T.C.

AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ

İLETKEN NANOLİFLERİN ÇEŞİTLİ YÖNTEMLERLE ÜRETİLMESİ VE AMPEROMETRİK BİYOSENSÖRLERİN GELİŞTİRİLMESİ

Merih Zeynep ÇETİN

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

KİMYA

ANABİLİM DALI

DOKTORA TEZİ

ŞUBAT 2022

ANTALYA

T.C.

AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ

İLETKEN NANOLİFLERİN ÇEŞİTLİ YÖNTEMLERLE ÜRETİLMESİ VE AMPEROMETRİK BİYOSENSÖRLERİN GELİŞTİRİLMESİ

Merih Zeynep ÇETİN

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

KİMYA

ANABİLİM DALI

DOKTORA TEZİ

ŞUBAT 2022

ANTALYA

T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

İLETKEN NANOLİFLERİN ÇEŞİTLİ YÖNTEMLERLE ÜRETİLMESİ VE AMPEROMETRİK BİYOSENSÖRLERİN GELİŞTİRİLMESİ

Merih Zeynep ÇETİN

KİMYA

ANABİLİM DALI

DOKTORA TEZİ

Bu tez 08/02/2022 tarihinde jüri tarafından oy birliği ile kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Pınar ÇAMURLU

Prof. Dr. Elif ŞAHİN IŞGIN

Prof. Dr. Metin AK

Doç. Dr. Önder TOPEL

Doç. Dr. Edip BAYRAM

ÖZET

İLETKEN NANOLİFLERİN ÇEŞİTLİ YÖNTEMLERLE ÜRETİLMESİ VE AMPEROMETRİK BİYOSENSÖRLERİN GELİŞTİRİLMESİ

Merih Zeynep ÇETİN

Doktora Tezi, Kimya Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Pınar Çamurlu

Şubat 2022; 190 sayfa

Biyosensörler biyolojik bir yanıtı sinyale çeviren analitik cihazlar olup, glukoz ve fenolik maddeler gibi insan sağlığına etkileri olan maddelerin belirlenmesinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Biyosensörler genellikle, polimer film halindeki matrislere biyoreseptörlerin hapsedilmesiyle hazırlanmaktadır ve biyoreseptör ile analit arasındaki etkileşimin artması biyosensör performansını da arttırmaktadır.

Son yıllarda, geniş yüzey alanlarından kaynaklanan üstün fiziksel ve elektrokimyasal özellikleri nedeniyle iletken nanoliflerin geliştirilmesi ve bunların sensör uygulamalarında kullanılmaları dikkat çekmektedir. İletken polimerler arasında yüksek iletkenlikleri, kararlılıkları, kolay elde edilebilmeleri ve ince film oluşturabilme yetenekleri sebebi ile poli(3,4-etilendioksitiyofen) (PEDOT)'un ve polipirol (PPy)'un biyosensör uygulamalarında kullanımı oldukça yaygındır.

Bu tezde PEDOT ve PPy nanoliflerinin elde edilmesi, glukoz ve polifenol biyosensörlerin hazırlanması amaçlanmıştır. Bu noktada nanoliflerin yüksek gözenekli yapıları sebebi ile büyük immobilizasyon alanları sağlayarak biyoreseptörlerle analit arasındaki etkileşimi arttırması ve bu sayede iletken nanolif tabanlı biyosensörlerin yüksek duyarlılık, düşük tespit sınırı ve kısa tepki süresine sahip olmaları hedeflenmiştir.

PEDOT ve PPy nanolif tabanlı biyosensörlerin üretimi için düşük maliyetli ve basit yöntemler tercih edilmiştir. Elektrospin yöntemi ile hazırlanan poliakrilonitril ve poliakrilonitril/çok duvarlı karbon nanotüp (MWCNT) nanolif matları üzerinde EDOT ve pirolün kimyasal buhar polimerizasyonu ile iletken nanolifler üretilmiştir. Nanolifler SEM, FTIR, döngüsel voltametri yöntemleri ile karakterize edilmiştir.

Amperometrik glukoz ve polifenol biyosensörleri, glukoz oksidaz (GOx) ve polifenol oksidazın (PPO) glutaraldehit yardımıyla nanolifler üzerine hapsedilmesiyle hazırlanmış ve biyosensörlerin analitik perfomansları değerlendirilmiştir. Bu çalışmalarda enzim miktarı, MWCNT etkisi, takip edilen bileşen değiştirilmesi gibi çeşitli faktörlerin biyosensörlerin analitik performansı üzerine etkileri incelenmiştir. Hazırlanan her bir biyosensör için duyarlılık, lineer aralık, tespit sınırı, Km ve I_{max} değerleri belirlenmiş ve tüm biyosensörlerin kararlılıkları araştırılmıştır. Ayrıca, bazı biyosensörler için raf ömrü ve gerçek numune analizleri de gerçekleştirilmiştir. Gerçek numune analizleri yapılırken meyve suyunda glukoz tayini için glukoz biyosensörleri, musluk suyunda ve endüstriyel suda katekol tayini için polifenol biyosensörleri kullanılmıştır.

Enzimatik reaksiyon sonucu oluşan H_2O_2'in yükseltgenmesinin takip edildiği çalışmalarda; PEDOT-MWCNT-NFs/GOx-2 ve Pt/PPy-MWCNT-NFs/GOx-1 yüksek duyarlılık (92.24 ve 81.74 µA/mM.cm^2), düşük LOD (7.7 ve 2.4 µM) ve düşük Km (2.21 mM ve 1.13 mM) gösterdikleri için PEDOT ve PPy nanolif tabanlı glukoz biyosensörleri içindeki en iyi performansa sahip biyosensörler olarak seçilmiştir. Polifenol biyosensörlerine ait çalışmalar incelendiğinde ise Pt/PEDOT-MWCNT-NFs/PPO-2 ve Pt/PPy-MWCNT-NFs/PPO-2 yüksek duyarlılık (7042.2 ve 10015 µA/mM.cm^2), düşük LOD (0.114 ve 0.404 µM) ve düşük Km (0.007 mM ve 0.013 mM) gösterdikleri için PEDOT ve PPy nanolif tabanlı polifenol biyosensörleri içindeki en iyi performansa sahip biyosensörler olarak seçilmiştir. Tez kapsamında hazırlanan tüm nanolif tabanlı biyosensörler incelendiğinde, sensör performanslarının literatürdeki birçok çalışmadan daha iyi olduğu belirlenmiştir.

ANAHTAR KELİMELER: Amperometrik biyosensörler, Elektrospining, Enzim, Glukoz, Glukoz oksidaz, İletken nanolif, Katekol, Kimyasal polimerizasyon, Polifenol oksidaz

JÜRİ: Prof. Dr. Pınar ÇAMURLU

Prof. Dr. Elif ŞAHİN IŞGIN

Prof. Dr. Metin AK

Doç. Dr. Önder TOPEL

Doç. Dr. Edip BAYRAM

ABSTRACT

MANUFACTURING OF CONDUCTIVE NANOFIBERS BY VARIOUS METHODS AND DEVELOPMENT OF AMPEROMETRIC BIOSENSORS

Merih Zeynep ÇETİN

PhD. Thesis in CHEMISTRY

Supervisor: Prof. Dr. Pınar ÇAMURLU

February 2022; 190 pages

Biosensors are analytical devices that convert a biological response into a signal and are widely used in the determination of substances that have effects on human health, such as glucose and phenolic substances. Biosensors are generally prepared by immobilizing bioreceptors in polymer film matrices and increasing the interaction between the bioreceptor and the analyte also increases the biosensor performance.

Recently, the development of conducting nanofibers and their utilization in sensors has drawn attention due to their remarkable physical and electrochemical features acquired by their wide surface area. Among conducting polymers poly(3,4-ethylenedioxythiophene) (PEDOT) and polypyrrole (PPy) are widely used in biosensor applications due to their high conductivity and their ability to create thin films.

In this thesis, we aimed to obtain PEDOT and PPy nanofibers and to utilize them in biosensors. Here in, it is intended to increase the interaction between the bioreceptors and the analyte by providing large immobilization areas due to the highly porous structure of the nanofibers, and thus, the conductive nanofiber-based biosensors have high sensitivity, low detection limit (LOD) and short response time.

Low-cost and simple methods have been preferred for the fabrication of PEDOT and PPy nanofiber-based biosensors. Conductive nanofibers were produced by chemical vapor polymerization of EDOT and pyrrole on polyacrylonitrile and polyacrylonitrile/multi-walled carbon nanotube (MWCNT) nanofiber mats prepared by electrospinning method. Nanofibers were characterized by SEM, FTIR, cyclic voltammetry methods.

Amperometric glucose and polyphenol biosensors were designed by immobilization of glucose oxidase and polyphenol oxidase on the nanofibers via glutaraldehyde and the analytical performances of the biosensors were evaluated. In these studies, the effect of various factors such as amount of enzyme , effect of MWCNT, and change of tracked component on the analytical performance of biosensors were investigated. Sensitivity, linear range, LOD, K_m and I_{max} values were determined for each biosensor and the stability of all biosensors was investigated. In addition, shelf life and real sample analyzes were achieved for some of the biosensors. While performing real sample analysis, glucose biosensors were used for glucose determination in fruit juice,

and polyphenol biosensors were used for catechol determination in tap water and industrial water.

In studies where the oxidation of H_2O_2, is followed; it was found that PEDOT-MWCNT-NFs/GOx-2 and Pt/PPy-MWCNT-NFs/GOx-1 have highest sensitivity (92.24 and 81.74 μA/mM.cm2), low LOD (7.7 and 2.4 μM), and low Km (2.21 mM and 1.13 mM), they were selected as the best performing biosensors among the PEDOT and PPy nanofiber-based glucose biosensors. When polyphenol biosensors are examined, Pt/PEDOT-MWCNT-NFs/PPO-2 and Pt/PPy-MWCNT-NFs/PPO-2 have high sensitivity (7042.2 and 10015 μA/mM.cm2), low LOD (0.114 and 0.404 μM) and low Km (0.007 mM and 0.013 mM), they were selected as the best performing biosensors among PEDOT and PPy nanofiber-based polyphenol biosensors. Examination of nanofiber-based biosensor created in this thesis demonstrates that the performance of sensors was found to be better than most studies in the literature.

KEYWORDS: Amperometric biosensor, Catechol, Chemical polymerization, Conducting nanofibers, Electrospinning, Enzyme, Glucose, Glose oxidase, Polyphenol oxidase

COMMITTEE: Prof. Dr. Pınar ÇAMURLU

Prof. Dr. Elif ŞAHİN IŞGIN

Prof. Dr. Metin AK

Assoc. Prof. Dr. Önder TOPEL

Assoc. Prof. Dr. Edip BAYRAM

ÖNSÖZ

Biyosensörler, biyolojik bir yanıtı elektriksel bir sinyale dönüştürebilen analitik cihazlardır ve insan sağlığına olumsuz etkileri olan bileşiklerin analizine olanak sağlamaktadır. Yapılan bu doktora çalışması ile glukoz ve fenolik bileşiklerin tayinine imkan veren hassasiyeti yüksek biyosensörlerin hazırlanması amaçlanmıştır. Bu nedenle, iletken PEDOT ve PPy nanolifleri ile karbon nanotüplü ve karbon nanotüpsüz biyosensörler tasarlanmış olup, biyosensörlerin özellikleri arasındaki ilişkiler incelenmiştir.

Doktora çalışmalarım boyunca, bilgi ve deneyimi ile beni yönlendiren, her türlü destek ve imkânı sağlayıp bana yol gösteren çok değerli danışman hocam Prof. Dr. Pınar ÇAMURLU'ya en içten teşekkürlerimi sunarım.

Bu süreçte, hiçbir zaman yardımını esirgemeden elinden gelenin fazlasını yaparak, her zaman yanımda olduğunu hissettirip, sağladığı sonsuz destekten dolayı Neşe GÜVEN'e tüm kalbimle çok teşekkür ederim.

Hayatım boyunca karşılıksız sevgileriyle, desteklerini esirgemeden, benim için her türlü fedakârlığı gösteren başta canım annem Esengül AVCI olmak üzere, babam Mehmet AVCI ve ablam Ebru AVCI'ya tüm kalbimle çok teşekkür ederim.

Bugünleri görmesini çok istediğim, kalbi her şeyden temiz olan rahmetli kayınpederim canım Mustafa ÇETİN'e ve her zaman bana destek olan çok değerli kayınvalidem Huriye ÇETİN'e çok teşekkür ederim.

20 yıldır hayatımın her anında benimle olan, bana her zaman güvenip destek olan, canım eşim Yusuf ÇETİN'e tüm kalbimle sonsuz teşekkür ederim.

Doktora tezimi; bu süreçte en çok fedakarlığı yapıp, kahrımı çeken eşim Yusuf ÇETİN, annem Esengül Avcı ve canım oğlum Aren ÇETİN'e ithaf ederim.

İÇİNDEKİLER

ÖZET……i

ABSTRACT……iii

ÖNSÖZ……v

AKADEMİK BEYAN……..xiii

SİMGELER VE KISALTMALAR...……xiv

ŞEKİLLER DİZİNİ……xvi

ÇİZELGELER DİZİNİ.....xxvii

1. GİRİŞ 1

1.1. İletken Polimerler.....1

1.1.1. İletken polimerlerin sentezi 2

1.1.1.1. Kimyasal polimerizasyon 2

1.1.1.2. Elektrokimyasal polimerizasyon 3

1.1.2. Polipirol (PPy).....3

1.1.3. Poli (3,4-etilendioksitiyofen) (PEDOT) 4

1.1.4. İletken polimerlerin kullanım alanları 5

1.2. Nanolifler 6

1.2.1. Elektrospinning yöntemi 6

1.2.1.1. Çözelti parametreleri 7

1.2.1.2. İşlem parametreleri 8

1.2.2. İletken nanoliflerin uygulama alanları.....9

1.3. Biyosensörler 10

1.3.1. Biyosensörlerin yapısı 11

1.3.1.1. Biyoreseptörler 11

1.3.1.2. Dönüştürücüler 12

1.3.2. Biyosensör türleri 12

1.3.2.1. Optik biyosensörler 12
1.3.2.2. Kalorimetrik (termal) biyosensörler 12
1.3.2.3. Piezoelektrik biyosensörler 12
1.3.2.4. Elektrokimyasal biyosensörler 12
1.3.3. Amperometrik biyosensörlerin analitik performanslarının değerlendirilmesi 14
1.3.3.1. Duyarlılık ve seçicilik 14
1.3.3.2. Tespit sınırı (LOD) ve tayin aralığı 14
1.3.3.3. Kullanım kararlılığı ve raf ömrü 15
1.3.4. Enzimler 15
1.3.4.1. Glukoz Oksidaz (GOx) enzimi 16
1.3.4.2. Polifenol oksidaz (PPO) enzimi 16
1.3.4.3. Enzim kinetiği 17
1.3.5. Enzim immobilizasyon yöntemleri 20
1.3.5.1. Adsorpsiyon yöntemi 20
1.3.5.2. Hapsetme yöntemi 20
1.3.5.3. Çapraz bağlama yöntemi 21
1.3.5.4. Kapsülleme yöntemi 21
1.3.5.5. Kovalent bağlama yöntemi 21
2. KAYNAK TARAMASI 23
3. MATERYAL VE METOT 31
3.1. Kullanılan Kimyasallar 31
3.2. Kullanılan Cihaz ve Malzemeler 31
3.3. Hücre ve Elektrotlar 31
3.4. Poliakrilonitril (PAN) Nanoliflerinin Elde Edilmesi 32
3.5. PAN-MWCNT Nanoliflerinin Elde Edilmesi 32
3.6. İletken Nanoliflerin Elde Edilmesi 32

3.7. İletken Nanoliflerin Elektrokimyasal Analizi 33
3.8. Biyosensörlerin Hazırlanması 33
3.9. Ölçüm Tekniği 34
3.10. Çalışma Parametrelerinin Belirlenmesi 35
3.10.1. Çalışma potansiyeli ve pH etkisi 35
3.10.2. Enzim miktarının etkisi 36
3.10.3. Çok duvarlı karbon nanotüp (MWCNT) etkisi 36
3.11. Biyosensörlerin Analitik Performanslarının Değerlendirilnesi 37
3.11.1. Tespit sınırı (LOD) 37
3.11.2. Enzim elektrotlarının kullanım kararlılığı 37
3.11.3. Biyosensörlerin raf ömrünün belirlenmesi 37
3.11.4. Girişim etkisinin incelenmesi 37
3.11.5. Gerçek numune analizi 37
4. BULGULAR 39
4.1. PAN Nanolifleri ile İlgili Bulgular 40
4.1.1. PAN nanoliflerinin hazırlanması 40
4.1.2. PAN nanoliflerinin morfolojik karakterizasyonu 41
4.2. PAN/MWCNT Nanolifleri ile İlgili Bulgular 41
4.2.1. PAN/MWCNT nanoliflerinin hazırlanması 41
4.2.2. PAN/MWCNT nanoliflerinin morfolojik karakterizasyonu 42
4.3. İletken PEDOT Nanolifleri ile İlgili Bulgular 43
4.3.1. PEDOT nanoliflerinin hazırlanması 43
4.3.2. PEDOT nanoliflerinin morfolojik karakterizasyonu 44
4.3.3. PEDOT nanoliflerinin yapısal karakterizasyonu 46
4.4. PEDOT Tabanlı Amperometrik Glukoz Biyosensörleri ile İlgili Bulgular 47
4.4.1. Pt/PEDOT-NFs/GOx elektrotlarının morfolojik analizi 48

4.4.2. Biyosensörlerin analitik performansının hidrojen peroksit ölçümüne……. bağlı olarak incelenmesi 49

4.4.2.1. Çalışma potansiyeli ve pH etkisi 49

4.4.2.2. Pt/PEDOT-NFs/GOx-1 biyosensörü ile ilgili kronoamperometrik…….. bulgular 50

4.4.2.3. Pt/PEDOT-NFs/GOx-2 biyosensörü ile ilgili kronoamperometrik…….. bulgular 52

4.4.2.4. Pt/PEDOT-NFs/GOx-3 biyosensörü ile ilgili kronoamperometrik…….. bulgular 54

4.4.2.5. Pt/PEDOT-NFs/GOx-4 biyosensörü ile ilgili kronoamperometrik..…… bulgular 57

4.4.2.6. Pt/PEDOT-NFs/GOx-5 biyosensörü ile ilgili kronoamperometrik.....….. bulgular 58

4.4.3. Biyosensörlerin analitik performansının oksijen tüketim ölçümüne bağlı…… olarak incelenmesi 62

4.4.3.1. Pt/PEDOT-NFs/GOx-1 biyosensörü ile ilgili kronoamperometrik.....…. bulgular... 62

4.4.3.2. Pt/PEDOT-NFs/GOx-2 biyosensörü ile ilgili kronoamperometrik……. bulgular 64

4.4.3.3. Pt/PEDOT-NFs/GOx-3 biyosensörü ile ilgili kronoamperometrik……. bulgular 65

4.4.3.4. Pt/PEDOT-NFs/GOx-4 biyosensörü ile ilgili kronoamperometrik……. bulgular 67

4.4.3.5. Pt/PEDOT-NFs/GOx-5 biyosensörü ile ilgili kronoamperometrik……. bulgular 69

4.5. PEDOT-MWCNT Nanolifleri ile İlgili Bulgular 72

4.5.1. PEDOT-MWCNT nanoliflerinin hazırlanması 72

4.5.2. PEDOT-MWCNT nanoliflerinin morfolojik analizi 72

4.5.3. PEDOT-MWCNT tabanlı glukoz biyosensörleri ile ilgili bulgular 72

4.5.3.1. Biyosensörlerin analitik performanslarının hidrojenperoksit ölçümüne…….. bağlı olarak incelenmesi 73

4.6. PEDOT Tabanlı Polifenol Biyosensörleri ile İlgili Bulgular 80

4.6.1. Pt/PEDOT-NFs/PPO elektrotlarının morfolojik analizi 80

4.6.2. Çalışma potansiyeli ve pH etkisi 81

4.6.3. Pt/PEDOT-NFs/PPO-1 biyosensörü ile ilgili kronoamperometrik bulgular 81

4.6.4. Pt/PEDOT-NFs/PPO-2 biyosensörü ile ilgili kronoamperometrik bulgular 83

4.6.5. Pt/PEDOT-NFs/PPO-3 biyosensörü ile ilgili kronoamperometrik bulgular 87

4.6.6. Pt/PEDOT-NFs/PPO-4 biyosensörü ile ilgili kronoamperometrik bulgular 88

4.7. PEDOT-MWCNT Tabanlı Polifenol Biyosensörleri ile İlgili Bulgular 89

4.7.1. Çalışma potansiyeli ve pH etkisi 90

4.7.2. Pt/PEDOT-MWCNT-NFs/PPO-1 biyosensörü ile ilgili kronoamperometrik bulgular 90

4.7.3. Pt/PEDOT-MWCNT-NFs/PPO-2 biyosensörü ile ilgili kronoamperometrik bulgular 91

4.7.4. Pt/PEDOT-MWCNT-NFs/PPO-3 biyosensörü ile ilgili kronoamperometrik bulgular 96

4.7.5. Pt/PEDOT-MWCNT-NFs/PPO-4 biyosensörü ile ilgili kronoamperometrik bulgular 97

4.8. İletken PPy Nanolifleri ile İlgili Bulgular 100

4.8.1. PPy nanoliflerinin hazırlanması 100

4.8.2. PPy nanoliflerinin morfolojik karakterizasyonu 100

4.8.3. PPy nanoliflerinin yapısal karakterizasyonu 101

4.9. PPy Tabanlı Amperometrik Glukoz Biyosensörleri ile İlgili Bulgular 102

4.9.1. Pt/PPy-NFs/GOx elektrotlarının morfolojik analizi 102

4.9.2. Biyosensörlerin analitik performansının hidrojen peroksit ölçümüne bağlı olarak incelenmesi 104

4.9.2.1. Çalışma potansiyeli ve pH etkisi 104

4.9.2.2. Pt/PPy-NFs/GOx-1 biyosensörü ile ilgili kronoamperometrik bulgular 104

4.9.2.3. Pt/PPy-NFs/GOx-2 biyosensörü ile ilgili kronoamperometrik bulgular 107

4.9.2.4. Pt/PPy-NFs/GOx-3 biyosensörü ile ilgili kronoamperometrik bulgular 109

4.9.2.5. Pt/PPy-NFs/GOx-4 biyosensörü ile ilgili kronoamperometrik bulgular ... 110

4.9.2.6. Pt/PPy-NFs/GOx-5 biyosensörü ile ilgili kronoamperometrik bulgular… 112

4.9.3. Biyosensörlerin analitik performansının oksijen tüketimi ölçümüne bağlı……. olarak incelenmesi ... 116

4.9.3.1. Pt/PPy-NFs/GOx-1 biyosensörü ile ilgili kronoamperometrik bulgular… 116

4.9.3.2. Pt/PPy-NFs/GOx-3 biyosensörü ile ilgili kronoamperometrik bulgular ... 117

4.10. PPy-MWCNT Nanolifleri ile İlgili Bulgular ... 119

4.10.1. PPy-MWCNT nanoliflerinin hazırlanması ... 119

4.10.2. PPy-MWCNT nanoliflerinin morfolojik analizi ... 120

4.10.3. PPy-MWCNT tabanlı glukoz biyosensörleri ile ilgili bulgular ... 120

4.10.3.1. Biyosensörlerin analitik performanslarının hidrojenperoksit ölçümüne……. bağlı olarak incelenmesi ... 120

4.11. PPy Tabanlı Polifenol Biyosensörleri ile İlgili Bulgular ... 128

4.11.1. Pt/PPy-NFs/PPO elektrotlarının morfolojik analizi ... 128

4.11.2. Çalışma potansiyeli ve pH etkisi ... 129

4.11.3. Pt/PPy-NFs/PPO-1 biyosensörü ile ilgili kronoamperometrik bulgular ... 130

4.11.4. Pt/PPy-NFs/PPO-2 biyosensörü ile ilgili kronoamperometrik bulgular ... 131

4.11.5. Pt/PPy-NFs/PPO-3 biyosensörü ile ilgili kronoamperometrik bulgular ... 137

4.11.6. Pt/PPy-NFs/PPO-4 biyosensörü ile ilgili kronoamperometrik bulgular ... 138

4.12. PPy-MWCNT Tabanlı Polifenol Biyosensörleri ile İlgili Bulgular ... 139

4.12.1. Pt/PPy-MWCNT-NFs/PPO-2 biyosensörü ile ilgili kronoamperometrik……. bulgular ... 139

5. TARTIŞMA ... 145

5.1. Glukoz Biyosensörleri ... 145

5.1.1. PEDOT tabanlı glukoz biyosensörleri ... 146

5.1.2. PPy tabanlı glukoz biyosensörleri ... 153

5.2. Polifenol Biyosensörleri ... 158

5.2.1. PEDOT tabanlı polifenol biyosensörleri 158
5.2.2. PPy tabanlı polifenol biyosensörleri 163
6. SONUÇLAR 167
7. KAYNAKLAR 173
8. EKLER 189
ÖZGEÇMİŞ

AKADEMİK BEYAN

Doktora Tezi olarak sunduğum "İletken Nanoliflerin Çeşitli Yöntemlerle Üretilmesi ve Amperometrik Biyosensörlerin Geliştirilmesi" adlı bu çalışmanın, akademik kurallar ve etik değerlere uygun olarak yazıldığını belirtir, bu tez çalışmasında bana ait olmayan tüm bilgilerin kaynağını gösterdiğimi beyan ederim.

08/02/2022

Merih Zeynep ÇETİN

SİMGELER VE KISALTMALAR

Simgeler

C	**:**	Derişim
I	**:**	Akım
I_{max}	**:**	Maksimum akım
ΔI	**:**	Akım değişimi
µA	**:**	Mikroamper
K_m	**:**	Michaelis-Menten sabiti
mM	**:**	Milimolar
M	**:**	Molar
s	**:**	Saniye
S/N	**:**	Sinyal/Gürültü
s/m	**:**	Standart sapma/eğim
U	**:**	Birim
V	**:**	Volt

Kısaltmalar

AA	**:**	Askorbik asit
CV	**:**	Dönüşümlü voltametri
CVD	**:**	Kimyasal buhar polimerizasyonu
DCM	**:**	Diklorometan
DMF	**:**	N,N-Dimetilformamid
DMSO	**:**	Dimetilsülfoksit
EDOT	**:**	3,4-Etilendioksitiyofen
$FeCl_3$	**:**	Demir(III) klorür
FeTOS	**:**	Demir(III)tosilat
FTIR	:	Fouirer Transform Infrared Spektrometre

GA	**:**	Gluteraldehit
GOx	**:**	Glukoz oksidaz
ITO	**:**	İndiyum kalay oksit
LOD	**:**	Tespit sınırı
MWCNT	**:**	Çok duvarlı karbon nanotüp
PAN	**:**	Poliakrilonitril
PEDOT	**:**	Poli(3,4-etilendioksitiyofen)
Py	**:**	Pirol
PPy	**:**	Polipirol
PPO	**:**	Polifenoloksidaz
SEM	**:**	Taramalı elektron mikroskobu
SA	**:**	Sitrik asit
THF	**:**	Tetrahidrofuran

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1. İletken polimerler a) poliasetilen, b) politiyofen, c) polipirol,…….. d) polianilin… 1

Şekil 1.2. Politiyofenin birim sayısındaki değişim ile bant yapısındaki değişim 2

Şekil 1.3. Pirolun kimyasal polimerizasyon reaksiyonu 4

Şekil 1.4. a) EDOT'un kimyasal polimerizasyon reaksiyonu, b) kimyasal……. buhar polimerizasyon şeması 5

Şekil 1.5. a) Elektropsinning şeması ve b) Taylor konisi 7

Şekil 1.6. Biyosensörlerin şematik gösterimi 11

Şekil 1.7. Amperometrik enzim elektrodu sınıfları a) 1.nesil, b) 2.nesil, c) 3.nesil 13

Şekil 1.8. GOx enziminin yer aldığı kimyasal süreç 16

Şekil 1.9. PPO enziminin yer aldığı kimyasal süreç 17

Şekil 1.10. a) Michaelis-Menten Eğrisi, b) Lineweaver-Burk grafiği 20

Şekil 1.11. Enzim immobilizasyon yöntemleri 21

Şekil 2.1. Mikroelektrot yüzeyine PEDOT-GOx kaplanmasının şematik gösterimi…..25

Şekil 2.2. Elektrot üretiminin şematik gösterimi 28

Şekil 3.1. İletken nanolif elde edilmesi 33

Şekil 3.2. a) Elektrospinning yöntemi ve b) biyosensörlerin hazırlanmasının……... şematik gösterimi 34

Şekil 3.3. Polifenollerin ölçüm mekanizması 35

Şekil 4.1. Kütlece %7'lik PAN nanoliflerine ait SEM görüntüleri a) 5000 b) 15000…… c) 20000 kat büyütme 41

Şekil 4.2. Kütlece %10'luk PAN/DMF çözeltileri ile a,d) %1, b,e) %2 ve……. c,f) %3'lük MWCNT/DMF çözeltilerinin karıştırılmasıyla elde edilen……. nanoliflerin SEM görüntüleri 42

Şekil 4.3. PAN miktarının a,d) %10'u, b,e) %20'si ve c,f) %30'u kadar MWCNT…….. içeren çözeltilerden elde edilen nanoliflere ait SEM görüntüleri 43

Şekil 4.4. Farklı konsantrasyonlardaki oksidant çözeltileri ile ITO cam üzerine…….. kaplanan PEDOT nanoliflerine ait döngüsel voltamogramlar (polimerizasyon……. süresi 3 saat) 44

Şekil 4.5. a) PAN nanolifleri ile farklı polimerizasyon sürelerinde elde edilen……..…. PEDOT nanoliflerinin SEM görüntüleri b) 24 sa, c) 3 sa, d) 15 dk, e) 10 dk, …… f) 5 dk.....45

Şekil 4.6. PEDOT nanoliflerinin a) döngüsel voltamogramı (100 mV/s) ve…… b) farklı tarama hızlarındaki döngüsel voltamogramları. Pik akım şiddetlerinin…… c) tarama hızı ve d) tarama hızının karekökü ile değişimi (0.1 M NBu_4PF_6/ACN).....46

Şekil 4.7.PAN ve PEDOT nanoliflerine ait FTIR spektrumları 47

Şekil 4.8. a) Fosfat tamponunda bekletilen (pH 7) PEDOT, b) PEDOT-NFs/GOx-1,…….. c) PEDOT-NFs/GOx-2, d) PEDOT-NFs/GOx-3, e) PEDOT-NFs/GOx-4 ve…… f) PEDOT-NFs/GOx-5 nanoliflerine ait SEM görüntüleri.....49

Şekil 4.9. Pt/PEDOT-NFs/GOxenzim biyosensörü için akım farkına karşı a) pH…… ve b) potansiyel grafiği 50

Şekil 4.10. a) Pt/PEDOT-NFs/GOx-1 enzim elektrodu için 0.01-5 mM arası…….. akım – zaman grafiği ve b) gözlenen akım fark değerlerinin glukoz derişimi…….. ile değişimi [0.6 V; pH=6.5; 0.1 M fosfat tamponu, oda sıcaklığı] 51

Şekil 4.11. a) Pt/PEDOT-NFs/GOx-1 enzim elektrodunun kalibrasyon grafiği…… ve b) Lineweaver-Burk eğrisi (0.1 M pH 6.5 fosfat tamponu, 0.6 V, oda sıcaklığı) 51

Şekil 4.12. Pt/PEDOT-NFs/GOx-1'in art arda kullanılabilirliği 52

Şekil 4.13. a) Pt/PEDOT-NFs/GOx-2için 0.01-5mM arası akım – zaman grafiği…… ve b) gözlenen akım fark değerlerinin glukoz derişimi ile değişimi (0.6 V; …… pH=6.5; 0.1 M fosfat tamponu, oda sıcaklığı) 53

Şekil 4.14. a) Pt/PEDOT-NFs/GOx-2 enzim elektrodunun kalibrasyon grafiği…… ve b) Lineweaver-Burk eğrisi (0.10 M pH 6.5 fosfat tamponu, 0.6 V, …….. oda sıcaklığı) 53

Şekil 4.15. Pt/PEDOT-NFs/GOx-2'nin art arda kullanılabilirliği 54

Şekil 4.16. a) Pt/PEDOT-NFs/GOx-3için 0.01-4mM arası akım – zaman grafiği…….. ve b) gözlenen akım fark değerlerinin glukoz derişimi ile değişimi (0.6 V; …… pH=6.5; 0.1 M fosfat tamponu, oda sıcaklığı) 54

Şekil 4.17. a) Pt/PEDOT-NFs/GOx-3 enzim elektrodunun kalibrasyon grafiği……... ve b) Lineweaver-Burk eğrisi (0.10 M pH 6.5 fosfat tamponu, 0.6 V, …….. oda sıcaklığı) 55

Şekil 4.18. a) Pt/PEDOT-NFs/GOx-3'ün art arda kullanılabilirlik b) girişim etkisi……. ve c) raf ömrü grafikleri 56

Şekil 4.19. a) Pt/PEDOT-NFs/GOx-4için 0.01-20 mM arası akım – zaman grafiği……. ve b) gözlenen akım fark değerlerinin glukoz derişimi ile değişimi (0.6 V; …… pH=6.5; 0.1 M fosfat tamponu, oda sıcaklığı) 57

Şekil 4.20. a) Pt/PEDOT-NFs/GOx-4 enzim elektrodunun kalibrasyon grafiği……...
ve b) Lineweaver-Burk eğrisi (0.10 M pH 6.5 fosfat tamponu, 0.6 V, ……..
oda sıcaklığı) 57

Şekil 4.21. Pt/PEDOT-NFs/GOx-4'ün art arda kullanılabilirliği 58

Şekil 4.22. a) Pt/PEDOT-NFs/GOx-5 için 0.01-30 mM arası akım – zaman grafiği……
ve b) gözlenen akım fark değerlerinin glukoz derişimi ile değişimi (0.6 V; ……
pH=6.5; 0.1 M fosfat tamponu, oda sıcaklığı) 59

Şekil 4.23. a) Pt/PEDOT-NFs/GOx-5 enzim elektrodunun kalibrasyon grafiği……...
ve b) Lineweaver-Burk eğrisi (0.10 M pH 6.5 fosfat tamponu, 0.6 V, ……..
oda sıcaklığı) 59

Şekil 4.24. Pt/PEDOT-NFs/GOx-5'in art arda kullanılabilirliği 60

Şekil 4.25. a) Pt/PEDOT-NFs/GOx-1 için 0.01-2.5mM arası akım – zaman grafiği……
ve b) gözlenen akım fark değerlerinin glukoz derişimi ile değişimi (-0.6 V; ……
pH=6.5; 0.1 M fosfat tamponu, oda sıcaklığı) 62

Şekil 4.26. a) Pt/PEDOT-NFs/GOx-1 enzim elektrodunun kalibrasyon grafiği……
ve b) Lineweaver-Burk eğrisi (0.10 M pH 6.5 fosfat tamponu, -0.6 V, …….
oda sıcaklığı) 63

Şekil 4.27. Pt/PEDOT-NFs/GOx-1'in art arda kullanılabilirliği 63

Şekil 4.28. a) Pt/PEDOT-NFs/GOx-2 için 0.01-3 mM arası akım – zaman grafiği……...
ve b) gözlenen akım fark değerlerinin glukoz derişimi ile değişimi (-0.6 V; ……
pH=6.5; 0.1 M fosfat tamponu, oda sıcaklığı) 64

Şekil 4.29. a) Pt/PEDOT-NFs/GOx-2 enzim elektrodunun kalibrasyon grafiği……
ve b) Lineweaver-Burk eğrisi (0.10 M pH 6.5 fosfat tamponu, -0.6 V, …….
oda sıcaklığı) 64

Şekil 4.30. Pt/PEDOT-NFs/GOx-2'nin a) art arda kullanılabilirliği ve b) glukoz,…….
sükroz, fruktoz, sitrik asit ve askorbik asite karşı amperometrik sinyalleri (-0.6V)..... 65

Şekil 4.31. a) Pt/PEDOT-NFs/GOx-3 için 0.01-3 mM arası akım – zaman grafiği……
ve b) gözlenen akım fark değerlerinin glukoz derişimi ile değişimi (-0.6 V; ……
pH=6.5; 0.1 M fosfat tamponu, oda sıcaklığı) 66

Şekil 4.32. a) Pt/PEDOT-NFs/GOx-3 enzim elektrodunun kalibrasyon grafiği……
ve b) Lineweaver-Burk eğrisi (0.10 M pH 6.5 fosfat tamponu, -0.6 V, …….
oda sıcaklığı) 66

Şekil 4.33. Pt/PEDOT-NFs/GOx-3'ün art arda kullanılabilirliği 67

Şekil 4.34. a) Pt/PEDOT-NFs/GOx-4 için 0.01-2 mM arası akım – zaman grafiği…….
ve b) gözlenen akım fark değerlerinin glukoz derişimi ile değişimi (-0.6 V; ……
pH=6.5; 0.1 M fosfat tamponu, oda sıcaklığı) 67

Şekil 4.35. a) Pt/PEDOT-NFs/GOx-4 enzim elektrodunun kalibrasyon grafiği……...
ve b) Lineweaver-Burk eğrisi (0.10 M pH 6.5 fosfat tamponu, -0.6 V, ……..
oda sıcaklığı) 68

Şekil 4.36. Pt/PEDOT-NFs/GOx-4'ün art arda kullanılabilirliği 68

Şekil 4.37. a) Pt/PEDOT-NFs/GOx-5 için 0.01-3 mM arası akım – zaman grafiği…….
ve b) gözlenen akım fark değerlerinin glukoz derişimi ile değişimi (-0.6 V; ……
pH=6.5; 0.1 M fosfat tamponu, oda sıcaklığı) 69

Şekil 4.38. a) Pt/PEDOT-NFs/GOx-5 enzim elektrodunun kalibrasyon grafiği……
ve b) Lineweaver-Burk eğrisi (0.10 M pH 6.5 fosfat tamponu, -0.6 V, …….
oda sıcaklığı) 69

Şekil 4.39. Pt/PEDOT-NFs/GOx-5'in art arda kullanılabilirliği 70

Şekil 4.40. PEDOT-MWCNT nanoliflerine ait SEM görüntüleri a) 5000 kat…….
büyütme b) 15000 kat büyütme..... 72

Şekil 4.41. Pt/PEDOT-MWCNT-NFs/GOx enzim biyosensörü için akım farkına…….
karşı a) pH ve b) potansiyel grafiği..... 73

Şekil 4.42. a) Pt/PEDOT-MWCNT-NFs/GOx-1 için 0.01-3 mM arası……...
akım – zaman grafiği ve b) gözlenen akım fark değerlerinin glukoz derişimi…….
ile değişimi (0.65 V; pH=7.5; 0.1 M fosfat tamponu, oda sıcaklığı) 74

Şekil 4.43. a) Pt/PEDOT-MWCNT-NFs/GOx-1 enzim elektrodunun kalibrasyon…….
grafiği ve b) Lineweaver-Burk eğrisi (0.10 M pH 7.5 fosfat tamponu, 0.65 V, ……
oda sıcaklığı) 74

Şekil 4.44. a) Pt/PEDOT-MWCNT-NFs/GOx-2 için 0.01-3.75 mM arası……...
akım – zaman grafiği ve b) gözlenen akım fark değerlerinin glukoz derişimi……..
ile değişimi (0.65 V; pH=7.5; 0.1 M fosfat tamponu, oda sıcaklığı) 75

Şekil 4.45. a) Pt/PEDOT-MWCNT-NFs/GOx-2 enzim elektrodunun kalibrasyon…….
grafiği ve b) Lineweaver-Burk eğrisi (0.10 M pH 7.5 fosfat tamponu, 0.65 V, ……
oda sıcaklığı) 76

Şekil 4.46. Pt/PEDOT-MWCNT-NFs/GOx-2'nin art arda kullanılabilirliği 76

Şekil 4.47. a) Pt/PEDOT-MWCNT-NFs/GOx-3 için 0.01-8 mM arası……...
akım – zaman grafiği ve b) gözlenen akım fark değerlerinin glukoz derişimi…….
ile değişimi (0.65 V; pH=7.5; 0.1 M fosfat tamponu, oda sıcaklığı) 77

Şekil 4.48. a) Pt/PEDOT-MWCNT-NFs/GOx-3 enzim elektrodunun kalibrasyon……
grafiği ve b) Lineweaver-Burk eğrisi (0.10 M pH 7.5 fosfat tamponu, 0.65 V, ……
oda sıcaklığı) 78

Şekil 4.49. a) Pt/PEDOT-MWCNT-NFs/GOx-5 için 0.01-18 mM arası……... akım – zaman grafiği ve b) gözlenen akım fark değerlerinin glukoz derişimi…….. ile değişimi (0.65 V; pH=7.5; 0.1 M fosfat tamponu, oda sıcaklığı) 79

Şekil 4.50. a) Pt/PEDOT-MWCNT-NFs/GOx-5 enzim elektrodunun kalibrasyon…… grafiği ve b) Lineweaver-Burk eğrisi (0.10 M pH 7.5 fosfat tamponu, 0.65 V, …… oda sıcaklığı) 79

Şekil 4.51. Pt/PEDOT-NFs/PPO-2 nanoliflerine ait SEM görüntüsü……... (15000 kat büyütülmüş) 80

Şekil 4.52. Pt/PEDOT-NFs/PPO enzim biyosensörü için akım farkına karşı a) pH…… ve b) potansiyel grafiği 81

Şekil 4.53. a) Pt/PEDOT-NFs/PPO-1 için 0.01-1 mM arası akım – zaman grafiği…… ve b) gözlenen akım fark değerlerinin katekol derişimi ile değişimi (-0.1 V; …… pH=7; 0.1 M fosfat tamponu, oda sıcaklığı) 82

Şekil 4.54. a) Pt/PEDOT-NFs/PPO-1 enzim elektrodunun kalibrasyon grafiği……... ve b) Lineweaver-Burk eğrisi (0.10 M pH 7 fosfat tamponu, -0.1 V, …… oda sıcaklığı) 82

Şekil 4.55. Pt/PEDOT-NFs/PPO-1'in art arda kullanılabilirliği..... 83

Şekil 4.56. a) Pt/PEDOT-NFs/PPO-2 için 0.005-5 mM arası akım – zaman ……. grafiği b) gözlenen akım fark değerlerinin katekol derişimi ile değişimi (-0.1 V; …… pH=7; 0.1 M fosfat tamponu, oda sıcaklığı) 83

Şekil 4.57. a) Pt/PEDOT-NFs/PPO-2 enzim elektrodunun kalibrasyon grafiği……... ve b) Lineweaver-Burk eğrisi (0.10 M pH 7 fosfat tamponu, -0.1 V, oda sıcaklığı)..... 84

Şekil 4.58. Pt/PEDOT-NFs/PPO-2 enzim elektrodu ile art arda kullanılabilirliği 84

Şekil 4.59. a) Pt/PEDOT-NFs/PPO-2 için 0.05 μM -1.5 mM arası akım – zaman…… grafiği ve b) gözlenen akım fark değerlerinin katekol derişimi ile değişimi (-0.1 V; …… pH=7; 0.1 M fosfat tamponu, oda sıcaklığı) 85

Şekil 4.60. a) Pt/PEDOT-NFs/PPO-2 enzim elektrodunun kalibrasyon grafiği…… ve b) Lineweaver-Burk eğrisi (0.10 M pH 7 fosfat tamponu, -0.1 V, oda sıcaklığı)..... 85

Şekil 4.61. a) Pt/PEDOT-NFs/PPO-2 enzim elektrodu ile art arda kullanılabilirlik…… grafiği ve b) girişim etkisi grafiği 86

Şekil 4.62. Pt/PEDOT-NFs/PPO-2 enzim elektrodunun raf ömrü grafiği……. (0.10 M pH 7 fosfat tamponu, -0.1 V, oda sıcaklığı) 87

Şekil 4.63. a) Pt/PEDOT-NFs/PPO-3 için 0.01-0.6 mM arası akım – zaman grafiği…… ve b) gözlenen akım fark değerlerinin katekol derişimi ile değişimi (-0.1 V; …… pH=7; 0.1 M fosfat tamponu, oda sıcaklığı) 88

Şekil 4.64. a) Pt/PEDOT-NFs/PPO-3 enzim elektrodunun kalibrasyon grafiği…… ve b) Lineweaver-Burk eğrisi (0.10 M pH 7 fosfat tamponu, -0.1 V, oda sıcaklığı).....88

Şekil 4.65. a) Pt/PEDOT-NFs/PPO-4 için 0.05-0.5 mM arası akım – zaman grafiği…… ve b) gözlenen akım fark değerlerinin katekol derişimi ile değişimi (-0.1 V; …… pH=7; 0.1 M fosfat tamponu, oda sıcaklığı) 89

Şekil 4.66. a) Pt/PEDOT-NFs/PPO-4 enzim elektrodunun kalibrasyon grafiği…… ve b) Lineweaver-Burk eğrisi (0.10 M pH 7 fosfat tamponu, -0.1 V, oda sıcaklığı).....89

Şekil 4.67. Pt/PEDOT-MWCNT-NFs/PPO enzim biyosensörü için akım farkına…… karşı a) pH ve b) potansiyel grafiği.....90

Şekil 4.68. a) Pt/PEDOT-MWCNT-NFs/PPO-1 için 0.005-0.6 mM arası…… akım – zaman grafiği ve b) gözlenen akım fark değerlerinin katekol derişimi …… ile değişimi (-0.1 V; pH=7.5; 0.1 M fosfat tamponu, oda sıcaklığı).....91

Şekil 4.69. a) Pt/PEDOT-MWCNT-NFs/PPO-1 enzim elektrodunun kalibrasyon…….. grafiği ve b) Lineweaver-Burk eğrisi (0.10 M pH 7.5 fosfat tamponu, ……. -0.1 V, oda sıcaklığı).....91

Şekil 4.70. a) Pt/PEDOT-MWCNT-NFs/PPO-2 için 0.005-0.45 mM arası…… akım – zaman grafiği ve b) gözlenen akım fark değerlerinin katekol derişimi …… ile değişimi (-0.1 V; pH=7.5; 0.1 M fosfat tamponu, oda sıcaklığı).....92

Şekil 4.71. a) Pt/PEDOT-MWCNT-NFs/PPO-2 enzim elektrodunun kalibrasyon…… grafiği ve b) Lineweaver-Burk eğrisi (0.10 M pH 7.5 fosfat tamponu, ……. -0.1 V, oda sıcaklığı).....92

Şekil 4.72. Pt/PEDOT-MWCNT-NFs/PPO-2'nin art arda kullanılabilirliği 93

Şekil 4.73. a) Pt/PEDOT-MWCNT-NFs/PPO-2 için 0-2 mM arası……. akım – zaman grafiği ve b) gözlenen akım fark değerlerinin katekol derişimi ……ile değişimi (-0.1 V; pH=7.5; 0.1 M fosfat tamponu, oda sıcaklığı).....93

Şekil 4.74. a) Pt/PEDOT-MWCNT-NFs/PPO-2 enzim elektrodunun…… kalibrasyon grafiği ve b) Lineweaver-Burk eğrisi (0.10 M pH 7.5 fosfat …… tamponu, -0.1 V, oda sıcaklığı).....94

Şekil 4.75. a) Pt/PEDOT-MWCNT-NFs/PPO-2'nin art arda kullanılabilirliği…… ve b) girişim etkisi grafiği.....94

Şekil 4.76. Pt/PEDOT-MWCNT-NFs/PPO-2 enzim elektrodunun raf ömrü…… grafiği (0.10 M pH 7.5 fosfat tamponu, -0.1 V, oda sıcaklığı) 95

Şekil 4.77. a) Pt/PEDOT-MWCNT-NFs/PPO-3 için 0.01-1.1 mM arası……. akım – zaman grafiği ve b) gözlenen akım fark değerlerinin katekol derişimi …… ile değişimi (-0.1 V; pH=7.5; 0.1 M fosfat tamponu, oda sıcaklığı).....96

Şekil 4.78. a) Pt/PEDOT-MWCNT-NFs/PPO-3 enzim elektrodunun kalibrasyon…… grafiği ve b) Lineweaver-Burk eğrisi (b) (0.10 M pH 7.5 fosfat tamponu, -0.1 V, …… oda sıcaklığı) 96

Şekil 4.79. a) Pt/PEDOT-MWCNT-NFs/PPO-4 için 0.02-0.5 mM arası……. akım – zaman grafiği ve b) gözlenen akım fark değerlerinin katekol derişimi …… ile değişimi (-0.1 V; pH=7.5; 0.1 M fosfat tamponu, oda sıcaklığı)..... 97

Şekil 4.80. a) Pt/PEDOT-MWCNT-NFs/PPO-4 enzim elektrodunun kalibrasyon…… grafiği ve b) Lineweaver-Burk eğrisi (0.10 M pH 7.5 fosfat tamponu, -0.1 V, …… oda sıcaklığı) 97

Şekil 4.81. a) PAN nanoliflerinin ve farklı polimerizasyon sürelerinde hazırlanan…… PPy nanoliflerinin SEM görüntüleri b) 3 dk, c) 4 dk ve d) 5 dk. 100

