brucine in human serum based on molecularly imprinted poly-o-phenylenediamine/SWNTs composite film. *Sensors and Actuators B: chemical*, 163(1), 84-89.
- [40] Zhang, Z., Hu, Y., Zhang, H., & Yao, S. (2010). Novel layer-by-layer assembly molecularly imprinted sol-gel sensor for selective recognition of clindamycin based on Au electrode decorated by multi-wall carbon nanotube. *Journal of colloid and interface science*, 344(1), 158-164.
- [41] Shekarchizadeh, H., Ensafi, A. A., & Kadivar, M. (2013). Selective determination of sucrose based on electropolymerized molecularly imprinted polymer modified multiwall carbon nanotubes/glassy carbon electrode. *Materials Science and Engineering: C*, 33(6), 3553-3561.
- [42] Bottari, F., Moro, G., Slegers, N., Florea, A., Cowen, T., Piletsky, S., & De Wael, K. (2020). Electropolymerized o-Phenylenediamine on Graphite Promoting the Electrochemical Detection of Nafcillin. *Electroanalysis*, 32(1), 135-141.
- [43] Karimian, N., Vagin, M., Zavar, M. H. A., Chamsaz, M., Turner, A. P., & Tiwari, A. (2013). An ultrasensitive molecularly-imprinted human cardiac troponin sensor. *Biosensors and Bioelectronics*, 50, 492-498.
- [44] Malitesta, C., Mazzotta, E., Picca, R. A., Poma, A., Chianella, I., & Piletsky, S. A. (2012). MIP sensors—the electrochemical approach. *Analytical and bioanalytical chemistry*, 402(5), 1827-1846.

- [45] Torkashvand, M., Gholivand, M. B., & Taherkhani, F. (2015). Fabrication of an electrochemical sensor based on computationally designed molecularly imprinted polymer for the determination of mesalamine in real samples. *Materials Science and Engineering: C*, 55, 209-217.
- [46] Yan, X., Deng, J., Xu, J., Li, H., Wang, L., Chen, D., & Xie, J. (2012). A novel electrochemical sensor for isocarbophos based on a glassy carbon electrode modified with electropolymerized molecularly imprinted terpolymer. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 171, 1087-1094.
- [47] Zhao, F., Li, X., Xu, W., Zhang, W., & Ying, X. (2014). An electrochemical sensor for l-tryptophan using a molecularly imprinted polymer film produced by copolymerization of o-phenylenediamine and hydroquinone. *Analytical Letters*, 47(10), 1712-1725.
- [48] Karimian, N., Zavar, M. H. A., Chamsaz, M., Turner, A. P., & Tiwari, A. (2013). On/off-switchable electrochemical folic acid sensor based on molecularly imprinted polymer electrode. *Electrochemistry communications*, 36, 92-95.
- [49] Atay, O., & Selçk, F. (1996). Quantitative determination of fluconazole by infrared spectrophotometry. *Analytical letters*, 29(12), 2163-2176.
- [50] Göger, N. G., & Aboul-Enein, H. Y. (2001). Quantitative determination of fluconazole in capsules and IV solutions by UV spectrophotometric methods. *Analytical letters*, 34(12), 2089-2098.
- [51] Botello, J. C., & Pérez-Caballero, G. (1995). Spectrophotometric determination of diclofenac sodium with methylene blue. *Talanta*, 42(1), 105-108.
- [52] Debruyne, D., Ryckelynck, J. P., Bigot, M. C., & Moulin, M. (1988). Determination of fluconazole in biological fluids by capillary column gas chromatography with a nitrogen detector. *Journal of pharmaceutical sciences*, 77(6), 534-535.
- [53] Wattananat, T., & Akarawut, W. (2006). Validated HPLC method for the determination of fluconazole in human plasma. *Biomedical Chromatography*, 20(1), 1-3.
- [54] Inagaki K, Takagi J, Lor E, Okamoto MP and Gill MA. Determination of fluconazole in human serum by solid-phase extraction and reversed-phase high-performance liquid chromatography. *Therapeutic Drug Monitoring* 1992; 14: 306–311.
- [55] Koks CHW, Meenhorst PL, Hillebrand MJX, Bult A and Beijnen JH. Pharmacokinetics of fluconazole in saliva and plasma after administration of

an oral suspension and capsules. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 1996; 40: 1935–1937.