Şekil 4.82. a) PPy nanoliflerinin döngüsel voltamogramı (100 mV/s), …….. b) tarama hızlarına karşı ve c) tarama hızlarının kareköküne karşı anodik ve…… katodik akım yoğunluğu grafiği 101

Şekil 4.83. PPy nanoliflerine ait FTIR spektrumu 102

Şekil 4.84. a) pH 7 fosfat tamponunda bekletilen PPy nanolifleri,……... b) Pt/PPy-NFs/GOx-1 c) Pt/PPy-NFs/GOx-3, d) Pt/PPy-NFs/GOx-5 nanoliflerinin…..… SEM görüntüleri..... 103

Şekil 4.85. Pt/PPy-NFs/GOxenzim biyosensörü için akım değişimine karşı a) pH…… ve b) potansiyel grafiği 104

Şekil 4.86. a) Pt/PPy-NFs/GOx-1 enzim elektrodu için 0.01-7 mM arası……. akım – zaman grafiği ve b) gözlenen akım fark değerlerinin glukoz derişimi ile…… değişimi [0.65 V; pH=6.5; 0.1 M fosfat tamponu, oda sıcaklığı] 105

Şekil 4.87. a) Pt/PPy-NFs/GOx-1 enzim elektrodunun 0.01-3.5 mM…… aralığında kalibrasyon grafiği ve b) Lineweaver-Burk eğrisi (0.10 M pH 6.5…… fosfat tamponu, 0.65 V, oda sıcaklığı) 105

Şekil 4.88. a) Pt/PPy-NFs/GOx-1'in art arda kullanılabilirliği ve b) glukoz, …… sükroz, fruktoz, sitrik asit ve askorbik asite karşı amperometrik sinyalleri..... 106

Şekil 4.89. a) Pt/PPy-NFs/GOx-2 enzim elektrodu için 0.01 mM-10 mM arası…… akım – zaman grafiği ve b) gözlenen akım fark değerlerinin glukoz derişimi ile…… değişimi [0.65 V; pH=6.5; 0.1 M fosfat tamponu, oda sıcaklığında] 108

Şekil 4.90. a) Pt/PPy-NFs/GOx-2 enzim elektrodunun kalibrasyon grafiği……. ve b) Lineweaver-Burk eğrisi (0.10 M pH 6.5 fosfat tamponu, 0.65 V, …… oda sıcaklığı) 108

Şekil 4.91. Pt/PPy-NFs/GOx-2'nin art arda kullanılabilirliği..... 109

Şekil 4.92. a) Pt/PPy-NFs/GOx-3 enzim elektrodu için 0.01-15 mM arası…… akım – zaman grafiği ve b) gözlenen akım fark değerlerinin glukoz derişimi…… ile değişimi [0.65 V; pH=6.5; 0.1 M fosfat tamponu, oda sıcaklığı] 109

Şekil 4.93. a) Pt/PPy-NFs/GOx-3 enzim elektrodunun kalibrasyon grafiği……. ve b) Lineweaver-Burk eğrisi (0.10 M pH 6.5 fosfat tamponu, 0.65 V, ……. oda sıcaklığı) 110

Şekil 4.94. Pt/PPy-NFs/GOx-3'ün art arda kullanılabilirliği 110

Şekil 4.95. a) Pt/PPy-NFs/GOx-4 enzim elektrodu için 0.01-15 mM arası…… akım – zaman grafiği ve b) gözlenen akım fark değerlerinin glukoz derişimi…… ile değişimi [0.65 V; pH=6.5; 0.1 M fosfat tamponu, oda sıcaklığı] 111

Şekil 4.96. a) Pt/PPy-NFs/GOx-4 enzim elektrodunun kalibrasyon grafiği……. ve b) Lineweaver-Burk eğrisi (0.10 M pH 6.5 fosfat tamponu, 0.65 V, ……. oda sıcaklığı) 111

Şekil 4.97. Pt/PPy-NFs/GOx-4'ün art arda kullanılabilirliği 112

Şekil 4.98. a) Pt/PPy-NFs/GOx-5 enzim elektrodu için 0.01-18 mM arası…… akım – zaman grafiği ve b) gözlenen akım fark değerlerinin glukoz derişimi…… ile değişimi [0.65 V; pH=6.5; 0.1 M fosfat tamponu, oda sıcaklığı] 112

Şekil 4.99. a) Pt/PPy-NFs/GOx-5 enzim elektrodunun kalibrasyon grafiği……. ve b) Lineweaver-Burk eğrisi (0.10 M pH 6.5 fosfat tamponu, 0.65 V, ……. oda sıcaklığı) 113

Şekil 4.100. Pt/PPy-NFs/GOx-5'in art arda kullanılabilirliği 113

Şekil 4.101. a) Pt/PPy-NFs/GOx-1 için 0.01 mM-3 mM arası akım – zaman…… grafiği ve b) gözlenen akım fark değerlerinin glukoz derişimi ile değişimi…….. (-0.65 V; pH=6.5; 0.1 M fosfat tamponu, oda sıcaklığı) 116

Şekil 4.102. a) Pt/PPy-NFs/GOx-1 enzim elektrodunun kalibrasyon grafiği…… ve b) Lineweaver-Burk eğrisi (0.10 M pH 6.5 fosfat tamponu, -0.65 V, …… oda sıcaklığı) 117

Şekil 4.103. Pt/PPy-NFs/GOx-1'in art arda kullanılabilirliği 117

Şekil 4.104. a) Pt/PPy-NFs/GOx-3 için 0.01 mM-7 mM arası akım – zaman…… grafiği ve b) gözlenen akım fark değerlerinin glukoz derişimi ile değişimi…… (-0.65 V; pH=6.5; 0.1 M fosfat tamponu, oda sıcaklığı) 118

Şekil 4.105. a) Pt/PPy-NFs/GOx-3 enzim elektrodunun kalibrasyon grafiği…… ve b) Lineweaver-Burk eğrisi (0.10 M pH 6.5 fosfat tamponu, -0.65 V, ……. oda sıcaklığı) 118

Şekil 4.106. Pt/PPy-NFs/GOx-3'ün art arda kullanılabilirliği 119

Şekil 4.107. PPy-MWCNT nanoliflerine ait SEM görüntüleri a) 5000 kat…… büyütme b) 15000 kat büyütme.....120

Şekil 4.108. Pt/PPy-MWCNT-NFs/GOx enzim biyosensörü için akım farkına…… karşı a) pH ve b) potansiyel grafiği.....121

Şekil 4.109. a) Pt/PPy-MWCNT-NFs/GOx-1 için 0.01 mM-5 mM arası……. akım – zaman grafiği ve b) gözlenen akım fark değerlerinin glukoz derişimi…… ile değişimi (0.65 V; pH=7.5; 0.1 M fosfat tamponu, oda sıcaklığı).....122

Şekil 4.110. a) Pt/PPy-MWCNT-NFs/GOx-1 enzim elektrodunun kalibrasyon…… grafiği ve 122

Şekil 4.111. Pt/PPy-MWCNT-NFs/GOx-1'in art arda kullanılabilirliği.....123

Şekil 4.112. a) Pt/PPy-MWCNT-NFs/GOx-2 için 0.01 mM-6 mM arası……. akım – zaman grafiği ve b) gözlenen akım fark değerlerinin glukoz derişimi…… ile değişimi.....124

Şekil 4.113. a) Pt/PPy-MWCNT-NFs/GOx-2 enzim elektrodunun kalibrasyon…… grafiği ve b) Lineweaver-Burk eğrisi (0.10 M pH 7.5 fosfat tamponu, 0.65 V, …… oda sıcaklığı).....124

Şekil 4.114. a) Pt/PPy-MWCNT-NFs/GOx-3 için 0.01 mM-5 mM arası……. akım – zaman grafiği ve b) gözlenen akım fark değerlerinin glukoz derişimi…… ile değişimi (0.65 V; pH=7.5; 0.1 M fosfat tamponu, oda sıcaklığı).....125

Şekil 4.115. a) Pt/PPy-MWCNT-NFs/GOx-3 enzim elektrodunun kalibrasyon…… grafiği ve b) Lineweaver-Burk eğrisi (0.10 M pH 7.5 fosfat tamponu, 0.65 V, …… oda sıcaklığı).....126

Şekil 4.116. a) Pt/PPy-MWCNT-NFs/GOx-4 için 0.01 mM-6 mM arası……. akım – zaman grafiği ve b) gözlenen akım fark değerlerinin glukoz derişimi…… ile değişimi (0.65 V; pH=7.5; 0.1 M fosfat tamponu, oda sıcaklığı).....127

Şekil 4.117. a) Pt/PPy-MWCNT-NFs/GOx-4 enzim elektrodunun kalibrasyon…… grafiği ve b) Lineweaver-Burk eğrisi (0.10 M pH 7.5 fosfat tamponu, 0.65 V, …… oda sıcaklığı).....127

Şekil 4.118. Pt/PPy-NFs/PPO-2 nanoliflerine ait SEM görüntüleri a) 5000 kat…… büyütme, b)15000 kat büyütme.....129

Şekil 4.119. Pt/PPy-NFs/PPO enzim biyosensörü için akım farkına karşı a) pH…… ve b) potansiyel grafiği 130

Şekil 4.120. a) Pt/PPy-NFs/PPO-1 için 0.01 mM-0.5 mM arası akım – zaman…… grafiği ve b) gözlenen akım fark değerlerinin katekol derişimi ile değişimi……. (-0.1 V; pH=7; 0.1 M fosfat tamponu, oda sıcaklığı) 130

Şekil 4.121. Pt/PPy-NFs/PPO-1 enzim elektrodunun kalibrasyon grafiği……...
(a) ve Lineweaver-Burk eğrisi (b) (0.10 M pH 7 fosfat tamponu, -0.1 V, …….
oda sıcaklığı) 131

Şekil 4.122. Pt/PPy-NFs/PPO-1'in art arda kullanılabilirliği 131

Şekil 4.123. a) Pt/PPy-NFs/PPO-2 için 0.01 mM-16 mM arası akım – zaman……
grafiği ve b) gözlenen akım fark değerlerinin katekol derişimi ile değişimi…….
(-0.1 V; pH=7; 0.1 M fosfat tamponu, oda sıcaklığı) 132

Şekil 4.124. a) Pt/PPy-NFs/PPO-2 enzim elektrodunun kalibrasyon grafiği ve……
b) Lineweaver-Burk eğrisi (0.10 M pH 7 fosfat tamponu, -0.1 V, oda sıcaklığı)..... 132

Şekil 4.125. Pt/PPy-NFs/PPO-2'nin art arda kullanılabilirliği 133

Şekil 4.126. a) Pt/PPy-NFs/PPO-2 için 0.5 µM-1.5 mM arası akım – zaman……
grafiği ve b) gözlenen akım fark değerlerinin katekol derişimi ile değişimi…….
(-0.1 V; pH=7; 0.1 M fosfat tamponu, oda sıcaklığı) 134

Şekil 4.127. a) Pt/PPy-NFs/PPO-2 enzim elektrodunun kalibrasyon grafiği……
ve b) Lineweaver-Burk eğrisi (0.10 M pH 7 fosfat tamponu, -0.1 V, ……
oda sıcaklığı) 134

Şekil 4.128. a) Pt/PPy-NFs/PPO-2'nin art arda kullanılabilirlik grafiği ve ……..
b) girişim etkisi grafiği 135

Şekil 4.129. Pt/PPy-NFs/PPO-2 enzim elektrodunun raf ömrü grafiği (0.10 M……
pH 7 fosfat tamponu, -0.1 V, oda sıcaklığı) 136

Şekil 4.130. a) Pt/PPy-NFs/PPO-3 için 0-1.5 mM arası akım – zaman……...
grafiği ve b) gözlenen akım fark değerlerinin katekol derişimi ile değişimi…….
(-0.1 V; pH=7; 0.1 M fosfat tamponu, oda sıcaklığı) 137

Şekil 4.131. a) Pt/PPy-NFs/PPO-3 enzim elektrodunun kalibrasyon…….
grafiği ve b) Lineweaver-Burk eğrisi (0.10 M pH 7 fosfat tamponu, -0.1 V, ……
oda sıcaklığı) 137

Şekil 4.132. a) Pt/PPy-NFs/PPO-4 için 0.01 mM-5 mM arası akım – zaman……
grafiği ve b) gözlenen akım fark değerlerinin katekol derişimi ile değişimi…….
(-0.1 V; pH=7; 0.1 M fosfat tamponu, oda sıcaklığı) 138

Şekil 4.133. a) Pt/PPy-NFs/PPO-4 enzim elektrodunun kalibrasyon grafiği……
ve b) Lineweaver-Burk eğrisi (0.10 M pH 7 fosfat tamponu, -0.1 V, ……
oda sıcaklığı) 138

Şekil 4.134. a) Pt/PPy-MWCNT-NFs/PPO-2 için 0.5 µM -0.5 mM arası……
akım – zaman grafiği ve b) gözlenen akım fark değerlerinin katekol derişimi…….
ile değişimi (-0.1 V; pH=7; 0.1 M fosfat tamponu, oda sıcaklığı)..... 139

Şekil 4.135. a) Pt/PPy-MWCNT-NFs/PPO-2 enzim elektrodunun kalibrasyon…… grafiği ve b) Lineweaver-Burk eğrisi (0.10 M pH 7 fosfat tamponu, -0.1 V, …… oda sıcaklığı) 140

Şekil 4.136. a) Pt/PPy-MWCNT-NFs/PPO-2'nin art arda kullanılabilirliği ve…… b) girişim etkisi grafiği 140

Şekil 4.137. Pt/PPy-MWCNT-NFs/PPO-2 enzim elektrodunun raf ömrü grafiği…… (0.10 M pH 7 fosfat tamponu, -0.1 V, oda sıcaklığı) 141

Şekil 5.1. a) PAN nanolifleri ile farklı polimerizasyon sürelerinde elde edilen…… PEDOT nanoliflerinin SEM görüntüleri b) 24 sa, c) 3 sa, d) 15 dk, e) 10 dk, …….. f) 5 dk 146

Şekil 5.2. a) Fosfat tamponunda bekletilen (pH 7) PEDOT, b) PEDOT-NFs/GOx-1, ... c) PEDOT-NFs/GOx-2, d) PEDOT-NFs/GOx-3, e) PEDOT-NFs/GOx-4 ve……... f) PEDOT-NFs/GOx-5 nanoliflerine ait SEM görüntüleri..... 147

Şekil 5.3. PAN miktarının a-d) %10'u, b-e) %20'si ve c-f) %30'u kadar…… MWCNT içeren çözeltilerden elde edilen nanoliflere ait SEM görüntüleri 149

Şekil 5.4. H_2O_2'in yükseltgenmesinin takip edildiği biyosensörlerde, enzim…… miktarı ile biyosensör duyarlılığı arasındaki ilişki 150

Şekil 5.5. a) PAN nanoliflerinin ve farklı polimerizasyon sürelerinde hazırlanan…… PPy nanoliflerinin SEM görüntüleri b) 3 dk, c) 4 dk ve d) 5 dk. 153

Şekil 5.6. a) pH 7 fosfat tamponunda bekletilen PPy nanolifleri, b) Pt/PPy-NFs/GOx-1… c) Pt/PPy-NFs/GOx-3, d) Pt/PPy-NFs/GOx-5 nanoliflerinin SEM görüntüleri 154

Şekil 5.7. Polifenollerin ölçüm mekanizması 158

Şekil 5.8. a) Pt/PEDOT-NFs nanoliflerine ve b) Pt/PEDOT-NFs/PPO-2…… nanoliflerine ait 15000 kat büyütme ile elde edilen SEM görüntüleri 160

Şekil 8.1.. PEDOT-MWCNT nanoliflerinin a) döngüsel voltamogramı ……. (100 mV/s) ve b) farklı tarama hızlarındaki döngüsel voltamogramları. …… Pik akım şiddetlerinin c) tarama hızı ve d) tarama hızının karekökü ile…… değişimi (0.1 M NBu_4PF_6/ACN) 189

Şekil 8.2. PPy-MWCNT nanoliflerinin a) döngüsel voltamogramı (10 mV/s) ve…… b) farklı tarama hızlarındaki döngüsel voltamogramları. Pik akım şiddetlerinin…… c) tarama hızı ve d) tarama hızının karekökü ile değişimi (0.1 M NBu_4PF_6/ACN)..... 190

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 1.1. Elektrospinning parametrelerinin lif morfolojisi üzerine etkileri 9

Çizelge 4.1. Farklı konsantrasyonlardaki ve farklı elektrospin koşullarındaki…… PAN/DMF çözeltilerinden elde edilen sonuçlar 40

Çizelge 4.2. Kütlece %7'lik PAN/DMSO çözeltilerine ait elektrospining…… sonuçları 41

Çizelge 4.3. PEDOT nanoliflerine ait çaplar 48

Çizelge 4.4. Pt/PEDOT-NFs/GOx-3 biyosensörü ile ticari meyve sularındaki…… glukoz tayini 56

Çizelge 4.5. Pt/PEDOT-NFs/GOx biyosensörlerinin performansları (+0.6 V) 61

Çizelge 4.6. Pt/PEDOT-NFs/GOx biyosensörlerinin performansları (-0.6 V) 71

Çizelge 4.7. Pt/PEDOT-NFs/GOx-1 ve Pt/PEDOT-MWCNT-NFs/GOx-1…… biyosensörlerinin karşılaştırılması 75

Çizelge 4.8. Pt/PEDOT-NFs/GOx-2 ve Pt/PEDOT-MWCNT-NFs/GOx-2…… biyosensörlerinin karşılaştırılması 77

Çizelge 4.9. Pt/PEDOT-NFs/GOx-3 ve Pt/PEDOT-MWCNT-NFs/GOx-3…… biyosensörlerinin karşılaştırılması 78

Çizelge 4.10. PEDOT-MWCNT-NFs/GOx biyosensörlerinin analitik…… performansları.. 80

Çizelge 4.11. Pt/PEDOT-NFs/PPO-2 biyosensörünün şebeke sularındaki katekol…… ve fenol tayini sonuçları 87

Çizelge 4.12. Pt/PEDOT-MWCNT-NFs/PPO-2 biyosensörünün şebeke…… sularındaki katekol ve fenol tayini sonuçları 95

Çizelge 4.13. PEDOT nanolif tabanlı polifenol biyosensörlerinin performansları 99

Çizelge 4.14 Farklı enzim birimleri içeren PPy nanoliflerinin çapları 103

Çizelge 4.15. Pt/PPy-NFs/GOx-1 biyosensörü ile ticari meyve sularındaki glukoz…… tayini 107

Çizelge 4.16. Pt/PPy-NFs/GOx biyosensörlerinin performansları (+0.65 V) 115

Çizelge 4.17. Pt/PPy-NFs/GOx enzim elektrotlarına ait amperometrik sonuçlar…… (0.1 M fosfat tamponu, pH:6.5 / -0.65V) 119

Çizelge 4.18. Pt/PPy-NFs/GOx-1 ve Pt/PPy-MWCNT-NFs/GOx-1…… biyosensörlerinin karşılaştırılması 123

Çizelge 4.19. Pt/PPy-NFs/GOx-2 ve Pt/PPy-MWCNT-NFs/GOx-2…… biyosensörlerinin karşılaştırılması 125

Çizelge 4.20. Pt/PPy-NFs/GOx-3 ve Pt/PPy-MWCNT-NFs/GOx-3…… biyosensörlerinin karşılaştırılması 126

Çizelge 4.21. Pt/PPy-NFs/GOx-4 ve Pt/PPy-MWCNT-NFs/GOx-4…… biyosensörlerinin karşılaştırılması 128

Çizelge 4.22.PPy-MWCNT-NFs/GOx biyosensörlerinin performansları…… (+0.65V) 128

Çizelge 4.23. Pt/PPy-NFs/PPO-2 biyosensörü ile şebeke sularındaki katekol……. ve fenol tayini 136

Çizelge 4.24. Pt/PPy-MWCNT-NFs/PPO-2 biyosensörü ile şebeke sularındaki …… katekol ve fenol tayini 141

Çizelge 4.25. Pt/PPy-NFs/PPO biyosensörlerinin performansları (pH:7 / -0.1 V)..... 143

Çizelge 5.1. PEDOT nanolif tabanlı glukoz biyosensörlerinin analitik…… performansları 152

Çizelge 5.2. PPy nanolif tabanlı glukoz biyosensörlerinin analitik …… performansları 157

Çizelge 5.3. PEDOT nanolif tabanlı polifenol biyosensörlerinin analitik…… performansları 162

Çizelge 5.4. PPy nanolif tabanlı polifenol biyosensörlerinin analitik…… performanslar 165

Çizelge 6.1. En iyi performansa sahip tüm biyosensörler 172

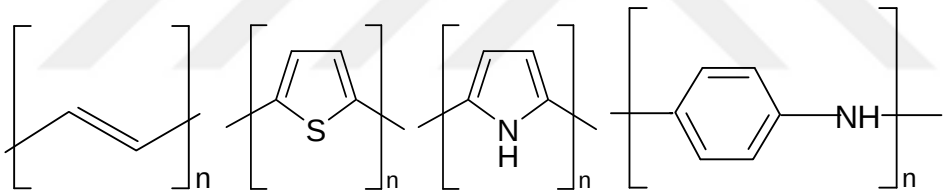
1. GİRİŞ

1.1. İletken Polimerler

İletken polimerlerin keşfinden önce, polimerlerin elektriksel iletkenliğe sahip olmadıkları düşünülmekteydi. Ancak, Shirakawa ve arkadaşlarının 1977 yılında sentezledikleri poliasetilen filmi, bir polimerin elektriği doğrudan elektronlar üzerinden iletebileceğini kanıtlamış ve böylece polimerlerin iletken karaktere sahip olabileceğini göstermiştir. İletken polimerlerin bu çalışma ile keşfedilmesi, Shirakawa ve arkadaşlarına 2000 yılında Kimya Nobel ödülünü getirmiştir (Saçak 2010, Shirakawa 2001).

Bilim ve teknolojideki gelişmeler farklı özellikleri bir araya getiren yeni tip malzemelere olan ihtiyacı arttırmıştır. Bu nedenle iletken polimerlerin iletkenliklerinin arttırılması ve yeni iletken polimerlerin sentezlenmesi gibi çalışmalar son yıllarda artmıştır.

İletken polimerlerde kimyasal bağlar oluşurken her karbon atomu bir adet π elektronu (ortaklaşmamış elektron) sağlar ve polimer zinciri boyunca karbon atomu orbitalleri birbiri ile örtüşerek π bağlarını oluşturur. Bu sayede, polimer zincirinde elektron delakolizasyonu oluşur. Bu delakolizasyon sayesinde polimer zinciri boyunca yük hareketliliği gerçekleşir ve böylece bazı polimerler iletken ya da yarı iletken özellik gösterebilirler (Heeger 2001). Tiyofen, anilin ve pirol gibi konjuge π bağlarına sahip olan maddelerden sentezlenen polimerler Şekil 1.1'de gösterilmiştir.

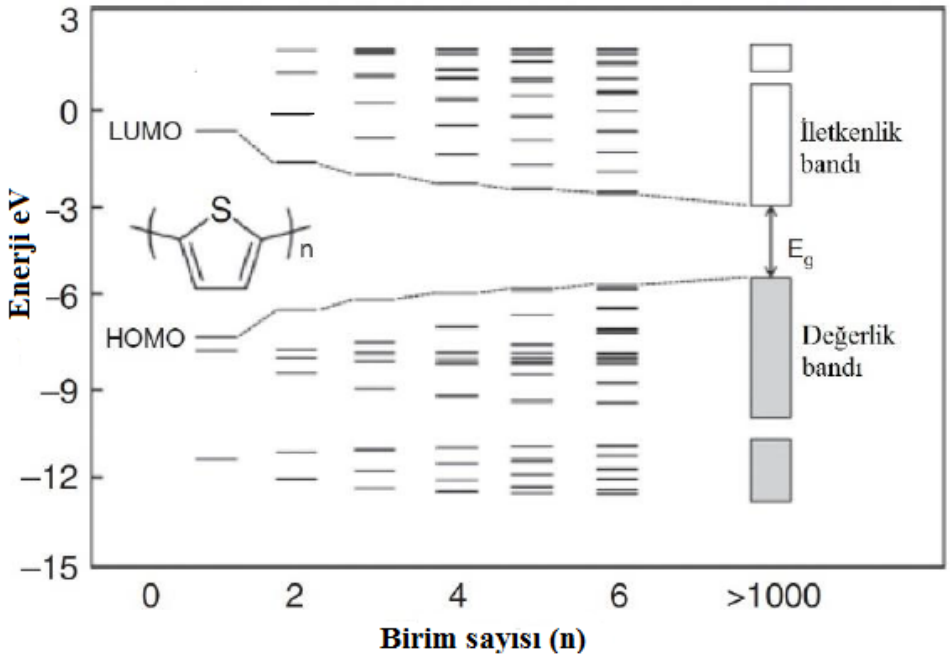


a **b** **c** **d**

Şekil 1.1. İletken polimerler **a)** poliasetilen, **b)** politiyofen, **c)** polipirol, **d)** polianilin

Nötr hallerinde konjuge polimerlerin, değerlik ve iletkenlik bandı arasında düşük enerji boşluğu vardır ve bu nedenle yarı iletkendirler. Polimerin yapısındaki birim sayısının artması π konjugasyonunu arttırarak, değerlik bandı ile iletkenlik bandı arasındaki bant aralığını azaltmaktadır (Şekil 1.2). Bant aralığının azalması ise polimerlerin iletkenliklerinde artış meydana getirmektedir. Konjuge yapı yüksek iletkenlik için tek başına yeterli değildir ve bu nedenle konjuge polimerlerin bant yapısını değiştirip, iletkenliğini arttırmak için doplama işlemi yapılmaktadır. Doplama işleminde iletkenliği sağlayacak olan elektronların koparılması (p-tipi doplama) sonucu konjuge polimer zincirinde artı yüklü boşluklar oluşturulur. Elektron verilmesi (n-tipi doplama) sonucu ise konjuge polimer zincirinde eksi yüklü yapılar oluşur. Bu yüklerin tüm zincir üzerinde hareket etmesi polimerlere iletken özellik kazandırır. Doplama işleminde $FeCl_3$, $AlCl_3$, I_2, AsF_5, Br_2, $SbCl_5$, $MoCl_5$ gibi çeşitli dopantların kullanılması, elektronların

enerji kabuklarından geçişlerine yardım ederek iletkenliği arttırır (Cowie vd. 1991, Trung vd. 2005).



Şekil 1.2. Politiyofenin birim sayısındaki değişim ile bant yapısındaki değişim (Kar 2013)

İletken polimerler sahip oldukları farklı özellikleri nedeni ile güneş pilleri, sensör uygulamaları, ışık saçan diyotlar, lityum-iyon bataryaları, transistör- kapasitör uygulamaları, biyomedikal uygulamaları, elektrokromik cihazların yapımı ve korozyon önleyici gibi birçok alanda kullanılmaktadırlar.

1.1.1. İletken polimerlerin sentezi

İletken polimerler; elektrokimyasal polimerizasyon, kimyasal polimerizasyon, piroliz, fotokimyasal polimerizasyon, emülsiyon polimerizasyonu, katılma polimerizasyonu ve katalitik polimerizasyon (Ziegler - Natta katalizörlü) gibi birçok yöntemle elde edilmektedir. Bunlardan en yaygın olanları elektrokimyasal ve kimyasal yöntemlerdir (Bereket vd. 2005, Kumar ve Sharma 1998, Toshima ve Hara 1995).

1.1.1.1. Kimyasal polimerizasyon

Bu yöntem monomerlerin uygun sıcaklık, katalizör ve çözücü varlığında polimerleşmesi esasına dayanır. Polimerizasyon sırasında, konjuge polimerin çözelti ya da gaz fazındaki bir katkı maddesine (yük transfer maddesine) doğrudan maruz bırakılması, yükseltgenme/indirgeme yoluyla gerçekleştirilmektedir. Kimyasal polimerizasyon ile neredeyse tüm konjuge polimerler elde edilebilirken, en yaygın olarak poliasetilen, politiyofen, polipirol ve polianilin gibi polimerlerin sentezi gerçekleştirilmektedir.

Kimyasal polimerizasyon yöntemi, düşük maliyetli olması ve daha fazla miktarda ürün elde etmeye olanak tanıması gibi avantajlara sahipken, yükseltgenme basamağının kontrol edilememesi ve elde edilen ürünlerin safsızlıklar içermesi gibi dezavantajlara da sahiptir (Toshima ve Hara 1995).

Yapılan çalışmalar kimyasal polimerizasyon yönteminde kullanılan dopantın konjuge polimerlerin iletkenliği üzerine önemli bir etkisi olduğunu göstermiştir. Genellikle pirol (Py) için yapılan kimyasal polimerizasyonlarda dopant olarak kullanılan $FeCl_3$ ile daha yüksek iletkenlikte PPy polimerini sentezlediği gözlenmiştir (Ohtani ve Shimidzu 1989, Poddar vd. 2021).

Yaygın olarak kullanılan basit ve düşük maliyetli diğer bir yöntem olan kimyasal buhar polimerizasyonu yönteminde, üzerine iletken polimer kaplanacak yapı oksidant çözeltisine daldırıldıktan sonra monomer buharına maruz bırakılarak, iletken polimerlerin kaplanması sağlanmaktadır (Laforgue 2011, Laforgue ve Robitaille 2008, 2010b, 2010a). Polimerizasyon işlemi sonrası elde edilen iletken polimer yıkanarak polimerleşmeyen monomerlerin yapıdan uzaklaştırılması sağlanır.

Kimyasal buhar polimerizasyonunda, oksidant çözeltisi olarak genellikle $FeCl_3$/etanol veya demir(III)tosilat/etanol (FeTOS/etanol) çözeltileri kullanılır ve iletken polimer kaplanmak istenen yapılar (iletken olmayan polimer filmler, nanolifler vb.) oksidant çözeltisine daldırılır. Oksidant çözeltisine daldırılan polimer yapıları iletken polimerlerin monomer buharına maruz bırakılır ve böylece polimerlerin Cl^- anyonları ya da tosilat anyonları ile doplanması sağlanır. Kimyasal buhar polimerizasyonu sonucunda elde edilen iletken polimer kaplı yapılar (polimer filmler, nanolifler vb.) uygun bir çözücü (metanol vb) ile yıkanarak polimerleşmemiş monomerlerin yapıdan uzaklaşması sağlanır ve böylece iletken polimer kaplı yapılar elde edilmiş olur. Kimyasal polimerizasyon sırasında Fe^{+3} bazlı oksidantların veya elektrolitlerin kullanılmasının, iletkenliği birkaç kat arttırdığı görülmüştür (Ohtani ve Shimidzu 1989).

1.1.1.2. Elektrokimyasal polimerizasyon

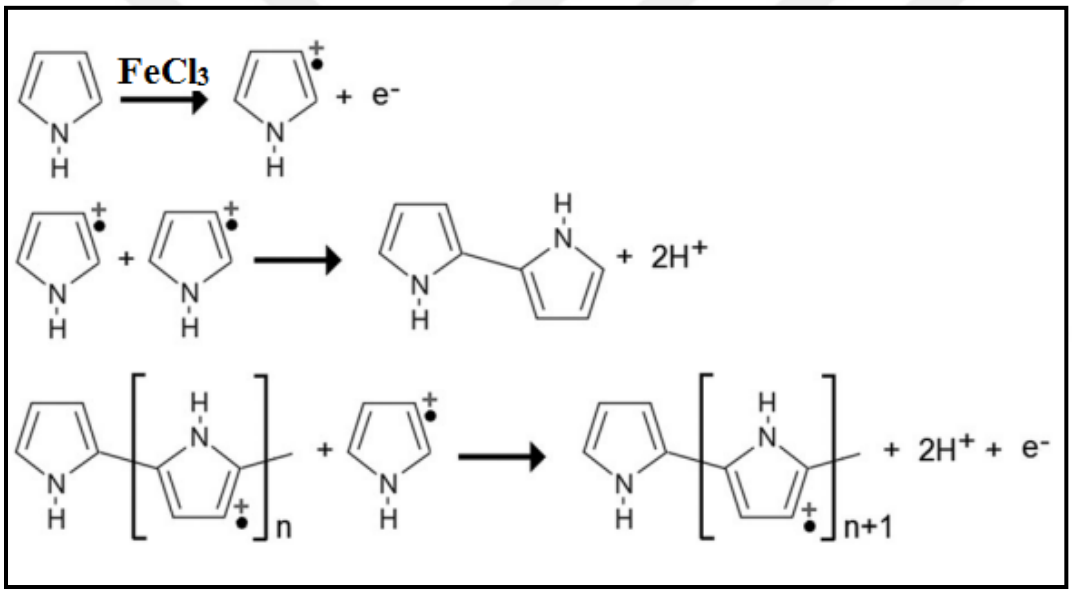
Polimerlerin kullanılmak istendiği uygulama alanlarına göre polimerizasyon yöntemleri belirlenebilmektedir. Genellikle elektrokimyasal polimerizasyon, sensör uygulamaları, mikro teknoloji alanındaki uygulamalar ya da polimerlerin ince film olarak kullanılmaları gereken uygulamalar için tercih edilmektedir. Bu yöntemde, monomer uygun çözücü ortamında destek elektrolitle (HCl, H_2SO_4 vb.) beraber, çalışma elektrodu (anot) yüzeyinde polimerleştirilmektedir. Yükseltgenme için uygulanan potansiyelin kontrol edilebilir olması, sentezin her aşamasının kontrol edilebilmesini sağlar ve kimyasal yönteme göre daha saf bir ürün elde edilmesine olanak sağlamaktadır. Elektrokimyasal polimerizasyon potansiyostatik galvanostatik ve potansiyodinamikgibi metotlarla yapılabilmektedir.

1.1.2. Polipirol (PPy)

Pirol bazlı iletken polimerler; yüksek iletkenlikleri, kolay elde edilebilmeleri, ince film oluşturabilme yetenekleri ve stabiliteleri nedeniyle elektronik ve elektrokromik cihazlarda (Matthan vd. 1988, Talaie vd. 2000), elektrolitik kapasitörlerde (Rowley ve Mortimer 2002), sensörlerde (Krings vd. 1993), kromatografik sabit fazlarda (Ge vd.

1991), hafif pillerde (Mermilliod vd. 1986) ve membran (Mirmohseni vd. 1993) gibi pek çok alanda kullanılmaktadır.

Polipirol genellikle elektrokimyasal veya kimyasal polimerizasyon yöntemleri ile elde edilmektedir. Daha fazla miktarda polimer oluşumu sağlayan kimyasal polimerizasyon ise çok tercih edilen bir polimerizasyon yöntemidir. Pirolun kimyasal polimerizasyonunda yaygın olarak $FeCl_3$ oksidant olarak kullanılırken, diğer Fe(III) tuzları ile Cu(II) tuzları da oksidant olarak kullanılmaktadır (Namsheer ve Rout 2021). Pirolun oksidatif kimyasal polimerizasyonu sırasında polimer zincirinin elektro-nötürlüğü reaksiyon karışımına eklenen anyonlar tarafından sağlanmaktadır. Bu anyonlar genellikle $FeCl_3$'den gelen Cl^- anyonları gibi kimyasal oksidantlardan kaynaklanmaktadır. Pirolun $FeCl_3$ ile oksidatif polimerizasyonu sırasında ilk olarak pirol, Fe^{+3} iyonu tarafından pirol radikal katyonunu oluşturmak üzere oksitlenir. Daha sonra iki protonun atılmasıyla radikal katyonların dimerleşmesi meydana gelir ve ardından yeni radikalın oluşması ile zincir büyümesi meydana gelir (Ballav vd. 2012, Yeole vd. 2017, Zhao vd. 2019) (Şekil 1.3).



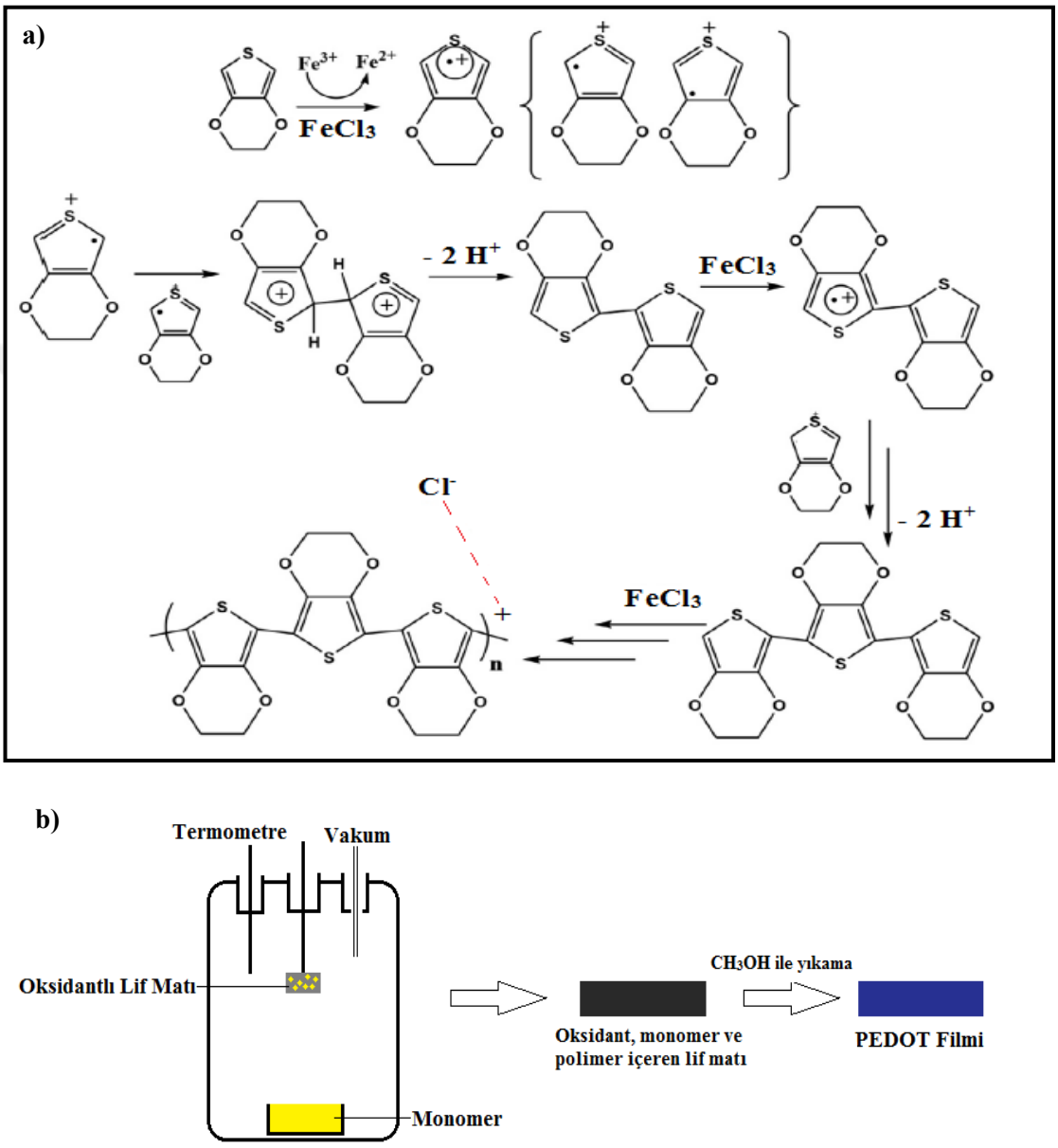
Şekil 1.3. Pirolun kimyasal polimerizasyon reaksiyonu (Boutry vd. 2013)

1.1.3. Poli (3,4-etilendioksitiyofen) (PEDOT)

Poli(3,4-etilendioksitiyofen) (PEDOT); düşük oksidasyon potansiyeli, yüksek elektrik iletkenlik ve yüksek termal kararlılık gibi sahip olduğu üstün özellikler nedeniyle iletken polimerler arasında en fazla çalışılan polimerdir ve ince film teknolojisi, nanoteknoloji uygulamaları ve biyosensör çalışmaları gibi alanlarda yoğun olarak tercih edilmektedir (Ali vd. 2009, Hui vd. 2018, Zanardi vd. 2013).

PEDOT elektropolimerizasyon ve kimyasal polimerizasyon gibi çeşitli metotlarla üretilebilmektedir. Özellikle yüksek iletkenlikte PEDOT filmleri elde etmek için $FeCl_3$ ve FeTOS gibi oksidantlarla EDOT'un oksidatif kimyasal polimerizasyonu ve kimyasal

buhar polimerizasyonu çok tercih edilmiştir (Ali vd. 2009, Laforgue 2011, Laforgue ve Robitaille 2008, 2010b, Lee vd. 2006). Şekil 1.4.a'da EDOT'un kimyasal polimerizasyon reaksiyonu ve Şekil 1.4.b'de kimyasal buhar polimerizasyon şeması gösterilmiştir.PEDOT'un yükseltgenmiş hali açık mavi renk gösterirken, indirgenmiş hali koyu mavi renk göstermektedir (Thompson vd. 2000).



Şekil 1.4. a) EDOT'un kimyasal polimerizasyon reaksiyonu (Maziz vd 2021), **b)** kimyasal buhar polimerizasyon şeması

1.1.4. İletken polimerlerin kullanım alanları

İletken polimerlerin en önemli özelliği, yükseltgenme veya indirgenme ile ya da farklı bileşiklerle kompozitler oluşturarak iletkenliklerinin geliştirilebilmesidir (Kvarnström 2010). İletken polimerler sahip oldukları bu özellikler sebebi ile sensör uygulamalarında, transistör- kapasitör uygulamalarında, elektrokromik cihazların

yapımında, ışık saçan diyotlarda, güneş pillerinde, lityum-iyon bataryalarında, biyomedikal uygulamalarında ve korozyon önleyici gibi alanlarda birçok alanda kullanılmaktadırlar.

Son yıllarda, geniş yüzey alanlarından kaynaklanan üstün fiziksel ve elektrokimyasal özellikleri nedeniyle nanoboyutta iletken polimerlerin geliştirilmesi dikkat çeken bir konu olmuştur. Nanoboyutta iletken polimerlerin üretilmesi için en çok tercih edilen yöntem elektrospinning yöntemidir ve bu yöntemle elde edilen iletken nanolifler özellikle sensör uygulamalarında son dönemde yer almaktadır.

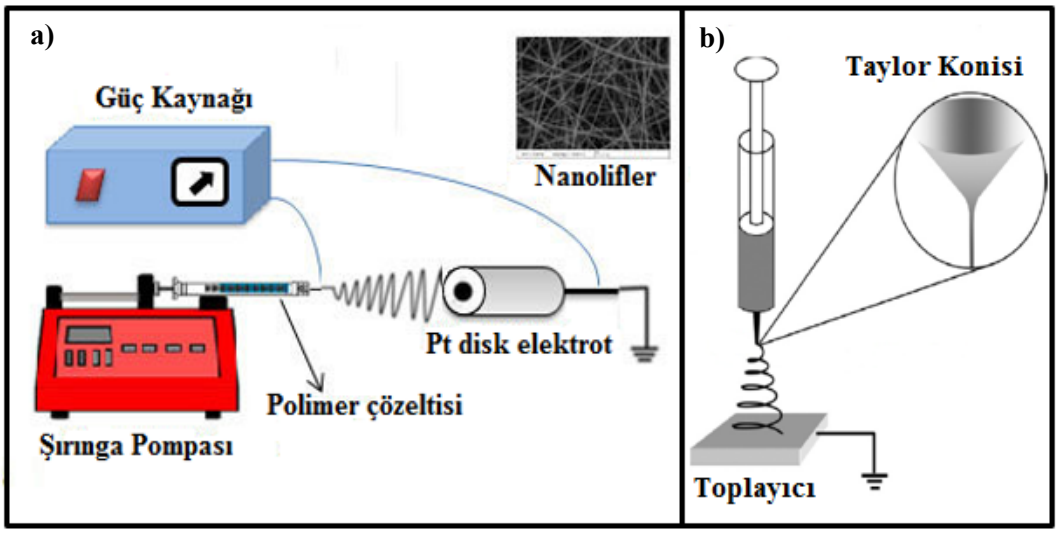
1.2. Nanolifler

Nanolif teknolojisi, üstün özelliklere sahip nano ölçekli lifler şeklinde malzemeler yaratma amacı olan bir nanoteknoloji dalıdır. Nanoliflerin, sahip olduğu geniş yüzey alanı, gözenekli yapısı, iyi mekanik özellikleri, esnekliği ve üstün yön mukavemetinin benzersiz kombinasyonu bu tür lifleri tekstil, kapasitör-transistör, membran-filtrasyon, enerji depolama, ilaç salınımı, havacılık uygulamaları, biyomedikal uygulamaları, optik uygulamalar, yapay doku eldesi ve biyosensör gibi pek çok uygulama alanı için tercih edilen bir malzeme haline getirmektedir (Jian vd. 2008).

Nanolif üretmek için fibrilasyon yöntemi, meltblown yöntemi, bikomponent yöntemi ve elektrospinning gibi çeşitli yöntemler geliştirilmiştir (Çetiner vd.2010). Elektrospinning yöntemi; düşük maliyetli olması, kolay ve hızlı lif eldesi sağlaması, küçük hacimli polimer çözeltilerinden lif eldesi sağlayabilmesi ve çeşitli polimerlerin birlikte kullanılarak kolay lif eldesi sağlaması gibi özellikleri nedeniyle en çok tercih edilen nanolif üretim yöntemidir.

1.2.1. Elektrospinning yöntemi

Bir eğirme tekniği olan elektrospinning, polimer çözeltilerinden veya eriyiklerden ince lifler üretmek için elektrostatik kuvvetleri kullanan benzersiz bir yaklaşımdır.Bu yöntem ile üretilen lifler, geleneksel eğirme işlemlerinden elde edilenlerden çok daha geniş bir yüzey alanına ve daha ince bir çapa sahiptir. Elektrospinning işlemi genellikle atmosfer koşullarında ve oda sıcaklığında gerçekleştirilir. Elektrospinning sistemi temel olarak, şırınga pompası, topraklanmış bir toplama plakası (genellikle bir metal plaka) ve yüksek bir voltaj kaynağı olmak üzere üç ana bileşenden oluşur (Şekil 1.5). Polimerler, elektrospinning öncesinde çözücüler içinde çözündükten sonra, elektrospinning için şırıngaya yerleştirilir ve şırınga içersindeki polimer çözeltisine yüksek voltaj uygulanarak, bu polimer çözeltisinin zıt kutuplara sahip bir toplayıcıya doğru jetlenmesi sağlanır (Liang vd. 2007, Nagapudi vd.2002). Elektrospinning işleminde, yüzey gerilimi ile şırınga ucunda tutulan polimer çözeltisi, bir elektrik alanına tabi tutulur ve bu elektrik alanı nedeniyle sıvı yüzeyinde bir elektrik yükü indüklenir. Uygulanan potansiyel sayesinde elektrik alanı kritik bir değere ulaştığında, itici elektrik kuvvetleri yüzey gerilimi kuvvetlerinin üstesinden gelir ve çözeltinin yüklü bir jeti Taylor konisinin ucundan çıkarak, şırınga ucu ile toplayıcı arasındaki boşlukta dengesiz kalır ve hızlı bir jetleme meydana gelir. Bu durum çözücünün buharlaşmasına neden olarak geride bir polimer nanolifi bırakmış olur (Adomavičiūtė 2007, Sun vd. 2003, Taylor 1969).



Şekil 1.5. a) Elektropsinning şeması (Çetin ve Camurlu 2018) ve **b)** Taylor konisi (Taylor 1969)

Genellikle, moleküler ağırlığı yüksek olan ve çözücü içersinde çözünebilen polimerler elektrospiningde kullanılabilir. Elektrospinning; çözelti parametreleri (polimer moleküler ağırlığı, konsantrasyon, çözücü iletkenliği, viskozitesi ve yüzey gerilimi), işlem parametreleri (uygulanan voltaj, çözelti besleme hızı, şırınga ucu-toplayıcı arasındaki mesafe) ve ortam parametereleri (sıcaklık, nem) gibi pek çok değişkene bağlıdır. Bu parametrelerin her biri, elde edilen lifin morfolojisini önemli ölçüde etkilediğindensöz konusu değişkenlerin optimize edilmesi gerekmektedir.(Chong vd. 2007)

1.2.1.1. Çözelti parametreleri

Konsantrasyon: Elektrospinning işleminde, homojen ve sürekli bir lif oluşumunun gerçekleşebilmesi için optimum bir çözelti konsantrasyonuna ihtiyaç vardır. Yüksek çözelti konsantrasyonlarında sürekli lif oluşumunun engellendiği ve homojen nanolif yapısının elde edilemediği ve düşük çözelti konsantrasyonlarında ise liflerin yerine boncuksu yapıların oluştuğu görülmüştür. (Deitzel vd. 2001, Sukigara vd.2003).

Moleküler ağırlık: Polimerin moleküler ağırlığı, polimerin karakteristik özellikleri olan iletkenlik, yüzey gerilimi ve viskozite üzerinde önemli bir etkiye sahiptir. Genel olarak yüksek moleküler ağırlıklı polimer çözeltileri, lif üretimi için istenen viskoziteyi sağladıklarından elektrospining işleminde tercih edilirken, düşük moleküler ağırlıklı polimer çözeltileri ise, nanolifler yerine boncuksu yapılar oluşturmalarından dolayı tercih edilmezler. Elektrospinning yöntemiyle, yüksek moleküler ağırlıklı bir polimer çözeltisinden elde edilen liflerin daha büyük lif çapına sahip olduğu ve düşük moleküler ağırlıklı çözeltilerden elde edilen liflerinse daha küçük çaplı oldukları görülmüştür.

Viskozite: Polimerin moleküler ağırlığı, bir çözelti içindeki polimer zincirlerinin birbirine dolanma sayısını, dolayısıyla çözelti viskozitesini yansıtmaktadır (Mckee 2014). Çözelti viskozitesi, lif boyutunun ve lif morfolojisinin belirlenmesinde önemli bir rol

oynamaktadır. Çok düşük viskozitede lif oluşumunun gözlenemediği, daha çok boncuksu yapıların oluştuğu, çok yüksek viskozitedeyse polimer çözeltisinden sürekli bir jetleme olmadığı gözlenmiştir. Polimerin viskozitesi, polimer konsantrasyonu ve moleküler ağırlığı birbiriyle ilişkilidir.

Yüzey Gerilimi (σ); birim uzunluk başına, yüzey düzlemine uygulanan kuvvet olarak tanımlanmaktadır. Sıvılarda, havadan düşen küçük bir damlacık küresel bir şekil alır ve yüzey gerilimi olarak bilinen sıvının yüzey özelliği bu olaya neden olur. Bir çözeltinin yüksek yüzey gerilimi, jetlerin kararsızlığı ve püskürtülen damlacıkların oluşması nedeniyle elektrospinning sürecini engeller (Hohman vd.2001). Elektrospinning işleminde, sıvı çözeltideki yüzey geriliminin üstesinden gelmek için polimer çözeltisinin yeterli yüke sahip olması gerekir. Damlacıkların, boncukların ve liflerin oluşumu, çözeltinin yüzey gerilimine bağlıdır ve eğirme çözeltisinin daha düşük yüzey gerilimi, daha düşük bir elektrik alanında elektrospin oluşmasına yardımcı olur (Haghi ve Akbari 2007).

1.2.1.2. İşlem parametreleri

Uygulanan Voltaj (kV): Elektrospinning işleminde, sadece eşik voltaja ulaşıldıktan sonra lif oluşumu meydana gelebildiğinden, çözeltiye uygulanan voltaj çok önemli bir unsurdur. Uygulanan voltaj sayesinde, elektrik alanı ile birlikte çözelti üzerinde gerekli yükler indüklenir ve elektrospinning süreci başlar. Literatürde, uygulanan voltajın elektrospinning üzerine etkisi hakkında iki farklı görüş vardır. Doshi ve Reneker'in yapmış olduğu polietilen oksitin elektrospinlenmesi çalışmasında, elektrik alanın lif çapı üzerine fazla bir etkisinin olmadığı, uygulanan voltajın artmasının daha fazla polimer püskürmesine neden olduğu ve bunun da daha büyük çaplı liflerin oluşumunu kolaylaştırdığı öne sürülmüştür (Doshi ve Reneker 1995, Process vd. 1995, Zhang vd. 2005). Literatürdeki yaygın olan bir diğer görüş ise, uygulanan voltajdaki bir artışın (yani elektrik alan kuvvetini artırarak), lif çapının daralmasına neden olan sıvı jeti üzerindeki elektrostatik itme kuvvetini arttırdığı yönündedir (Buchko vd.1999). Daha yüksek bir voltaj, jetteki daha büyük Columbik kuvvetler ve daha güçlü bir elektrik alanı nedeniyle çözeltinin daha fazla gerilmesine neden olur ve bu etkiler, lif çapında azalmaya ve ayrıca liflerden çözücünün hızlı buharlaşmasına yol açar (Buchko vd.1999, Deitzel vd.2001, Demir vd.2002, Haghi ve Akbari 2007, Katti vd. 2004, Lee vd. 2004, Megelski vd. 2002, Mo vd. 2004, Pawlowski vd. 2004). Yapılan çalışmalar uygulanan elektrik alanını ikiye katlayarak fiber çapının yaklaşık yarı yarıya azaldığını göstermiştir (Yördem vd. 2008).

Besleme Hızı (ml/h): Polimerin şırıngadan akış hızı, jetleme hızını ve püskürtülen polimer çözeltisi miktarını etkilediği için önemli bir işlem parametresidir. Elektrospinning sırasında çözücünün buharlaşması için yeterli bir zamana ihtiyaç olduğundan, genelikle daha düşük bir besleme hızı daha çok tercih edilmektedir (Yuan vd. 2004). Yüksek akış hızında ise, polimer çözeltisinin toplayıcıya ulaşmadan önce çözücünün yeterli kuruma süresine sahip olamaması nedeniyle boncuklu liflerle sonuçlanır.

Mesafe: Şırınga ucu ile toplayıcı arasındaki mesafe, lif çaplarını ve morfolojisini kontrol etmek için başka bir yaklaşım olarak incelenmiştir. Kollektöre ulaşmadan önce liflerin kuruması için yeterli zamanı vermek adına uygun bir mesafenin gerekli olduğu

bulunmuştur, aksi takdirde çok yakın veya çok uzak mesafelerde boncuklar gözlenmiştir (Geng vd.2005, Li vd.2004, Xu vd. 2004).

Genel olarak elektrospinning parametreleri incelenmiş olup, Çizelge 1.1'de bu parametrelerin, lif morfolojisi üzerine etkileri özetlenmiştir.

Çizelge 1.1. Elektrospinning parametrelerinin lif morfolojisi üzerine etkileri

Parametreler	Lif Morfolojisi Üzerine Etkisi
Viskozite	Viskozite düşükse boncuklu yapıların oluşumu, vizkozite yüksekse lif çapında artış görülür.
Polimer Konsantrasyonu	Konsantrasyon arttıkça lif çapı artar.
İletkenlik	İletkenlik arttıkça lif çapı azalır
Yüzey Gerilimi	Lif morfolojisi ile kesin bir bağlantısı yoktur. Artan yüzey gerilimi stabil olmayan jetlemeye sebep olur.

1.2.2. İletken nanoliflerin uygulama alanları

İletken polimerlerin optik ve elektriksel özellikleri doplama ve de-doplama işlemleri ile tersinir olarak değiştirilebildiği için, iletken polimer nanoyapılar kimyasal sensör, optik sensör ve biyosensör olarak kullanılmaktadır. Literatürdeki çalışmalar, sensör uygulamaları için nanoliflerin kullanılmasının akıllı sensörlerin geliştirilmesinde önemli bir rol oynadığını göstermiştir.

İletken nanoliflerle yapılan gaz sensör çalışmaları (Cho vd.2012, Choi vd.2010, Z. Li vd.2008), fotosensör çalışmaları (Wang vd 2009, Wu vd.2009) iletken nanoliflerin sensor uygulamalarında yer almasının onların analitik performanslarına olumlukatkı yaptığını göstermiştir.

Zampetti ve arkadaşlarının 2011 (Zampetti vd.2011) yılında yaptığı çalışmada, polianilin/polistiren (PAni/PS) ve polianilin/polivinilpirolidon (PAni/PVP) çözeltilerinden, elektrospinning yöntemiyle elde edilen iletken nanolifler farklı elektrotların yüzeylerine kaplanmıştır. Elde edilen bu elektrotlar NO_2 ve NH_3 buharlarına maruz bırakılmışlardır. Sonuçlar, PAni/PVP nanoliflerinin NO_2'ye karşı daha hassas, PAni/PS nanoliflerinin de NH_3'e karşı daha hassas olduğunu göstermiştir. Elde edilen sensörler yüksek hassasiyet göstermiştir.

Aynı yıl farklı bir grup tarafından yapılan başka bir çalışmada (Pinto vd.2011) ise polietilenoksit/poli(3,4-etilendioksitiyofen)-poli(stiren sülfonat) (PEO/PEDOT-PSSA) nanolifleri elektrospinning yöntemi ile elde edilmiş ve hazırlanan elektrotlar; alifatik alkol buharlarına, NH_3, HCI ve NO_2 buharlarına maruz bırakılmışlardır. Çalışmanın

sonucunda PEO/PEDOT-PSSA nanoliflerinden hazırlanan gaz sensörünün düşük gaz konsantrasyonlarına karşı yüksek hassasiyet gösterdiği, yeniden kullanılabilir olduğu ve daha hızlı tepki süresine sahip olduğu gözlenmiştir.

İletken nanolifler ışık saçan diyotlar, ince film transistörler ve fotovoltaik hücre uygulamalarında da kullanılabilmektedir.

Örneğin; Babel ve arkadaşları, tiyofen gruplu iletken nanolifler hazırlamışlar ve bu nanolifler alan etkili transistorlerde kullanılmışlardır. Elde edilen sonuçlar iletken nanoliflerin transistör uygulamalarında yüksek performansla kullanılabileceğini göstermiştir (Babel vd.2005).

Liu ve arkadaşları, poli (3-hekziltiyofen) nanoliflerinden alan etkili transistör yapmışlardır (Liu vd.2005). Alam ve arkadaşları, polianilin, polipirol ve PEDOT nanoağlarına dayalı elektrolit kapılı transistörler hazırlamışlardır (Alam vd.2005). Pinto ve arkadaşları ise n-katkılı Si/SiO_2 substrat ve doplanmış polianilin nanoliflerini kullanarak diyot yapımında iletken nanoliflerin kullanılabileceğini göstermişlerdir (Pinto vd.2013).

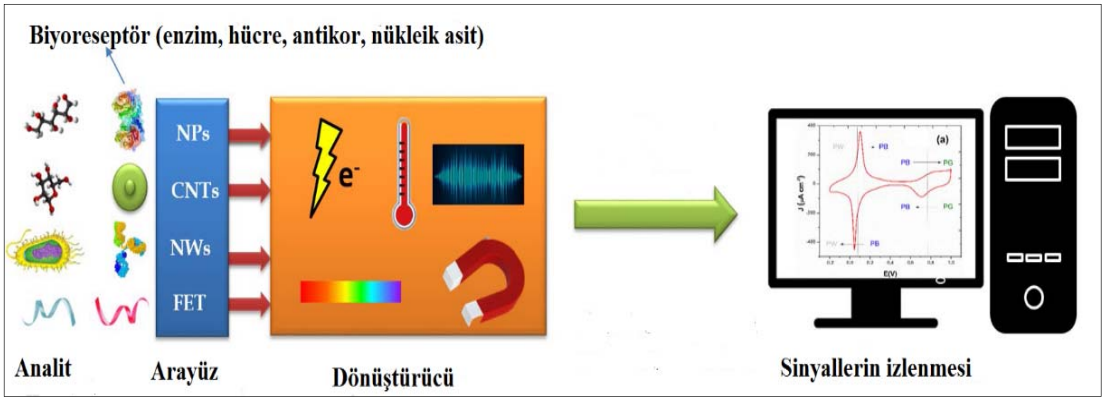
Jang ve arkadaşları, tertiyofen ve asetat gruplu monomerlerin halka açılma polimerizasyonu ile rastgele kopolimer sentezi gerçekleştirmiş ve elde edilen iletken polimeri THF/DMF çözücü karışımında çözerek elektrospinning yöntemiyle nanolifler elde etmişlerdir. Bu nanolifleri ise elektrokromik cihazların yapımında kullanmışlardır (Jang vd. 2005).

İletken nanolifler üzerine yapılan kapasitör çalışmaları, nanoliflerin geniş yüzey alanlarından dolayı yüksek enerji depolama kapasitesine sahip olduğunu ve daha simetrik şarj/deşarj döngüleri gösterdiğini kanıtlamıştır (Laforgue 2011, Zhang vd.2004). Bu nedenle enerji depolama materyalleri olarak nanolifler, solar enerji depolama, lityum iyon piller, iklimlendirme ve ısıtma sistemlerinde yaygın olarak kullanılmaktadır.

1.3. Biyosensörler

1962 yılında Leland C. Clark tarafından standart bir oksijen elektrodunun glukoz oksidaz enzimi ile ince bir tabaka halinde kaplanmasıyla ilk enzim elektrodu hazırlanmış ve böylece biyosensörlerin tarihi başlamıştır (Clark ve Lyons 2006). O zamandan beri fizik, kimya ve malzeme bilimi gibi çeşitli alanlardaki araştırma toplulukları tıp, tarım, sağlık ve biyoteknoloji gibi uygulama alanlarında çeşitli biyosensörlerle çalışarak, biyosensörlerin gelişmesine katkı sağlamışlardır.

IUPAC tarafından kabul edilen tanıma göre, "biyosensör, doğrudan biyokimyasal reseptör kullanarak, kantitatif veya yarı kantitatif olarak analitik bilgi sağlayabilen, kendi kendine yeten entegre bir cihaz'' olarak tanımlanır(Lee ve Mutharasan 2005). Bir biyosensör, bir biyoreseptör (alıcı) ve bir dönüştürücü olmak üzere iki bileşenden oluşur. Biyoreseptör, hedef analiti tanımaya yarayan bir biyomoleküldür. Dönüştürücü ise, tanıma olayını ölçülebilir bir sinyale dönüştüren bileşendir. Bir biyosensörün en önemli özelliği bu iki bileşenin birbirine entegre olabilmesidir (Lee ve Mutharasan 2005). Şekil 1.6'da biyosensörler şematik olarak gösterilimiştir.



Şekil 1.6. Biyosensörlerin şematik gösterimi (Inamuddin vd.2019)

1.3.1. Biyosensörlerin yapısı

Biyosensörler, biyolojik bir yanıtı bir sinyale dönüştürebilen analitik cihazlar olarak tanımlanırlar (Bollella 2020, Lee ve Mutharasan 2005). Üretilen sinyal, biyolojik ya da kimyasal reaksiyona bağlı olarak bir elektrik sinyali olabildiği gibi ısı, renk değişikliği veya sistemin kütlesinde meydana gelen değişiklik de olabilir (Dong ve Dae 2008).

1.3.1.1. Biyoreseptörler

Biyoreseptörler, analiti yüksek spesifiklikte tanıyabilen biyosensördeki tanıma öğeleridir. Spesifik bir biyoreseptör, spesifik bir analiti tanımlar ve dönüştürücü, reseptörde meydana gelen değişikliği bir sinyale dönüştürür. Biyoreseptör olarak; enzimler, mikroorganizmalar, antikorlar, DNA/RNA gibi nükleik asitler, organeller ve doku kültürleri kullanılmaktadır. Biyoreseptörler analite tepkisel ve diğer analitlere karşı tepkisiz olmalıdır (Inamuddin vd.2019, Y. H. Lee ve Mutharasan 2005).

Enzim biyosensörleri: Biyoreseptör olarak enzimlerin kullanıldığı en yaygın biyosensörlerdir. En popüler olanı, numunedeki glukozu glukonolaktona dönüştüren glukoz oksidaz enziminin kullanıldığı ve numunede bulunan glukoz miktarıyla orantılı bir akımın oluşmasına yol açan amperometrik glukoz sensörüdür (Yoo ve Lee 2010). Literatürde katekolün tayini için polifenol oksidaz (Lupu vd.2013a, Lupu vd.2013b), alkolün algılanması için alkol oksidaz (Hämmerle vd.2011), fruktozun tayini için fruktoz dehidrojenaz enzimi (Trivedi vd. 2009) ve amino asitlerin algılanması için D-amino asit oksidaz (Lata vd. 2013) enzimlerinin kullanıldığı çalışmalar da mevcuttur.

Antikor biyosensörleri:Antikorlar, antijenlere spesifik olarak bağlanır ve kullanılan dönüştürücüye bağlı olarak bir sinyal oluşmasını sağlarlar (Sharma vd.2016). Antikor bazlı biyosensörler gıdalarda (Wu vd.2016), sularda (Law vd. 2014) patojenlerin tespiti ve hastalık biyobelirteçlerinin tespiti (Sanjay vd.2015) gibi çeşitli uygulamalarda kullanılır.

Genetik materyal içeren biyosensörler:Bu tür biyosensörlerde biyoreseptör olarak genellikle DNA veya RNA kullanır. Bunlar oldukça gelişmiş biyosensörler olup çok daha

seçici ve hassastırlar. RNA tabanlı floresan biyosensörleri canlı hücreleri görüntülemek için kullanılabilirken (Kellenberger vd.2015), DNA tabanlı sensörler, reaktif oksijen türlerinin DNA'ya verdiği zararı belirlemek ve antioksidanların etkilerini kontrol etmek için de kullanılabilir (Ziyatdinova vd.2008).

1.3.1.2. Dönüştürücüler

Dönüştürücüler, elde edilen biyolojik sinyali ölçülebilir bir forma dönüştüren bileşenlerdir. Sinyalin türüne göre optik, kalorimetrik, piezoelektrik ve elektrokimyasal biyosensörler olarak sınıflandırılabilirler.

1.3.2. Biyosensör türleri

1.3.2.1. Optik biyosensörler

Ölçülen sinyal; ışıma, ışık absorpsiyonu, floresans ya da kırılma indisinde meydana gelen bir değişiklik şeklindeyse, bu biyosensörlere optik biyosensörler denir. Bu biyosensörlerin çalışma prensibi; interferometrik, yüzey plazma rezonansı (SPR) ve Raman sinyali (Long vd.2013) gibi temel ilkelere dayanmaktadır. Optik biyosensörler; ilaç, enzim, pestisit ve genetik materyal gibi çeşitli analitlerin algılanması için kullanılmaktadır (Borisov ve Wolfbeis 2008).

1.3.2.2. Kalorimetrik (termal) biyosensörler

Biyoreseptörler ile analittepkimeye girdiğinde, ekzotermik veya endotermik reaksiyonlar gerçekleşebilir. Ekzotermik ya da endotermik reaksiyonlar sonucu oluşan ısı değişimi, biyosensörlerde bir sinyal olarak kullanılabilir. Kalorimetrik biyosensörler sayesinde sıcaklıklardaki değişiklikler tespit edilebilir ve özellikle hastalıkların tespiti için bu biyosensörler kullabilir (Danielsson vd. 1992).

1.3.2.3. Piezoelektrik biyosensörler

Piezoelektrik sensörler, karakteristik rezonans frekansındaki değişimleri belirleyerek kütle değişikliklerindeki ölçülmesi esasına dayanırlar. Bu biyosensörlerin çalışma prensibi, piezoelektrik malzemenin bir elektrik alana maruz kaldığında, malzemede bir gerilim üretmesi ve bunun tersini belirten piezoelektrik etkiye dayanmaktadır. En yaygın piezoelektrik malzeme kuvars kristalidir (Skládal 2016) ve biyosensörler arasında duyarlılığı en yüksek, üretimi en zor ve en pahalı olan biyosensör, piezoelektrik biyosensörüdür. Sahip olduğu yüksek duyarlılık nedeniyle, HIV virüslerinin tespitinde (Bisoffi vd. 2013), organofosfat ve karbamat kökenli pestisitlerin algılanmasında da kullanılmaktadır (Marrazza 2014).

1.3.2.4. Elektrokimyasal biyosensörler

Elektrokimyasal biyosensörler; oldukça hassas, taşınabilir, yapımı kolay olan ve elektroanalitik yöntemlerin duyarlılığını biyolojik bileşenin doğal biyoseçiciliği ile birleştirebilen biyosensörlerdir (Ronkainen vd.2010).

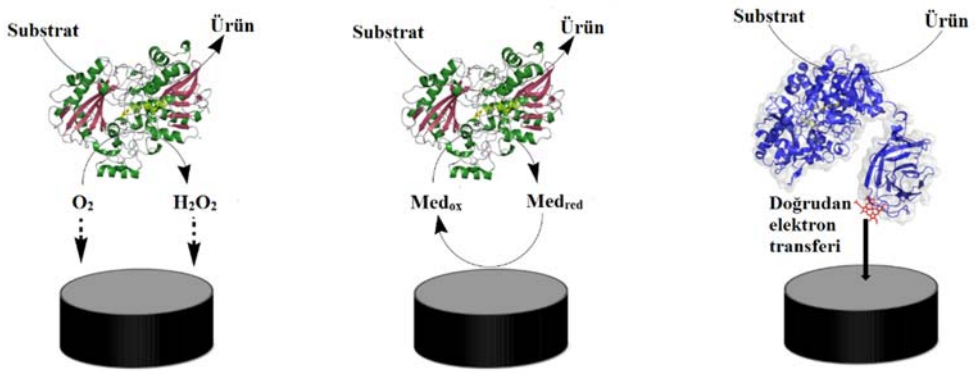
Elektrokimyasal biyosensörler tipik olarak enzim, antikor veya DNA gibi biyomateryaller kullanılarak ve metal/karbon elektrotların yüzeyini değiştirerek

hazırlanırlar (Wang vd. 2014). Elektrokimyasal biyosensörler amperometrik, potansiyometrik veya kondüktometrik olarak üçe ayrılırlar.

Amperometrik biyosensörler

Amperometrik sensörler, bir biyosensördeki biyolojik varlığın oksidasyonu veya redüksiyonu sonucu olarak akımda meydana gelen değişimin tespit eden sensörlerdir. Glukozun tespiti için, amperometrik biyosensörler çok yaygın olarak kullanılmaktadır. Literatürdeki birçok çalışmada, amperometrik glukoz biyosensörlerinin geniş doğrusallığa ve iyi tespit sınırına sahip olduğunu bildirmiştir (Goriushkina vd. 2009, Guo vd. 2013). Günümüzde amperometrik biyosensörler tıbbi uygulamalar için kullanılmaktadır (Aparecido vd. 2013, Gómez ve Mercado 2015). Amperometrik biyosensörler daha hızlı, daha hassas ve daha doğru sonuçlar vermeleri açısından potansiyometrik biyosensörlere göre üstündür.

Biyosensörler, üç nesil halinde sınıflandırılırlar. Birinci nesil enzim içeren amperometrik glukoz biyosensörlerinde, elektron alıcısı olarak moleküler oksijen kullanılmaktadır. Elektronların moleküler oksijene aktarılması sonucunda oksijen tüketimi ya da hidrojen peroksit üretimi meydana gelmektedir. İkinci nesil enzim içeren amperometrik glukoz biyosensörlerinde ise, düşük oksidasyon potansiyeline sahip yapay elektron alıcıları (medyatör) kullanılmaktadır. Medyatörlerorganik maddeler, polimerler vemetallerin organik veya inorganik kompleksleri olabilmektedir.Üçüncü nesil biyosensörlerde herhangi bir ara aşama veya nanopartikül kullanılmadan elektronlar doğrudan enzimden elektroda aktarılmaktadır. Şekil 1.7'de amperometrik enzim elektrotlarının sınıflandırılması gösterilmiştir.



Şekil 1.7. Amperometrik enzim elektrodu sınıfları **a)** 1.nesil, **b)** 2.nesil, **c)** 3.nesil, (https://www.directsens.com/technology-biosensors[son erişim tarihi 30.12.2021])

Potansiyometrik biyosensörler

Potansiyometrik biyosensörlerin çalışma prensibi, referans elektrot ile çalışma elektrodu arasındaki potansiyel farkın ölçülmesi esasına dayanmaktadır. Genellikle gıda örneklerinde saflığı bozucu maddelerin belirlenmesi (Pisoschi 2016), atık ürünlerdeki ve kandaki üre tayini (Lai vd. 2017, Pisoschi 2016) ve sütte kontaminasyonu tespit etmek için (Trivedi vd. 2009) potansiyometrik biyosensörler kullanılmıştır. Ayrıca,

amperometrik sensörler gibi potansiyometrik biyosensörler de hastalıkların yerinde tespiti için kullanılmaktadır.

Kondüktometrik biyosensörler

Kondüktometrik biyosensörler, mikro elektrotlardan oluşan, yapımı kolay biyosensörlerdir. Bu biyosensörler, analitlerin eser miktardaki konsantrasyonlarını belirlemek için kullanılabilen oldukça hassas biyosensörlerdir (Inamuddin vd.2019). Kondüktometrik sensörler, idrardaki metamfetamin tayininde (Yagiuda vd. 1996), çevreyi kirleten organofosfat pestisitlerin tayininde (Mulyasuryani ve Prasetyawan 2015), sudaki ağır metallerin (Soldatkin vd. 2012) ve formaldehitlerin tayininde (Nguyen-Boisse vd. 2014) kullanılmıştır.

1.3.3. Amperometrik biyosensörlerin analitik performanslarının değerlendirilmesi

Biyosensörlerin; çok düşük konsantrasyonlarda (eser miktarlarda) bile analiz yapabilmesi, hedef analiti kabul edilebilir bir belirsizlik derecesiyle tespit etmek için yeterli hassasiyete ve seçiciliğe sahip olması, kararlı olması ve geniş doğrusal aralıkta çalışması beklenmektedir (Inamuddin vd. 2019). Bu nedenle, biyosensörlerin duyarlılık, tespit sınırı, seçicilik, kullanım kararlılığı, cevap süresi ve raf ömrü gibi performans parametreleri takip edilerek biyosensörlerin analitik performansları hakkında bilgi sahibi olunabilmektedir.

1.3.3.1. Duyarlılık ve seçicilik

Duyarlılık terimi sinyal yanıtının büyüklüğü olarak tanımlanırken, seçicilik terimi ortamdaki diğer bileşiklerin varlığında biyomolekülün hedef analite yanıt verebilme yeteneği olarak tanımlanır. Hücreye eklenen analit derişimi ile meydana gelen akım değişikliğine ait kalibrasyon grafiğinin eğimi elektrodun yüzey alanına bölünerek biyosensörün duyarlılığı bulunur. Hem duyarlılık hem de seçicilik, biyosensörler için çok önemlidir. Bir biyosensörün duyarlılığını iyileştirmesinin genellikle seçiciliğini azalttığı gözlenmiştir. Buna çözüm olarak elektrot yüzeyine Nafion®, selüloz asetat, poliester sülfonik vb. gibi kalıcı seçici membranları eklenmiştir. (Inamuddin vd. 2019). Bu tip membranların biyosensör seçiciliğini arttırdığı, buna karşın duyarlılığı azaltıp cevap süresini arttırdığı belirlenmiştir.

1.3.3.2. Tespit sınırı (LOD) ve tayin aralığı

Tespit edilebilen en düşük analit konsantrasyonuna, tespit snırı (LOD) denir. LOD, biyolojik sıvı veya dokularda oldukça düşük konsantrasyonlarda bulunan analitleri tespit etmek için kritik bir parametredir.LOD değerini tespit etmek için; hazırlanan biyosensörün sinyal/gürültü (S/N) oranının 3 olduğu substrat derişimine karşılık gelen, analit konsantrasyonu hücreye eklenir ve meydana gelen akım değişiklikleri kaydedilir.

LOD değeri;

$$LOD = \frac{3\ x\ std.sapma}{eğim} \qquad (1.1)$$

formülünden bulunur. Burada, aynı derişimdeki analitin biyosensör hücresine eklenmesiyle okunan cevaplar arasındaki standart sapma değerinin üç katının, kalibrasyon grafiğinin eğimine bölünmesiyle LOD değeri elde edilmiş olur. LOD'un; enzim immobilizasyonunda kullanılan polimere, biyolojik materyalin analite karşı olan ilgisine, kullanılan elektrotun tipine ve yüzey büyüklüğüne bağlı olduğu ve nano/mikroelektrotlar kullanılarak hazırlanan nanoyapılı biyosensörlerin yarıküresel difüzyon karakterleri sayesinde LOD değerinin düşürülebilir olduğu bulunmuştur (Vaddirajuvd. 2010).

Doğrusal aralık; kalibrasyon grafiğindeki analit derişimi ile biyosensör cevabı arasındaki ilişkinin doğrusal olduğu aralığa denir. Doğrusal aralığın en alt ve en üst limiti biyosensörün tayin aralığı olarak ifade edilir.

1.3.3.3. Kullanım kararlılığı ve raf ömrü

Bir biyosensörde kullanım kararlılığı; o biyosensörün aynı gün, aynı koşullar altında, sabit analit konsantrasyonuna karşı art arda yapılan ölçümler sonucu kaydedilen sinyalin bağıl aktivite hesabı ile ifade edilmesidir (Gibson 1999). Raf ömrü ise biyosensörün belirli aralıklar ile aynı koşullar altında ve sabit analit derişimine karşı verdiği sinyalin bağıl aktivite hesabı ile ifade edilmesidir (Gibson 1999). İdeal bir biyosensörün kullanım kararlılığının yüksek ve raf ömrünün uzun olması beklenir.

1.3.4. Enzimler

Enzimler, canlı organizmalarda biyokimyasal reaksiyonları hızlandıran biyolojik katalizörlerdir (Robinson 2015). Genellikle, substrat moleküllerinin ürün moleküllerine dönüşümünü (Eşitlik 1.2) katalize ederler;

$$\text{Substrat} \xrightleftharpoons{\text{Enzim}} \text{Ürün} \qquad (1.2)$$

Enzimler katalize ettikleri reaksiyonlara göre sınıflandırılırlar;

Oksidoredüktazlar: Enzimle substrat arasındaki redox reaksiyonlarını kataliz ederler.

Trasferazlar: Moleküllerden C, N ve P içeren grupların transferini katalizlerler.

Hidrolazlar: Bir kimyasal bağın hidrolizini kataliz eden enzimlerdir.

Liyazlar (Sentazlar): C-C, C-N ve C-S bağlarının kırılma reaksiyonunu katalizlerler.

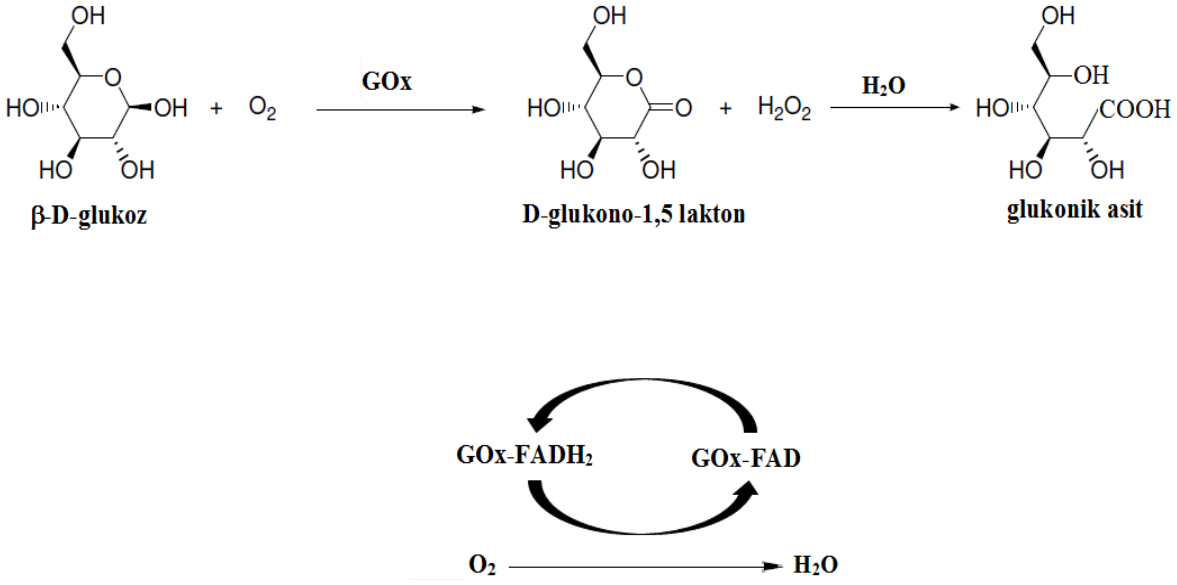
İzomerazlar: Optik veya geometrik izomerlerin rasemizasyonunu katalizleyen enzimlerdir.

Ligazlar (Sentetazlar): C ve C,S,O,N arasındaki kovalent bağların oluşumunu, ATP gibi yüksek enerjili fosfatların hidrolizi ile katalizleyen enzimlerdir.

1.3.4.1. Glukoz Oksidaz (GOx) enzimi

1928 yılında Aspergillus niger özlerinde keşfedilen glukoz oksidaz enziminin ucuz ve kolay elde edilebilir olması, geniş pH aralığında çalışılabilir olması ve glukoz için yüksek seçiciliğe sahip olması, glukoz biyosensörleri için standart enzim olarak yaygın bir şekilde kullanılmasını sağlamıştır (Müller vd. 2011).

GOx enzimi yapısında flavin adenin dinükleotit (FAD) içermektedir ve FAD moleküler oksijen varlığında eletron alıcısı olarak davranarak, β-D-glukoz'un D-glukonolakton ve hidrojen peroksite oksidasyonunu katalizlemektedir. Bu reaksiyon, indirgenme ve yükseltgenme adımları olarak iki basamakta gerçekleşmektedir. İndirgenme yarı reaksiyonunda β-D-glukozun, D-glukonolaktona oksidasyonu katalizlenir ve ardından GOx'un halkasındaki FAD, $FADH_2$'ye indirgenmektedir. Yükseltgenme yarı reaksiyonunda ise indirgenmiş GOx, O_2 tarafından H_2O_2 üretmek için yeniden okside olur (Şekil 1.8) (Bankar vd. 2009, Wilson 1992, Wong vd. 2008). H_2O_2'in üretilmesiyle GOx'un enzimatik aktivitesi azalır ve artan H_2O_2 miktarı enzimi inaktive eder.



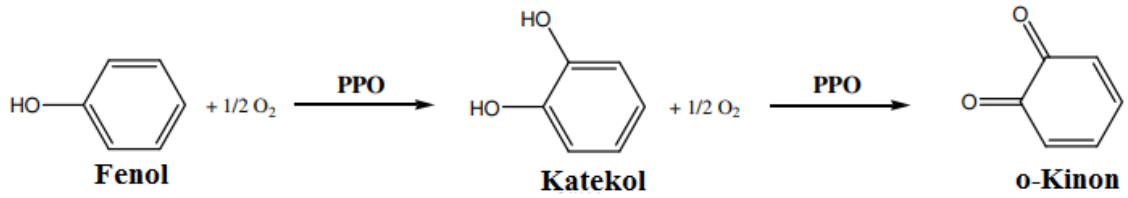
Şekil 1.8. GOx enziminin yer aldığı kimyasal süreç

Amperometrik glukoz biyosensörleri genellikle enzim reaksiyonu tarafından üretilen H_2O_2'nin ölçülmesi ya da tüketilen O_2 miktarının ölçülmesi esasına dayanmaktadır.

1.3.4.2. Polifenol oksidaz (PPO) enzimi

Tirosinaz olarak da bilinen polifenol oksidaz (PPO) enzimi, ilk olarak 1856 yılında mantarlarda keşfedilmiştir. Daha sonra yapılan çalışmalarda; avakado, muz, üzüm, elma, şeftali, patates ve çay yaprakları gibi bitkilerde de bu enzimin olduğu tespit edilmiştir (Esposito ve Durán 2000).

Aktif bölgesi iki bakır atomundan oluşan PPO, moleküler oksijen varlığında iki farklı reaksiyonu katalize eder: ilk olarak monofenollerin hidroksilasyonu (kresolaz aktivitesi) ile o-difenollar (katekol) oluşur ve sonra o-difenollerin, o-kinonlara oksidasyonu (katekolaz aktivitesi) gerçekleşir (Şekil 1.9). Bu reaksiyonlar sonucunda son ürün olarak melanin oluşur. (Esposito ve Durán 2000, Queiroz vd. 2008).



Şekil 1.9. PPO enziminin yer aldığı kimyasal süreç

Kresolaz aktivitesi özellikle insan sağlığı için önemlidir. Çünkü bu adımda dihidroksifenilalanin (DOPA) sentezlenmektedir ve DOPA sinirsel bir uyarı ileticisi olan dopaminin öncüsüdür. Dopamin eksikliğinde Parkinson hastalığı gözlenmektedir.

Katekolaz aktivitesi de fenol ve fenol türevlerinin analizinde kullanılabildiği için büyük öneme sahiptir. Neredeyse tüm fenolik bileşikler zehirlidir. Bu nedenle fenollerin deşarj edildiği, özellikle petrol rafineleri, boya, tekstil, plastik sanayi, maden ve kömür tesislerindeki gibi atık sular, temiz su kaynaklarının ekosistemini etkileyebilmektedir. Bu nedenle atık sulardaki fenolik bileşiklerin tayini için biyosensörler yaygın olarak kullanılmaktadır.

PPO tarafından gerçekleştirilen fenolik bileşiklerin oksidasyonu, birçok meyve ve sebze için olgunlaşma, depolama ve işleme sırasında kararma sorununa yol açabilmektedir. Bu sorun, sebze ve meyvelerin beslenme kalitesini ve görünümünü etkilediği için gıda endüstrisi için oldukça önemlidir. Enzimatik esmerleşme sonucu meyvelerde meydana gelen kayıpların oranı çok fazla olduğundan, PPO gıda teknolojisinde kritik bir enzim olarak kabul edilmiş ve yoğun olarak çalışılmıştır (Arogba 2000, Çolak vd. 2005, Kavrayan ve Aydemir 2001, Qudsieh vd. 2002, Spagna vd.2005).

Ayrıca bir bitki hasar gördüğünde PPO enzimi, geçirimsiz melanin pigment kabuğu oluştururak bitkiyi böcek ve mikroorganizmaların saldırısına karşı da korumaktadır ve bu enzim insanlarda saç, ten ve göz pigmentasyonundan da sorumludur.

1.3.4.3. Enzim kinetiği

Michaelis-Menten modeli (Johnson ve Goody 2011), enzim kinetiğine yönelik en basit ve en iyi bilinen yaklaşımlardan biridir. Tersinir olarak sabit bir hızla substrat [S] bir enzim [E] ile birleşerek, enzim-substrat kompleksini [ES] oluşturur. [ES] kompleksi daha sonra ya sabit bir hızla E ve S'ye dönüşür ya da ileri yönde ürün [Ü] oluştururken enzimde serbest haldeki yapısına döner. Bu sistem Eşitlik 1.3'teki gibi gösterilebilir.

$$S + E \underset{k_2}{\overset{k_1}{\rightleftharpoons}} ES \xrightarrow{k_3} Ü + E \quad (1.3)$$

k_1; enzim-substrat bağlanmasının iki moleküllü birleşme hızı sabitini, k_2; serbest enzim ve substratı yeniden oluşturmak için ayrışan ES kompleksinin tek moleküllü hız sabitini gösterir. k_3; serbest enzim ve son ürünü (Ü) vermek üzere ayrışan ES kompleksinin tek moleküllü hız sabitini gösterir ve hız sınırlayıcı adımdır. ES kompleksine ait oluşum hızı ve bozulma hızı aşağıdaki gibidir:

E-S oluşum hızı = $k_1[E][S]$ (1.4)

E-S bozulma hızı = $k_2[ES] + k_3[ES] = (k_2 + k_3)[ES]$ (1.5)

Denge anında [ES] nin oluşumu ve bozulma hızına eşittir,

$k_1[E][S] = (k_2 + k_3)[ES]$ (1.6)

$$[E][S] = \frac{(k_2 + k_3)[ES]}{k_1} \quad (1.7)$$

Toplam enzim konsantrasyonu [E_T] = serbest haldeki enzim [E_F] + ES kompleksindeki bağlı enzimdir.

Eşitlik 1.7'de $(k_2+k_3)/k_1$ile K_m yer değiştirince;

$[E][S] = K_m[ES]$ olur (1.8)

Eşitlik 1.8'deki [E], serbest haldeki enzimi göstermektedir. Serbest haldeki enzim konsantrasyonu için [E_T]-[ES] yazılabilir. Eşitlik 1.8 yeniden düzenlendiğinde;

$([E_T]-[ES])[S] = K_m[ES]$ olur (1.9)

$[ES] = \frac{[E_T]\,[S]}{K_m+[S]}$,e dönüşür. (1.10)

Hız sınırlayıcı adımın hız denklemi;

$$v_0 = \frac{dP}{dt} = k_3\,[ES] \quad (1.11)$$

Eşitlik 1.10'da her iki tarafıda k_3 ile çarpılırsa;

$k_3[ES] = k_3 \frac{[E_T]\,[S]}{k_m+[S]}$,e dönüşür. (1.12)

$v_0 = k_3 \frac{[E_T]\,[S]}{k_m+[S]}$, olur. (1.13)

[S]>>$K_m$ise $v_0=k_3[E_T]$ olur. [S] büyük olduğunda enzimin fazla miktarı ES kompleksinde bağlı bulunur ve $v_0=v_{max}$ olur.

Michaelis-Menten eşitliğini elde etmek için $k_3[E_T]$'yi v_{max}ile değiştirebiliriz;

$$v_0 = \frac{V_{max}\,[S]}{K_m + [S]} \tag{1.14}$$

Burada v_{max}, maksimum (doygun) substrat konsantrasyonlarında elde edilen maksimum hızı, [S] ise substratın konsantrasyonunu temsil eder. K_m, Michaelis-Menten sabitidir ve en yüksek reaksiyon hız değerinin (v_{max}) yarısına ulaşmak için gereken substrat konsantrasyonunu ifade eder.

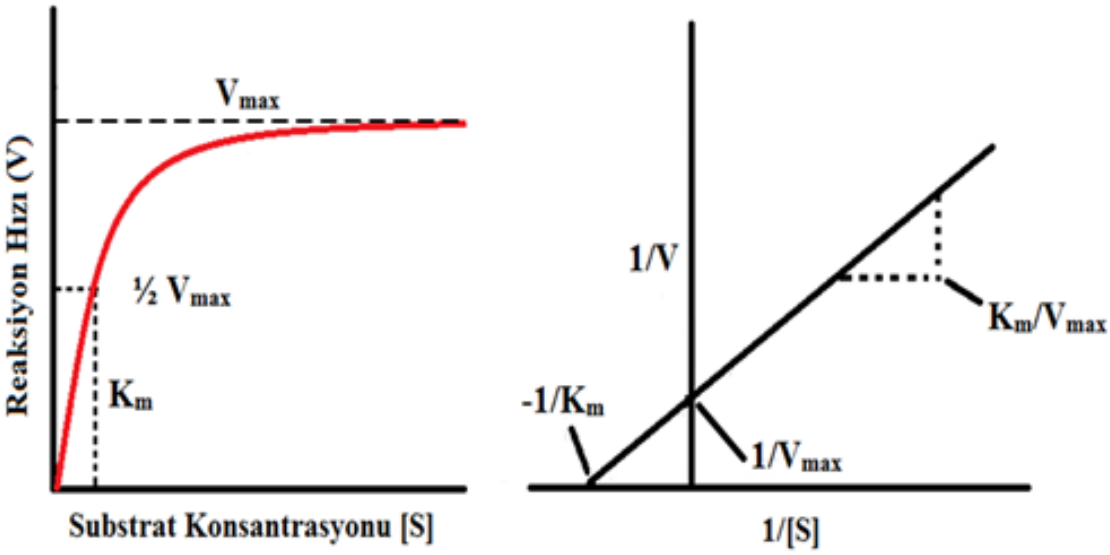
Şekil 1.10.a'da Michaelis-Menten denkleminin substrat konsantrasyonunun bir fonksiyonu olarak öngörülen reaksiyon hızının grafiği gösterilmiştir. Bu grafiğin hiperbolik olmasından dolayı karakteristik noktaları belirlemek zordur, bu nedenle grafik düzenlenip 1/[S] değerlerine karşılık 1/v değerleri grafiğe geçirilince Lineweaver-Burk grafiği elde edilmiş (Şekil 1.10.b) ve bu grafiğin eğimi K_m/v_{max} olmuştur(Eşitlik1.15).

$$\frac{1}{V} = \frac{K_m}{V_{max}} x \frac{1}{[S]} + \frac{1}{V_{max}} \tag{1.15}$$

Elektrokimyasal olarak hız yerine akım yazılarak, eşitlik düzenlenirse;

$$\frac{1}{I} = \frac{K_m}{I_{max}} x \frac{1}{[S]} + \frac{1}{I_{max}} \tag{1.16}$$

Enzimin substrata olan ilgisini gösteren K_m değeri bu eşitlikten (Eşitlik 1.16) elde edilir. K_m değerinin düşük olması, enziminsubstrata olan ilgisinin (affinitesi) yüksek olduğunu gösterir(Johnson ve Goody 2011).



Şekil 1.10. a) Michaelis-Menten Eğrisi, b) Lineweaver-Burk grafiği

1.3.5. Enzim immobilizasyon yöntemleri

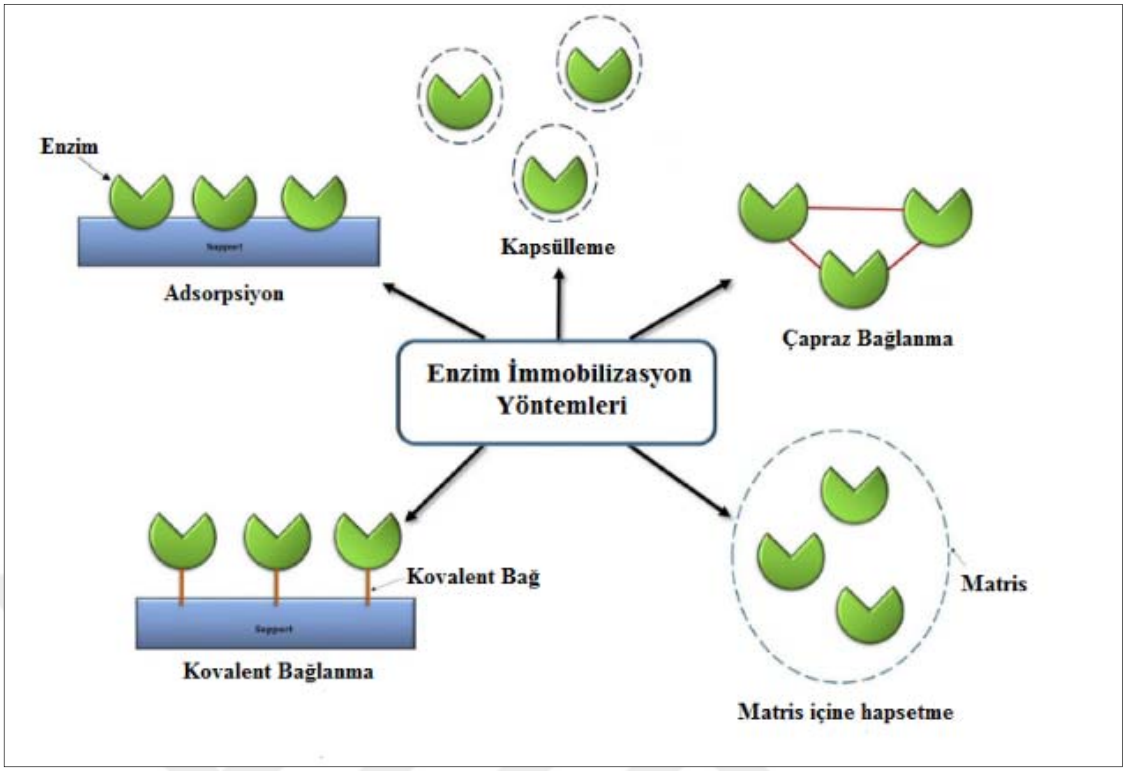
Enzimlerin sürekli ve tekrar kullanılabilmesi amacıyla, enzimlerin aktif bölgelerinin muhafaza edilerek çeşitli matrislere bağlanıp, enzim hareketinin sınırlandırılması işlemine enzim immobilizasyonu denir (Altun 2019).İmmobilize enzimin; birçok kez ve uzun süre kullanılabilir olması, pH ve sıcaklık gibi çevresel koşullara dayanıklı olması, sürekli sistemlere uygulanabilir olması, enzimin fonksiyonel verimini arttırması sebebiyle maliyeti düşürmesi gibi birçok avantajı vardır. Enzim immobilizasyon yöntemleri adsorpsiyon, hapsetme, çapraz bağlama, kovalent bağlama ve kapsülleme olmak üzere beş çeşittir (Şekil 1.11).

1.3.5.1. Adsorpsiyon yöntemi

Kolay hazırlanabilmesi ve düşük maliyetli olması nedeniyle bilinen en basit immobilizasyon yöntemi olan adsorpsiyon yönteminde, enzimlerin Van der Waals veya dispersiyon kuvvetleri gibi zayıf kuvvetler ile taşıyıcı yüzeyine tutunması sağlanır. Bu yöntemin en büyük dezavantajı, adsorbe olan biyobileşenin hızla desorbe olabilmesidir. Bu nedenle, adsorpsiyon yöntemiyle hazırlanan biyosensörlerin raf ömrü genellikle çok kısa olmaktadır (Jegannathan vd. 2008).

1.3.5.2. Hapsetme yöntemi

Bu yöntemde, biyobileşenin polimer jel tabakaları ya da diyaliz membranları içerisine hapsedilerek, herhangi bir fiziksel ya da kimyasal taşıyıcı ile bağlanmadan, enzimin bulunduğu yerden dışarıya çıkması engellenmektedir (Altun 2019).



Şekil 1.11. Enzim immobilizasyon yöntemleri (Jun vd.2019)

1.3.5.3. Çapraz bağlama yöntemi

Bu yöntemde, iki fonksiyonlu veya çok fonksiyonlu glutaraldehit, bisdiazobenzidin, hekzametilen diizosiyanat gibi reaktifler aracılığıyla enzim molekülleri arasında çapraz bağlar yaparak suda çözünmeyen kompleksler meydana getirilmektedir. Bu yöntem tutuklama ve kovalent bağlanma yöntemlerinin birleşimi şeklinde uygulanmaktadır (Jegannathan vd. 2008, Jun vd. 2019).