- [56] Cociglio M, Brandissou S, Alric R and Bressolle F. Highperformance liquid chromatographic determination of fluconazole in plasma. *Journal of Chromatography B* 1996; 686: 11–17.
- [57] Jebakumar Immanuel Edison, T., & Sethuraman, M. G. (2013). Electrochemical investigation on adsorption of fluconazole at mild steel/HCl acid interface as corrosion inhibitor. *International Scholarly Research Notices*, 2013.
- [58] Dilasari, B., Nugraha, A. A., Sari, M. P., & Soepriyanto, S. (2021). Study Of Ketoconazole And Fluconazole As Organic Inhibitors For Mild Steel In Chloride And Carbonate-Containing Solution. *Journal of Chemical Technology and Metallurgy*, 56(3), 660-666.
- [59] Bustos-Terrones, V., Serratos, I. N., Vargas, R., Landeros-Rivera, B. C., Ramos, E., Soto-Estrada, A. M., & Bustos-Terrones, Y. A. (2021). Revealing the anti-corrosion mechanism of fluconazole by experimental and theoretical studies. *Materials Science and Engineering: B*, 263, 114844.
- [60] Toirac, B., Garcia-Casas, A., Cifuentes, S. C., Aguilera-Correa, J. J., Esteban, J., Mediero, A., & Jiménez-Morales, A. (2020). Electrochemical characterization of coatings for local prevention of *Candida* infections on titanium-based biomaterials. *Progress in Organic Coatings*, 146, 105681.
- [61] Lunte, C. E.; Osbourn, D. In *Electrochemical Detection for Pharmaceutical Analysis in Encyclopedia of Pharmaceutical Technology*; Swarbrick, J.; Boylan, J. C., eds.; Informa Healthcare: New York, 2007.
- [62] Knoth, H., Petry, T., & Gärtner, P. (2012). Differential pulse polarographic investigation of the antifungal drugs itraconazole, ketoconazole, fluconazole and voriconazole using a dropping mercury electrode. *Die Pharmazie-An International Journal of Pharmaceutical Sciences*, 67(12), 987-990.
- [63] Akanda, M. R., Sohail, M., Aziz, M. A., & Kawde, A. N. (2016). Recent advances in nanomaterial-modified pencil graphite electrodes for electroanalysis. *Electroanalysis*, 28(3), 408-424.
- [64] McCreery, R. L. (2008). Advanced carbon electrode materials for molecular electrochemistry. *Chemical reviews*, 108(7), 2646-2687.
- [65] Gao, W., Song, J., & Wu, N. (2005). Voltammetric behavior and square-wave voltammetric determination of trepibutone at a pencil graphite electrode. *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 576(1), 1-7.

- [66] Yardim, Y. (2011). Cathodic adsorptive stripping voltammetry of abscisic acid using pencil-lead bismuth-film electrode. *Reviews in Analytical Chemistry*, 30(1), 37-43.
- [67] Wang, J., Kawde, A. N., & Sahlin, E. (2000). Renewable pencil electrodes for highly sensitive stripping potentiometric measurements of DNA and RNA. *Analyst*, 125(1), 5-7.
- [68] Kamyabi, M. A., & Hajari, N. (2017). Low potential and non-enzymatic hydrogen peroxide sensor based on copper oxide nanoparticle on activated pencil graphite electrode. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 28, 808-818.
- [69] Kohakade, R. B., Kumar, E. S., Gaikwad, R. W., Raghu, S., & Kalaivani, R. A. Electrochemical Surface Oxidation Of Graphite Electrode And Its Superior Sensitive Platform For Electrochemical Sensors.
- [70] Scott, K., & Taama, W. M. (1999). An investigation of anode materials in the anodic oxidation of sulphur dioxide in sulphuric acid solutions. *Electrochimica acta*, 44(19), 3421-3427.
- [71] Erdem, A., Eksin, E., Isin, D., & Polat, D. (2017). Graphene oxide modified chemically activated graphite electrodes for detection of microRNA. *Electroanalysis*, 29(5), 1350-1358.
- [72] Yaman, Y. T., Bolat, G., Abaci, S., & Saygin, T. B. (2021). Peptide nanotube functionalized molecularly imprinted polydopamine based single-use sensor for impedimetric detection of malathion. *Analytical and bioanalytical chemistry*, 1-14.
- [73] Ellwanger, A., Berggren, C., Bayoudh, S., Crecenzi, C., Karlsson, L., Owens, P. K., & Sellergren, B. (2001). Evaluation of methods aimed at complete removal of template from molecularly imprinted polymers. *Analyst*, 126(6), 784-792.
- [74] Zahedi, P., Ziaee, M., Abdouss, M., Farazin, A., & Mizaikoff, B. (2016). Biomacromolecule template-based molecularly imprinted polymers with an emphasis on their synthesis strategies: a review. *Polymers for advanced technologies*, 27(9), 1124-1142.
- [75] Wierzbicka, C., Torsetnes, S. B., Jensen, O. N., Shinde, S., & Sellergren, B. (2017). Hierarchically templated beads with tailored pore structure for phosphopeptide capture and phosphoproteomics. *RSC advances*, 7(28), 17154-17163.
- [76] Culver, H. R., Steichen, S. D., & Peppas, N. A. (2016). A closer look at the impact of molecular imprinting on adsorption capacity and selectivity for protein templates. *Biomacromolecules*, 17(12), 4045-4053.

- [77] Cheng-Jun, Z., Xiong-Hui, M. A., & Jian-Ping, L. I. (2017). An insulin molecularly imprinted electrochemical sensor based on epitope imprinting. *Chinese Journal of Analytical Chemistry*, 45(9), 1360-1366.
- [78] Bolat, G., Yaman, Y. T., & Abaci, S. (2019). Molecularly imprinted electrochemical impedance sensor for sensitive dibutyl phthalate (DBP) determination. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 299, 127000.



ÖZGEÇMİŞ

Küba UÇARLI, ilk, orta ve lise eğitimini Samsun’da tamamladı. 2003 yılında Namık Kemal Lisesi’nden mezun oldu. 2009 yılında başladığı Ondokuz Mayıs Üniversitesi Kimya Bölümü’nü 2014 yılında bitirdi. 2018 yılında Giresun Üniversitesi Kimya Anabilim Dalında yüksek lisans eğitimine başladı.