1.3.5.4. Kapsülleme yöntemi

Enzimin, bir membran kapsül ile kuşatılması yöntemidir. Kapsül olarak, naylon ve nitro selüloz gibi yarı geçirgen membranlar kullanılır ve enzimin etkinliği kapsül içersindeki kararlılığına bağlıdır. Kapsülleme yöntemi, fazla miktardaki enzimin kapsül içine alınıp immobilize edilebilmesi gibi avantajlar sağlarken, membran içine yalnızca küçük boyutlu analitlerin geçebilmesi gibi dezavantaja da sahiptir.

1.3.5.5. Kovalent bağlama yöntemi

En yaygın kullanılan enzim immobilizasyon yöntemlerinden birisi olan kovalent bağlanma yöntemi, enzimin fonkiyonel grubu ile taşıyıcı arasında gerçekleşmektedir. Taşıyıcı veya enzimin hidroksil ve amin grupları kolay bir şekilde kovalent bağlanabilirler (Jun vd. 2019).

2. KAYNAK TARAMASI

Tez çalışmamızda iletken poli(3,4-etilendioksitiyofen) (PEDOT) ve polipirol (PPy) nanolifleri elde edilerek, yüksek hassasiyetli glukoz ve polifenol biyosensörlerinin üretilmesi ve MWCNT kullanılarak elde edilen biyosensör performanslarının geliştirilmesi amaçlanmıştır. Bu nedenle PPy ve PEDOT tabanlı glukoz ve polifenol biyosensörleri ile ilgili literatürdeki çalışmalar incelenmiş ve bu bölümde özetlenmiştir.

PEDOT film tabanlı glukoz biyosensörleri

2005 yılında Kros ve arkadaşları, kimyasal olarak sentezledikleri PEDOT ve PPy filmlerinden hazırladıkları glukoz biyosensörlerini amperometrik olarak incelemişlerdir. Yapılan çalışmalar sonucunda PEDOT bazlı glukoz biyosensörünün kararlılığının PPy bazlı glukoz biyosensöründen daha iyi olduğu ve PEDOT biyosensörünün duyarlılığının 25nA/mM olduğu, cevap süresininse 3 dk'dan daha kısa olduğu bulunmuştur (Kros vd. 2005).

2009 yılında Chiu ve arkadaşlarının yapmış olduğu çok duvarlı karbon nanotüp (MWCNT)-PEDOT filmi çalışmasında, PEDOT-MWCNT filmleri elektrokimyasal polimerizasyon ile elde edilmiş ve GOx immobilize edilerek, amperometrik ölçümleri gerçekleştirilmiştir. Amperometrik analiz sonucu biyosensörün 1 mM – 10 mM lineer aralığında akım-substrat miktarı arasında doğrusal ilişki olduğu ve biyosensörün duyarlılığının ise 267 μA/mM.cm^2 olduğu bulunmuştur. 30.günde yapılan ölçümler sonucunda ise aktivitenin %82'nin korunduğu gözlenmiştir (Chiu vd. 2009).

2016 yılında Barsan ve arkadaşları elektropolimerizasyonla sentezlenenve karbon nanotüp içeren PEDOT filmlerinden glukoz biyosensörleri hazırlanmıştır. Amperometrik analiz sonucu biyosensörün 0.05 mM – 1.25 mM aralığında akım-substrat miktarı arasında doğrusal ilişki olduğu, tespit sınırının ise 0.037 mM (37 μM) olduğu bulunmuştur. Biyosensörün duyarlılığı 42 μA/mM.cm^2 olarak bulunmuştur. 40.gün sonunda yapılan ölçümler sonucunda ise aktivitenin %90 korunduğu gözlenmiştir (Barsan vd. 2016).

2018 yılında Aleeva ve arkadaşları, EDOT elektropolimerizasyonu ile modifiye edilmiş bir poli(etilen tereftalat)/altın (PET/Au) çalışma elektrodu ile kandaki glukoz konsantrasyonunu ölçmek için biyosensör hazırlamışlardır. Amperometrik analiz sonucu biyosensörün 0 mM – 10 mM lineer aralığında akım-substrat miktarı arasında doğrusal ilişki olduğu, tespit sınırının ise 0.1 mM (100 μM) olduğu bulunmuştur. Biyosensörün duyarlılığı ise 9.24 μA/mM.cm^2 olarak bulunmuştur (Aleeva vd. 2018).

2018 yılında Kaya ve arkadaşları elektrokimyasal olarak ürettikleri PEDOT filmi üzerine ferrosen içeren poli(N-ferrocenil-3- (1H-pirol-1-il) anilin) kaplayarak, glukoz biyosensörü hazırlamışlardır. Amperometrik analiz sonucu biyosensörün 0.01 mM – 0.5 mM lineer aralığında akım-substrat miktarı arasında doğrusal ilişki olduğu, LOD'un ise 54 μM olduğu bulunmuştur. Michaelis-Menten sabiti (K_m) 0.05 mM olarak, biyosensörün duyarlılığı ise 112.2 μA/mM.cm^2 olarak bulunmuştur (Kaya vd. 2018).

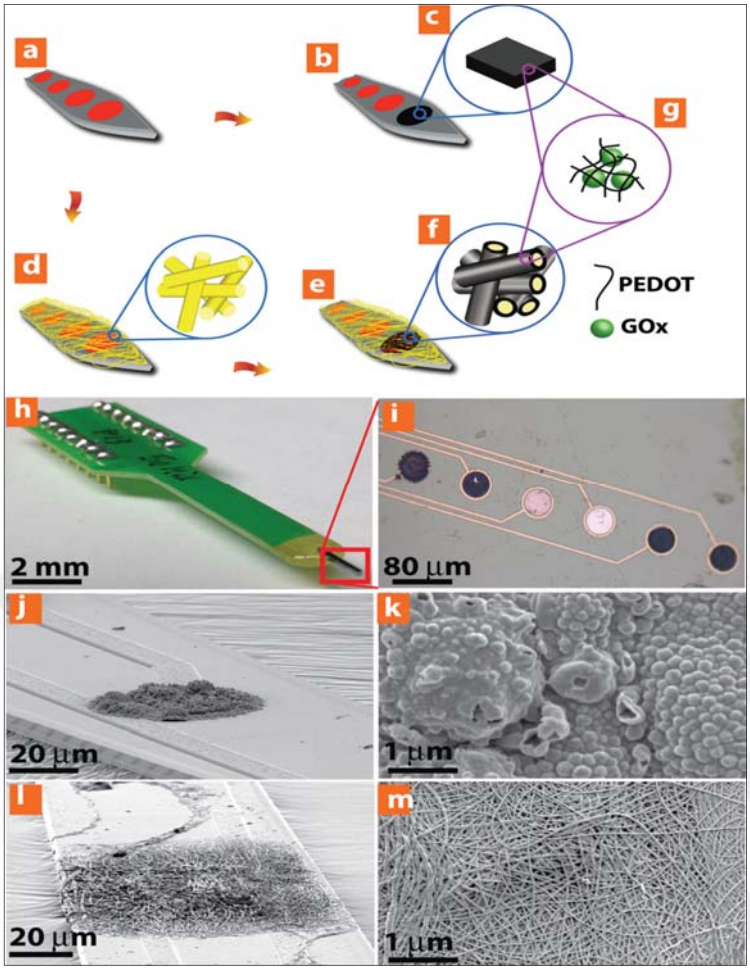
2018 yılında Zhou ve arkadaşları, karboksil grubu ile işlevselleştirilmiş çok duvarlı karbon nanotüp (MWCNTs-COOH) ilepoli (hidroksimetil-3,4-

etilendioksiltiyofen) (PEDOTM)'i elektrokimyasal olarak elde etmişler ve hazırladıkları nanokompozite GOx immobilize ederek amperometrik ölçümleri gerçekleştirmişlerdir. Amperometrik analiz sonucu biyosensörün 0.06 mM – 2 mM aralığında akım-substrat miktarı arasında doğrusal ilişki olduğu, tespit sınırının 0.015 µM olduğu ve biyosensörün duyarlılığının ise 89.5 µA/mM.cm^2 olduğu bulunmuştur (Zhou vd. 2018).

PEDOT nanolif tabanlı glukoz biyosensörleri

Nanoliflerin elektrospinning yöntemi ile elde edildikten sonra iletken polimerler ile kaplanarak GOx immobilizasyonunun yapıldığı tez çalışmamızla benzerlik gösteren iki farklı çalışma literatürde yer almaktadır. 2011 yılındakiilk çalışma elektropsinning yöntemi ile elde edilen iletken PEDOT nanoliflerinin glukoz biyosensörlerinde kullanabileceği gösterilmiştir.Yüzey baskılı elektrot üzerindekipoli(L-laktik asit) (PLLA) nanolifleri elektrokimyasal yöntemle PEDOT ile kaplanmıştır ve elektropolimerizasyon sırasında GOx enzimi immobilize edilmiştir. Amperometrik analiz sonucu biyosensörün tespit sınırının 0.003 mM (3 µM) olduğu ve biyosensörün duyarlılığının ise 5.7 µA/mM.cm^2 olduğu bulunmuştur (Layton ve Abidian 2011).

2014 yılındaki Yang ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmada ise; yüzey baskılı elektrot üzerine elektrospining yöntemi ilepoli(L-laktik asit) (PLLA) nanoliflerihazırlanmış ve sonra bu nanolifler PEDOT ile GOx varlığında elektrokimyasal olarak kaplanmıştır. Amperometrik analiz sonucu biyosensörün 0.1 mM – 5 mM aralığında akım-substrat miktarı arasında doğrusal ilişki olduğu, tespit sınırının 0.12 mM (120 µM) olduğu ve biyosensörün duyarlılığının ise 9.2 µA/mM.cm^2 olduğu bulunmuştur. 30.gün sonunda yapılan ölçümler sonucunda ise aktivitenin %60 korunduğu gözlenmiştir (G. Yang vd. 2014). Şekil 2.1'de, iletken PEDOT nanoliflerinden üretilen glukoz biyosensörleri şematik olarak gösterilmiştir.



Şekil 2.1. Mikroelektrot yüzeyine PEDOT-GOx kaplanmasının şematik gösterimi; **a)** Pt mikroelektrot, **b,c)** elektropolimerizasyon ile PEDOT filmi-GOx kaplanması (PEDOT F-GOx), **d,f)** PLLA nanoliflerinin elektrospinning yöntemi ile mikroelektrot yüzeyine kaplanması, **g)** PLLA nanolifleri yüzeyine elektropolimerizasyon ile PEDOT-GOx kaplanması (PEDOT NF-GOx), **h)** PEDOT yapısına GOx'un immobilizasyonunun şematik gösterimi, **h)** mikroelektrodun optik fotoğrafı, **i)** 2 tane kaplanmamış Pt alanı ve 4 tane PEDOT-GOx'un kaplandığı Pt alanını gösteren optical fotoğraf, **j,k)** PEDOT-GOx filmine ait SEM görüntüsü, **l,m)** PEDOT-GOx nanaoliflerine ait SEM görüntüsü (Yang vd. 2014)

2009 yılında Santosh ve arkadaşlarının yapmış olduğu soft-template yöntemi ve bir iyonik sıvı (yardımcı yüzey aktif madde) kombinasyonunu içeren yeni bir yöntemle PEDOT lifleri elde edilmiş ve GOx immobilize edilmiştir. Amperometrik analiz sonucu biyosensörün 0.5 mM – 30 mM lineer aralığında akım-substrat miktarı arasında doğrusal ilişki olduğu, LOD'un 0.075 mM (75 µM) olduğu ve biyosensörün duyarlılığının ise 1.6 µA/mM.cm^2 olduğu bulunmuştur. 12.gün sonunda yapılan ölçümler sonucunda ise aktivitenin %25'inin kaybolduğu gözlenmiştir (Santhosh vd. 2009).

2014 yılında Hosseini ve arkadaşları template-free yöntemiyle elde edilen PEDOT nanoliflerine GOx immobilize edilerek amperometrik ölçümleri

gerçekleştirilmiştir. Amperometrik analiz sonucu biyosensörün 0.04 mM – 9 mM aralığında akım-substrat miktarı arasında doğrusal ilişki olduğu, tespit sınırının 0.0016 mM (1.6 µM) olduğu ve biyosensörün duyarlılığının ise 24.04 µA/mM.cm^2 olduğu bulunmuştur. 30.gün sonunda yapılan ölçümler sonucunda ise aktivitenin %97 korunduğu gözlenmiştir (Hosseini vd. 2014).

PPy film tabanlı glukoz biyosensörleri

2003 yılında Uang ve arkadaşları elektrokimyasal yöntemle hazırladıkları PPy filmlere GOx immobilize etmiş ve glukoz biyosensörleri hazırlamıştır. Amperometrik analiz sonucu biyosensörün 0 mM – 10 mM aralığında akım-substrat miktarı arasında doğrusal ilişki olduğu ve biyosensörün duyarlılığının ise 7 nA/mM olduğu bulunmuştur. 14.gün sonunda ise aktivitenin %50 korunduğu gözlenmiştir(Uang ve Chou 2003)**.**

2005 yılında Wang ve arkadaşları, elektrokimyasal yöntemle elde ettiği GOx içeren PPy filmi ile glukoz biyosensörü hazırlanmıştır. Amperometrik analiz sonucu biyosensörün duyarlılığı 103 µA/mM.cm^2 olarak bulunmuştur (Jianjun Wang vd. 2005)**.**

2005 yılında Wang ve Musameh, elektrokimyasal olarak hazırlanan PPy/CNT filmlerine GOx immobilize ederek glukoz biyosensörleri hazırlamışlardır. Biyosensörün 0 mM – 50 mM aralığında akım-substrat miktarı arasında doğrusal ilişki olduğu,LOD'un 0.02 mM (20 µM) olduğu ve biyosensörün duyarlılığının ise 2.33 nA/mM olduğu bulunmuştur (Wang ve Musameh 2005)**.**

2007 yılında Njagi ve arkadaşlarının elektrot üzerine kimyasal olarak sentezlediği PPy/Au filmine GOx immobilize etmesi ile hazırladığı yapılan glukoz biyosensörünün 0.0025 mM – 5 mM aralığında akım-substrat miktarı arasında doğrusal ilişki olduğu, LOD'un 0.0021 mM (2.1 µM) olduğu ve biyosensörün duyarlılığının ise 15.33 µA/mM.cm^2 olduğu bulunmuştur (Njagi ve Andreescu 2007).

2009 yılında Abu-Rabeah ve Marks, oldukça duyarlı bir glukoz biyosensörü oluşturmak için GOx ile yeni bir hibrit molekülü aljinat-pirolü (pirol ile modifiye edilmiş aljinat) bir araya getirmişlerdir. Bunun için elektropolimerizasyonla PPy-alijinat filmi elde edip, kovalent GOx immobilizasyonu gerçekleştirilmiştir. Amperometrik analiz sonucu biyosensörün 0 mM – 3.5 mM aralığında akım-substrat miktarı arasında doğrusal ilişki olduğu ve biyosensörün duyarlılığının ise 16 µA/mM.cm^2 olduğu bulunmuştur (Abu-Rabeah ve Marks 2009).

2009 yılında Branzoi ve arkadaşları, elektrokimyasal olarak sentezledikleri PPy-tek duvarlı karbon nanotüp filmine GOx immobilize ederek, glukoz biyosensörü hazırlamışlardır. Amperometrik analiz sonucu biyosensörün 0.5 mM – 50 mM aralığında akım-substrat miktarı arasında doğrusal ilişki olduğu, LOD'un0.05 mM (50 µM) olduğu ve biyosensörün duyarlılığının ise 15.56 µA/mM.cm^2 olduğu bulunmuştur (Branzoivd. 2009).

2014 yılında Xue ve arkadaşlarının kimyasal sentezle elde ettiği PPy-Au filminden Au/PPy/grafen oksit/GOx elektrodu elde edilmiştir. Amperometrik analiz sonucu biyosensörün 0.02 mM – 1.2 mM aralığında akım-substrat miktarı arasında

doğrusal ilişki olduğu ve biyosensörün duyarlılığının ise 123.8 μA/mM.cm^2 olduğu bulunmuştur (Xue vd.2014).

Palod ve arkadaşlarının 2015 yılında altın kaplı cam yüzeylere elektropolimerizasyon yöntemiyle PPy kaplamasının ardından GOx enzimi immobilize edilmiş ve glukoz biyosensörü hazırlanmıştır. Amperometrik analiz sonucu biyosensörün 0.125 mM – 11.25 mM aralığında akım-substrat miktarı arasında doğrusal ilişki olduğu ve biyosensörün duyarlılığının ise 1.9 μA/mM.cm^2 olduğu bulunmuştur. 10.gün sonunda yapılan ölçümler sonucunda ise aktivitenin %85 korunduğu gözlenmiştir (Palod ve Singh 2015).

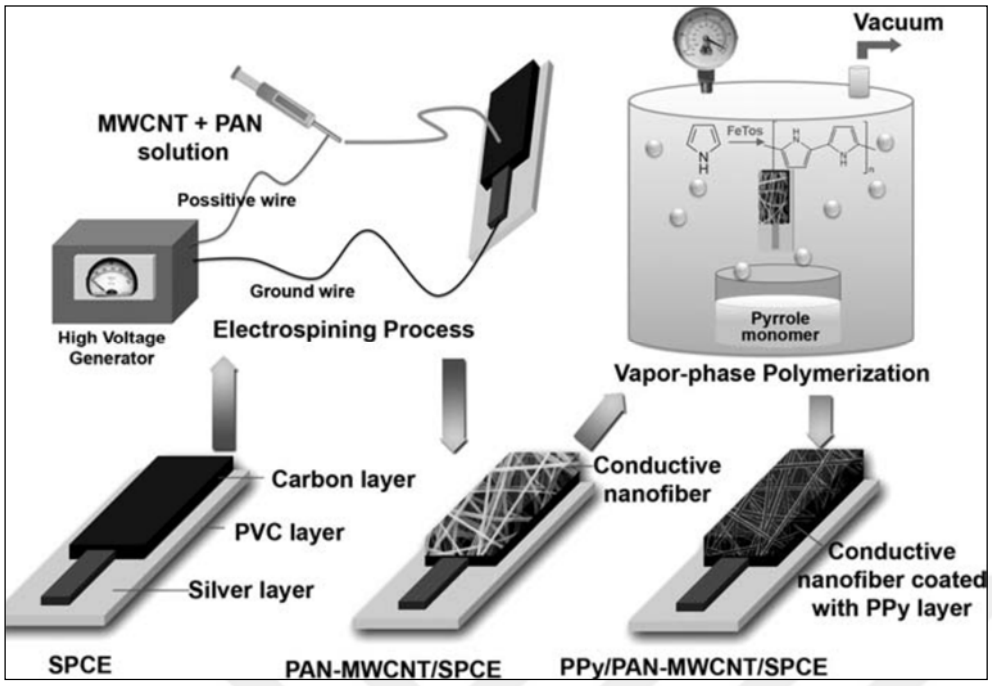
2015 yılında Şenel'in kimyasal sentezle elde ettiği PPy/Çitosan/Au filminin yüzeyine GOx damlatılarak, glukoz biyonsensörü yapılmıştır. Amperometrik analiz sonucu biyosensörün 1 mM – 20 mM aralığında akım-substrat miktarı arasında doğrusal ilişki olduğu, LOD'un0.068 mM (68 μM) olduğu ve biyosensörün duyarlılığının ise 0.58 μA/mM.cm^2 olduğu bulunmuştur. Michaelis-Menten sabiti (K_m) ise 1.83 mM olarak bulunmuştur (Şenel 2015).

2017 yılında Shrestha ve arkadaşları, elektrokimyasal olarak sentezledikleri PPy-MWCNT-Nafion elektrodu üzerine GOx immobilize ederek, glukoz biyosensörü hazırlamışlardır. Amperometrik analiz sonucu biyosensörün 0 mM – 4.1 mM aralığında akım-substrat miktarı arasında doğrusal ilişki olduğu, LOD'un 0.005 mM (5 μM) olduğu ve biyosensörün duyarlılığının ise 54.2 μA/mM.cm^2 olduğu bulunmuştur (Shrestha vd. 2017).

PPy nanolif tabanlı glukoz biyosensörleri

Elektrospinning yöntemi ile nanoliflerin elde edilmesinden sonra kimyasal buhar polimerizasyonu ile elde edilen iletken nanoliflerinyüzeyine GOx immobilizasyonunun yapıldığı tez çalışmamızla benzerlik gösteren literatürdeki bir çalışmada;ilk olarak elektrospinning yöntemiyle yüzey baskılı elektrot üzerinde PAN-MWCNT nanolifleri elde edilmiştir. Daha sonra buhar faz polimerizasyonu ile PAN-MWCNT nanolifleri üzerine PPy kaplanarak, glukoz biyosensörü hazırlanmıştır. Amperometrik analiz sonucu biyosensörün 0.25 mM – 6 mM aralığında akım-substrat miktarı arasında doğrusal ilişki olduğu, tespit sınırının 0.015 mM (15.51 μM) olduğu ve biyosensörün duyarlılığının ise 5.41 μA/mM.cm^2 olduğu bulunmuştur (Ekabutr vd.2013). Şekil 2.2'de elektrot üretimi şematik olarak gösterilmiştir.

2007 yılında Li ve Lin'in elektrokimyasal yöntemle elde ettiği PPy nanoağların üzerine yine elektrokimyasal olarak poly(*o*-aminophenol) (POAP)-GOx kaplanmıştır. Elde edilen POAM/PPy/GOx elektrodu ile yapılan amperometrik analiz sonucu biyosensörün 0.0015 mM – 13 mM aralığında akım-substrat miktarı arasında doğrusal ilişki olduğu, LOD'un 0.00045 mM (0.45 μM) olduğu ve biyosensörün duyarlılığının ise 9.9 μA/mM.cm^2 olduğu bulunmuştur. Michaelis-Menten sabiti (K_m) ise 23.9 mM olarak bulunmuştur (Li ve Lin 2007).



Şekil 2.2. Elektrot üretiminin şematik gösterimi(Ekabutr vd. 2013)

2013 yılında Raicopol ve arkadaşları, PPy-SWCNT nanolifleri üzerine GOx immobilize ederek, glukoz biyosensörü hazırlamışlardır. Amperometrik analiz sonucu biyosensörün 0.02 mM – 6 mM lineer aralığında akım-substrat miktarı arasında doğrusal ilişki olduğu, LOD'un 0.01 mM (10 µM) olduğu ve biyosensörün duyarlılığının ise 6 µA/mM.cm^2 olduğu bulunmuştur (Raicopol vd. 2013).

Literatürde iletken PEDOT ve PPy film tabanlı çok sayıda glukoz ve fenol biyosensörleri olmasına rağmen, bu polimerlerden elde edilen nanoliflerle yapılan az sayıda biyosensör çalışması bulunmaktadır. Yapılan araştırmalar sonucunda PEDOT ve PPy iletken nanolif tabanlı polifenol biyosensörlerine hiç rastlanmamıştır. Nanoliflerin sahip olduğu iyi elektriksel iletkenlik ve gözenekli yapısı nedeniyle biyosensörlerin analitik performanslarını geliştirebileceği düşünüldüğünden, tez çalışmamızda iletken nanolifler kullanılmıştır. Bu nedenle elektrospinning yöntemiyle elde edilen PAN nanolifleri, iletken PEDOT ve PPy polimerleri ile kaplanmış ve elde edilen iletken nanoliflerin üzerine enzim (GOx ve PPO) immobilizasyonları gerçekleştirilmiştir.

PEDOT film tabanlı polifenol biyosensörler;

2003 yılında Vedrine ve arkadaşları, yüzey baskılı elektrot üzerine PPO varlığında elektrokimyasal olarakPEDOT filmini kaplamışlar ve böylece fenolik bileşikler için biyosensör hazırlamışlardır. Amperometrik analiz sonucu biyosensörün 0 – 25 µM aralığında akım-substrat miktarı arasında doğrusal ilişki olduğu ve biyosensörün duyarlılığının ise 1999 µA/µM olduğu bulunmuştur. 12.gün sonunda yapılan ölçümler sonucunda ise aktivitenin %70 korunduğu gözlenmiştir (Vedrine vd.2003).

2011 yılında Serafin ve arkadaşları, yüzey baskılı elektrot üzerine PEDOT/Au filmini elektrokimyasal olarak kaplayıp, PPO immobilize ederek fenolik bileşikler için biyosensör hazırlamışlardır. Amperometrik analiz sonucu biyosensörün 0.1 µM – 50 µM aralığında akım-substrat miktarı arasında doğrusal ilişki olduğu, tespit sınırının 0.02 µM olduğu ve Michaelis-Menten sabitinin (K_m) ise 0.025 mM olduğu bulunmuştur (Serafín vd. 2011).

2015 yılında Negash ve arkadaşları, yüzey baskılı elektrot üzerine elektrokimyasal yöntemle PEDOT/SWCNT filmi kaplayıp, PPO immobilize ederek fenolik bileşikler için biyosensör hazırlamışlardır. Amperometrik analiz sonucu biyosensörün 0.6 µM – 600 µM aralığında akım-substrat miktarı arasında doğrusal ilişki olduğu, tespit sınırının 0.38 µM olduğu ve biyosensörün duyarlılığının ise 0.196 µA/µM olduğu bulunmuştur (Negash vd. 2015).

2015 yılında Lete ve arkadaşları, Au elektrot üzerine PEDOT/SWCNT filmi kaplayıp, PPO immobilize ederek fenolik bileşikler için biyosensör hazırlamışlardır. Amperometrik analiz sonucu biyosensörün 100 µM – 500 µM aralığında akım-substrat miktarı arasında doğrusal ilişki olduğu ve tespit sınırının 2.4 µM olduğu bulunmuştur (Lete vd. 2015)

2016 yılında Lete ve arkadaşları, elektrokimyasal birikme ile PEDOT/Tyr elektrodu hazırlayarak polifenol biyosensörü yapmışlardır. Amperometrik analiz sonucu biyosensörün 20 µM – 600 µM aralığında akım-substrat miktarı arasında doğrusal ilişki olduğu, tespit sınırının 3.9 µM olduğu ve K_m'nin 13.5 µM olduğu bulunmuştur (Lete ve ark. 2016).

2016 yılında Sethuraman ve arkadaşları, elektrokimyasal yöntemle PEDOT/grafen oksit/PPO elektrodu ile polifenol biyosensörü hazırlamışlardır. Amperometrik analiz sonucu biyosensörün 0.04 µM – 62 µM aralığında akım-substrat miktarı arasında doğrusal ilişki olduğu, tespit sınırının 0.003 µM olduğu bulunmuştur (Sethuraman vd. 2016).

2018 yılında Garcia-Guzman ve arkadaşları, elektrokimyasal yöntemle elde ettikleri PEDOT filmlerinden, polifenol biyosensörü yapmışlardır. Amperometrik analiz sonucu biyosensörün 10 µM – 300 µM aralığında akım-substrat miktarı arasında doğrusal ilişki olduğu, tespit sınırının 4.33 µM olduğu ve biyosensörün duyarlılığının ise $2.4x10^{-4}$ µA/µM olduğu bulunmuştur (García-Guzmán vd. 2018).

2019 yılında Albayati ve arkadaşları, elektrokimyasal yöntemle elde ettikleri PEDOT/MWCNT-COOH/Au elektroduna lakkaz enzimi immobilize ederek katekol biyosensörü yapmışlardır. Amperometrik analiz sonucu biyosensörün 0.1 µM – 0.5 µM aralığında akım-substrat miktarı arasında doğrusal ilişki olduğu, tespit sınırının 0.11 µM olduğu ve biyosensörün duyarlılığının ise 12.4 µA/mM.cm^2 olduğu bulunmuştur (Albayati vd. 2019).

PPy film tabanlı polifenol biyosensörleri

2019 yılında Apetrei ve arkadaşları, biyosentezlenmiş PPy içinde kapsüllenmiş PPO enzim ile katekol biyosensörü hazırlamışlardır. Amperometrik analiz sonucu

biyosensörün 1 μM – 60 μM lineer aralığında akım-substrat miktarı arasında doğrusal ilişki olduğu, LOD'un 5 μM olduğu ve biyosensörün duyarlılığının ise 30.4 μA/mM.cm^2 olduğu bulunmuştur(Apetrei vd. 2019).

2011 yılında yapılan çalışmada elektrokimyasal yöntemle PPy/poli(vinil sülfonat)/PPO filmi hazırlanmış ve amperometrik analiz sonucu biyosensörün 0.1 μM – 5 μM aralığında doğrusal çalıştığı, LOD'un0.01 μM ve K_m'nin ise 2.5 μM olduğu bulunmuştur(Arslan ve Arslan 2011).

2011 yılında Apetrei ve arkadaşlarının elektrokimyasal yöntemle hazırladığı PPy/PPO film tabanlı biyosensörün analitik performansları incelendiğinde biyosensörün 10 μM – 120 μM aralığında doğrusal olduğu, LOD'un0.84 μM olduğu ve biyosensörün duyarlılığının ise 0.047 μA/μM olduğu bulunmuştur (Apetrei vd. 2011).

2004 yılında Mailley ve arkadaşları, elektrokimyasal yöntemle karbon elektrot üzerine PPy kaplamış ve daha sonra PPO immobilize etmiştir. Amperometrik analiz sonucu biyosensörün duyarlılığı 4.7 μA/mM.cm^2 olarak bulunmuştur. 30.gün sonunda yapılan ölçümler sonucunda ise aktivitenin %80'i kaybolmuştur (Mailley vd. 2004).

2007 yılında Njagi ve arkadaşları, elektrokimyasal yöntemle PPy/Au/PPO elektrodu hazırlayıp katekole karşı amperometrik ölçümlerini gerçekleştirmişlerdir. Amperometrik analiz sonucu 0.05 μM – 70 μM aralığında akım-substrat miktarı arasında doğrusal ilişki olduğu, biyosensörün duyarlılığının 7000 μA/mM.cm^2 olduğu ve LOD değerinin ise 0.03 μM olduğu bulunmuştur (Njagi ve Andreescu 2007).

2017 yılında H.Li ve arkadaşları, elektrokimyasal yöntemle metil oranjdan türetilen PPy nanotüplerini oldukça duyarlı bir polifenol biyosensörü oluşturmak için kullanmışlardır. Yapılan morfolojik analiz sonucu katkılı PPy nanotülerinin oldukça homojen morfolojiye sahip olduğu ve nanotüp çaplarının 100 nm olduğu gözlenmiştir. Amperometrik analiz sonucu 0.1 μM – 35 μM aralığında akım-substrat miktarı arasında doğrusal ilişki olduğu, biyosensörün duyarlılığının 2981 μA/mM.cm^2 olduğu ve LOD'unise 0.00122 μM olduğu bulunmuştur. K_m'nin 0.12 mM ve 30.gün sonunda aktivitenin %88'i korunmuştur(Li vd.2017).

2010 yılında Ozoner ve arkadaşları, PPy/MWCNT/Tyr elektrodu ile katekol biyosensörü çalışması yapmışlardır. Amperometrik analiz sonucu 3 μM – 50 μM aralığında akım-substrat miktarı arasında doğrusal ilişki olduğu, biyosensörün duyarlılığının 8 μA/mM olduğu ve LOD değerinin ise 0.671 μM olduğu bulunmuştur. 10.gün sonunda aktivitenin %85'i korunmuştur (Ozoner vd. 2010).

Literatürdeki PEDOT ve PPy tabanlı polifenol çalışmaları incelenmiş bu bölümde kısaca anlatılmıştır. Literatür araştırmaları, PEDOT ve PPy nanolif tabanlı polifenol biyosensörlerinin daha önce hiç çalışılmadığını göstermiştir.

3. MATERYAL VE METOT

3.1. Kullanılan Kimyasallar

Poliakrilonitril (PAN, M_w:150000g/mol), %99,9 etanol, %99 N,N-dimetilformamid (DMF), tetrahidrofuran (THF), % 99 diklorometan (DCM), dimetil sülfoksit (DMSO), demir (III) klorür ($FeCl_3$), tetrabütilamonyum hekzaflorofosfat (NBu_4PF_6), %99,9 asetonitril (ACN), 3,4-etilendioksitiyofen (EDOT),glukoz oksidaz (GOx, E.C.1.1.3.4 Aspergillus niger, Type X-S, 128 U/mg), polifenol oksidaz (PPO; Tirosinaz mushroom 2687 U/mg), % 50 gluteraldehit (GA), ≥%99 sodyum dodesil sülfat (SDS), %99 D-glukoz, %99 sukroz (sakkaroz), %99 sitrik asit (SA) ve %99 askorbik asit (AA) Sigma Aldrich firmasından, disodyum hidrojen fosfat ve sodyum dihidrojen fosfat monohidrat, %98 pirol (Py) ve metanol Merck firmasından, çok duvarlı karbon nanotüp (MWCNT; -OH fonksiyonlu, DxL 8-15 nm, > %95 karbon) Nanografi firmasından temin edilmiştir.

3.2. Kullanılan Cihaz ve Malzemeler

Nanolif eldesinde Gamma High Voltage Power Supply ES30P markalıgüç kaynağı ve New Era Syringe Pump markalı şırınga pompası kullanılmıştır.

Elektrokimyasal çalışmalarda Ivium Compactstat ve GAMRY Reference 600 Potansiyostat / Galvanostat markalı elektrokimyasal analiz cihazı ve Basi C3 standı kullanılmıştır.

Tampon çözeltilerin pH'larının ölçülmesinde Mettler Toledo marka five easy model pH-iyonmetre cihazı kullanılmıştır.

Biyosensör çalışmalarında, çözelti ilaveleri için Eppendorf marka ±0.05 µL hassasiyete sahip 2,5 µL-10 µL ve 100 µL'lik mikro pipetler kullanılmıştır. Çalışmalarda kullanılan ultra saf su; Merck Millipore (Direct-Q) markalı saf su cihazından sağlanmıştır.

Analit çözeltiler hazırlanırken, analitin tam olarak çözünebilmesi veya dispers olmasını sağlamak amacıyla Bandelin Sonorex marka ultrasonik banyo kullanılmıştır.

Polimerlerin yapısal karakterizasyonu için Brucker Tensor 27 markalı FTIR cihazı ve morfolojik analizleri için Zeiss LEO 1430 ve QUANTA 400Fmarkalı SEM cihazları kullanılmıştır. Nanolif çaplarını ölçmek için Image Pro Plus programı kullanılmış ve rastgele seçilen 50 tane nanolif çapı ölçülerek ortalaması alınmıştır.

3.3. Hücre ve Elektrotlar

Elektrokimyasal işlemlerde Basi C3 hücre standı ve üçlü elektrot sistemi kullanılmıştır. Referans elektrot olarak Basi marka MF-2052 numaralı gümüş/gümüş klorür (Ag/AgCl), karşıt elektrot olarak platin (Pt) tel ve çalışma elektrotları olarak ITO cam veya Basi MF-2013 veya MF-2113 numaralı platin disk elektrotlar kullanılmıştır.

3.4. Poliakrilonitril (PAN) Nanoliflerinin Elde Edilmesi

Elektrospinning yönteminde yaygın olarak kullanılan poliakrilonitril (PAN) polimeri, DMF içerisinde farklı konsantrasyonlarda (kütlece %14, %10, %8, %7 ve %6) hazırlanarak homojen nanolif eldesi için denenmiştir. Optimum seçilenkütlece %7'lik PAN/DMF konsantrasyonun ardından uygun çözücü seçimi için kütlece %7'lik PAN/DMSO çözeltisi de hazırlanmış ve elektrospinning yöntemiyle homojen nanolif elde edilmeye çalışılmıştır. Ayrıca nanolif işlem parametreleri (uygulanan potansiyel, iğne ucu-toplayıcı arasındaki mesafe ve besleme hızı) değiştirilerek boncuksuz ve sürekli nanolif eldesi için optimizasyonyapılmıştır.

3.5. PAN-MWCNT Nanoliflerinin Elde Edilmesi

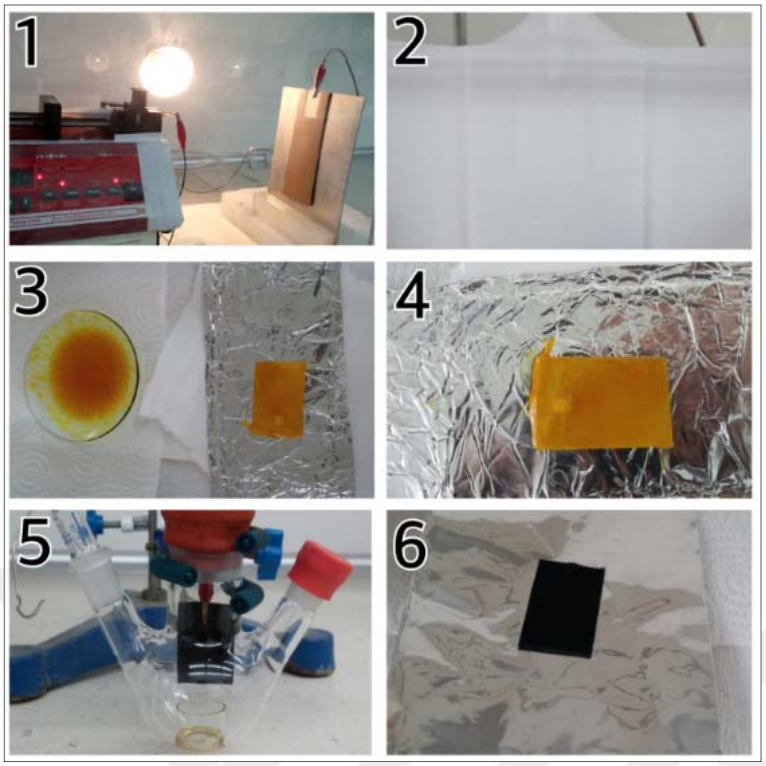
İki farklı yöntemle PAN-MWCNT nanolif eldesi denenmiştir. İlk yöntemde (Eren vd.2015, Idris vd.2015, Yarns vd. 2003); kütlece %10'luk PAN/DMF çözeltileri ve kütlece %1, %2 ve %3'lük MWCNT/DMF çözeltileri hazırlandıktan 24 saat sonra, PAN/DMF çözeltileri ile MWCNT/DMF çözeltileri birbirleri ile karıştırılıp elektrospinning denenmiştir. İkinci yöntemde (Hou vd.2005) ise; kütlece %7'lik PAN/DMF konsantrasyonu sabit kalacak şekilde, çözünen PAN miktarının %10'u, %20'si ve %30'u kadar MWCNT, PAN/DMF çözeltisilerine eklenip 24 saat karıştırılmış ve ardından elektrospinning denenmiştir. Elde edilen MWCNT'li nanolifler morfolojik olarak incelendikten sonra optimum koşullar belirlenmiştir.

3.6. İletken Nanoliflerin Elde Edilmesi

Optimum polimerizasyon koşullarının belirlenebilmesi için, ilk olarak oksidant çözeltisinin farklı derişimleri çalışılmış, ardından morfolojik analiz sonuçlarına bakılarak optimum kimyasal buhar polimerizasyon süreleri belirlenmiştir.

Elektrospinning yöntemiyle elde edilen PAN nanoliflerinin (Şekil 3.1.1 ve Şekil 3.1.2) iletken hale getirilmesi için, bu nanolifler ilk olarak kütlece %20'lik $FeCl_3$/etanol çözeltisine 10 sn daldırılmış(Şekil 3.1.3'te ve Şekil 3.1.4'te) ve ardından 100µl 3,4-etilendioksitiyofen (EDOT) veya 100µl pirol (Py) monomerine maruz bırakılmıştır(Şekil 3.1.5). Kimyasal buhar polimerizasyonu bu şeklide gerçekleştirilerek iletken nanolifler elde edilmiştir.

EDOT'un kimyasal buhar polimerizasyonu oda koşullarında 20 saniye vakum altında gerçekleştirilirken, pirolün kimyasal buhar polimerizasyonu daha uçucu olması sebebiyle vakum uygulanmadan, +4°C'de buzdolabında gerçekleştirilmiştir.



Şekil 3.1. İletken nanolif elde edilmesi

3.7. İletken Nanoliflerin Elektrokimyasal Analizi

Referans elektrot olarak Ag/AgCl, karşıt elektrot olarak platin tel ve çalışma elektrotları olarak ITO/cam veya platin disk elektrot kullanılan sistemde cam hücre içerisine destek elektrolit olarak 0.1 M NBu_4PF_6/ACN kullanılmıştır. Döngüsel voltametri (CV) çalışmaları PEDOT nanolifleri için -1 V ve +1.2 V arasında (10 mV/s tarama hızı ile) ve PPy nanolifleri için -0.5 V ve +1.2 V arasında (10 mV/s tarama hızı ile) gerçekleştirilmiştir.

3.8. Biyosensörlerin Hazırlanması

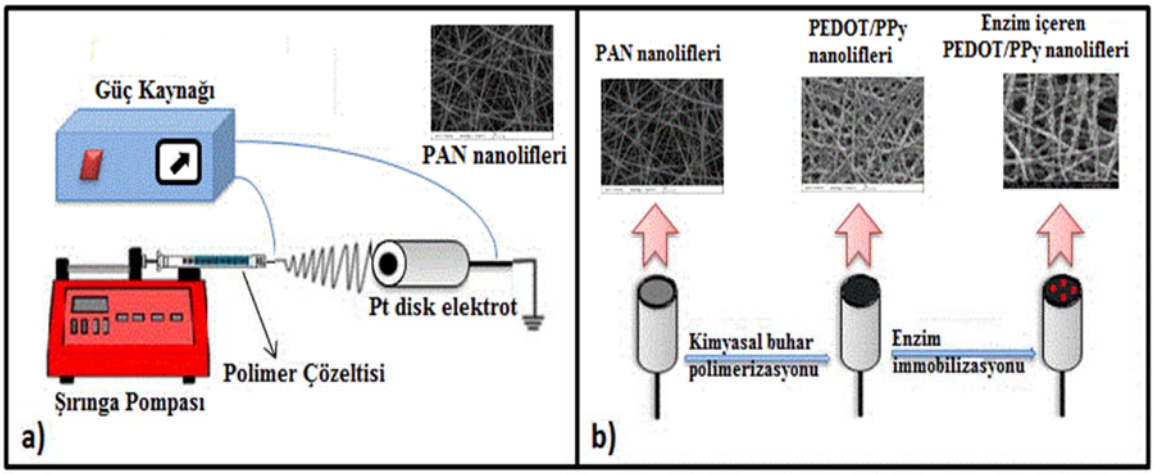
Glukoz biyosensörleri hazırlanırken, iletken polimer kaplanmış Pt elektrotun yüzeyine hazırlanan GOx çözeltisinden damlatılmış ve oda koşullarında kurutulmuştur.Daha sonra, elektrot yüzeyine %1'lik GA/ultra saf su çözeltisinden 5 µL damlatılarak oda koşullarında kurumaya bırakılmıştır. Hazırlanan enzim elektrotları 0.1 M fosfat tamponu ile yıkanarak kullanıma hazır hale getirilmiş ve elektrotlar 0.1 M, pH=7.0 fosfat tamponu içerisinde buzdolabında +4ºC'de saklanmıştır. 46.25 U, 92.5 U, 185 U, 277.5 U ve 370 U GOx kullanılarak elektrotlar hazırlanmıştır. Hazırlanan PEDOT elektrotları sırasıyla, Pt/PEDOT-NFs/GOx-1, Pt/PEDOT-NFs/GOx-2, Pt/PEDOT-NFs/GOx-3, Pt/PEDOT-NFs/GOx-4 ve Pt/PEDOT-NFs/GOx-5 olarak adlandırılmışlardır. PPy Glukoz biyosensörleri içinse, 46.25 U, 92.5 U, 185 U, 277.5 U ve 370 U GOx içerenelektrotlarhazırlanmış ve sırasıyla, Pt/PPy-NFs/GOx-1, Pt/PPy-NFs/GOx-2, Pt/PPy-NFs/GOx-3 ve Pt/PPy-NFs/GOx-4 olarak adlandırılmışlardır.

Polifenol biyosensörleri hazırlanırken, glukoz biyosensörlerindeki gibi bir yol izlenmiş ve enzim olarak PPO kullanılmıştır. PEDOT polifenol biyosensörleri için 67.175 U PPO, 134.35 U PPO, 268.7 U PPO, 403.1 U PPO derişiminde enzim kullanılmıştır. Hazırlanan PEDOT-PPO elektrotları sırasıyla Pt/PEDOT-NFs/PPO-1, Pt/PEDOT-NFs/PPO-2, Pt/PEDOT-NFs/PPO-3 ve Pt/PEDOT-NFs/PPO-4 olarak adlandırılmışlardır. PPy polifenol biyosensörleri için; 67.175 U PPO, 134.35 U PPO, 268.7 U PPO, 403.1 U PPO içeren, enzim miktarları kullanılmıştır. Hazırlanan PPy-PPO elektrotları Pt/PPy-NFs/PPO-1, Pt/PPy-NFs/PPO-2, Pt/PPy-NFs/PPO-3 ve Pt/PPy-NFs/PPO-4 olarak adlandırılmışlardır. Elde edilen biyosensörlerin performansları incelendikten sonra, üstteki tanımlanan biyosensörlerin performansına MWCNT'lerin etkisini belirlemek için MWCNT içeren biyosensörler üretilmiştir.

Elde edilen polifenol biyosensörlerinin düşük analit konsantrasyonlarındaki performanslarını incelemek ve çalışılabilecek minimum doğrusal aralığı görebilmek için 134.35 U PPO içeren enzim miktarını optimum seçmiş, ve PEDOT-PPO, PEDOT-MWCNT-PPO, PPy-PPO ve PPy-MWCNT-PPO biyosensörler tekrar hazırlanmıştır. Hazırlanan enzim elektrotları 0.1 M fosfat tamponu ile yıkanarak kullanıma hazır hale getirilmiş ve elektrotlar 0.1 M, pH=7.0 fosfat tamponu içerisinde buzdolabında +4ºC'de saklanmıştır.

Daha sonra benzer bir yaklaşımla PAN-MWCNT nanolifleri iletken polimer kaplanmış ve önceki çalışmalara paralel bir şekilde MWCNT içeren biyosensörler hazırlanmıştır.

Biyosensörlerin hazırlanması şematik olarak Şekil 3.2'de gösterilmiştir.



Şekil 3.2. a) Elektrospinning yöntemi ve **b)** biyosensörlerin hazırlanmasının şematik gösterimi (Çetin ve Camurlu 2018)

3.9. Ölçüm Tekniği

Hazırlanan enzim elektrotlarının substrata karşı olan cevapları 3 elektrotlu çalışma hücresine 0.12 g sodyum dodesil sülfat (SDS) ve pH'ı her bir elektrot için optimum olarak

belirlenen 0.1 M'lık fosfat tamponundan 10 mL koyularak, kronoamperometri yöntemi ile incelenmiştir. Ölçümler enzim elektrotu için belirlenen optimum potansiyelin sabit olarak uygulanmasıyla ve 200-400 rpm karıştırma hızında gerçekleştirilmiştir. Substrat eklenmeden önce akımın sabitlenmesi beklenmiş ve ardından eklenen substrat miktarına karşı akımdaki değişiklikler kaydedilmiştir.

Hazırlanan glukoz biyosensörlerinde, elektrot yüzeyinde glukoz ile glukoz oksidaz enzimi arasındaki reaksiyonlar Eşitlik 3.1, Eşitlik 3.2 ve Eşitlik 3.3'de verilmiştir. Genellikle glukoz biyosensörlerinin çalışma prensibi, enzimatik reaksiyon sonucu oluşan H_2O_2'in yükseltgenmesinin (Eşitlik 3.1 ve Eşitlik 3.2) ya da bu enzimatik reaksiyonda tüketilen O_2'nin indirgenmesinin (Eşitlik 3.3) takip edilmesi esasına dayanmaktadır.

$$Glukoz + O_2 \xrightarrow{GOx} Glukonik\ asit + H_2O_2 \quad (3.1)$$

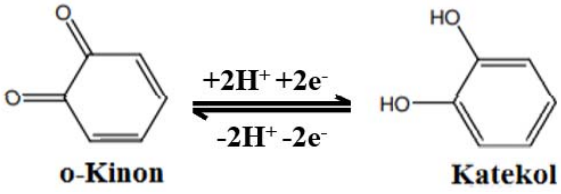
$$H_2O_2 \rightarrow O_2 + 2H^+ + 2e^- \quad (3.2)$$

$$O_2 + 2H^+ + 2e^- \rightarrow H_2O_2 \quad (3.3)$$

Bu tez çalışmasında glukoz biyosensörleri için hem H_2O_2'in yükseltgenme potansiyellerinde hem de O_2'nin indirgenme potansiyellerinde biyosensör çalışmaları yapılmıştır.

Hazırlanan polifenol biyosensörlerinde kullanılan polifenol oksidaz enzimi, moleküler oksijen varlığında fenollerin hidroksilasyonu ile o-difenole (katekole) dönüşümünü ve o-difenollerinde o-kinonlara oksidayonunu sağlamaktadır (Eşitlik 3.4) (Queiroz vd. 2008). Polifenol biyosensörlerinin amperometrik analizlerinde o-kinonun elektrokimyasal etki ile indirgenerek yeniden katekole dönüşümü takip edilmiştir (Şekil 3.3).

$$Fenol + \frac{1}{2}\ O_2 \xrightarrow{PPO} o\text{-}difenol \xrightarrow{PPO} o\text{-}kinon + H_2O_2 \quad (3.4)$$



Şekil 3.3. Polifenollerin ölçüm mekanizması

3.10. Çalışma Parametrelerinin Belirlenmesi

3.10.1. Çalışma potansiyeli ve pH etkisi

Çalışma potansiyelinin belirlenmesi için kronoamperometrik yöntem kullanılmıştır. Kronoamperometrik yöntem üçlü elektrot sisteminde, çalışma elektrodu

olarak enzim elektrodu, referans elektrot olarak Ag/AgCl elektrodu ve karşıt elektrot olarak platin tel kullanılarak pH'ı 7.0 olan 10 mL 0.1 M fosfat tamponunda gerçekleştirilmiştir. Her bir potansiyel için ayrı ayrı ölçümler alınmıştır. Sistem, sabit potansiyelde dengeye geldikten sonra substrat çözeltisi eklenmiş ve denge akımı kaydedilmiştir. Bu işlemler belirlenen diğer potansiyeller için de tekrarlanmıştır. Kaydedilen akım değişimleri çalışma potansiyeline karşı grafiğe geçirilmiş ve optimum çalışma potansiyeli belirlenmiştir.

Hazırlanan elektrodun aktivitesine pH etkisini incelemek için pH'ı 5.0, 5.5, 6.0, 6.5, 7.0 ve 7.5 olan fosfat tampon çözeltileri hazırlanmıştır. Sistem, sabit potansiyelde dengeye geldikten sonra substrat çözeltisi eklenmiş ve denge akımı kaydedilmiştir. Kaydedilen akım değişimleri pH'a karşı grafiğe geçirilmiş ve optimum pH değeri belirlenmiştir.

3.10.2. Enzim miktarının etkisi

Farklı birimlerde enzim içeren biyosensörler hazırlanmış ve her biyosensör için duyarlılık ve LOD değerleri bulunmuştur. Tüm sonuçlar çizelgeler halinde karşılaştırılmış ve optimum enzim miktarı seçilmiştir. Seçilen biyosensörler için kararlılık, raf ömrü ve gerçek numune analizleri de yapılmıştır.

3.10.3. Çok duvarlı karbon nanotüp (MWCNT) etkisi

Karbon nanotüplerin sahip oldukları iyi elektriksel iletkenlikleri ve geniş yüzey alanı gibi özellikleri, enzimin redoks aktif merkezi ile elektrot arasında doğrudan elektron transferine olanak sağlamalarını ve bu nedenle biyosensörlerde performansı (duyarlılık ve seçicilik) arttırıcı olarak kullanılmalarını sağlamaktadır (Merkoçi 2013, Banica 2012). Bu nedenle elde ettiğimiz PEDOT ve PPy tabanlı glukoz ve fenol biyosensörlerinin performanslarını arttırmak için çok duvarlı karbon nanotüp (MWCNT) kullanılmış ve yeni biyosensörler tasarlanmıştır.

Farklı enzim konsantrasyonlarına sahip PEDOT-MWCNT nanolif tabanlı ve PPy-MWCNT nanolif tabanlı glukoz biyosensörleri ve katekol biyosensörleri içerdikleri enzim miktarlarına göre; Pt/PEDOT-MWCNT-NFs/GOx-1 (46.25 U GOx enzimi içerir), Pt/PEDOT-MWCNT-NFs/GOx-2 (92.5 U GOx enzimi içerir), Pt/PEDOT-MWCNT-NFs/GOx-3 (185 U GOx enzimi içerir) ve Pt/PEDOT-MWCNT-NFs/GOx-4 (370 U GOx enzimi içerir) ve Pt/PEDOT-MWCNT-NFs/PPO-1 (67.175 U PPO içerir), Pt/PEDOT-MWCNT-NFs/PPO-2 (134.35 U PPO içerir), Pt/PEDOT-MWCNT-NFs/PPO-3 (268.7 U PPO içerir) ve Pt/PEDOT-MWCNT-NFs/PPO-4 (403.1 U PPO içerir) olarak adlandırılmışlardır.

PPy-MWCNT nanolif tabanlı biyosensörler ise Pt/PPy-MWCNT-NFs/GOx-1 (46.25 U GOx içerir), Pt/PPy-MWCNT-NFs/GOx-2 (92.5 U GOx içerir), Pt/PPy-MWCNT-NFs/GOx-3 (185 U GOx içerir) ve Pt/PPy-MWCNT-NFs/GOx-4 (277.5 U GOx içerir) olarak adlandırılmışlardır. PPy-MWCNT nanolif tabanlı polifenol biyosensörleri için tek enzim miktarı kullanılmış ve Pt/PPy-MWCNT-NFs/PPO-2 (134.35 U PPO içerir) olarak adlandırılmıştır.

Hazırlanan tüm biyosensörlerin optimum çalışma koşulları belirlendikten sonra analitik ölçümleri yapılmıştır.

3.11. Biyosensörlerin Analitik Performanslarının Değerlendirilnesi

3.11.1. Tespit sınırı (LOD)

LOD değerini tespit etmek için hazırlanan biyosensörün sinyal/gürültü (S/N) oranının 3 olduğu substrat derişimine karşılık gelen analit konsantrasyonu hücreye eklenmiş ve meydana gelen akım değişiklikleri kaydedilmiştir. Arka arkaya yapılan 10 ölçüm sonucu elde edilen akım değişimlerinin standart sapmaları hesaplanmıştır. Elde edilen standart sapma değeri 'LOD = (3 x std. sapma) / eğim' formülünde yerine konarak LOD değeri bulunmuştur.

3.11.2. Enzim elektrotlarının kullanım kararlılığı

Biyosensörün tekrar kullanılabilirliğini belirlemek için sabit bir substrat derişiminde elde edilen amperometrik cevaplar kaydedilmiştir. Ölçümler aynı gün içinde ve arka arkaya yapılmıştır. Ölçümler sonucu elde edilen akım değişimlerine karşı ölçüm sayısı grafiğe geçirilmiş ve aktivitedeki bağıl azalma belirlenmiştir.

3.11.3. Biyosensörlerin raf ömrünün belirlenmesi

Biyosensörün raf ömrünün belirlenebilmesi için, kalibrasyon grafiğinde doygunluğa yakın bir derişimde substratın eklenmesiyle elde edilen amperometrik ölçümler her hafta tekrar edilmiş, elde edilen akım değişimleri zamana karşı grafiğe geçirilmiş ve aktivitedeki bağıl azalma belirlenmiştir.

3.11.4. Girişim etkisinin incelenmesi

Girişim etkisini belirlemek için kullanılan substrat derişiminin %10'u oranında sükroz, fruktoz, sitrik asit ve askorbik asit çözeltileri tampon çözeltiye eklenmiş ve akım değişimleri incelenmiştir.

3.11.5. Gerçek numune analizi

Hazırlanan glukoz biyosensörlerinin uygulanabilirliğini incelemek amacıyla, ilk olarak piyasadaki bazı meyve suları yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC) ile analiz edilmiş ve içerdikleri glukoz miktarları tespit edilmiştir. Daha sonra bu meyve suları doğrudan tampon çözeltiye eklenmiş ve ölçülen amperometrik akım sinyaline denk gelen derişim değerleri, daha önce hazırlanan kalibrasyon grafiğinden elde edilen denklemler kullanılarak hesaplanmıştır. Elde edilen deneysel sonuç, HPLC sonuçları ile kıyaslamıştır.

Polifenol biyosensorleri için çeşme sularındaki ve endüstriyel sulardaki konsantrasyonu bilinen (teorik) katekol miktarları, tez kapsamında hazırlanan biyosensorlerle amperometrik olarak ölçülmüş ve bulunan deneysel değerler teorik sonuçlarla kıyaslanarak % geri kazanım değerleri hesaplanmıştır. Bunun için, şehir merkezinden ve Antalya organzie sanayi bölgesinden alınan şebeke sularıyla 0.1 µM'lık katekol çözeltileri hazırlanmıştır. Derişimini bildiğimiz miktarda bu çözeltilerden bir

miktar alınarak tampon çözeltiye (her biyosensör için optimum seçilen pH'taki tampon çözeltileri kullanılmıştır) eklenmiş ve ölçülen amperometrik akım sinyaline denk gelen derişim değerleri, kalibrasyon grafiğinden elde edilen denklemler kullanılarak hesaplanmıştır. Elde edilen deneysel geri kazanım sonuçlarıyla, teorik sonuçlar birbiri ile karşılaştırılmıştır.

4. BULGULAR

Bu tez çalışması kapsamında yüksek gözenekli yapısı, geniş yüzey alanı ve sahip oldukları iyi mekanik özellikleri gibi avantajları nedeni ile çalışma elektrodunda iletken nanolifler kullanılmıştır. Bunun için önce elektrospinning yöntemiyle PAN nanolifleri elde edilmiş ve daha sonra bu lifler iletken PEDOT ve PPy polimerlerinin monomer buharına maruz bırakılarak kimyasal buhar polimerizasyonu yöntemi ile polimerleştirilmişlerdir.

Elde edilen iletken PEDOT ve PPy nanoliflerine farklı birim içeren GOx veya PPO enzimleri yüklenerek, glukoz biyosensörleri ve polifenol biyosensörleri elde edilmiştir. Hazırlanan PEDOT ve PPy tabanlı glukoz ve polifenol biyosensörlerin analitik performansları incelendikten sonra, çok duvarlı MWCNT içeren biyosensörler hazırlanmıştır.

Çalışmalarımıza ilk olarak homojen PAN nanoliflerinin hazırlanması ile başlanmıştır. Bunun için faklı konsantrasyonlarda PAN/DMF çözeltileri hazırlanarak, farklı elektrospinning koşulları altında çalışmalar yapılmıştır. Denemeler sonucunda en uygun çözelti konsantrasyonunda PAN nanolifleri homojen bir şekilde elde edilmiş ve kimyasal buhar polimerizasyonu ile düzgün morfolojiye sahip iletken nanoliflerin eldesi amaçlanmıştır.

PEDOT nanolif tabanlı ve PPy nanolif tabanlı yüksek hassasiyete sahip biyosensörlerin hazırlanması için, Pt elektrot üzerine kaplanan PEDOT ve PPy iletken nanoliflerine farklı birimlerde GOx (46.25U, 92.5U, 185U, 277.5U ve 370U) ve PPO (67.175U, 134.35U, 268.7U, 403.1U ve 537 U) içeren enzimler yüklendikten sonra kütlece %1'lik GA çözeltisinden damlatılarak enzim immobilizasyonu gerçekleştirilmiştir. Elde edilen PEDOT nanolif tabanlı ve PPy nanolif tabanlı glukoz biyosensörlerinin ve polifenol biyosensörlerinin pH ve çalışma potansiyeli gibi optimum çalışma koşulları belirlendikten sonra, tüm biyosensörlerin analitik performansları incelenmiştir.

Karbon nanotüplerin sahip oldukları iyi elektriksel iletkenlikleri ve geniş yüzey alanı gibi özellikleri, enzimin redoks aktif merkezi ile elektrot arasında doğrudan elektron transferine imkan sağlayarak, onların biyosensörlerde performansı (duyarlılık ve seçicilik) arttırıcı olarak kullanılabilmelerine imkan sağlamaktadır (Merkoçi 2013, Banica 2012). Bu nedenle elde ettiğimiz PEDOT ve PPy tabanlı glukoz ve polifenol biyosensörlerinin performanslarını daha da arttırmak için, çok duvarlı karbon nanotüp (MWCNT) kullanılarak yeni biyosensörler geliştirilmiştir. Bunun için elektrospinning yöntemiyle PAN/MWCNT içeren homojen nanolifler elde edilmiş ve ardından PEDOT, PPy gibi iletken polimerlerle bu lifler kaplanmıştır. Elde edilen PEDOT-MWCNT tabanlı çalışma elektrotlarına farklı birimlerde GOx (46.25U, 92.5U, 185U ve 370U) ve PPO (67.175 U, 134.35 U, 268.7 U ve 403.1 U) içeren enzimler yüklenmiş ve kütlece %1'lik GA çözeltisinden 5µL damlatılarak enzim immobilizasyonu gerçekleştirilmiştir. Elde edilen PEDOT-MWCNT tabanlı glukoz biyosensörlerinin ve polifenol biyosensörlerinin pH ve çalışma potansiyeli gibi optimum çalışma koşulları belirlendikten sonra, tüm biyosensörlerin analitik performansları incelenmiştir.

Elde edilen PPy-MWCNT tabanlı çalışma elektrotlarına farklı birimlerde GOx (46.25 U, 92.5 U, 185 U ve 277.5 U) ve PPO (134.35U) içeren enzimler yüklenmiş ve kütlece %1'lik GA çözeltisinden damlatılarak enzim immobilizasyonu gerçekleştirilmiştir. Elde edilen PPy-MWCNT tabanlı glukoz biyosensörlerinin ve fenol biyosensörlerinin pH ve çalışma potansiyeli gibi optimum çalışma koşulları belirlendikten sonra, tüm biyosensörlerin analitik performansları incelenmiştir.

4.1. PAN Nanolifleri ile İlgili Bulgular

4.1.1. PAN nanoliflerinin hazırlanması

PAN polimerinden nanolif elde edilmesi için farklı konsantrasyonlarda (kütlece %14, %10, %8, %7 ve %6) PAN/DMF çözeltileri hazırlanmış, düzgün morfolojiye sahip nanolif eldesi için elektrospinning işlem parametreleri (uygulanan potansiyel, iğne ucu-toplayıcı arasındaki mesafe ve besleme hızı) değiştirilerek boncuksuz ve sürekli nanolif eldesi sağlayan optimum değerler bulunmuştur.

Çizelge 4.1'deki sonuçlara göre, homojen nanolif eldesi için en uygun konsantrasyonun kütlece %7'lik PAN/DMF çözeltisi olduğu bulunmuştur. Çözücü etkisini incelemek amacı ile kütlece %7'lik PAN/DMSO çözeltisi de hazırlanmış ve elektrospin çalışmaları yapılmıştır. Çizelge 4.2, kütlece %7'lik PAN/DMSO çözelti sonuçlarını göstermektedir.

Çizelge 4.1. Farklı konsantrasyonlardaki ve farklı elektrospin koşullarındaki PAN/DMF çözeltilerinden elde edilen sonuçlar

Kütlece % Derişim	**Akış Hızı**(ml/saat)	**Uygulanan Potansiyel** (kV)	**Mesafe** (cm)	**Sonuç**
14	1	20	15	Çözelti aşırı viskoz olmuş, sürekli akış sağlanamadığı için nanolif elde edilememiştir.
14	0.5	20	15	
14	0.2	20	15	
10	1	20	15	Viskoz çözelti olmuş, sürekli akış sağlanamadığı için nanolif elde edilememiştir.
10	0.5	20	15	
10	0.2	20	15	
8	1	20	15	Toplayıcı yüzeyinden uzama ve saçılmalar meydana geldiği için homojen nanolif eldesi sağlanamamıştır.
8	0.5	20	15	
8	0.2	20	15	
7	1	20	15	0.5ml/saat, 15kV, 15cm koşullarında homojen, nanolif eldesi sağlandı.
7	0.5	20	15	
7	**0.5**	**15**	**15**	
7	0.25	15	15	
6	1	20	15	Düşük vizkoziteli çözelti oluştuğu için toplayıcı yüzeyinde ıslaklıklar meydana gelmiş, homojen nanolif eldesi sağlanamamıştır.
6	0.5	20	15	
6	0.5	15	15	

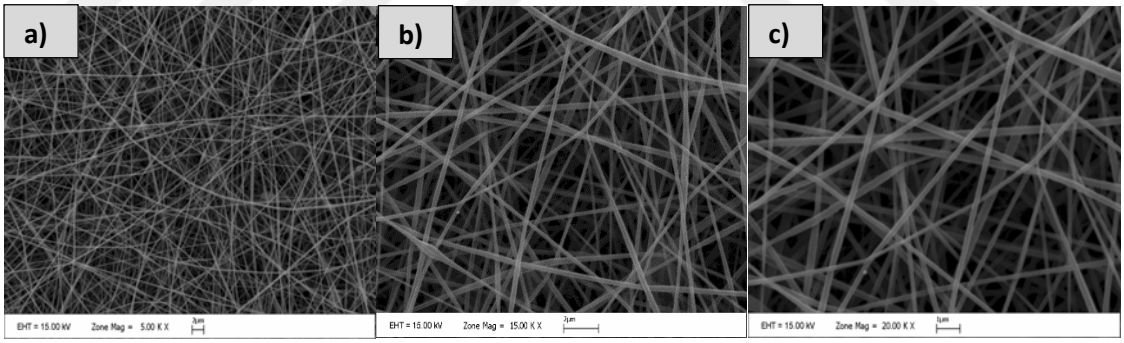
Çizelge 4.2. Kütlece %7'lik PAN/DMSO çözeltilerine ait elektrospining sonuçları

Kütlece Derişim	Akış Hızı (ml/saat)	Uygulanan Potansiyel (kV)	Mesafe (cm)	Elektrospinning sonucu
7	1	15	15	Kesik kesik çözelti akışı meydana gelmiştir, nanolif elde edilememiştir.
7	0.5	15	15	
7	0.5	15	15	

Yapılan çalışmalar sonucunda homojen nanolif eldesi için en uygun çözelti konsantrasyonunun kütlece %7'lik PAN/DMF çözeltisi ve elektrospinning parametrelerinin de 0.5ml/saat, 15kV ve 15cm olduğu bulunmuştur. Biyosensör çalışmaları için bu koşullarda elde edilen nanolifler kullanılmıştır.

4.1.2. PAN nanoliflerinin morfolojik karakterizasyonu

PAN nanoliflerinin morfolojik özellikleritaramalı elektron mikroskobu (SEM) ile doğrudan lif matı üzerinden incelenmiştir. Kütlece %7lik PAN/DMF çözelitisinden elde edilen nanoliflerinin SEM görüntüsü Şekil 4.1'de gösterilmiştir. PAN nanoliflerinin boncuksuz, homojen, düzgün morfolojide olduğu gözlenmiş ve PAN nanoliflerinin ortalama lif çapı 240 ± 12 nm olarak bulunmuştur.



Şekil 4.1. Kütlece %7'lik PAN nanoliflerine ait SEM görüntüleri **a)** 5000 **b)** 15000 **c)** 20000 kat büyütme

4.2. PAN/MWCNT Nanolifleri ile İlgili Bulgular

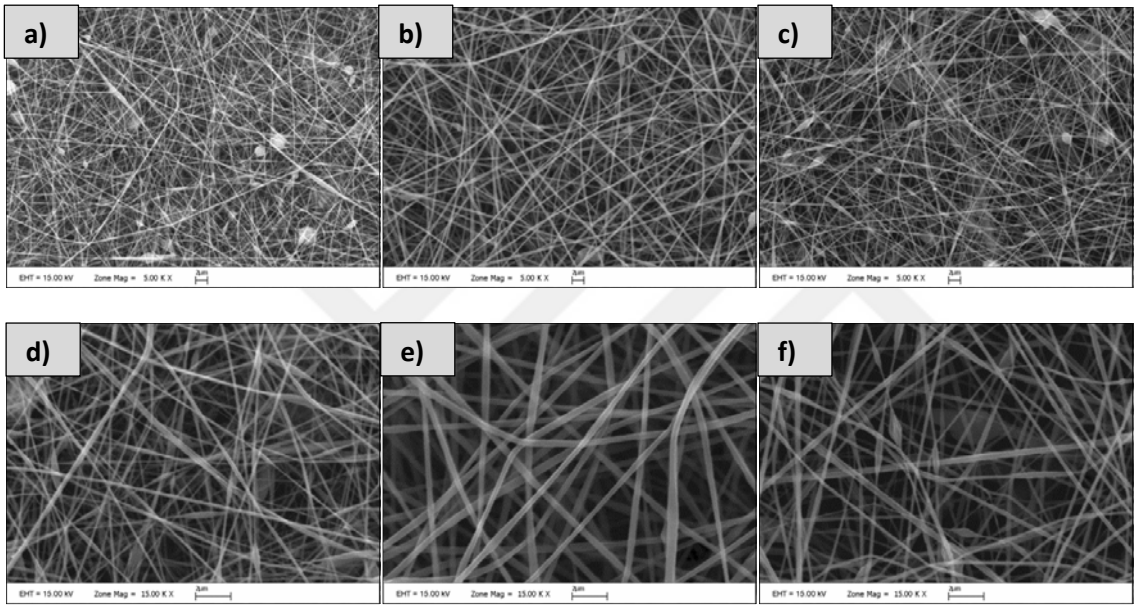
4.2.1. PAN/MWCNT nanoliflerinin hazırlanması

İki farklı yöntemle PAN-MWCNT nanolif hazırlanmıştır. İlk yöntemde (Eren vd. 2015, Idris vd. 2015, Yarns vd. 2003) kütlece %10'luk PAN/DMF çözeltileri ve kütlece %1, %2 ve %3'lük MWCNT/DMF çözeltileri hazırlandıktan 24 saat sonra, PAN/DMF çözeltileri ile MWCNT/DMF çözeltileri birbirleri ile karıştırılıp elektrospinning denenmiştir. İkinci yöntemde (Hou vd. 2005) ise kütlece %7'lik PAN/DMF çözelti

konsantrasyonu sabit kalacak biçimde, çözünen PAN miktarının %10'u, %20'si ve %30'u kadar MWCNT, PAN/DMF çözeltilerine eklenip 24 saat karıştırılmış ve ardından elektrospinning denenmiştir.

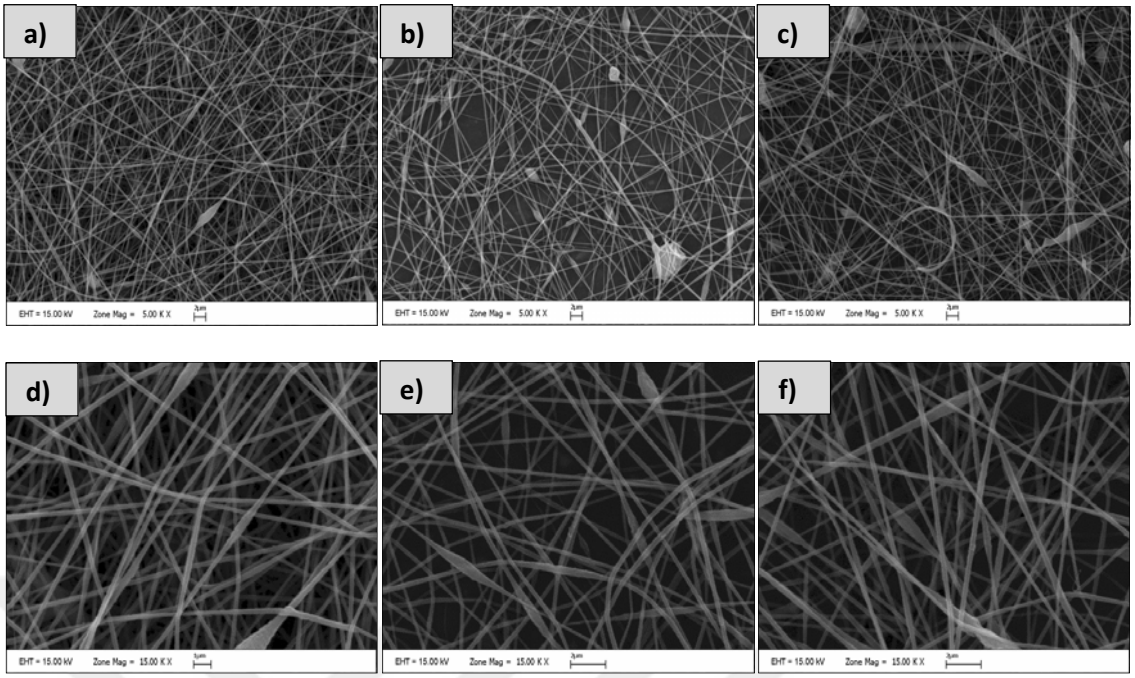
4.2.2. PAN/MWCNT nanoliflerinin morfolojik karakterizasyonu

Şekil 4.2'de, kütlece %10'luk PAN/DMF çözeltileri ile kütlece %1, %2 ve %3'lük MWCNT/DMF çözeltilerinin karıştırılmasıyla elde edilen nanoliflere ait SEM görüntüleri verilmiştir. Elektrospining parametreleri her biri için aynı olup, 0.25 ml/h akış hızında, 20 cm mesafede ve 25 kV potansiyelde uygulanmıştır. Morfolojik analiz sonucunda, elde edilen nanoliflerin boncuklu yapıda olduğu ve çözelti konsatrasyonun artmasıyla lif çaplarında artış meydana geldiği görülmüştür.



Şekil 4.2. Kütlece %10'luk PAN/DMF çözeltileri ile **a,d)** %1, **b,e)** %2 ve **c,f)** %3'lük MWCNT/DMF çözeltilerinin karıştırılmasıyla elde edilen nanoliflerin SEM görüntüleri

Şekil 4.3'te kütlece %7'lik PAN/DMF konsantrasyonu sabit kalacak şekilde, çözünen PAN miktarının %10'u, %20'si ve %30'u kadar MWCNT içeren çözeltilerden elde edilen nanoliflere ait SEM görüntüleri verilmiştir. Morfolojik analiz sonucunda, nanoliflerin daha az boncuklu yapıda olduğu görülmüştür. İlk yönteme kıyasla elde edilen nanoliflerin, elektrospinning prosesi boyunca sürekli akış sağladığı ve daha düzgün lif morfolojisine sahip oldukları bulunmuştur. Elde edilen nanoliflerin çapları Image Pro Plus programı ile ölçülmüş ve %10 MWCNT içeren çözeltiden elde edilen nanoliflere ait lif çapının 170 ± 10 nm, %20 MWCNT içeren çözeltiden elde edilen nanoliflere ait lif çapının 220 ± 16 nm ve %30 MWCNT içeren çözeltiden elde edilen nanoliflere ait lif çapının 240± 15 nm olduğu bulunmuştur. %10 MWCNT içeren çözeltiden elde edilen nanolifler, sahip olduğu homojen lif morfolojisi ve ince çaplı yapısı nedeni ile optimum olarak seçilmiş ve biyosensör çalışmaları için bu koşullarda elde edilen nanolifler kullanılmıştır.

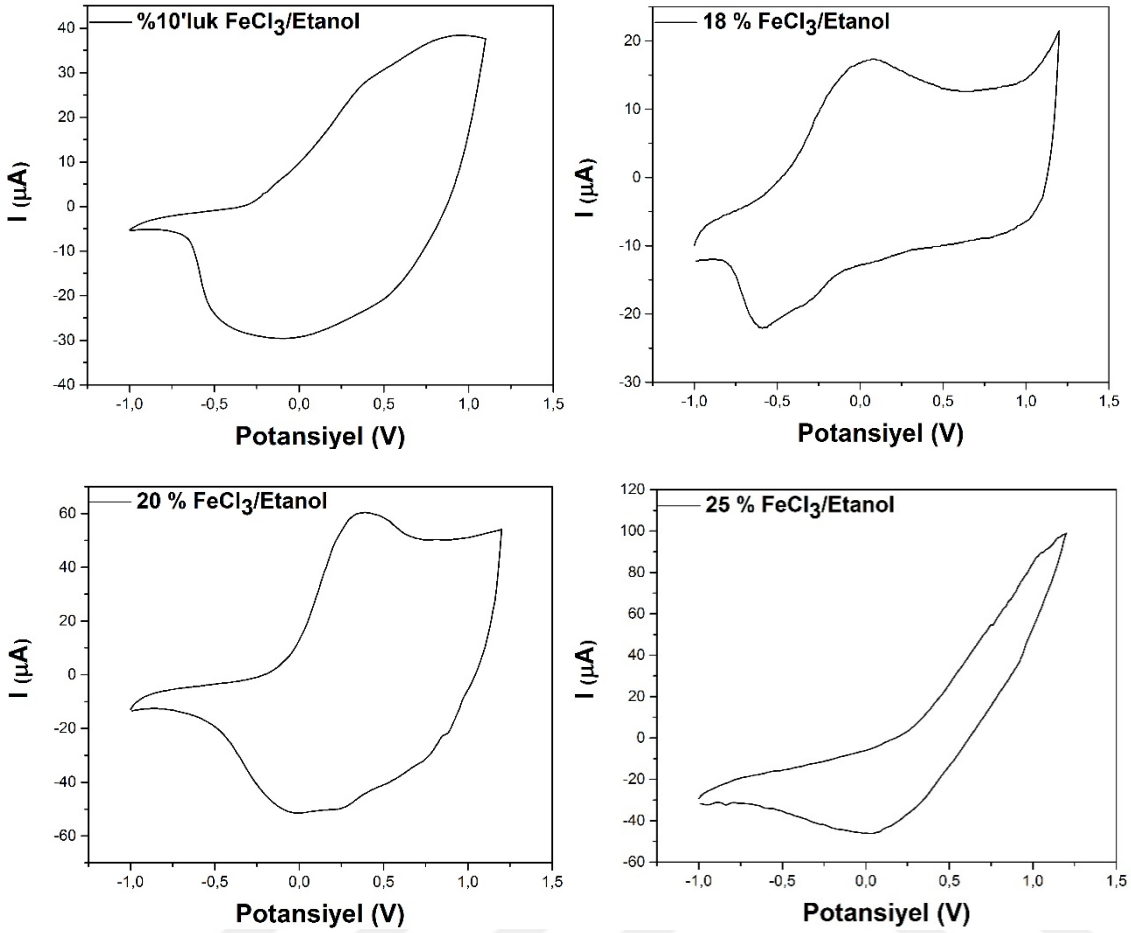


Şekil 4.3. PAN miktarının **a,d)** %10'u, **b,e)** %20'si ve **c,f)** %30'u kadar MWCNT içeren çözeltilerden elde edilen nanoliflere ait SEM görüntüleri

4.3. İletken PEDOT Nanolifleri ile İlgili Bulgular

4.3.1. PEDOT nanoliflerinin hazırlanması

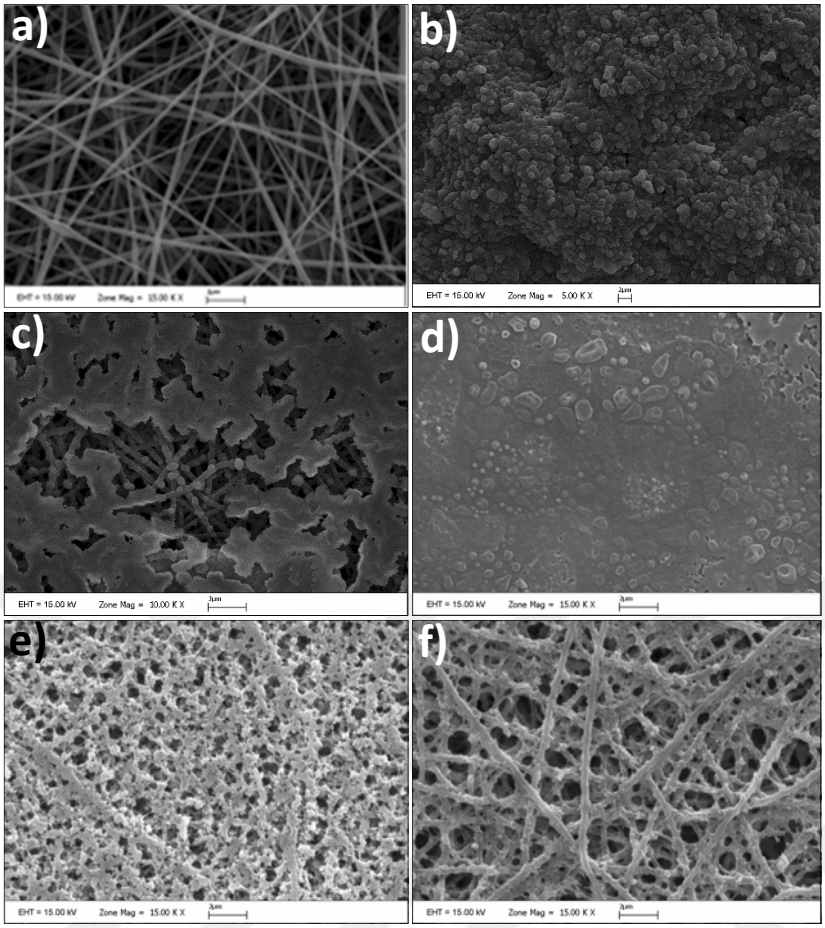
PEDOT nanoliflerini elde etmek için kimyasal buhar polimerizasyonu yöntemi kullanılmıştır (Laforgue ve Robitaille 2008). Bunun için, öncelikle oksidant derişimi ve polimerizasyon süresi gibi polimerizasyon koşulları incelenmiştir. Farklı konsantrasyonlara sahip oksidant çözeltileri ($FeCl_3$/etanol) ile EDOT'un kimyasal buhar polimerizasyonu gerçekleştirilmiş ve elde edilen PEDOT kaplı nanolifler döngüsel voltametri ile incelenmiştir (Şekil 4.4). Buna göre EDOT'un kimyasal buhar polimerizasyonu için en uygun oksidant konsantrasyonunun kütlece %20 olduğu belirlenmiştir.Bu koşullarda elde edilen PEDOT nanoliflerinin önemli derecede elektroaktif olduğu gözlenmiş ve hazırlanan nanoliflerin mat boyunca yük transferine olanak sağlayacak kadar iletken olabileceği sonucuna varılmıştır.Voltamogramın literatürdeki benzer çalışmalarla da uyumlu olduğu gözlenmiştir(Laforgue 2011, Laforgue ve Robitaille 2010b, 2010a).



Şekil 4.4. Farklı konsantrasyonlardaki oksidant çözeltileri ile ITO cam üzerine kaplanan PEDOT nanoliflerine ait döngüsel voltamogramlar (polimerizasyon süresi 3 saat)

4.3.2. PEDOT nanoliflerinin morfolojik karakterizasyonu

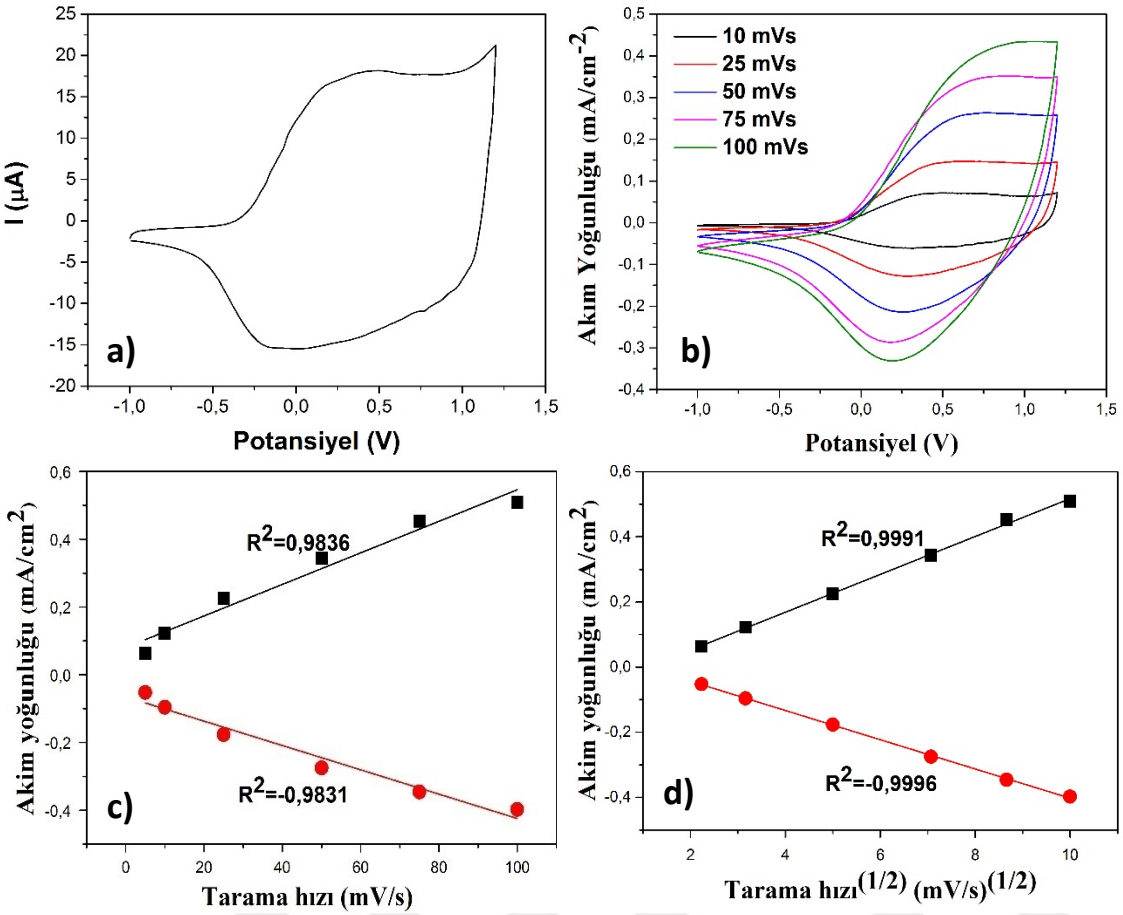
Optimum polimerizasyon süresinin belirlenmesi için farklı polimerizasyon sürelerinde EDOT'un kimyasal buhar polimerizasyonu gerçekleştirilmiştir. Polimerizasyon süreleri 5 dakikadan 24 saate kadar değişiklik gösteren PEDOT nanoliflerinin morfolojik analizleri gerçekleştirilmiştir. PAN nanoliflerinin EDOT monomerine daha uzun süre maruz bırakılması, daha yüksek miktarlarda PEDOT oluşumuna yol açmış ve PAN nanoliflerinin film ile kaplanmasına neden olmuştur (Şekil 4.5). Önceki çalışmaların aksine (Laforgue ve Robitaille 2008, 2010b) polimerizasyon sürelerinin 10 dakikadan uzun olması nanolif yapısının tamamen kaybolmasına neden olmuş, morfolojiyi olumsuz etkilemiştir. Bu nedenle, 5 dakikalık polimerizasyon süresi çalışmalarımız için optimum seçilmiştir. Elde edilen homojen, gözenekli PEDOT nanoliflerinin çapları ile PAN nanoliflerinin çapları kıyaslanmış ve PEDOT nanoliflerinin çaplarının ortalama 350 ± 20 nm olduğu bulunmuştur. Kimyasal buhar polimerizasyonu sonucunda PAN nanoliflerinin yüzeyine kaplanan PEDOT polimeri lif çapında artış meydana getirmiş ve PAN nanoliflerinin morfolojisini değiştirmiştir.



Şekil 4.5. a) PAN nanolifleri ile farklı polimerizasyon sürelerinde elde edilen PEDOT nanoliflerinin SEM görüntüleri **b)** 24 sa, **c)** 3 sa, **d)** 15 dk, **e)** 10 dk, **f)** 5 dk.

Optimum polimerizasyon süresi belirlendikten sonra biyosensör çalışmalarında çalışma elektrodu olarak kullanılacak olan, Pt disk elektrot yüzeyine PEDOT nanolifleri kaplanmıştır. Şekil 4.6'da Pt disk elektrot üzerine kaplanan PEDOT nanoliflerinin döngüsel voltamogramları gösterilmiştir. Sonuçlar PEDOT nanoliflerin redox sinyallerinin daha belirgin olduğunu göstermiş ve Pt disk elektrotun biyosensör uygulamaları için daha uygun olduğu düşünülmüştür.

PEDOT nanolifleri, +0.4 V'da oksidasyon piki ve +0.12 V'da indirgenme piki göstermiştir. PEDOT nanoliflerinin redoks davranışının (Şekil 4.6b-d) kimyasal olarak sentezlenen PEDOT (M. Wu vd. 2012, Xiang Zhang vd. 2016) ve PEDOT nanolifleri (Srivastava vd. 2007, X. Yang ve Li 2010) ile yapılan çalışmalarla uyumlu olduğu gözlenmiştir. Elektrokimyasal olarak sentezlenen PEDOT'un aksine PEDOT nanoliflerinin elektrokimyasal sinyali, tarama hızının karekökü ile korelasyon ortaya çıkarmıştır.Bu sonuç, redoks davranışının difüzyon kontrollü olduğunu göstermiş(Çetin ve Camurlu 2018, M. Kumar ve Ando 2010), tarama hızı ile pik akımının arttığı ve pik potansiyelinin ise değişmediği gözlenmiştir.



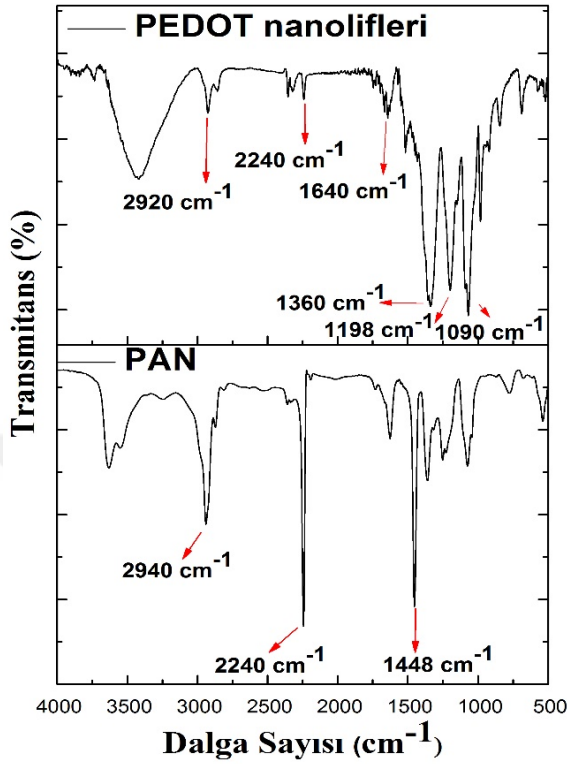
Şekil 4.6. PEDOT nanoliflerinin **a)** döngüsel voltamogramı (100 mV/s) ve **b)** farklı tarama hızlarındaki döngüsel voltamogramları. Pik akım şiddetlerinin **c)** tarama hızı ve **d)** tarama hızının karekökü ile değişimi (0.1 M NBu_4PF_6/ACN)

4.3.3. PEDOT nanoliflerinin yapısal karakterizasyonu

PEDOT nanoliflerinin yapısal karakterizasyonu FTIR ile yapılmış olup karşılaştırma amacı ile saf PAN'ında spektrumu kaydedilmiştir.

Şekil 4.7a incelendiğinde PEDOT nanoliflerine ait FTIR spektrumunda yalnızca PEDOT'un karakteristik piklerinin değil aynı zamanda PAN'a ait karakteristik piklerinde yer aldığı gözlenmiştir. Dalga sayısı 2920 cm^{-1} olan pik PAN'a ait C-H esneme pikini ve dalga sayısı 2240 cm^{-1} olan pik PAN'a ait C≡N esneme pikini gösterirken dalga sayısı 1640 cm^{-1} ve 1360 cm^{-1} olan pikler, tiyofen halkasının C=C/C-C germe titreşimlerine aittir. Dalga sayısı 1198 cm^{-1} ve 1090 cm^{-1} olan pikler ise etilen dioksi gruptaki C-O-C esneme piklerini göstermiştir. Ayrıca, parmak izi bölgesindeki 850 ve 960 cm^{-1}'deki zayıf piklerin ise, tiyofen halkasındaki S-C titreşimlerinden kaynaklanmaktadır (Laforgue ve Robitaille 2008, 2010b, M. Wu vd. 2012, G. Yang vd. 2014, W. X. Zhang vd. 2007, Xiang Zhang vd. 2016, Z. Zhou vd. 2014). Elde edilen FTIR sonuçları, hem PAN'a hem de PEDOT'a ait karakteristik pikleri içerdiğinden PAN nanolifleri üzerine PEDOT polimerinin kaplandığını göstermiştir. Ayrıca polimerizasyon süreleri farklı olan PEDOT nanoliflerine ait FTIR spektrumları incelenmiş ve artan polimerizasyon sürelerinin 1090

cm^{-1} dalga boyundaki C-O-C esneme piklerinin şiddetini de arttırdığı gözlenmiştir. Bu sonuç, polimerizasyon sürelerinin artmasıyla PAN nanoliflerinin yüzeyine daha fazla PEDOT polimerinin kaplandığının bir kanıtı olmuştur.



Şekil 4.7.PAN ve PEDOT nanoliflerine ait FTIR spektrumları

PEDOT kaplı nanoliflerle yapılan elektrokimyasal, yapısal ve morfolojik tüm çalışmalar göz önüne alındığında, optimum oksidant derişiminin kütlece %20 ve optimum polimerizasyon süresinin 5 dk olduğu bulunmuştur. Ayrıca PAN nanoliflerinin yüzeyindeki homojen, gözenekli elektroaktif PEDOT kaplamasının, enzimlerin etkili bir şekilde yakalanması ve elektriksel sinyallerin transferi için ideal olduğu düşünülmüştür. PEDOT nanolif matın elektriksel iletkenliği Van der Pauw yöntemi kullanılarak 742.9 $S.cm^{-1}$ olarak ölçülmüştür. Bu değerin, PEDOT için bilinen en yüksek elektriksel iletkenlik değeri olduğu bulunmuştur (Aleshin 2006, Duvail vd. 2002, Han ve Foulger 2006, Laforgue ve Robitaille 2008, 2010b, T. H. Lee vd. 2012). Pt yüzey üzerine kaplanan PEDOT nanolifleri Pt/PEDOT-NFs elektrotları olarak adlandırılmıştır.

4.4. PEDOT Tabanlı Amperometrik Glukoz Biyosensörleri ile İlgili Bulgular

Optimum enzim miktarını belirlemek için, Pt/PEDOT-NFs elektrotlarına farklı miktarlarda (2,5 µL, 5 µL, 10 µL, 15 µL ve 20 µL) GOx/tampon çözeltisinden damlatılarak enzim immobilizasyonu gerçekleştirilmiş ve böylece 5 farklı Pt/PEDOT-NFs/GOx glukoz biyosensörü hazırlanmıştır. Glukoz biyosensörleri kronoamperometrik yöntemle anodik ve katodik olarak incelenmiş ve elektrotlar Pt/PEDOT-NFs/GOx-1 (46.25 U GOx), Pt/PEDOT-NFs/GOx-2 (92.5 U GOx), Pt/PEDOT-NFs/GOx-3 (185 U

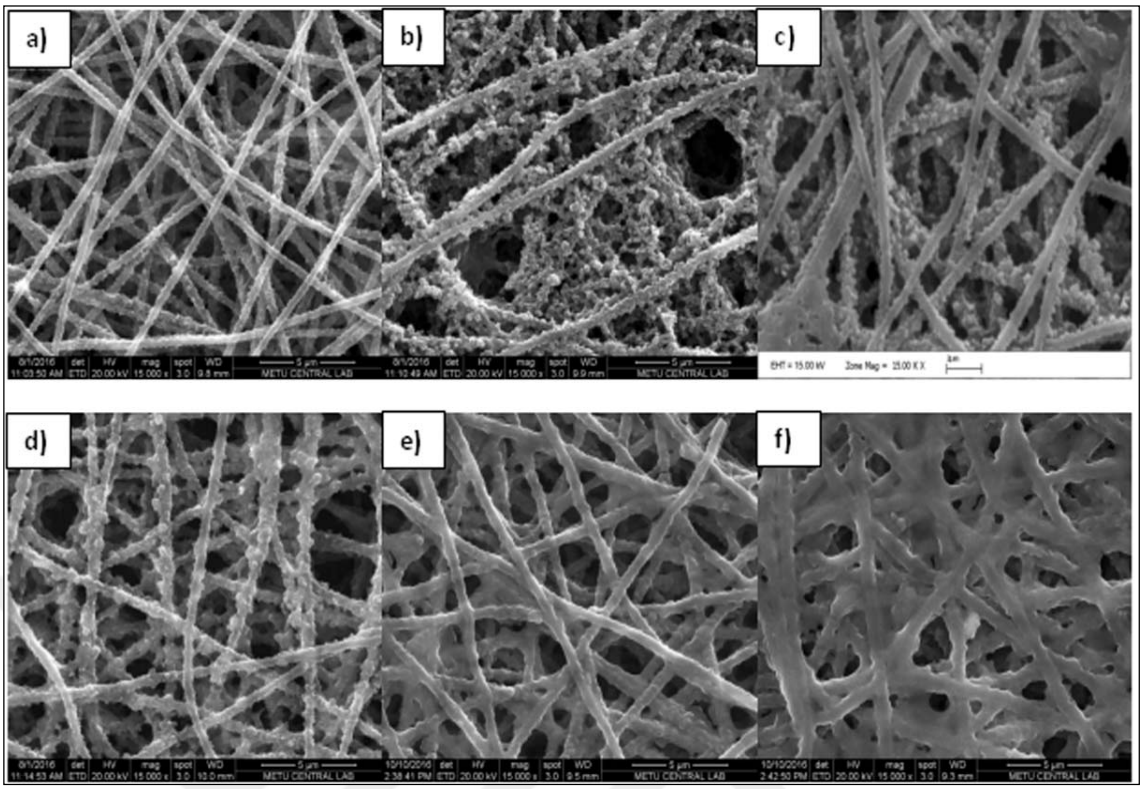
GOx), Pt/PEDOT-NFs/GOx-4 (277.5 U GOx) ve Pt/PEDOT-NFs/GOx-5 (370 U GOx) olarak adlandırılmıştır.

4.4.1. Pt/PEDOT-NFs/GOx elektrotlarının morfolojik analizi

Hazırlanan Pt/PEDOT-NFs/GOx elektrotlarının enzim immobilizasyonu sonucu morfolojilerinde ve lif çaplarında meydana gelen değişimi incelemek için taramalı elektron mikroskobu (SEM) kullanılmıştır. PEDOT nanoliflerinin lif çapı 350 ± 20 nm ölçülmüşken (Şekil 4.7.f), fosfat tamponunda (pH 7) saklanan PEDOT nanoliflerinin çapı 420 ± 5 nm olarak ölçülmüştür (Şekil 4.8.a). Bu durum, akrilik polimerlerin su gibi polar çözücülerle etkileşiminde, polar çözücülerin güçlü plastikleştirici etkisinden dolayı akrilik polimerlerin yapılarında şişme meydana getirmesi ve lif çaplarında artışa sebep olması ile açıklanmıştır (Grobelny vd. 1988). Enzim miktarının artmasıyla nanolif yüzeylerinde daha fazla enzim birikmiş ve nanolif çaplarında artış meydana gelmiştir. Ayrıca, immobilize edilen enzim miktarının çok daha fazla (370 U GOx) olduğu durumlarda (Şekil 4.8.f) lif morfolojisinin büyük ölçüde kaybolduğu gözlenmiştir.Çizelge 4.3'te artan enzim miktarı ile değişen nanolif çapları gösterilmiştir.

Çizelge 4.3. PEDOT nanoliflerine ait çaplar

PEDOT nanolifleri	350 ± 12 nm
Fosfat tamponunda saklanan PEDOT nanolifleri	420 ± 5 nm
PEDOT-NFs/GOx-1 nanolifleri	435 ± 14 nm
PEDOT-NFs/GOx-2 nanolifleri	575 ± 10 nm
PEDOT-NFs/GOx-3 nanolifleri	620 ± 8 nm
PEDOT-NFs/GOx-4 nanolifleri	700 ± 12 nm
PEDOT-NFs/GOx-5 nanolifleri	780 ± 11 nm



Şekil 4.8. a) Fosfat tamponunda bekletilen (pH 7) PEDOT, **b)** PEDOT-NFs/GOx-1, **c)** PEDOT-NFs/GOx-2, **d)** PEDOT-NFs/GOx-3, **e)** PEDOT-NFs/GOx-4 ve **f)** PEDOT-NFs/GOx-5 nanoliflerine ait SEM görüntüleri

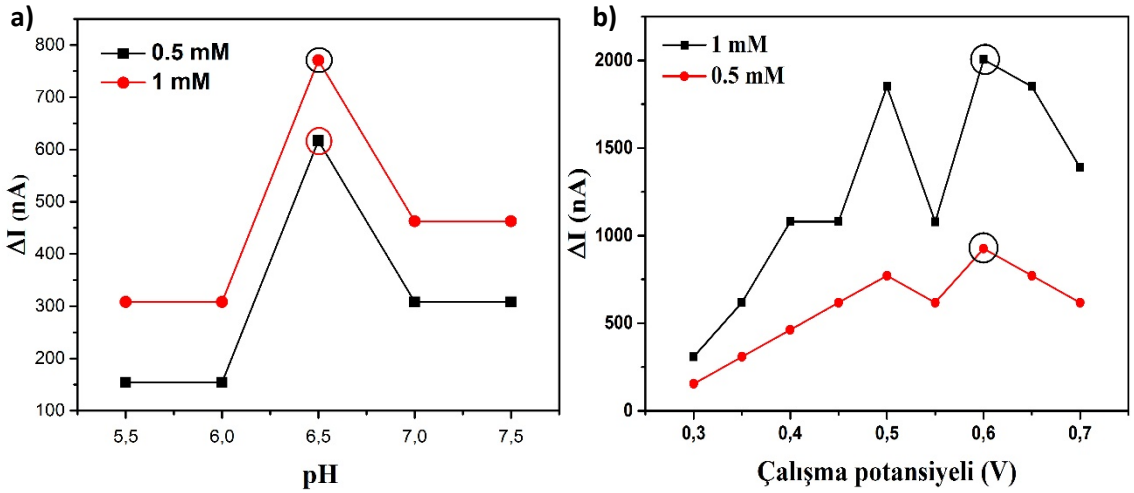
4.4.2. Biyosensörlerin analitik performansının hidrojen peroksit ölçümüne bağlı olarak incelenmesi

Tampon çözeltisinin pH'ı, uygulanan potansiyel ve enzim miktarı gibi parametreler biyosensör performansını etkilediği için, kronoamperometrik ölçümlere başlamadan önce optimizasyon çalışmaları yapılmıştır.

4.4.2.1. Çalışma potansiyeli ve pH etkisi

Pt/PEDOT-NFs/GOxenzim elektrodunun aktivitesine, ortam pH'nın etkisini incelemek amacıyla çeşitli pH'larda (5.5 – 7.5) 0.1M derişiminde fosfat tamponları hazırlanmıştır. 0.7 V sabit potansiyel altında farklı pH'taki fosfat tamponlarına 0.5 mM ve 1 mM konsantrasyonlarında glukoz eklenmiş ve gözlenen akım şiddeti değişimine (ΔI) karşılık gelen pH değerleri grafiğe geçirilmiştir. Yapılan çalışma sonucunda optimum pH 6.5 olarak bulunmuştur (Şekil 4.9.a).

Optimum pH belirlendikten sonra, optimum çalışma potansiyelini belirlemek için, Pt/PEDOT-NFs/GOxelektroduna 0.45 – 0.7 V arasında, 6 farklı potansiyelde 0.5 mM ve 1 mM konsantrasyonlarında glukoz eklenmiş ve gözlenen akım şiddeti değişimine karşılık gelen potasiyeller grafiğe geçirilmiştir. Yapılan çalışma sonucunda optimum çalışma potansiyeli 0.6 V olarak bulunmuştur (Şekil 4.9.b).



Şekil 4.9. Pt/PEDOT-NFs/GOxenzim biyosensörü için akım farkına karşı **a)** pH ve **b)** potansiyel grafiği

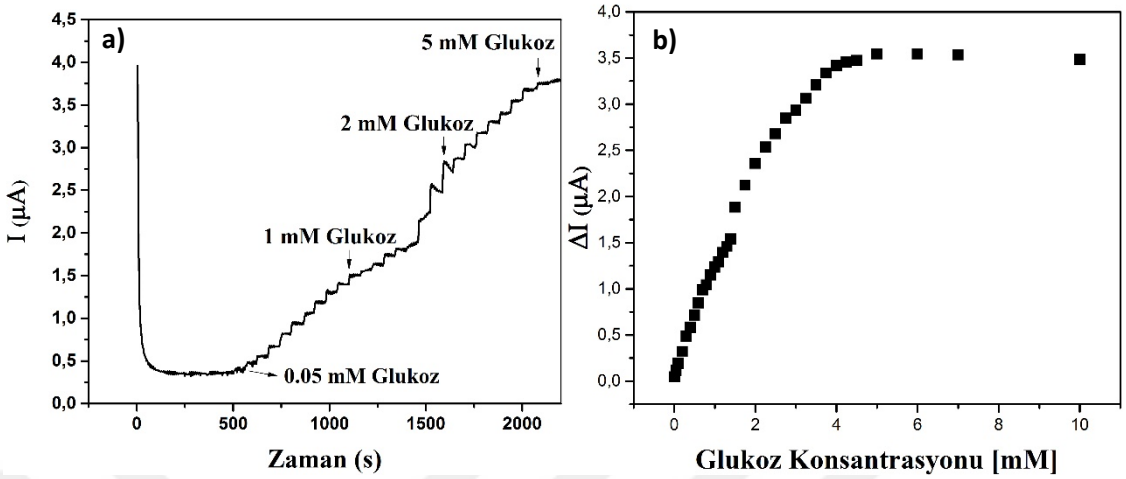
4.4.2.2. Pt/PEDOT-NFs/GOx-1 biyosensörü ile ilgili kronoamperometrik bulgular

PEDOT nanolif tabanlı biyosensörlerin hazırlanması için, Pt elektrot üzerine kaplanan PEDOT iletken nanoliflerine farklı birimler içeren GOx (46.25U, 92.5U, 185U, 277.5U ve 370U) enzimi yüklendikten sonra kütlece %1'lik GA çözeltisinden damlatılarak enzim immobilizasyonu gerçekleştirilmiştir. Elde edilen PEDOT nanolif tabanlı glukoz biyosensörleri Pt/PEDOT-NFs/GOx-1 (46.25 U GOx), Pt/PEDOT-NFs/GOx-2 (92.5 U GOx), Pt/PEDOT-NFs/GOx-3 (185 U GOx), Pt/PEDOT-NFs/GOx-4 (277.5 U GOx) ve Pt/PEDOT-NFs/GOx-5 (370 U GOx) olarak adlandırılmıştır.

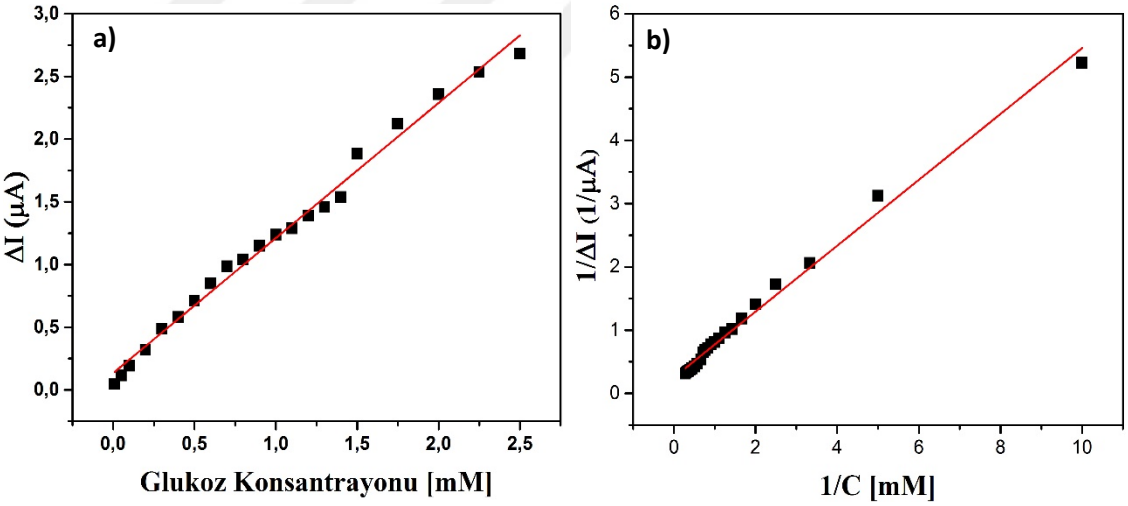
Çalışma elektrodu yüzeyindeki enzimatik reaksiyon sonucu oluşan hidrojen peroksit, 0.6 V sabit potansiyelde Ag/AgCl referans elektroduna karşı ölçülmüştür. Şekil 4.10.a'da, Pt/PEDOT-NFs/GOx-1 glukoz biyosensörünün 0.6 V sabit potansiyelde, glukoz eklenmesi sırasındaki akım değerlerinin zamana karşı grafiği gösterilmiştir. Kararlı halde (dengede) bulunan sisteme glukoz ilavesiyle, akımın belirgin bir şekilde arttığı ve sistemin yeniden kararlı hale geldiği görülmüştür. Burada, her glukoz ilavesinde enzimatik reaksiyon sonucu H_2O_2 oluşmuşve oluşan H_2O_2'inelektrokimyasal yükseltgenmesi gerçekleşmiştir. H_2O_2'in üretim hızı ve oksidasyon hızı dengeye ulaştığında akım şiddeti sabit bir hale gelmiştir. Sistem doygun hale gelene kadar, ortama her glukoz ilavesinde aynı olaylar olmuştur. Sistem doygun hale geldikten sonra ise akımda çok fazla artış meydana gelmemiş (Şekil 4.10.b) ve sistem doğrusallıktan sapmaya başlamıştır (Ekanayake vd. 2008).

Şekil 4.10.b incelendiğinde 2.5 mM'da daha yüksek miktarda glukoz eklemesinin doğrusal davranıştan sapmaya neden olduğu görülmüştür. Amperometrik analiz sonucu biyosensörün 0.01-2.5 mM (10 µM-2500 µM) aralığında akım-substrat miktarı arasında doğrusal ilişki olduğu[$y=1.0773x+0.1336$ ($R^2=0.9904$)] ve kalibrasyon eğrisinin eğiminden hesaplanan duyarlılığının 0.01 mM -2.5 mM linear aralığı için 53.58 µA/mM.cm^2 olduğu bulunmuştur(Şekil 4.11.a).

Tespit sınırının belirlenmesi için yapılan çalışmalar sonucunda ise LOD değeri 0.0072 mM (7.2 µM) olarak bulunmuştur.



Şekil 4.10. a) Pt/PEDOT-NFs/GOx-1 enzim elektrodu için 0.01-5 mM arası akım – zaman grafiği ve **b)** gözlenen akım fark değerlerinin glukoz derişimi ile değişimi [0.6 V; pH=6.5; 0.1 M fosfat tamponu, oda sıcaklığı]

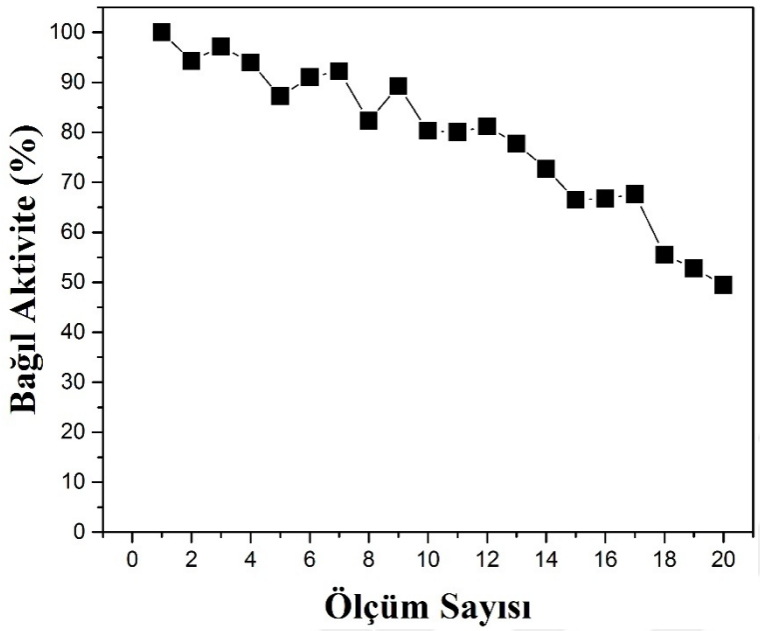


Şekil 4.11. Pt/PEDOT-NFs/GOx-1 enzim elektrodunun kalibrasyon grafiği **a)** ve Lineweaver-Burk eğrisi **b)** (0.1 M pH 6.5 fosfat tamponu, 0.6 V, oda sıcaklığı)

Şekil 4.11.a, Pt/PEDOT-NFs/GOx-1 enzim elektrodunun kalibrasyon grafiğini ve Lineweaver-Burk grafiğini(Şekil 4.11.b) verir. Pt/PEDOT-NFs/GOx-1enzim elektrodunun K_m ve I_{max} değerleri sırasıyla 2.07 mM ve 3.97 µA olarak bulunmuştur.

Pt/PEDOT-NFs/GOx-1enzim elektrotlarının kullanım kararlılığının değerlendirilmesi için oda koşullarında, bir gün içerisinde arka arkaya 20 ölçüm yapılmıştır. Alınan ölçümler sonucunda standart sapma ±0.1434 ve varyasyon katsayısı

(CV) % 17.3 (n=12) olarak hesaplanmıştır. Pt/PEDOT-NFs/GOx-1elektrodunu 12. kullanımda % 80.05 aktivite ve 20. kullanımda % 49.8 aktivite gösterdiği bulunmuştur (Şekil 4.12).

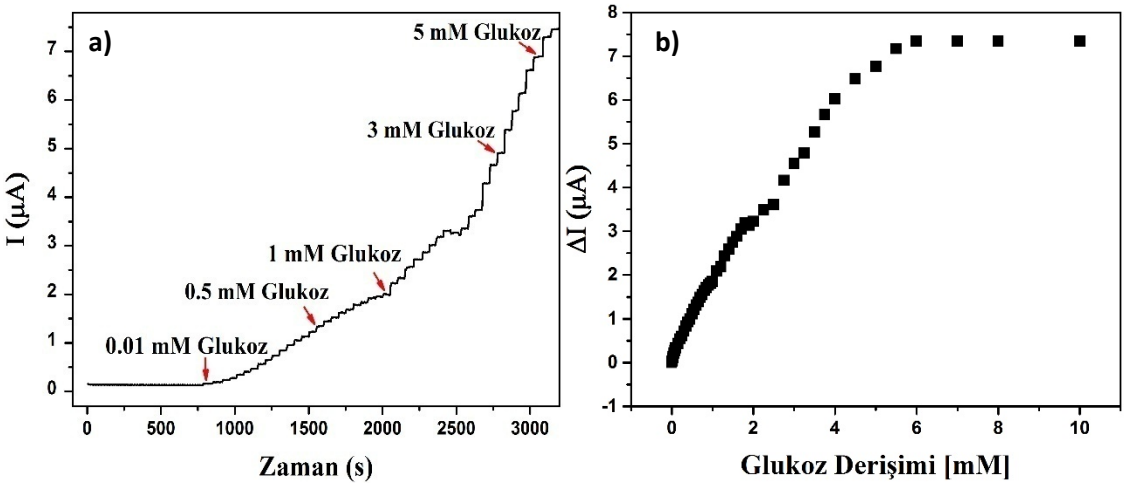


Şekil 4.12. Pt/PEDOT-NFs/GOx-1'in art arda kullanılabilirliği

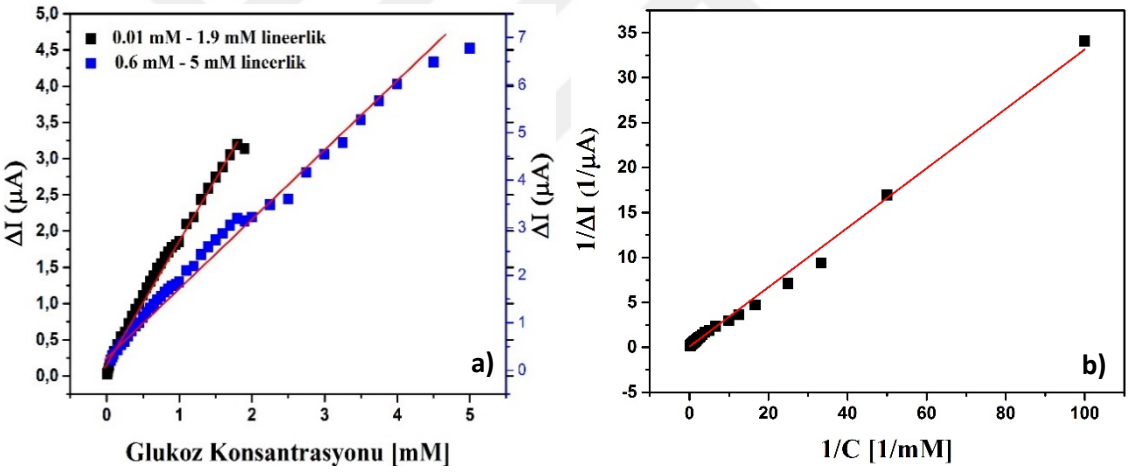
4.4.2.3. Pt/PEDOT-NFs/GOx-2 biyosensörü ile ilgili kronoamperometrik bulgular

92.5 U GOx içeren Pt/PEDOT-NFs/GOx-2 biyosensörünün amperometrik analiz sonucu 0.01 mM – 1.9 mM [y=1.701x+0.182 (R^2=0.9914)] aralığında ve 0.06 mM – 5.0 mM [y=1.364x+0.4473 (R^2=0.9901)] aralığında akım-substrat miktarı arasında doğrusal ilişki olduğu (Şekil 4.13.c) biyosensörün duyarlılıklarının sırasıyla 85.2 µA/mM.cm^2 ve 67.86 µA/mM.cm^2 olduğu bulunmuştur. Tespit sınırı çalışmaları sonucunda ise LOD değeri 0.0096 mM (9.6 µM) olarak bulunmuştur.

Şekil 4.14, Pt/PEDOT-NFs/GOx-2enzim elektrodunun kalibrasyon grafiğini (Şekil 4.14.a) ve Lineweaver Burk grafiğini (Şekil 4.14.b) verir. Biyosensör için K_m ve I_{max} değerleri sırasıyla 4.28 mM ve 12.95 µA olarak bulunmuştur.

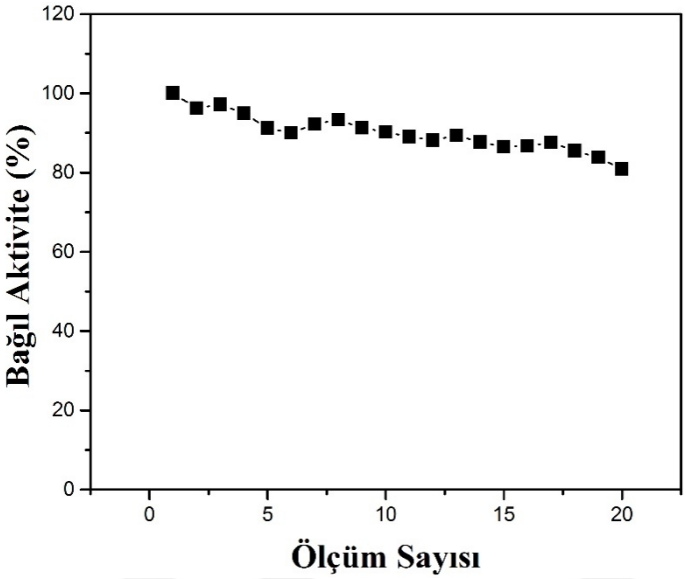


Şekil 4.13. a) Pt/PEDOT-NFs/GOx-2için 0.01-5mM arası akım – zaman grafiği ve **b)** gözlenen akım fark değerlerinin glukoz derişimi ile değişimi (0.6 V; pH=6.5; 0.1 M fosfat tamponu, oda sıcaklığı)



Şekil 4.14. a) Pt/PEDOT-NFs/GOx-2 enzim elektrodunun kalibrasyon grafiği ve **b)** Lineweaver-Burk eğrisi (0.10 M pH 6.5 fosfat tamponu, 0.6 V, oda sıcaklığı)

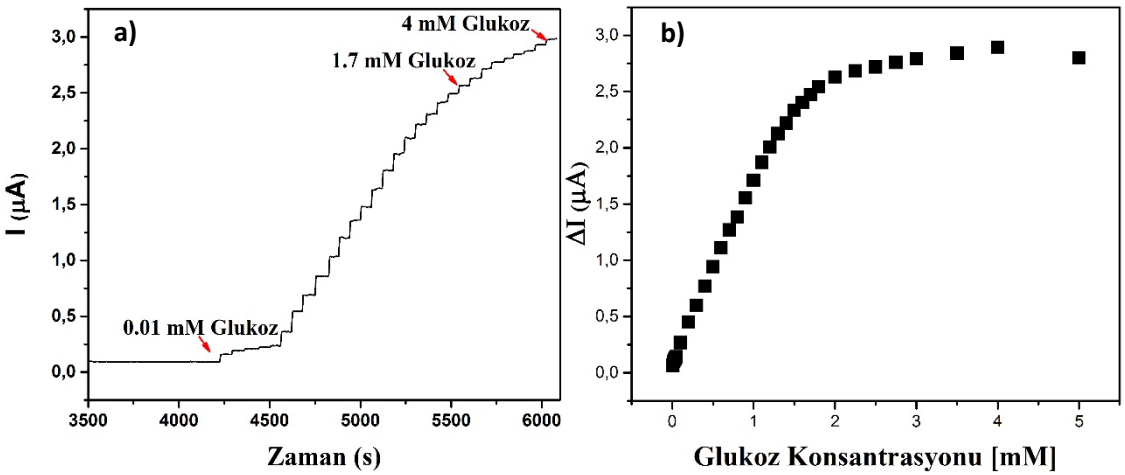
Pt/PEDOT-NFs/GOx-2enzim elektrotlarının kullanım kararlılığının değerlendirilmesi için oda koşullarında, bir gün içerisinde arka arkaya 20 ölçüm yapılmıştır. Alınan ölçümler sonucunda standart sapma ±0.0636 ve varyasyon katsayısı(CV) % 8.912 (n=20) olarak hesaplanmıştır. Pt/PEDOT-NFs/GOx-2elektrodunu 20. kullanımda % 80.86 aktivite gösterdiği bulunmuştur (Şekil 4.15).



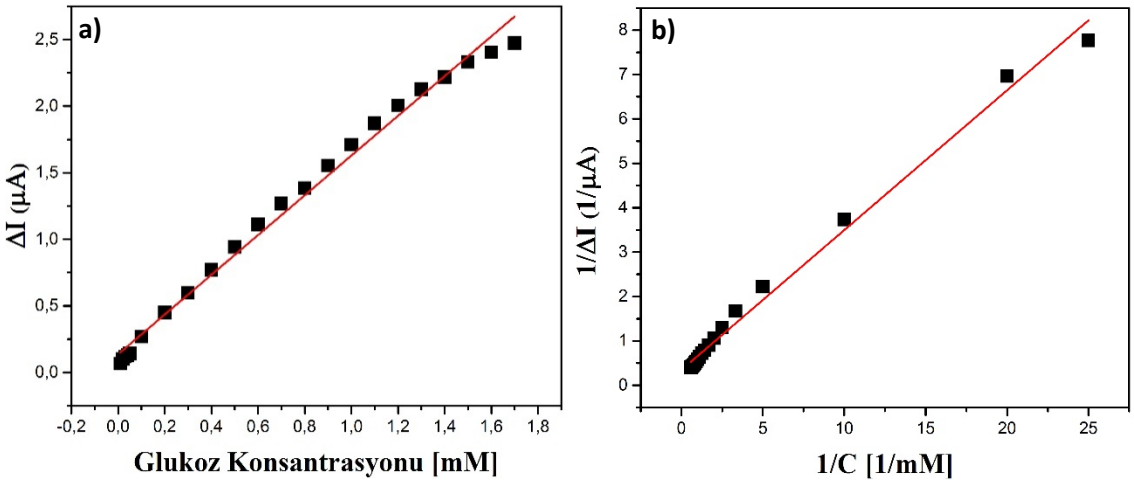
Şekil 4.15. Pt/PEDOT-NFs/GOx-2'nin art arda kullanılabilirliği

4.4.2.4. Pt/PEDOT-NFs/GOx-3 biyosensörü ile ilgili kronoamperometrik bulgular

185 U GOx içeren Pt/PEDOT-NFs/GOx-3 biyosensörünün amperometrik analiz sonucu 0.01 mM – 1.7 mM aralığında [y=1.492x+0.1354 (R^2=0.9911)], duyarlılığın 74.22 µA/mM.cm^2 olduğu (Şekil 4.16) ve tespit sınırının 0.0029 mM (2.9 µM) olduğu bulunmuştur.



Şekil 4.16. a) Pt/PEDOT-NFs/GOx-3için 0.01-4mM arası akım – zaman grafiği ve **b)** gözlenen akım fark değerlerinin glukoz derişimi ile değişimi (0.6 V; pH=6.5; 0.1 M fosfat tamponu, oda sıcaklığı)



Şekil 4.17. a) Pt/PEDOT-NFs/GOx-3 enzim elektrodunun kalibrasyon grafiği ve **b)** Lineweaver-Burk eğrisi (0.10 M pH 6.5 fosfat tamponu, 0.6 V, oda sıcaklığı)

Şekil 4.17, Pt/PEDOT-NFs/GOx-3enzim elektrodunun kalibrasyon grafiğini (Şekil 4.17.a) ve Lineweaver-Burk grafiğini (Şekil 4.17.b) verir. Biyosensör için K_m ve I_{max} değerleri sırasıyla 0.911 mM ve 2.893 μA olarak bulunmuştur.

Pt/PEDOT-NFs/GOx-3 enzim elektrotlarının kullanım kararlılığının değerlendirilmesi için oda koşullarında, bir gün içerisinde arka arkaya 0.05M glukoz ilavesi ile 25 ölçüm yapılmıştır. Alınan ölçümler sonucunda standart sapma ±0.0137 ve varyasyon katsayısı (CV) % 2.96 (n=24) olarak hesaplanmıştır. Pt/PEDOT-NFs/GOx-3elektrodunu 24. kullanımda % 93.11 aktivite gösterdiği bulunmuştur (Şekil 4.18.a).

Biyosensörün glukozdan başka maddelere verdiği tepkinin değerlendirilmesi için, girişim etkisi çalışması yapılmıştır. Bunun için, 0.05 M'lık sükroz, fruktoz, sitrik asit ve askorbik asit çözeltileri hazırlanmış, sırasıyla elektrokimyasal hücreye eklenmiştir. Glukoz, sukroz, fruktoz, sitrik asit ve askorbik asitin amperometrik sinyalleri Şekil 4.18.b'de gösterilmiştir. Glukozun iyi tanımlanmış sinyali ile diğer maddelerin etkileri karşılaştırıldığında, bu maddelerin hiç etki göstermediği ya da önemsiz bir etkiye sahip olduğu görülmüştür. Bu sonuç, interferent bakımından zengin ortamlarda bile PEDOT nanolif tabanlı biyosensörlerin yüksek seçiciliğe sahip olduğunu göstermiştir (Çetin ve Camurlu 2018).

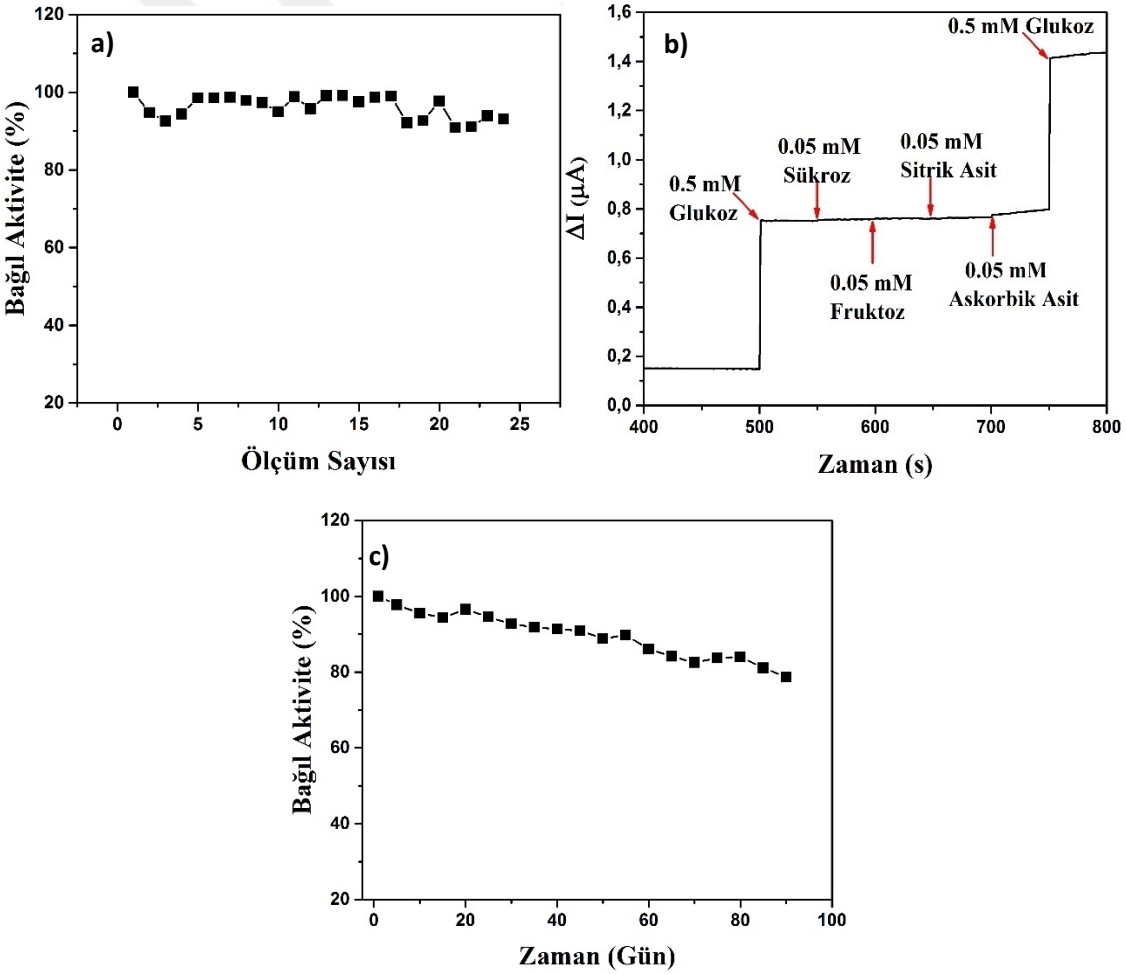
Pt/PEDOT-NFs/GOx-3biyosensörünün raf ömrü tayini için 0.6 V sabit potansiyelde 1 mM glukoz ilavesi ile aktiviteler beş günde bir kontrol edilmiş ve 90 gün boyunca aktivitelerinin kontrolüne devam edilmiştir. Şekil 4.18.c incelendiğinde 90.gün sonunda ise % 78.70 aktivite gösterdiği belirlenmiştir.

Pt/PEDOT-NFs/GOx-3 biyosensörünün girişim etkisi çalışmasından sonra ticari meyve sularında glukoz miktarının tayini için gerçek numune analizi yapılmıştır. Bunun için Cappy vişne suyu ve karışık meyve suyu, seyreltilmeden tampon çözeltisine eklenmiş ve ölçülen amperometrik cevap akımlarına denk gelen derişim değerleri, kalibrasyon grafiğinden elde edilen denklemler kullanılarak hesaplanmıştır. Çizelge

4.4'de yer alan Pt/PEDOT-NFs/GOx-3 biyosensörünün ticari meyve sularındaki glukoz tayini sonuçları ile HPLC sonuçları (referans sonuçlar) birbiri ile tutarlı çıkmıştır.

Çizelge 4.4. Pt/PEDOT-NFs/GOx-3 biyosensörü ile ticari meyve sularındaki glukoz tayini

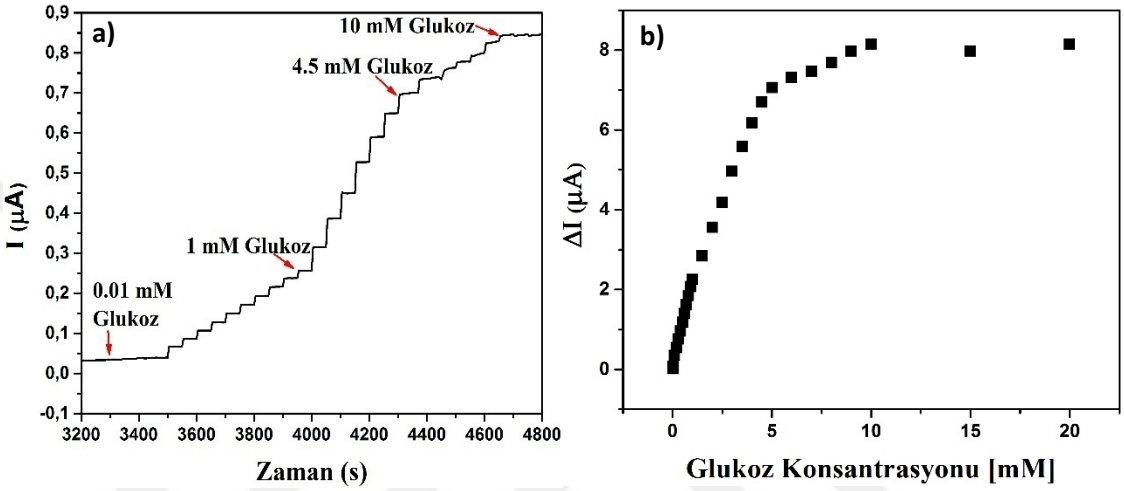
Örnek	Pt/PEDOT-NFs/GOx-3 biyosensörü (g/100 ml)	HPLC Analizi (g/100 ml)	Geri Kazanım (%)
Cappy vişne suyu	4.452 ± 0.055	4.471 ± 0.122	99.6
Cappy karışık meyve suyu	3.275 ± 0.017	3.261 ± 0.027	100.42



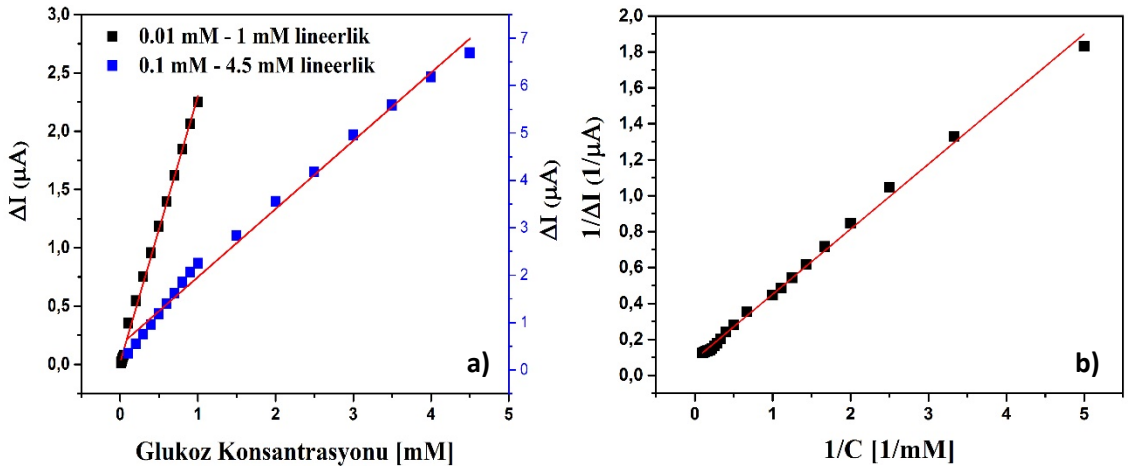
Şekil 4.18. a) Pt/PEDOT-NFs/GOx-3'ün art arda kullanılabilirlik **b)** girişim etkisi ve **c)** raf ömrü grafikleri

4.4.2.5. Pt/PEDOT-NFs/GOx-4 biyosensörü ile ilgili kronoamperometrik bulgular

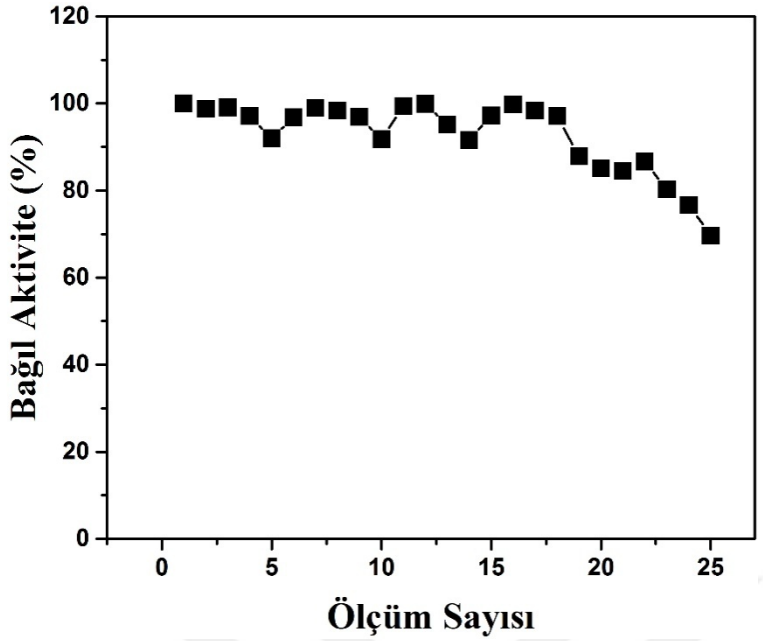
Pt/PEDOT-NFs/GOx-4 biyosensörünün analitik sonuçları 0.01 mM – 1 mM aralığında [y=2.28x+0.0199 (R^2=0.9961)] ve 0.1 mM-4.5mM aralığında [y=1.4379x+0.5205 (R^2=0.9908)] olduğunu (Şekil 4.19) tespit sınırının ise 0.004 mM (4 µM) olduğunu göstermiştir. Biyosensörün duyarlılığı 0.01 mM – 1 mM için 72.61 µA/mM.cm^2 olarak, 0.1 mM-4.5mM için 45.67 µA/mM.cm^2 olarak bulunmuştur.Şekil 4.20, Pt/PEDOT-NFs/GOx-4enzim elektrodunun kalibrasyon grafiğini (Şekil 4.20.a) ve Lineweaver Burk grafiğini (Şekil 4.20.b) verir. Biyosensör için K_m ve I_{max} değerleri sırasıyla 4.07 mM ve 11.24 µA olarak bulunmuştur (Şekil 4.20.b).



Şekil 4.19. a) Pt/PEDOT-NFs/GOx-4için 0.01-20 mM arası akım – zaman grafiği ve **b)** gözlenen akım fark değerlerinin glukoz derişimi ile değişimi (0.6 V; pH=6.5; 0.1 M fosfat tamponu, oda sıcaklığı)



Şekil 4.20. a) Pt/PEDOT-NFs/GOx-4 enzim elektrodunun kalibrasyon grafiği ve **b)** Lineweaver-Burk eğrisi (0.10 M pH 6.5 fosfat tamponu, 0.6 V, oda sıcaklığı)

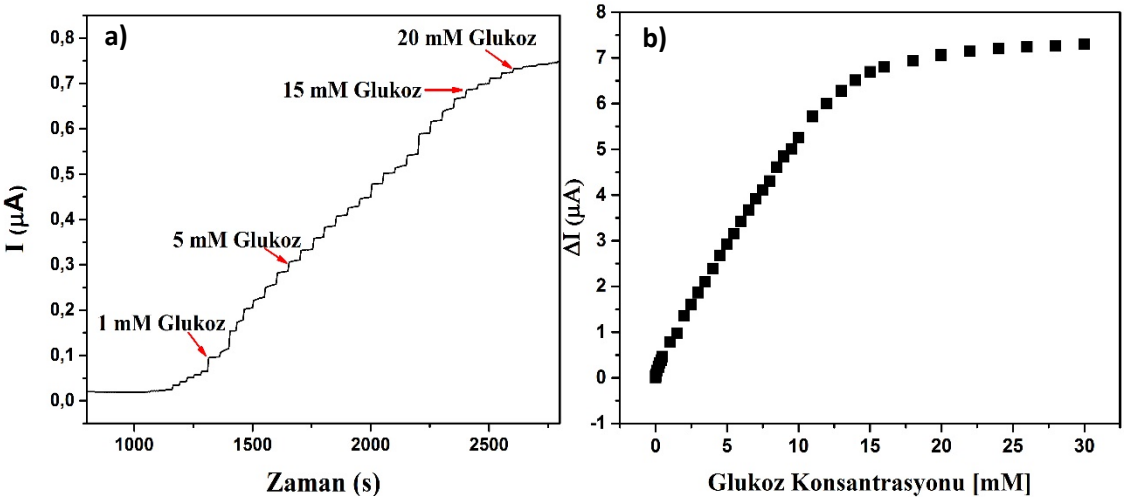


Şekil 4.21. Pt/PEDOT-NFs/GOx-4'ün art arda kullanılabilirliği

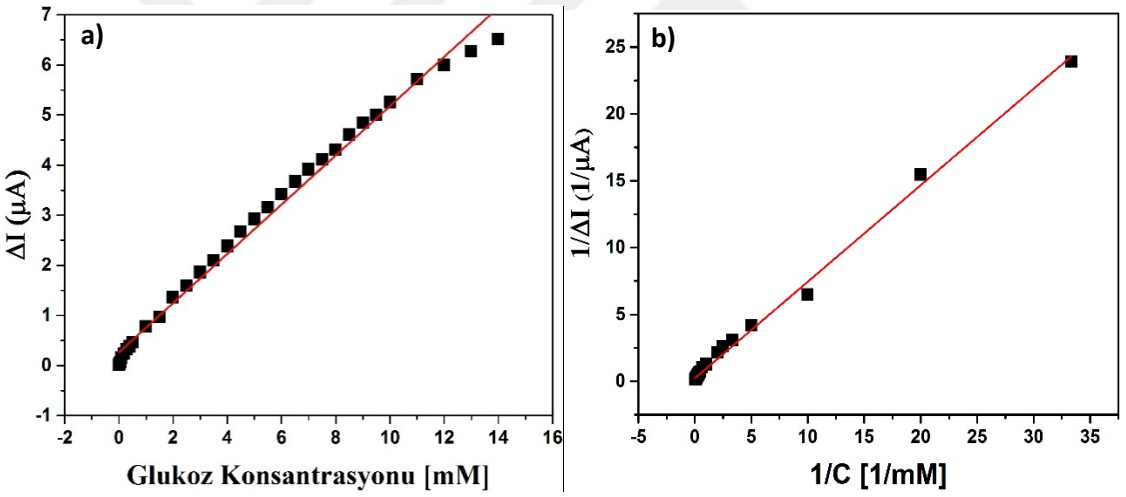
Pt/PEDOT-NFs/GOx-4enzim elektrotlarının kullanım kararlılığının değerlendirilmesi için oda koşullarında, bir gün içerisinde arka arkaya 25 ölçüm yapılmıştır. Alınan ölçümler sonucunda standart sapma ±0.039 ve varyasyon katsayısı (CV) % 5.66 (n=23) olarak hesaplanmıştır. Pt/PEDOT-NFs/GOx-4elektrodunu 23. kullanımda % 80.22 aktivite gösterdiği bulunmuştur (Şekil 4.21). 25.kullanım sonunda aktivite %70.6 bulunmuştur.

4.4.2.6. Pt/PEDOT-NFs/GOx-5 biyosensörü ile ilgili kronoamperometrik bulgular

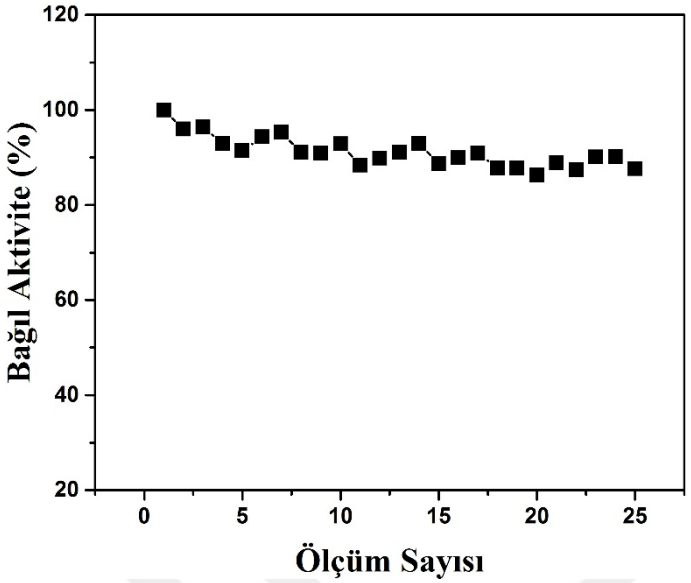
370 U GOx içeren Pt/PEDOT-NFs/GOx-5'in amperometrik analiz 0.01 mM – 14 mM aralığında [y=0.4913x+0.2631 (R^2=0.9906)] akım substrat miktarı arasında doğrusal ilişki olduğu (Şekil 4.22), tespit sınırının ise 0.0011 mM (1.1 µM) olduğu bulunmuştur. Biyosensörün duyarlılığı 0.01 mM – 14 mM için 24.47 µA/mM.cm^2 bulunmuştur. Şekil 4.23, Pt/PEDOT-NFs/GOx-5enzim elektrodunun kalibrasyon grafiğini (Şekil 4.23.a) ve Lineweaver Burk grafiğini (Şekil 4.23.b) verir. Biyosensör için K_m ve I_{max} değerleri sırasıyla 3.197 mM ve 4.43 µA olarak bulunmuştur.



Şekil 4.22. a) Pt/PEDOT-NFs/GOx-5 için 0.01-30 mM arası akım – zaman grafiği ve **b)** gözlenen akım fark değerlerinin glukoz derişimi ile değişimi (0.6 V; pH=6.5; 0.1 M fosfat tamponu, oda sıcaklığı)



Şekil 4.23. a) Pt/PEDOT-NFs/GOx-5 enzim elektrodunun kalibrasyon grafiği ve **b)** Lineweaver-Burk eğrisi (0.10 M pH 6.5 fosfat tamponu, 0.6 V, oda sıcaklığı)



Şekil 4.24. Pt/PEDOT-NFs/GOx-5'in art arda kullanılabilirliği

Pt/PEDOT-NFs/GOx-5enzim elektrotlarının kullanım kararlılığının değerlendirilmesi için oda koşullarında, bir gün içerisinde arka arkaya 25 ölçüm yapılmıştır. Alınan ölçümler sonucunda standart sapma ±0.0164 ve varyasyon katsayısı(CV) % 5.82 (n=25) olarak hesaplanmıştır. Pt/PEDOT-NFs/GOx-5elektrodunu 25. kullanımda % 87.63 aktivite gösterdiği bulunmuştur (Şekil 4.24).

Çizelge 4.5'te üretilen tüm biyosensörlerin performansları gösterilmiştir. Biyosensörlerin duyarlılıkları 24.47 μA/mM.cm^2 'den 85.2 μA/mM.cm^2'ye ve LOD değerleri 1.1 μM'dan 9.6 μM'a değişiklik göstermiştir. Pt/PEDOT-NFs/GOx-1 biyosensörü hariç tüm biyosensörler 20-25 ard arda kullanım arasında %80'den fazla bağıl aktivite göstermiştir. Bu çizelgeye göre Pt/PEDOT-NFs/GOx-3, en yüksek kararlılık, en düşük Km, en düşük standart sapma, düşük LOD ve yüksek bir duyarlılık gösterdiği için en iyi biyosensör olarak seçilmiştir. Bu nedenle girişim etkisi, gerçek numune analizi ve raf ömrü gibi çalışmalar yalnızca bu biyosensör için yapılmıştır.

Pt/PEDOT-NFs/GOx-3 biyosensörünün 3 saniyeden daha kısa bir sürede kararlı duruma (steady state) geldiği görülmüş ve bu durumun nanoliflerin hızlı elektron değişimi ve iyi bir elektrokatalitik oksidatif davranışa sahip olmasından kaynaklandığı düşünülmüştür. Pt/PEDOT-NFs/GOx-5 biyosensörünün cevap süresi incelendiğinde ise, enzim miktarının artmasıyla cevap süresinin arttığı gözlenmiştir. Bu durum artan enzim miktarının nanolif morfolojisini bozarak, enzimin aktif bölgesine substratın difüzyonunu sınırlandırmasından kaynaklandığı düşünülmüştür (Moreno-Cortez vd. 2015).

Çizelge 4.5. Pt/PEDOT-NFs/GOx biyosensörlerinin performansları (+0.6 V)

	PEDOT-NFs/GOx-1	**PEDOT-NFs/GOx-2**	**PEDOT-NFs/GOx-3**	**PEDOT-NFs/GOx-4**	**PEDOT-NFs/GOx-5**
Lineer aralık	0.01 – 2.5 mM	0.01– 1.9 mM ve 0.06 – 5.0 mM	0.01 – 1.7 mM	0.01 - 1 mM ve 0.1 – 4.5 mM	0.01 – 14 mM
Duyarlılık ($\mu A/mM.cm^2$)	53.58	85.2 ve 67.8	74.22	72.61 ve 45.67	24.47
LOD (μM)	7.2	9.6	2.9	4	1.1
Kullanım Kararlılığı	12.kullanımda % 80.05	20.kullanımda % 80.86	24.kullanımda % 93.11	21.kullanımda % 85.44	25.kullanımda % 87.63
Std. sapma	±0.1434	± 0.0636	±0.0137	±0.039	±0.0164
Rsd	17.30 %	8.91 %	2.96 %	5.66 %	5.82 %
$\mathbf{K_m}$ (mM)	2.07	4.28	0.911	4.07	3.197
$\mathbf{I_{max}}$ (μA)	3.97	12.95	2.893	11.24	4.43
Cevap süresi (s)	1-2	2-3	2-3	3-4	220
Lif çapı (nm)	435 ± 14	575 ±10	620 ± 8	700 ± 12	780 ± 11

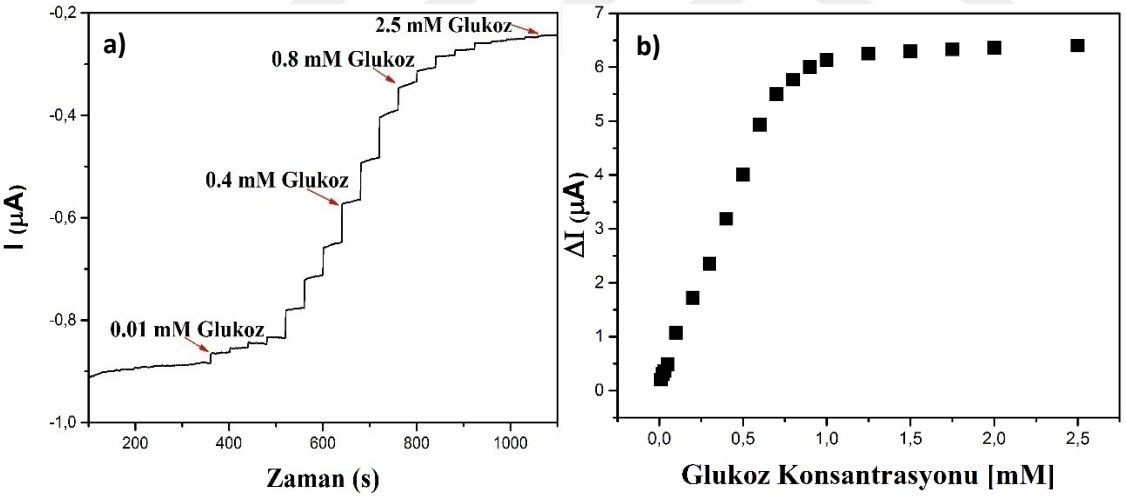
4.4.3. Biyosensörlerin analitik performansının oksijen tüketim ölçümüne bağlı olarak incelenmesi

Peroksit oluşumu ölçümüne dayalı biyosensörler daha basit olma avantajına sahipken, bu tür sensörlerde yüksek hassasiyete ulaşmak için yüksek bir çalışma potansiyeli gerektirmesi bazen bir dezavantaj oluşturmaktadır. İçeceklerde ve yiyeceklerde yaygın olarak bulunan sitrik asit, sükroz, fruktoz ve askorbik asit (AA) gibi birçok elektroaktif türün yükseltgenmesi sebebi ile biyosensörlerin seçiciliği ve elde edilen sonuçların doğruluğu olumsuz etkilenmektedir. Bu nedenle oksijen tüketiminin ölçülmesi, düşük çalışma potansiyelli bir yaklaşım olarak kabul edilmiş ve glukozun elektrokimyasal tayini için uygulanmıştır (Çetin ve Camurlu 2018).

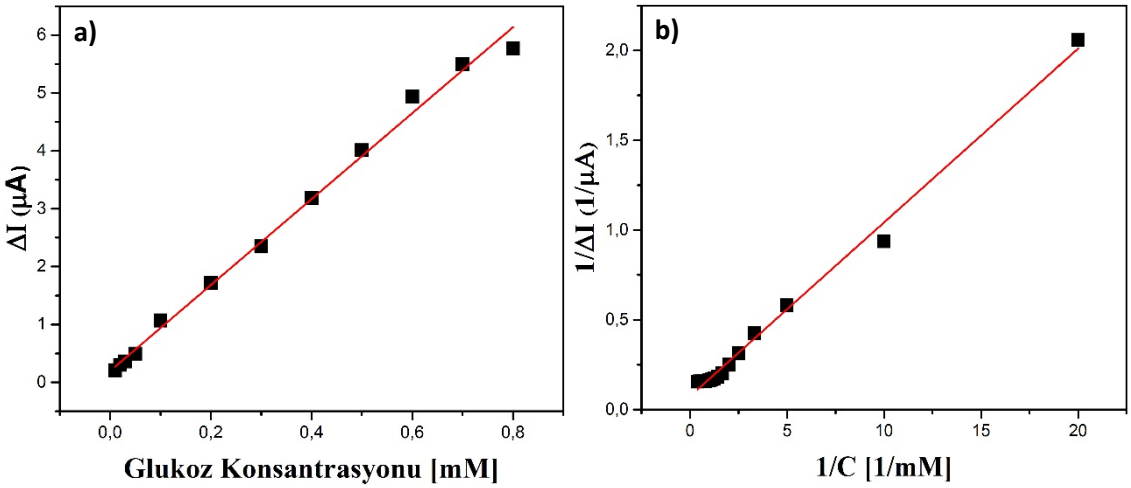
Pt/PEDOT-NFs/GOx-1, Pt/PEDOT-NFs/GOx-2, Pt/PEDOT-NFs/GOx-3, Pt/PEDOT-NFs/GOx-4 ve Pt/PEDOT-NFs/GOx-5 biyosensörleri hazırlanmış ve katodik bölgede (-0.6 V'da) kronoamperometrik analizleri yapılmıştır.

4.4.3.1. Pt/PEDOT-NFs/GOx-1 biyosensörü ile ilgili kronoamperometrik bulgular

Katodik bölgede yapılan amperometrik analiz sonucunda Pt/PEDOT-NFs/GOx-1 biyosensörünün 0.01 mM – 0.8 mM aralığında doğrusal olduğu [y=7.42x+0.1944 (R^2=0.9938)] (Şekil 4.25) ve LOD değerinin 0.0192 mM (19.2 µM) olduğu bulunmuştur. 0.01 mM – 0.8 mM doğrusal aralığı için biyosensörün duyarlılığı 236.3 µA/mM.cm^2 olarak bulunmuştur.

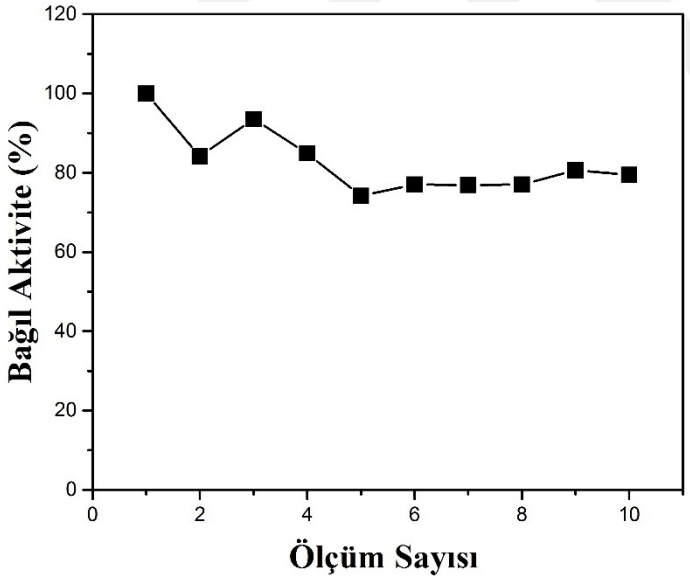


Şekil 4.25. a) Pt/PEDOT-NFs/GOx-1 için 0.01-2.5mM arası akım – zaman grafiği ve **b)** gözlenen akım fark değerlerinin glukoz derişimi ile değişimi (-0.6 V; pH=6.5; 0.1 M fosfat tamponu, oda sıcaklığı)



Şekil 4.26. a) Pt/PEDOT-NFs/GOx-1 enzim elektrodunun kalibrasyon grafiği ve **b)** Lineweaver-Burk eğrisi (0.10 M pH 6.5 fosfat tamponu, -0.6 V, oda sıcaklığı)

Şekil 4.26, Pt/PEDOT-NFs/GOx-1enzim elektrodunun kalibrasyon grafiğini (Şekil 4.26.a) ve Lineweaver-Burk grafiğini(Şekil 4.26.b) göstermektedir. Biyosensör için K_m ve I_{max} değerleri sırasıyla 0.81 mM ve 9.3 µA olarak bulunmuştur.

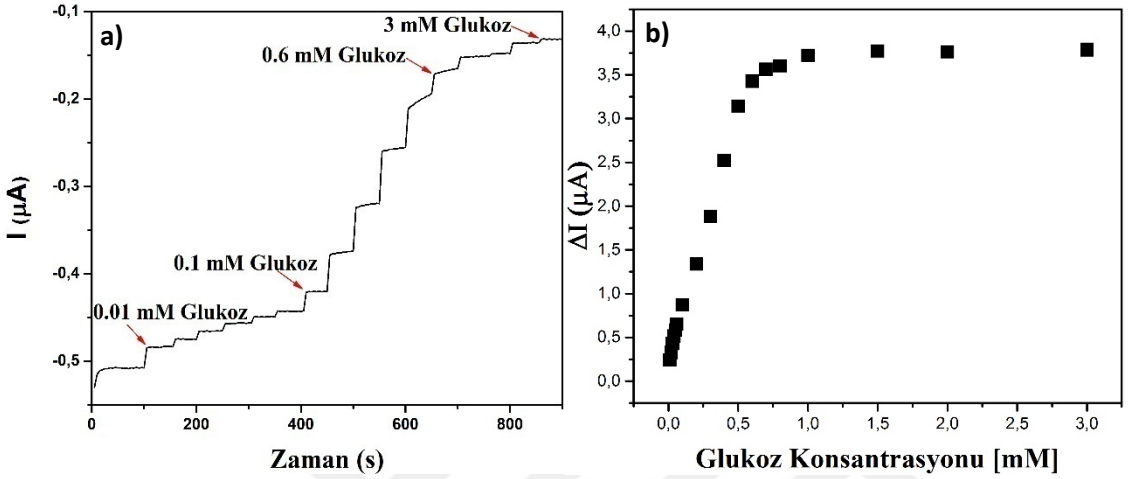


Şekil 4.27. Pt/PEDOT-NFs/GOx-1'in art arda kullanılabilirliği

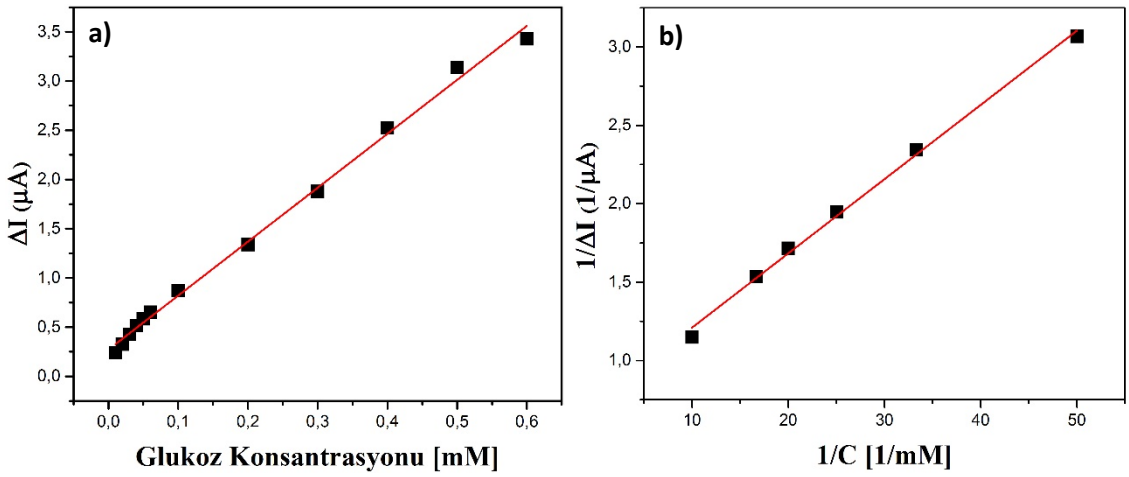
Alınan ölçümler sonucunda biyosensörün 10. kullanımda % 80.65 aktivite gösterdiği, standart sapmanın ±0.2121 ve varyasyon katsayısının (CV) % 9.4 (n=10) olduğu bulunmuştur (Şekil 4.27).

4.4.3.2. Pt/PEDOT-NFs/GOx-2 biyosensörü ile ilgili kronoamperometrik bulgular

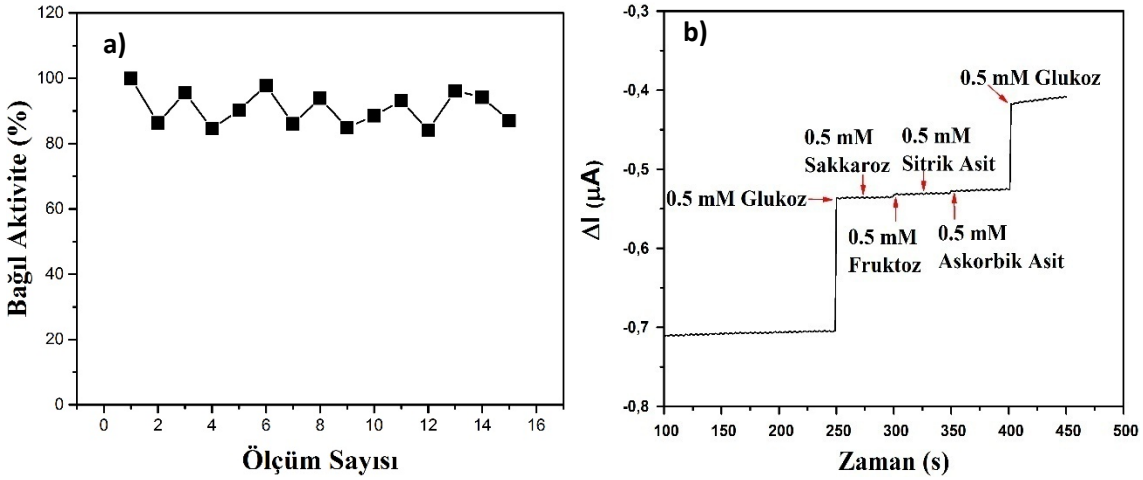
Biyosensörün 0.01 mM – 0.6 mM aralığında [y=5.479x+0.2716 (R^2=0.9955)] doğrusal olduğu (Şekil 4.28), LOD'un 0.0678 mM (67.8 µM) ve duyarlılığın 272.58 µA/mM.cm^2 olduğu bulunmuştur. Pt/PEDOT-NFs/GOx-2enzim elektrodunun kalibrasyon grafiği Şekil 4.29.a'da gösterilmiştir. Lineweaver Burk eğrisi (Şekil 4.29.b) sonucunda K_m ve I_{max} değerleri sırasıyla 0.057 mM ve 1.256 µA olarak bulunmuştur.



Şekil 4.28. a) Pt/PEDOT-NFs/GOx-2 için 0.01-3 mM arası akım – zaman grafiği ve **b)** gözlenen akım fark değerlerinin glukoz derişimi ile değişimi (-0.6 V; pH=6.5; 0.1 M fosfat tamponu, oda sıcaklığı)



Şekil 4.29. a) Pt/PEDOT-NFs/GOx-2 enzim elektrodunun kalibrasyon grafiği ve **b)** Lineweaver-Burk eğrisi (0.10 M pH 6.5 fosfat tamponu, -0.6 V, oda sıcaklığı)



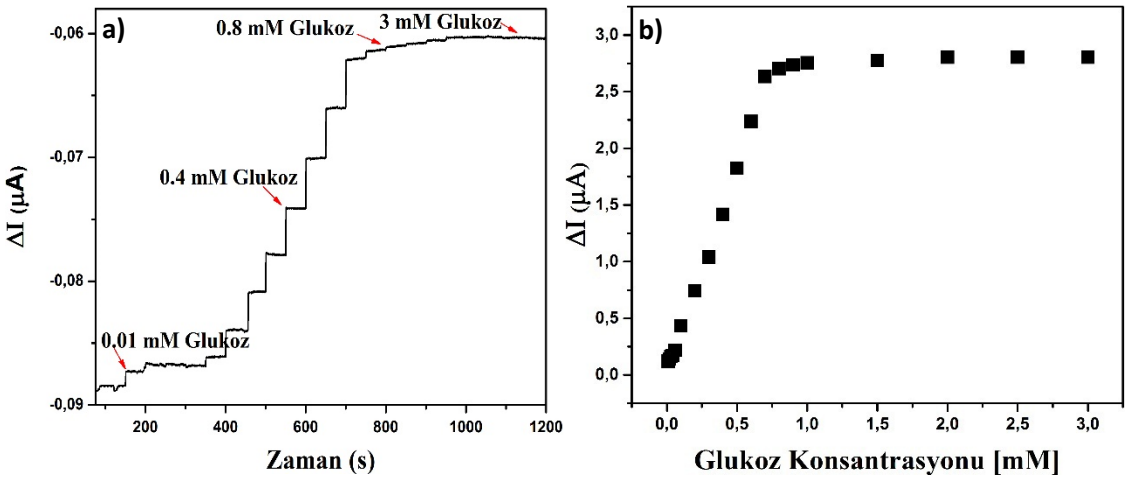
Şekil 4.30. Pt/PEDOT-NFs/GOx-2'nin **a)** art arda kullanılabilirliği ve **b)** glukoz, sükroz, fruktoz, sitrik asit ve askorbik asite karşı amperometrik sinyalleri (-0.6V)

Pt/PEDOT-NFs/GOx-2enzim elektrotlarının kullanım kararlılığı için alınan ölçümler sonucunda standart sapma ±0.116 ve varyasyon katsayısı(CV) % 6.53 (n=15) olarak hesaplanmıştır. Pt/PEDOT-NFs/GOx-2elektrodunu 15. kullanımda % 87.1 aktivite gösterdiği bulunmuştur (Şekil 4.30.a).

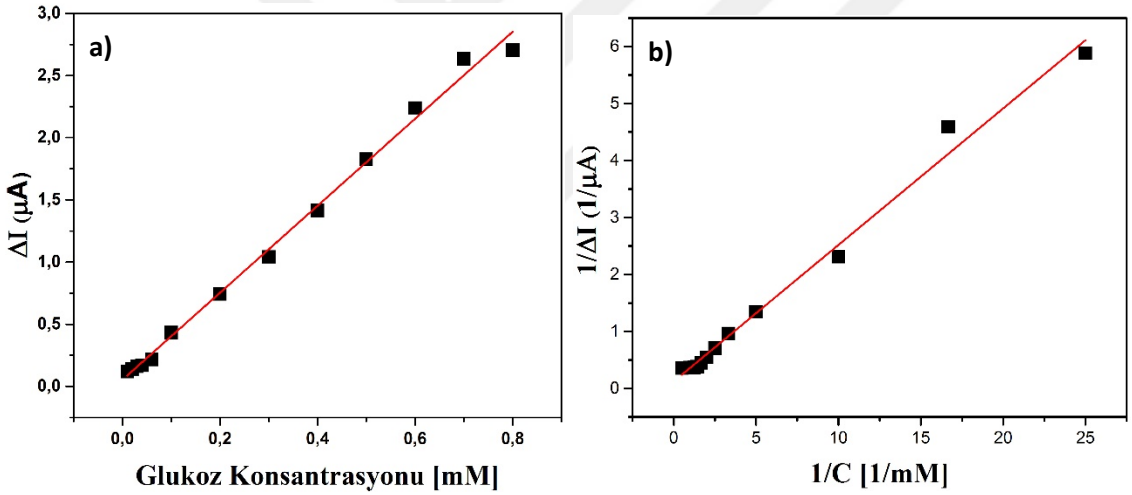
Biyosensörün glukozdan başka maddelere verdiği tepkinin değerlendirilmesi için, -0.6 V'da girişim etkisi çalışması yapılmıştır. Bunun için, 0.5 M'lık sükroz, fruktoz, sitrik asit ve askorbik asit çözeltileri hazırlanmış, sırasıyla elektrokimyasal hücreye eklenmiştir (Şekil 4.30.b). Glukozun iyi tanımlanmış sinyali ile diğer maddelerin etkileri karşılaştırıldığında, bu maddelerin hiç etki göstermediği ya da önemsiz bir etkiye sahip olduğu görülmüştür. Bu sonuç, interferent bakımından zengin ortamlarda bile PEDOT nanolif tabanlı biyosensörlerin yüksek seçiciliğe sahip olduğunu göstermiştir (Çetin ve Camurlu 2018).

4.4.3.3. Pt/PEDOT-NFs/GOx-3 biyosensörü ile ilgili kronoamperometrik bulgular

Biyosensörün 0.01 mM – 0.8 mM aralığında [$y=3.498x+0.0528$ ($R^2=0.9947$)] doğrusal olduğu (Şekil 4.31), LOD değerinin ise 0.165 mM (165 μM) olduğu bulunmuştur. Biyosensörün duyarlılığı 0.01 mM – 0.8 mM için 111.78 μA/mM.cm^2 olarak bulunmuştur.

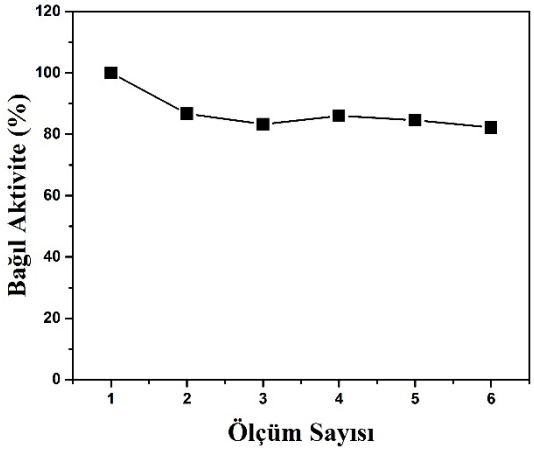


Şekil 4.31. a) Pt/PEDOT-NFs/GOx-3 için 0.01-3 mM arası akım – zaman grafiği ve **b)** gözlenen akım fark değerlerinin glukoz derişimi ile değişimi (-0.6 V; pH=6.5; 0.1 M fosfat tamponu, oda sıcaklığı)



Şekil 4.32. a) Pt/PEDOT-NFs/GOx-3 enzim elektrodunun kalibrasyon grafiği ve **b)** Lineweaver-Burk eğrisi (0.10 M pH 6.5 fosfat tamponu, -0.6 V, oda sıcaklığı)

Şekil 4.32, Pt/PEDOT-NFs/GOx-3enzim elektrodunun kalibrasyon grafiğini (Şekil 4.32.a) göstermektedir.Şekil 4.32.b'deki grafikten faydalanılarak, K_m ve I_{max} değerleri sırasıyla 0.552 mM ve 3.95 µA olarak bulunmuştur.

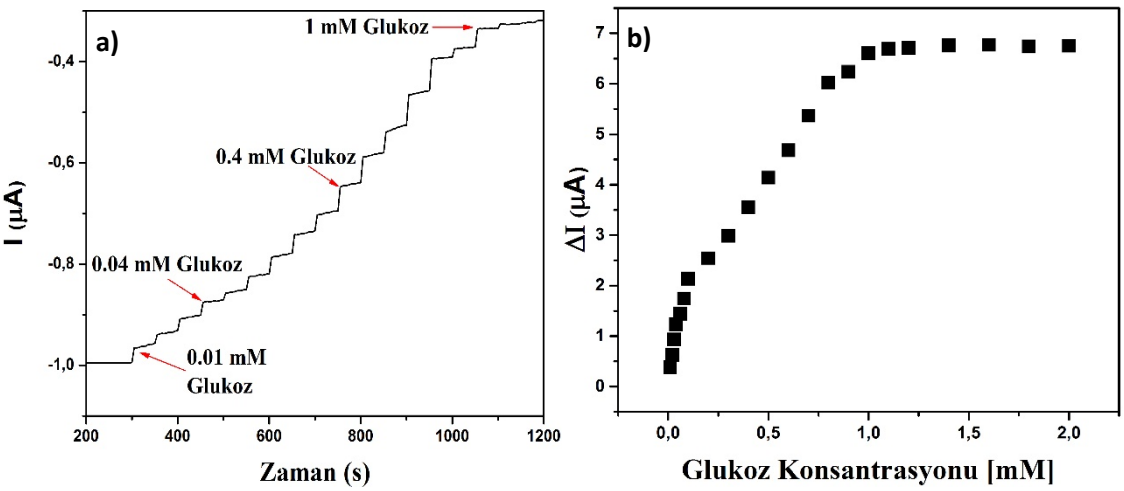


Şekil 4.33. Pt/PEDOT-NFs/GOx-3'ün art arda kullanılabilirliği

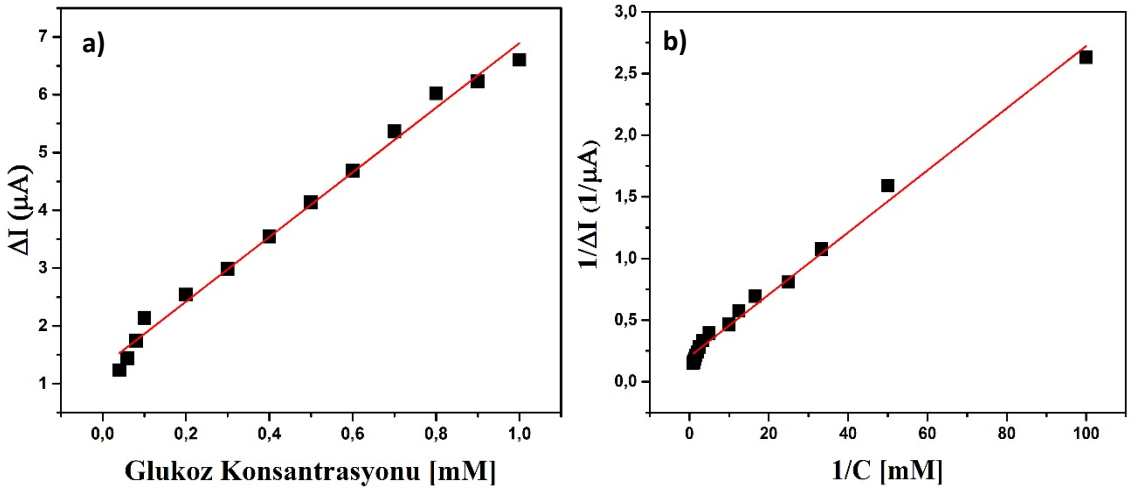
Ölçümler sonucunda Pt/PEDOT-NFs/GOx-3elektrodunun 6. kullanımda % 82.2 aktivite gösterdiği, standart sapma ±0.174 ve varyasyon katsayısının (CV) % 9.13 (n=6) olduğu bulunmuştur (Şekil 4.33)

4.4.3.4. Pt/PEDOT-NFs/GOx-4 biyosensörü ile ilgili kronoamperometrik bulgular

0.04 mM – 1 mM aralığında [y=5.59x+1.301 (R^2=0.9901)] doğrusal olduğu (Şekil 4.34) tespit sınırının 0.080 mM (80 µM) olduğu ve duyarlılığın 177.7 µA/mM.cm^2 bulunmuştur.

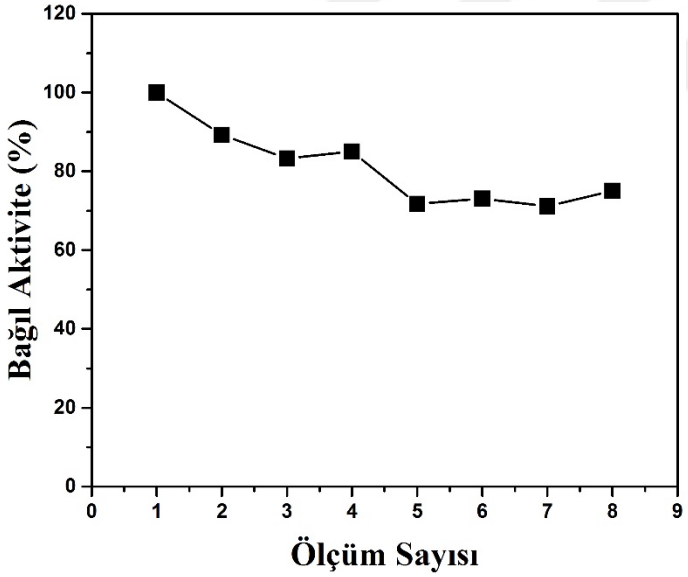


Şekil 4.34. a) Pt/PEDOT-NFs/GOx-4 için 0.01-2 mM arası akım – zaman grafiği ve **b)** gözlenen akım fark değerlerinin glukoz derişimi ile değişimi (-0.6 V; pH=6.5; 0.1 M fosfat tamponu, oda sıcaklığı)



Şekil 4.35. a) Pt/PEDOT-NFs/GOx-4 enzim elektrodunun kalibrasyon grafiği ve **b)** Lineweaver-Burk eğrisi (0.10 M pH 6.5 fosfat tamponu, -0.6 V, oda sıcaklığı)

Şekil 4.35.a, Pt/PEDOT-NFs/GOx-4enzim elektrodunun kalibrasyon grafiğini göstermektedir.Şekil 4.35.b'deki grafikten faydalanılarak, K_m ve I_{max} değerleri sırasıyla 0.124 mM ve 4.924 μA olarak bulunmuştur.

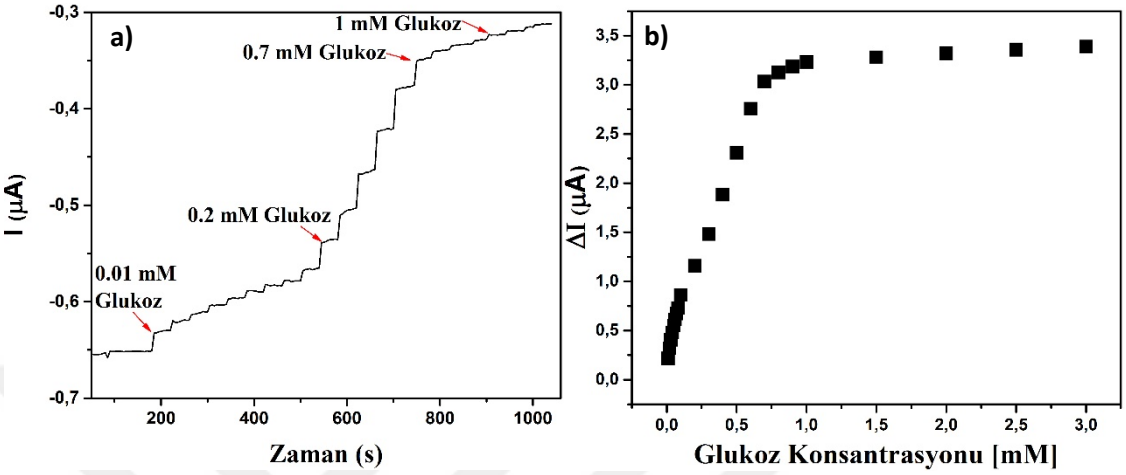


Şekil 4.36. Pt/PEDOT-NFs/GOx-4'ün art arda kullanılabilirliği

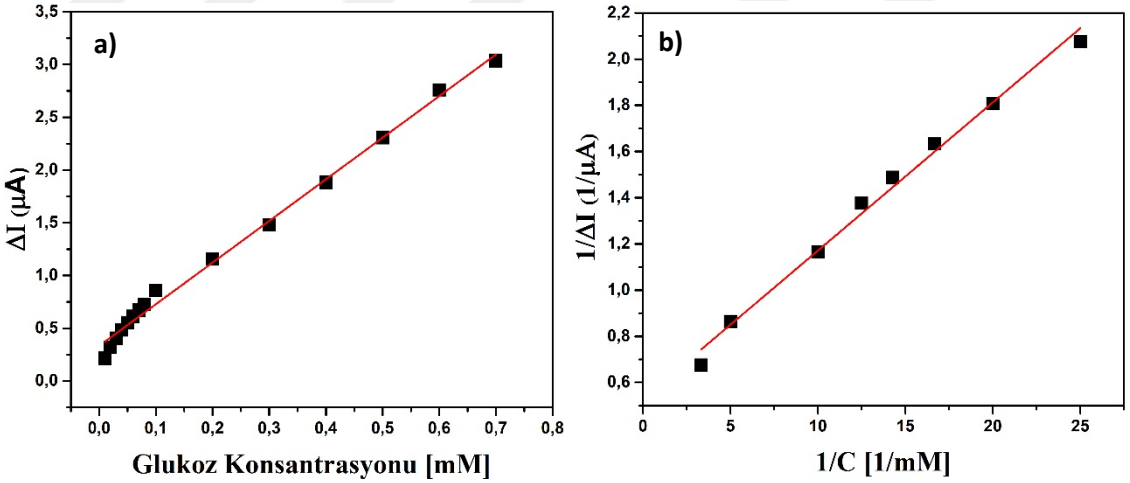
Pt/PEDOT-NFs/GOx-4 enzim elektrotlarının kullanım kararlılığının değerlendirilmesi için oda koşullarında, bir gün içerisinde arka arkaya ölçümler yapılmıştır. Pt/PEDOT-NFs/GOx-4elektrodunu 8. kullanımda % 75.1 aktivite gösterdiği bulunmuştur (Şekil 4.36). Standart sapma ±0.345 ve varyasyon katsayısı(CV) % 15.3 (n=8) olarak hesaplanmıştır.

4.4.3.5. Pt/PEDOT-NFs/GOx-5 biyosensörü ile ilgili kronoamperometrik bulgular

0.01 mM – 0.7 mM doğrusal aralığında [y=3.944x+0.3330 (R^2=0.9931)] biyosensörün duyarlılığı 196.3 µA/mM.cm^2 olarak bulunmuştur. LOD ise 0.108 mM (108 µM) olarak bulunmuştur (Şekil 4.37).

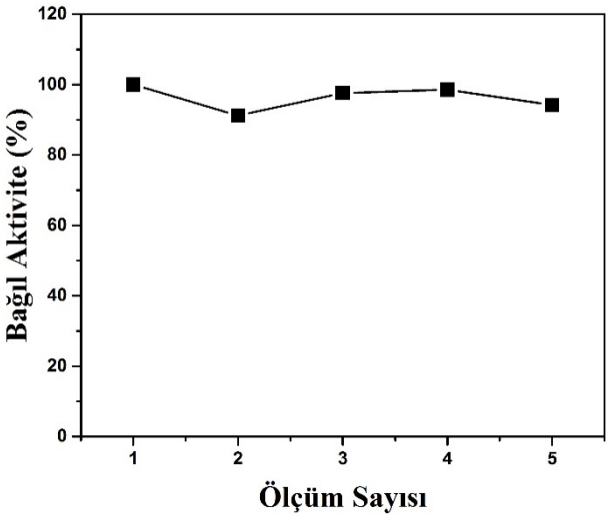


Şekil 4.37. a) Pt/PEDOT-NFs/GOx-5 için 0.01-3 mM arası akım – zaman grafiği ve **b)** gözlenen akım fark değerlerinin glukoz derişimi ile değişimi (-0.6 V; pH=6.5; 0.1 M fosfat tamponu, oda sıcaklığı)



Şekil 4.38. a) Pt/PEDOT-NFs/GOx-5 enzim elektrodunun kalibrasyon grafiği ve **b)** Lineweaver-Burk eğrisi (0.10 M pH 6.5 fosfat tamponu, -0.6 V, oda sıcaklığı)

Şekil 4.38, Pt/PEDOT-NFs/GOx-5enzim elektrodunun kalibrasyon grafiğini (Şekil 4.38.a) ve Lineweaver Burk grafiğini (Şekil 4.38.b) göstermektedir. Biyosensör için K_m ve I_{max} değerleri sırasıyla 0.121 mM ve 1.89 µA olarak bulunmuştur.



Şekil 4.39. Pt/PEDOT-NFs/GOx-5'in art arda kullanılabilirliği

Pt/PEDOT-NFs/GOx-5 biyosensörününkullanım kararlılığının değerlendirilmesi için oda koşullarında, bir gün içerisinde arka arkaya ölçümler yapılmıştır. 5.ölçümden sonra ani bir düşüşle bağıl aktivitenin %60'lara kadar indiği gözlenmiştir. Alınan ölçümler sonucunda standart sapma ±0.055 ve varyasyon katsayısı(CV) % 3.3 (n=5) olarak hesaplanmıştır. Pt/PEDOT-NFs/GOx-5elektrodunun 5. kullanımda % 94.21 aktivite gösterdiği bulunmuştur (Şekil 4.39).

Çizelge 4.6'da üretilen tüm biyosensörlerin performansları gösterilmiştir. Biyosensörlerin duyarlılıkları 111.78 µA/mM.cm^2 'den 272.58 µA/mM.cm^2'ye ve LOD değerleri 19.2 µM'dan 165 µM'a değişiklik göstermiştir. Pt/PEDOT-NFs/GOx-4 biyosensörü hariç tüm biyosensörler 5-15 art arda kullanım arasında %80'den fazla bağıl aktivite göstermiştir. Bu çizelgeye göre Pt/PEDOT-NFs/GOx-2; en yüksek kararlılık, en düşük K_m ve en yüksek bir duyarlılık gösterdiği için optimum seçilmiştir. Artan enzim miktarlarına bağlı olarak, biyosensörlerin tepki sürelerinin arttığı da gözlenmiştir.

Çizelge 4.6. Pt/PEDOT-NFs/GOx biyosensörlerinin performansları (-0.6 V)

	PEDOT-NFs/GOx-1	**PEDOT-NFs/GOx-2**	**PEDOT-NFs/GOx-3**	**PEDOT-NFs/GOx-4**	**PEDOT-NFs/GOx-5**
Lineer aralık	0.01 – 0.8 mM	0.01– 0.6 mM	0.01 – 0.8 mM	0.04 - 1 mM	0.01 – 0.7 mM
Duyarlılık ($\mu A/mM.cm^2$)	236.3	272.58	111.78	177.7	196.3
LOD (µM)	19.2	67.8	165	80	108
Kullanım Kararlılığı	10.kullanımda % 80.65	15.kullanımda % 87.1	6.kullanımda % 82.2	8.kullanımda % 75.1	5.kullanımda % 94.21
Std. sapma	±0.2121	± 0.116	±0.174	±0.345	±0.055
Rsd	% 9.4	% 6.53	% 9.13	% 15.3	% 3.3
K_m	0.81	0.057	0.552	0.124	0.121
I_{max} (µA)	9.3	1.256	3.95	4.924	1.89
Cevap süresi (s)	1-2	2-3	2-3	50-52	120
Lif çapı (nm)	435 ± 14	575 ±10	620 ± 8	700 ± 12	780 ± 11

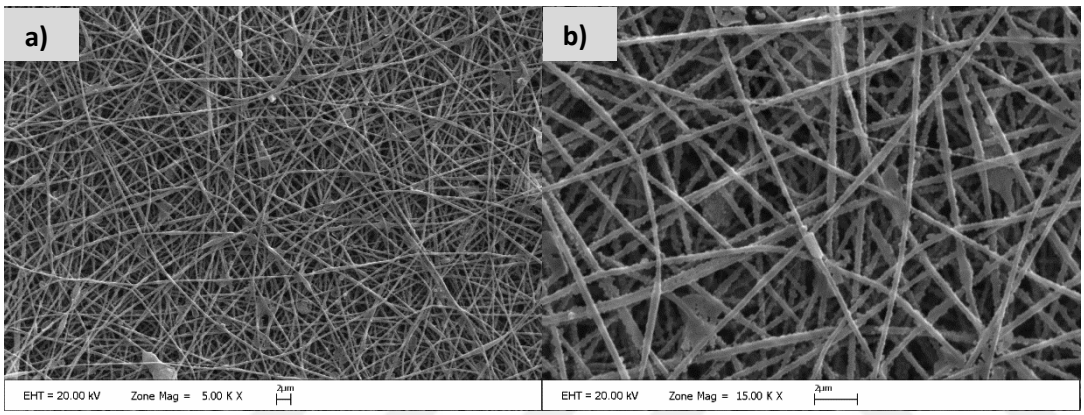
4.5. PEDOT-MWCNT Nanolifleri ile İlgili Bulgular

4.5.1. PEDOT-MWCNT nanoliflerinin hazırlanması

Kütlece %7'lik PAN/DMF konsantrasyonu sabit kalacak şekilde, çözünen PAN miktarının %10'u kadar MWCNT içeren çözeltilerden elde edilen nanoliflere, kimyasal buhar polimerizasyonu ile PEDOT kaplanmıştır.

4.5.2. PEDOT-MWCNT nanoliflerinin morfolojik analizi

Şekil 4.40'ta, PAN/MWCNT içeren nanoliflerin üzerine kaplanan PEDOT nanolifleri gösterilmiştir. PAN/MWCNT nanoliflerine ait ortalama lif çapı 170 ± 10nm iken PEDOT-MWCNT nanoliflerinin ortalama lif çapı 304 ± 10 nm olarak bulunmuştur.



Şekil 4.40. PEDOT-MWCNT nanoliflerine ait SEM görüntüleri **a)** 5000 kat büyütme **b)** 15000 kat büyütme

PEDOT-MWCNT nanoliflerinin morfolojik analizlerinin ardından elektrokimyasal analizleri de yapılmıştır ve PEDOT-MWCNT nanoliflerinin elektrokimyasal sinyali, MWCNT'siz çalışmalarda olduğu gibi tarama hızının karekökü ile bir korelasyon ortaya çıkarmıştır. Bu sonuç, redoks davranışının difüzyon kontrollü olduğunu göstermiştir (Çetin ve Camurlu 2018, M. Kumar ve Ando 2010) (EK-1, Şekil 8.1).

4.5.3. PEDOT-MWCNT tabanlı glukoz biyosensörleri ile ilgili bulgular

Elde edilen iletken PEDOT-MWCNT nanoliflerinden, 4 farklı enzim içeriğine sahip Pt/PEDOT-MWCNT-NFs/GOx glukoz biyosensörleri hazırlanmış ve elde edilen glukoz biyosensörleri kronoamperometrik yöntemle incelenmiştir. Elektrotlar Pt/PEDOT-MWCNT-NFs/GOx-1 (46.25 U GOx), Pt/PEDOT-MWCNT-NFs/GOx-2 (92.5 U GOx), Pt/PEDOT-MWCNT-NFs/GOx-3 (185 U GOx) ve Pt/PEDOT-MWCNT-NFs/GOx-5 (370 U GOx) olarak adlandırılmıştır. Hazırlanan enzim elektrotları 0.1 M fosfat tamponu ile yıkanarak kullanıma hazır hale getirilmiş ve elektrotlar 0.1 M, pH=7.0 fosfat tamponu içerisinde buzdolabında +4ºC'de saklanmıştır.

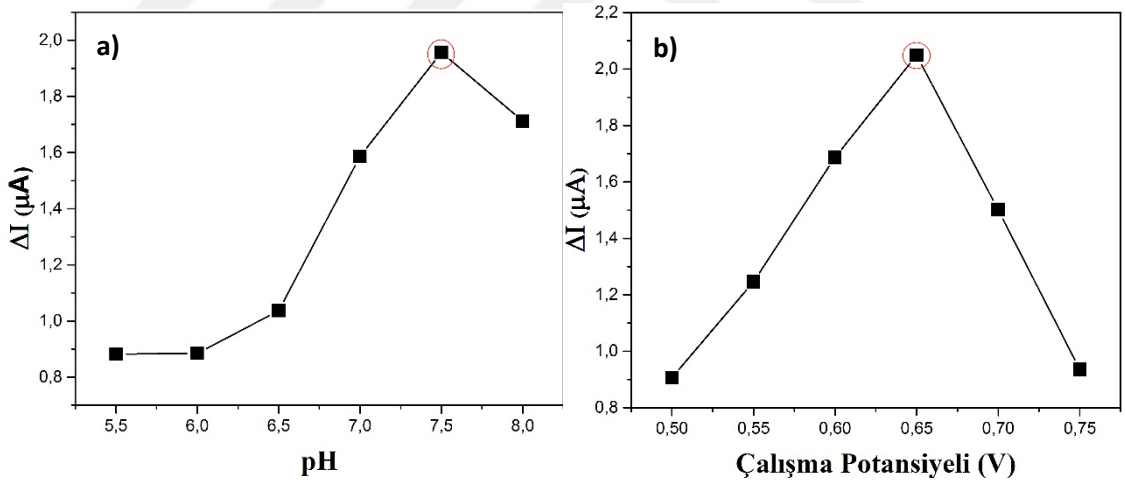
4.5.3.1. Biyosensörlerin analitik performanslarının hidrojenperoksit ölçümüne bağlı olarak incelenmesi

Tampon çözeltinin pH'ı, uygulanan potansiyel ve enzim miktarı gibi parametreler biyosensör performansını etkilediği için, kronoamperometrik ölçümlere başlamadan önce optimizasyon çalışmaları yapılmıştır.

Çalışma Potansiyeli ve pH etkisi

Pt/PEDOT-MWCNT-NFs/GOx enzim elektrodunun optimizasyon çalışmaları için çeşitli pH'larda (5.5 – 8) 0.1 M'lık fosfat tamponları hazırlanmıştır. 0.6 V sabit potansiyelde 0.5 mM derişimindeki glukozun ilavesiyle meydana gelen akım değişiklikleri ölçülmüş ve pH'a karşı ΔI grafiğine geçirilmiştir. Şekil 4.41.a'daki grafikten görüleceği gibi optimum pH 7.5 olarak bulunmuştur.

Optimum çalışma potansiyelini bulmak için, 0.55 – 0.75 V arasında, 0.5 mM derişimindeki glukozun ilavesiyle meydana gelen akım değişiklikleri, potansiyele karşı ΔI grafiğine (Şekil 4.41.b) geçirilmiştir. H_2O_2 için en yüksek akım değerinin ölçüldüğü 0.65 V bundan sonraki çalışmalarda uygulama potansiyeli olarak belirlenmiştir. Optimum pH ve çalışma potansiyeli çalışmalarında; Pt/PEDOT-MWCNT-NFs/GOx-2 (92.5 U GOx) elektrodu kullanılmıştır.Hazırlanan Pt/PEDOT-MWCNT-NFs/GOx elektrotları için optimum pH ve optimum çalışma potansiyeli belirlendikten sonra, kronoamperometrik çalışmalar yapılmıştır.

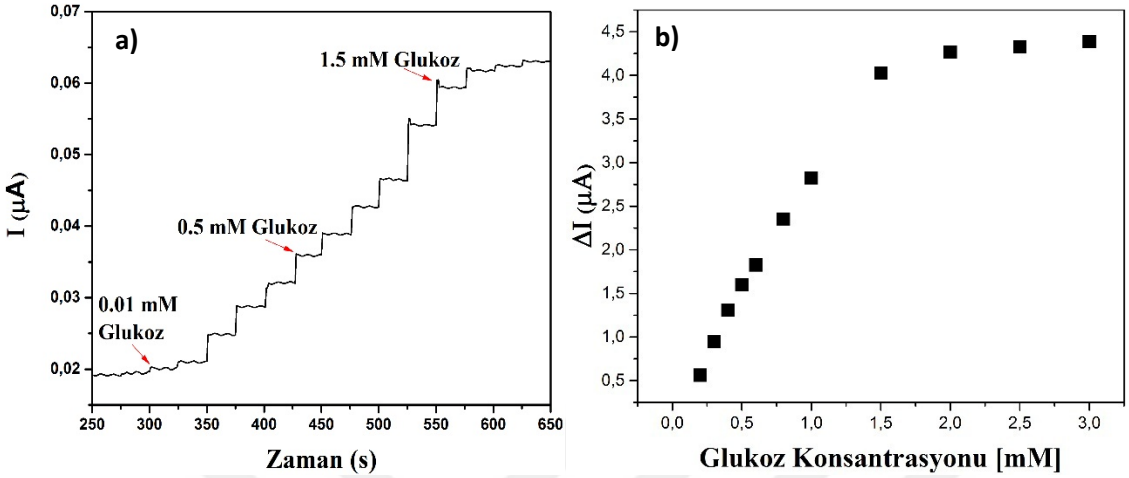


Şekil 4.41. Pt/PEDOT-MWCNT-NFs/GOx enzim biyosensörü için akım farkına karşı **a)** pH ve **b)** potansiyel grafiği

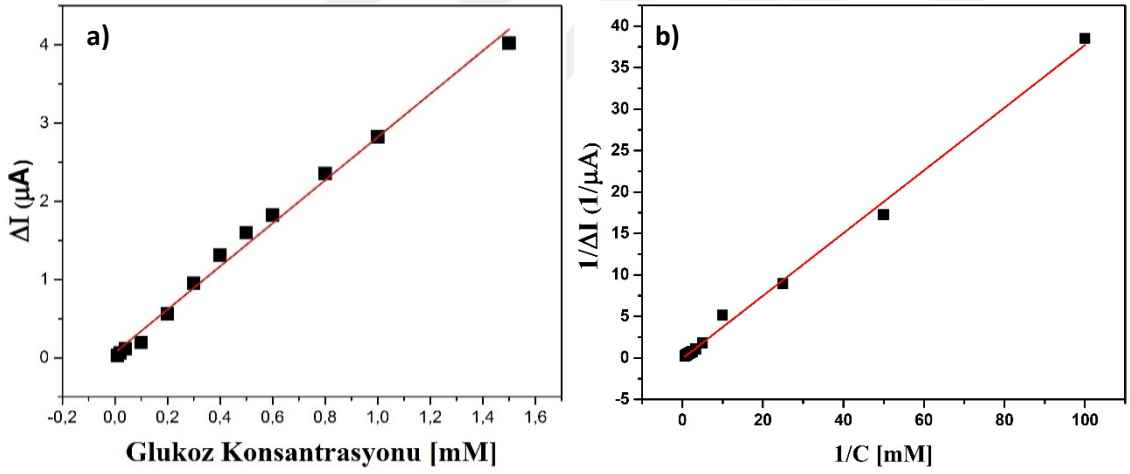
Pt/PEDOT-MWCNT-NFs/GOx-1 biyosensörü ile ilgilikronoamperometrik bulgular

Amperometrik analiz sonucu biyosensörün 0.01 mM – 1.5 mM aralığında [$y=2.7570x+0.0628$ ($R^2=0.9917$)] akım-substrat miktarı arasında doğrusal ilişki olduğu (Şekil 4.42), LOD'un ise 0.00613 mM (6.13 μM) olduğu bulunmuştur. Biyosensörün

duyarlılığı 87.8 µA/mM.cm^2 olarak bulunmuştur.Şekil 4.43, Pt/PEDOT-MWCNT-NFs/GOx-1 enzim elektrodunun kalibrasyon grafiğini (Şekil 4.43.a) ve Lineweaver Burk grafiğini (Şekil 4.43.b) göstermektedir. Biyosensör için K_m ve I_{max} değerleri sırasıyla 2.64 mM ve 7.6 µA olarak bulunmuştur.



Şekil 4.42. a) Pt/PEDOT-MWCNT-NFs/GOx-1 için 0.01-3 mM arası akım – zaman grafiği ve **b)** gözlenen akım fark değerlerinin glukoz derişimi ile değişimi (0.65 V; pH=7.5; 0.1 M fosfat tamponu, oda sıcaklığı)



Şekil 4.43. a) Pt/PEDOT-MWCNT-NFs/GOx-1 enzim elektrodunun kalibrasyon grafiği ve **b)** Lineweaver-Burk eğrisi (0.10 M pH 7.5 fosfat tamponu, 0.65 V, oda sıcaklığı)

Yapılan çalışmalar sonucunda, Pt/PEDOT-MWCNT-NFs/GOx-1 biyosensörünün, aynı miktarda GOx içeren, ancak MWCNT içermeyen Pt/PEDOT-NFs/GOx-1 biyosensörine göre daha dar derişim aralığında doğrusal değişim gösterdiği ve daha düşük LOD'a sahip olduğu bulunmuştur (Çizelge 4.7).

MWCNT kullanımının sensör duyarlılığı üzerine etkisinin daha net değerlendirilebilmesi için aynı enzim miktarına sahip MWCNT'li ve MWCNT'siz

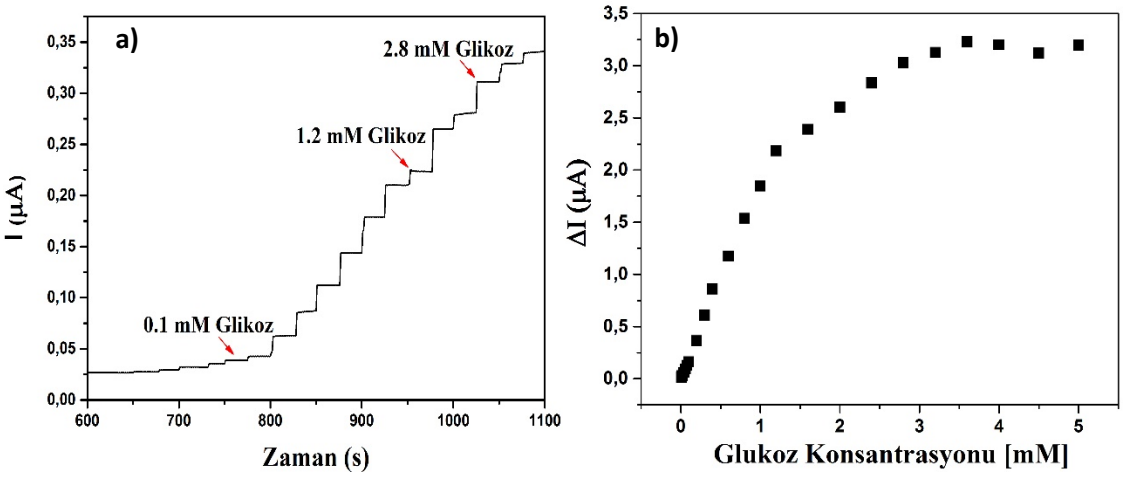
PEDOT tabanlı glukoz biyosensörleri karşılaştırılırken her iki biyosensörde aynı lineer aralıkta tekrar değerlendirilmiştir. Aynı lineer aralık için yeniden hesaplanan LOD değerleri karşılaştırıldığında, MWCNT içeren sensörün daha duyarlı olduğu ve tepki süresine etki etmediği gözlenmiştir.

Çizelge 4.7. Pt/PEDOT-NFs/GOx-1 ve Pt/PEDOT-MWCNT-NFs/GOx-1 biyosensörlerinin karşılaştırılması

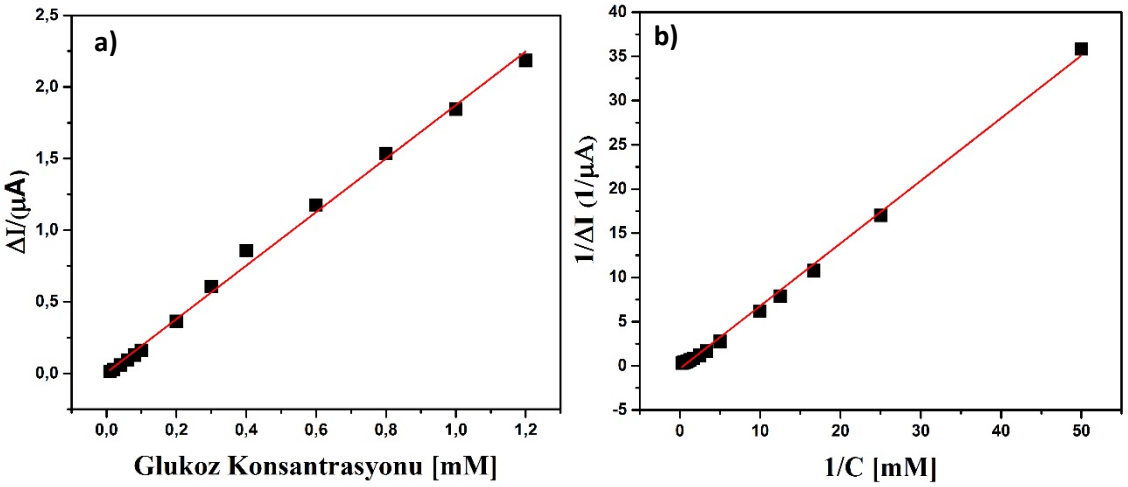
0.01 mM – 1.5 mM aralığında	**Pt/PEDOT-NFs/GOx-1**	**Pt/PEDOT-MWCNT-NFs/GOx-1**
Duyarlılık (μA/mM.cm^2)	52.97	87.8
LOD (μA)	7.2	6.13
K_m (mM)	2.1	2.64
I_{max} (μA)	3.97	7.6
Cevap süresi (s)	1-2	1-2

Pt/PEDOT-MWCNT-NFs/GOx-2 biyosensörü ile ilgili kronoamperometrik bulgular

Amperometrik analiz sonucu biyosensörün 0.01-3.75 mM arasındaki akım – zamangrafiği ve akım değerlerinin glukoz derişimi ile değişimi Şekil 4.44'te gösterilmiştir.0.01 mM – 1.2 mM aralığında [y=1.8682x+0.0628 (R^2=0.00468)] doğrusal olduğu (Şekil 4.45.a), duyarlılığın 92.94 μA/mM.cm^2, LOD'un ise 0.00775 mM (7.75 μM) olduğu bulunmuştur.

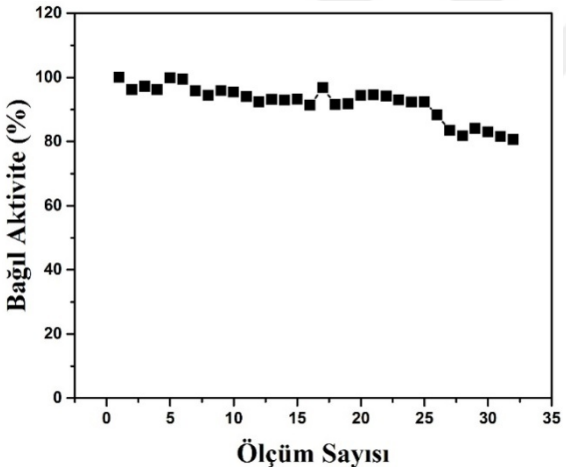


Şekil 4.44. a) Pt/PEDOT-MWCNT-NFs/GOx-2 için 0.01-3.75 mM arası akım – zaman grafiği ve **b)** gözlenen akım fark değerlerinin glukoz derişimi ile değişimi (0.65 V; pH=7.5; 0.1 M fosfat tamponu, oda sıcaklığı)



Şekil 4.45. a) Pt/PEDOT-MWCNT-NFs/GOx-2 enzim elektrodunun kalibrasyon grafiği ve **b)** Lineweaver-Burk eğrisi (0.10 M pH 7.5 fosfat tamponu, 0.65 V, oda sıcaklığı)

Şekil 4.45, Pt/PEDOT-MWCNT-NFs/GOx-2 enzim elektrodunun kalibrasyon grafiğini (Şekil 4.45.a) ve Lineweaver Burk grafiğini (Şekil 4.45.b) verir. Biyosensör için K_m ve I_{max} değerleri sırasıyla 2.21 mM ve 3.12 µA olarak bulunmuştur.



Şekil 4.46. Pt/PEDOT-MWCNT-NFs/GOx-2'nin art arda kullanılabilirliği

Pt/PEDOT-MWCNT-NFs/GOx-2 enzim elektrotlarının kullanım kararlılığının değerlendirilmesi için oda koşullarında, bir gün içerisinde 0.5 mM glukoz ilavesiyle arka arkaya yapılan ölçümler sonucunda standart sapma ±0.0310 ve varyasyon katsayısı(CV) % 2.61 (n=32) olarak hesaplanmıştır. Pt/PEDOT-MWCNT-NFs/GOx-2elektrodunu 32. kullanımda % 80.6 aktivite gösterdiği bulunmuştur (Şekil 4.46).

Yapılan çalışmalar sonucunda, Pt/PEDOT-MWCNT-NFs/GOx-2 biyosensörünün, aynı miktarda GOx içeren ancak MWCNT içermeyen Pt/PEDOT-

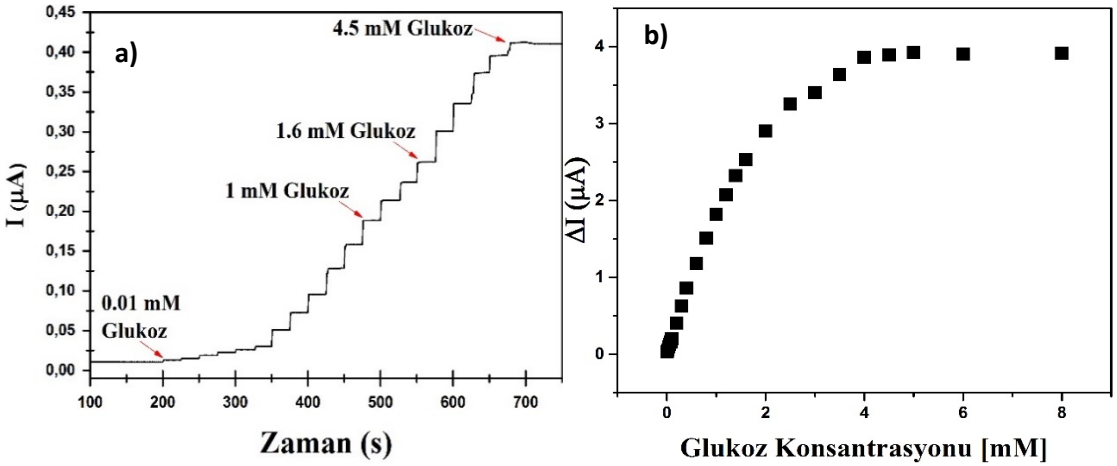
NFs/GOx-2 biyosensöri ile benzerhassasiyet gösterdiği ve daha düşük LOD'a sahip olduğu bulunmuştur (Çizelge 4.8). Aynı enzim miktarına sahip MWCNT'li ve MWCNT'siz PEDOT tabanlı glukoz biyosensörleri karşılaştırılırken her iki biyosensör için de aynı lineer aralıktaki değerlendirmeler yapılmıştır.

Çizelge 4.8. Pt/PEDOT-NFs/GOx-2 ve Pt/PEDOT-MWCNT-NFs/GOx-2 biyosensörlerinin karşılaştırılması

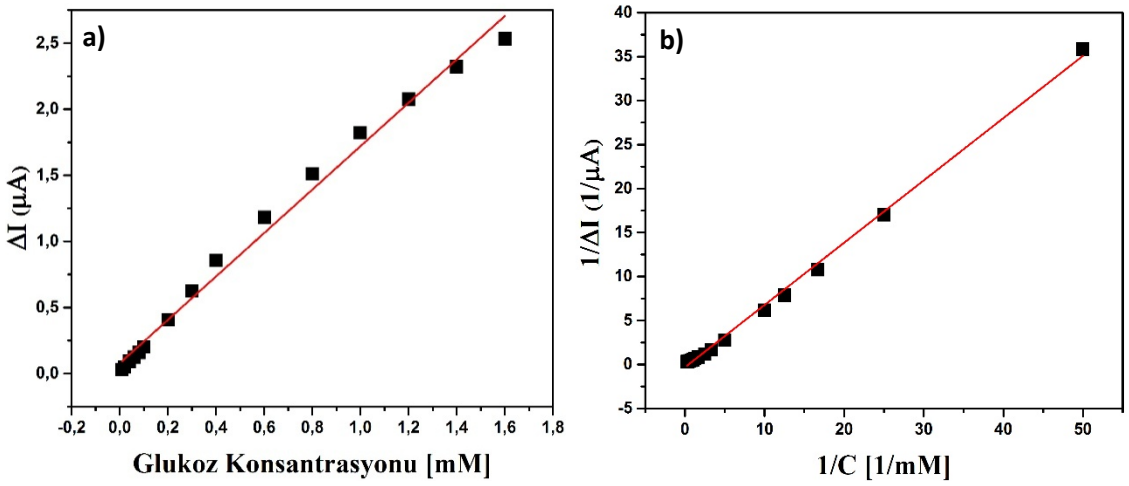
0.01 mM – 1.2 mM aralığında	**Pt/PEDOT-NFs/GOx-2**	**Pt/PEDOT-MWCNT-NFs/GOx-2**
Duyarlılık (µA/mM.cm^2)	90.54	92.94
LOD (µM)	9.6	7.75
K_m (mM)	1.01	2.21
I_{max} (µA)	2.97	3.12
Cevap süresi (s)	2-3	2-3

Pt/PEDOT-MWCNT-NFs/GOx-3 biyosensörü ile ilgili kronoamperometrik bulgular

Amperometrik analiz sonucu biyosensörün 0.01-8 mM arasındaki akım – zamangrafiği ve akım değerlerinin glukoz derişimi ile değişimi Şekil 4.47'de gösterilmiştir.Amperometrik analiz sonucu biyosensörün 0.01 mM – 1.6 mM lineer aralığında [y=1.6421x+0.07764 (R^2=0.9899)] akım-substrat miktarı arasında doğrusal ilişki olduğu (Şekil 4.48.a) tespit sınırının ise 0.0023 mM (2.3 µM) olduğu bulunmuştur. Biyosensörün duyarlılığı 0.01 mM – 1.6 mM için 81.7 µA/mM.cm^2 olarak bulunmuştur.K_m ve I_{max}değerlerini bulmak için Şekil 4.48.b'deki grafik kullanılmıştır.K_m ve I_{max} değerleri sırasıyla 1.12 mM ve 2.73 µA olarak bulunmuştur.



Şekil 4.47. a) Pt/PEDOT-MWCNT-NFs/GOx-3 için 0.01-8 mM arası akım – zaman grafiği ve **b)** gözlenen akım fark değerlerinin glukoz derişimi ile değişimi (0.65 V; pH=7.5; 0.1 M fosfat tamponu, oda sıcaklığı)



Şekil 4.48. a) Pt/PEDOT-MWCNT-NFs/GOx-3 enzim elektrodunun kalibrasyon grafiği ve **b)** Lineweaver-Burk eğrisi (0.10 M pH 7.5 fosfat tamponu, 0.65 V, oda sıcaklığı)

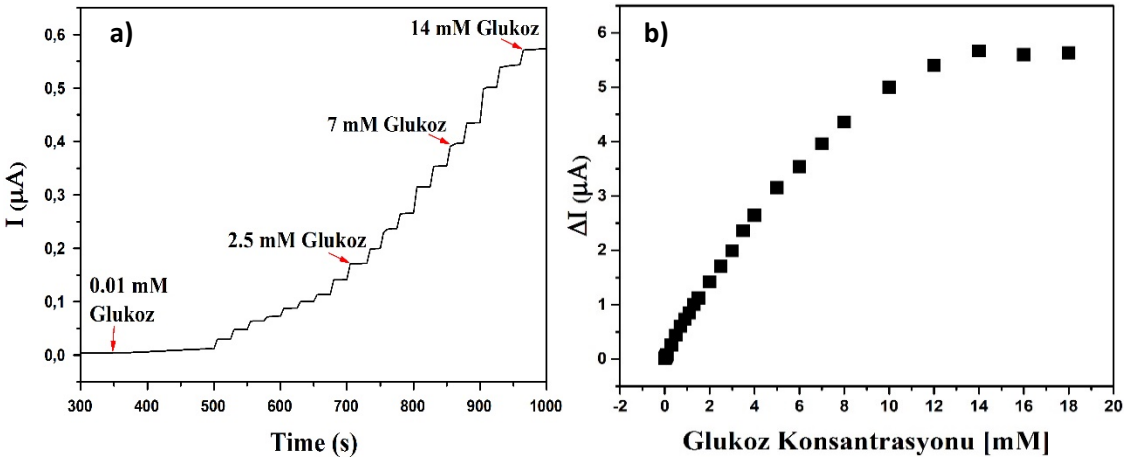
MWCNT kullanımının sensör duyarlılığı üzerine etkisinin daha net değerlendirilebilmesi için aynı enzim miktarına sahip Pt/PEDOT-MWCNT-NFs/GOx-3 ve MWCNT'siz Pt/PEDOT-NFs/GOx-3 tabanlı glukoz biyosensörleri karşılaştırılırken her iki biyosensörde aynı lineer aralıkta tekrar değerlendirilmiştir. Yeniden hesaplanan LOD değerleri karşılaştırıldığında, MWCNT içeren sensörün daha düşük LOD'a sahip olduğu bulunmuştur (Çizelge 4.9).

Çizelge 4.9. Pt/PEDOT-NFs/GOx-3 ve Pt/PEDOT-MWCNT-NFs/GOx-3 biyosensörlerinin karşılaştırılması

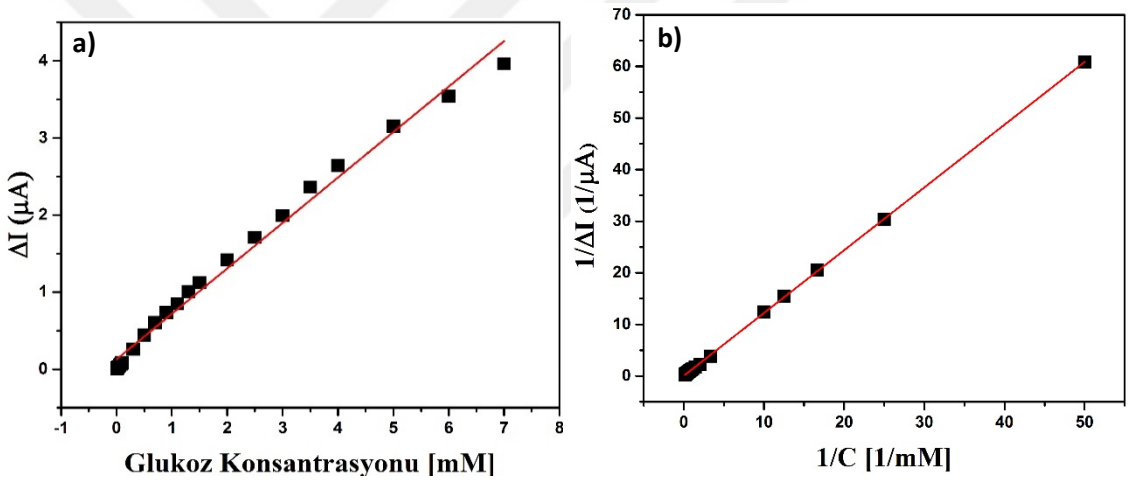
0.01 mM – 1.6 mM aralığında	**Pt/PEDOT-NFs/GOx-3**	**Pt/PEDOT-MWCNT-NFs/GOx-3**
Duyarlılık(μA/mM.cm^2)	76.00	81.7
LOD(μA)	2.9	2.3
K_m (mM)	0.59	1.12
I_{max} (μA)	2.14	2.73
Cevap süresi (s)	2-3	2-3

Pt/PEDOT-MWCNT-NFs/GOx-5 biyosensörü ile ilgili kronoamperometrik bulgular

Amperometrik analiz sonucu biyosensörün 0.01-18 mM arasındaki akım – zamangrafiği ve akım değerlerinin glukoz derişimi ile değişimi Şekil 4.49'da gösterilmiştir. Amperometrik analiz sonucu biyosensörün 0.01 mM – 7 mM lineer aralığında [y=0.5897x+0.1271 (R^2=0.9894)] akım-substrat miktarı arasında doğrusal ilişki olduğu (Şekil 4.50.a) LOD'un ise 0.00428 mM (4.28 μM) olduğu bulunmuştur. Biyosensörün duyarlılığı 0.01 mM – 7 mM için 29.8 μA/mM.cm^2 olarak bulunmuştur.



Şekil 4.49. a) Pt/PEDOT-MWCNT-NFs/GOx-5 için 0.01-18 mM arası akım – zaman grafiği ve **b)** gözlenen akım fark değerlerinin glukoz derişimi ile değişimi (0.65 V; pH=7.5; 0.1 M fosfat tamponu, oda sıcaklığı)



Şekil 4.50. a) Pt/PEDOT-MWCNT-NFs/GOx-5 enzim elektrodunun kalibrasyon grafiği ve **b)** Lineweaver-Burk eğrisi (0.10 M pH 7.5 fosfat tamponu, 0.65 V, oda sıcaklığı)

Şekil 4.50, Pt/PEDOT-MWCNT-NFs/GOx-5 enzim elektrodunun Lineweaver Burk eğrisi (Şekil 4.50.b) çizilerek hesaplanan için K_m ve I_{max} değerleri sırasıyla 22.52 mM ve 18.52 µA olarak bulunmuştur.

Çizelge 4.10'da üretilen tüm PEDOT-MWCNT-NFs/GOx biyosensörlerinin performansları gösterilmiştir. Biyosensörlerin duyarlılıkları 29.8 µA/mM.cm^2 'den 92.24 µA/mM.cm^2 'ye ve LOD değerleri 1.12 µM'dan 22.52 µM'a değişiklik göstermiştir. Bu çizelgeye göre Pt/PEDOT-MWCNT-NFs/GOx-2; düşük Km ve en yüksek duyarlılığı gösterdiği için en uygun enzim konsantrasyonunun GOx-2 olduğu düşünülmüştür. Bu nedenle, kararlılık çalışması yalnızca bu biyosensör için yapılmıştır.

Çizelge 4.10. PEDOT-MWCNT-NFs/GOx biyosensörlerinin analitik performansları

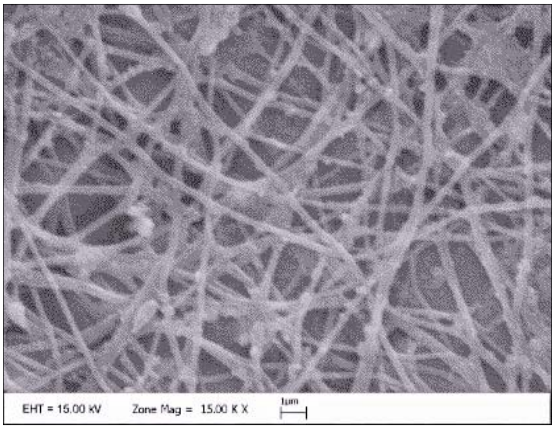
Biyosensör	Lineer Aralık (mM)	Duyarlılık ($\mu A/mM.cm^{-2}$)	LOD (µM)	Km (mM)
Pt/PEDOT-MWCNTs-NFs/GOx-1	0.01 – 1.5	87.8	6.3	2.64
Pt/PEDOT-MWCNTs-NFs/GOx-2	0.01 – 1.2	92.2	7.8	2.21
Pt/PEDOT-MWCNTs-NFs/GOx-3	0.01 – 1.6	81.7	2.3	1.12
Pt/PEDOT-MWCNTs-NFs/GOx-5	0.01 – 7,0	29.8	4.3	22.52

4.6. PEDOT Tabanlı Polifenol Biyosensörleri ile İlgili Bulgular

Pt/PEDOT-NFs elektrotları daha önceden belirlenen koşullarda hazırlanmış ve elektrot yüzeylerine PPO/tampon çözeltisinden farklı hacimlerde damlatılarak enzim immobilizasyonu gerçekleştirilmiştr. Hazırlanan polifenol biyosensörleri kronoamperometrik yöntemle katodik olarak incelenmiş ve farklı enzim birimleri içeren elektrotlar Pt/PEDOT-NFs/PPO-1 (67.175 U) , Pt/PEDOT-NFs/PPO-2 (134.35 U), Pt/PEDOT-NFs/PPO-3 (268.7 U) ve Pt/PEDOT-NFs/PPO-4 (403.1 U) olarak adlandırılmıştır.

4.6.1. Pt/PEDOT-NFs/PPO elektrotlarının morfolojik analizi

Hazırlanan Pt/PEDOT-NFs/PPO elektrotlarının enzim immobilizasyonu sonucu morfolojilerindeki ve lif çaplarındaki meydana gelen değişimi incelemek için, taramalı elektron mikroskobu (SEM) kullanılmıştır. 134.35 U PPO içeren PEDOT nanoliflerinin morfolojik analizleri yapılmıştır ve lif çapı ~511±8 nm ölçülmüştür (Şekil 4.51).

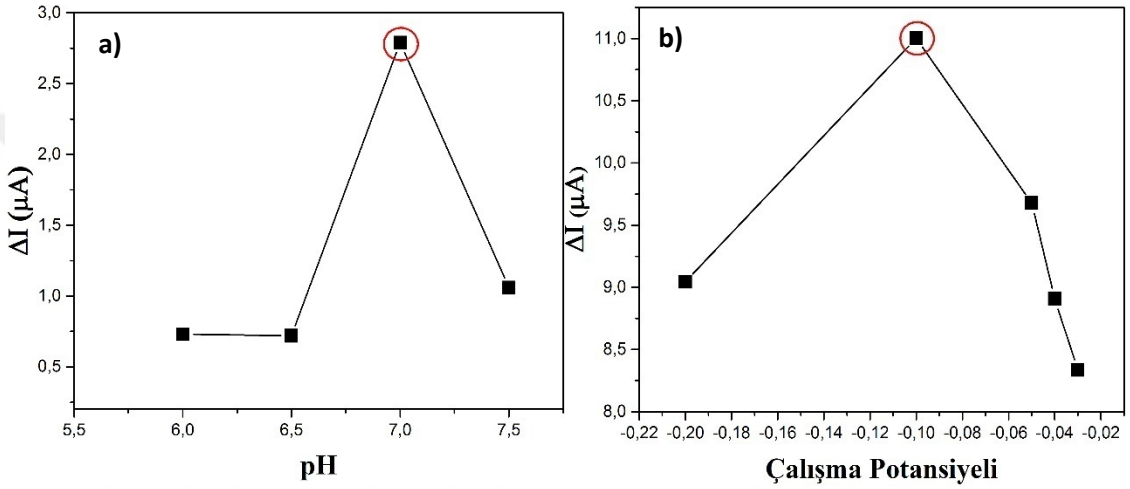


Şekil 4.51. Pt/PEDOT-NFs/PPO-2 nanoliflerine ait SEM görüntüsü (15000 kat büyütülmüş)

4.6.2. Çalışma potansiyeli ve pH etkisi

Optimum pH ve çalışma potansiyeli çalışmalarında, Pt/PEDOT-NFs/PPO-2 (134.35 U PPO) elektrodu kullanılmıştır ve optimum pH'ı bulmak için-0.2 V sabit potansiyel uygulanmıştır. 0.05 mM katekolun ilavesiyle kararlı haldeki akım değerleri ölçülmüş ve ΔI'e karşı pH grafiğine geçirilmiştir. Şekil 4.52.a'daki grafikten görüleceği gibi optimum pH 7 olarak bulunmuştur.

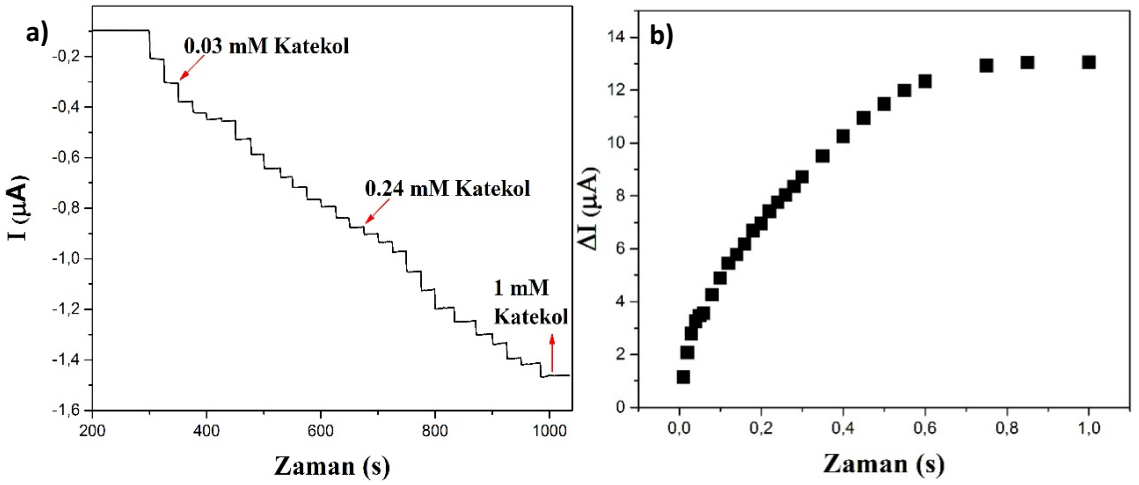
Optimum çalışma potansiyelini bulmak içinse, pH'ı 7 olan tampon çözelti kullanılmış ve farklı çalışma potasiyelleri altında -0.2 V ile -0.03 V ortama eklenen 0.05 mM katekole karşı ölçülen akım değerleri grafiğe geçirilmiştir.Optimum çalışma potansiyeli -0.1 V olarak belirlenmiştir (Şekil 4.52.b).



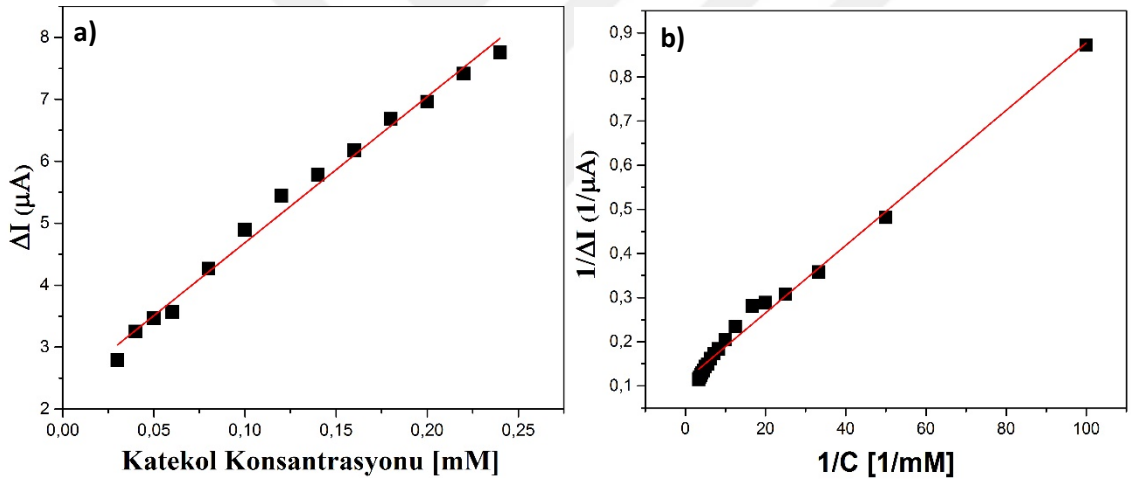
Şekil 4.52. Pt/PEDOT-NFs/PPO enzim biyosensörü için akım farkına karşı **a)** pH ve **b)** potansiyel grafiği

4.6.3. Pt/PEDOT-NFs/PPO-1 biyosensörü ile ilgili kronoamperometrik bulgular

Pt/PEDOT-NFs/PPO-1 biyosensörü için 0.01-1 mM arası akım – zaman grafiği ve gözlenen akım fark değerlerinin katekol derişimi ile değişimi Şekil 4.53'te gösterilmiştir.Amperometrik analiz sonucu biyosensörün 0.03 mM – 0.24 mM aralığında [y=23.55x+2.33 (R^2=0.989)] doğrusal olduğu (Şekil 4.54.a), duyarlılığın 1171.6 μA/mM.cm^2 ve LOD'un ise 0.0039 mM (3.9 μM) olduğu bulunmuştur.

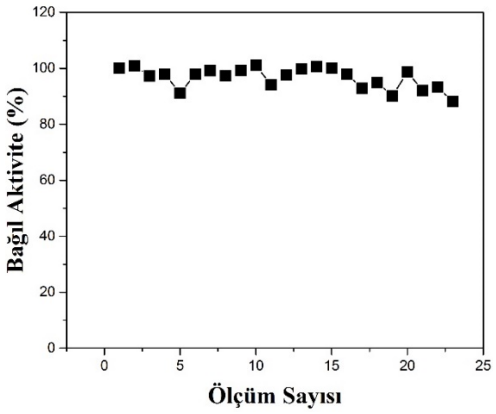


Şekil 4.53. a) Pt/PEDOT-NFs/PPO-1 için 0.01-1 mM arası akım – zaman grafiği ve **b)** gözlenen akım fark değerlerinin katekol derişimi ile değişimi (-0.1 V; pH=7; 0.1 M fosfat tamponu, oda sıcaklığı)



Şekil 4.54. a) Pt/PEDOT-NFs/PPO-1 enzim elektrodunun kalibrasyon grafiği ve **b)** Lineweaver-Burk eğrisi (0.10 M pH 7 fosfat tamponu, -0.1 V, oda sıcaklığı)

Şekil 4.54.b'de, Pt/PEDOT-NFs/PPO-1enzim elektrodunun Lineweaver Burk grafiği gösterilmiştir. Biyosensör için K_m ve I_{max} değerleri sırasıyla 0.068 mM ve 8.91 µA olarak bulunmuştur.

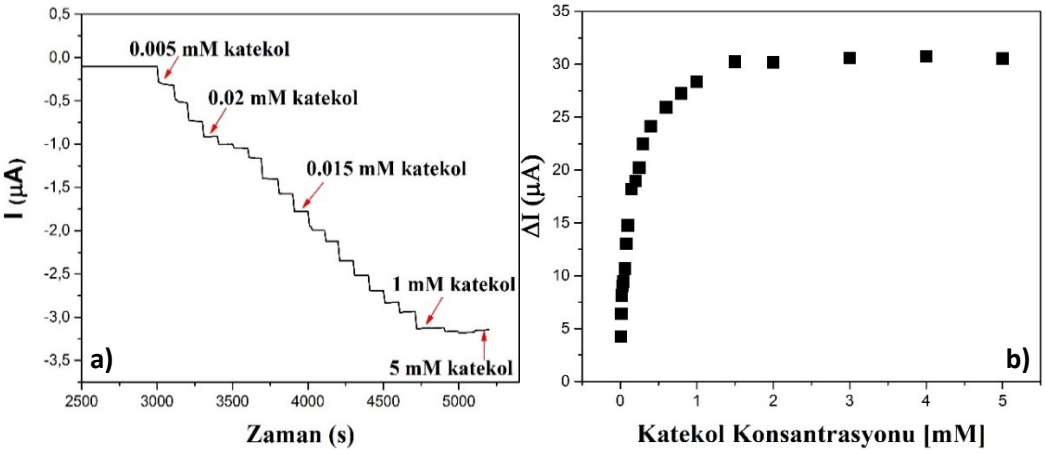


Şekil 4.55. Pt/PEDOT-NFs/PPO-1'in art arda kullanılabilirliği

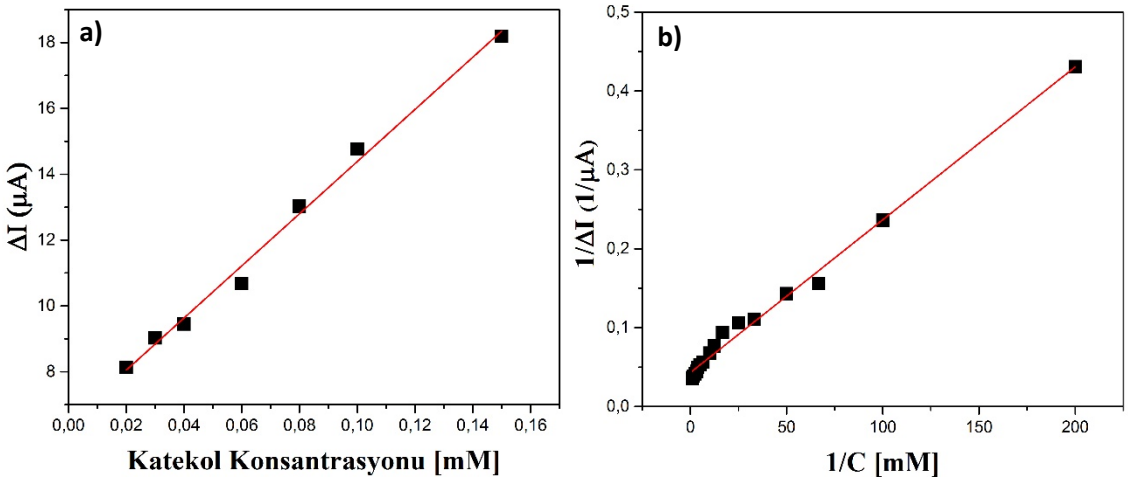
Pt/PEDOT-NFs/PPO-1enzim elektrotlarının kullanım kararlılığının değerlendirilmesi için oda koşullarında, bir gün içerisinde arka arkaya ölçümler yapılmıştır. Ölçümler sonucunda standart sapma ±0.0743 ve varyasyon katsayısı(CV) % 3.8 (n=23) olarak hesaplanmıştır. Pt/PEDOT-NFs/PPO-1elektrodunun 23. kullanımda % 88.15 aktivite gösterdiği bulunmuştur (Şekil 4.55).

4.6.4. Pt/PEDOT-NFs/PPO-2 biyosensörü ile ilgili kronoamperometrik bulgular

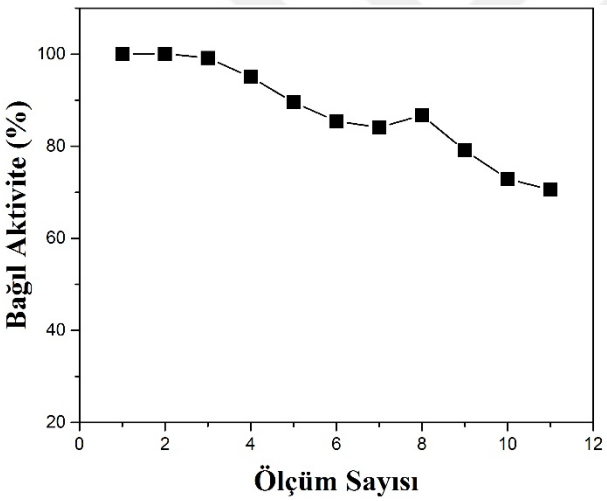
Pt/PEDOT-NFs/PPO-2 biyosensörü için 0.005-5 mM arası akım – zaman grafiği ve gözlenen akım fark değerlerinin katekol derişimi ile değişimi Şekil 4.56'da gösterilmiştir. Biyosensörün 0.02 mM – 0.15 mM aralığında [y=79.208x+6.463 (R^2=0.9911)] doğrusal olduğu (Şekil 4.57.a) tespit sınırının ise 0.0035 mM (3.5 µM) olduğu bulunmuştur. Biyosensörün duyarlılığı 0.02 mM – 0.15 mM için 3827.8 µA/mM.cm^2 olarak bulunmuştur.Şekil 4.57.b'deki grafikten hesaplanan, K_m ve I_{max} değerleri sırasıyla 0.044 mM ve 23.31 µA olarak bulunmuştur.



Şekil 4.56. a) Pt/PEDOT-NFs/PPO-2 için 0.005-5 mM arası akım – zaman grafiği **b)** gözlenen akım fark değerlerinin katekol derişimi ile değişimi (-0.1 V; pH=7; 0.1 M fosfat tamponu, oda sıcaklığı)



Şekil 4.57. a) Pt/PEDOT-NFs/PPO-2 enzim elektrodunun kalibrasyon grafiği ve **b)** Lineweaver-Burk eğrisi (0.10 M pH 7 fosfat tamponu, -0.1 V, oda sıcaklığı)



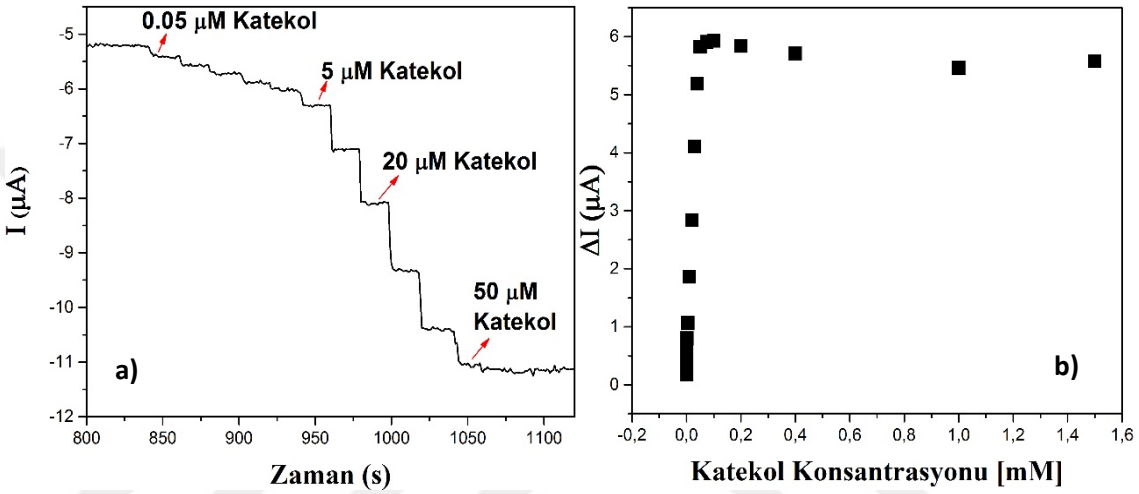
Şekil 4.58. Pt/PEDOT-NFs/PPO-2 enzim elektrodu ile art arda kullanılabilirliği

Pt/PEDOT-NFs/PPO-2enzim elektrotlarının kullanım kararlılığının değerlendirilmesi için oda koşullarında, bir gün içerisinde arka arkaya 15 ölçüm yapılmıştır. Alınan ölçümler sonucunda standart sapma ±1.858 ve varyasyon katsayısı(CV) % 11.42 (n=11) olarak hesaplanmıştır. Pt/PEDOT-NFs/PPO-1elektrodunun 11. kullanımda % 70.54 aktivite gösterdiği bulunmuştur (Şekil 4.58).

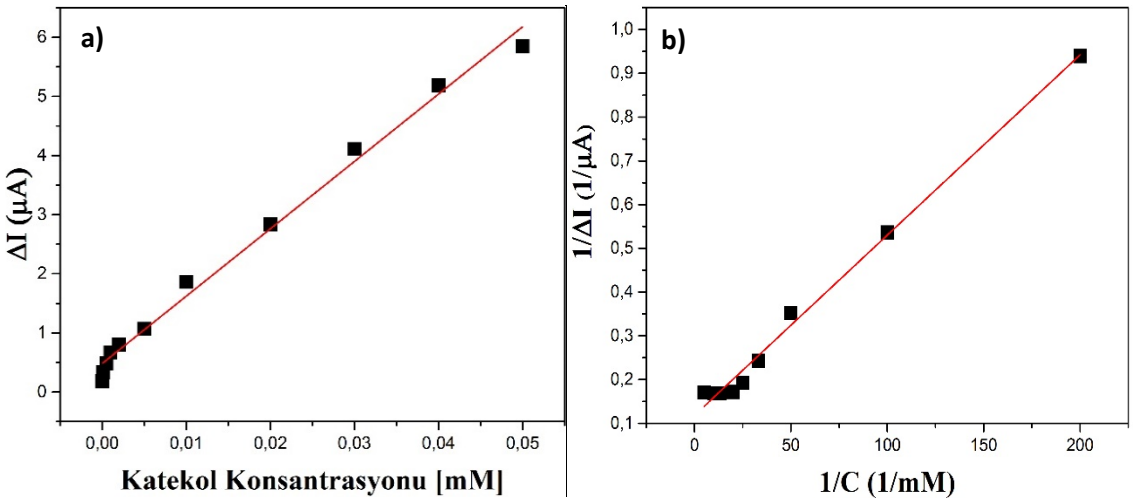
Literatürdeki PEDOT tabanlı polifenol biyosensör çalışmaları incelendiğinde çok daha düşük derişim aralıklarında da (0.1 µM - 50 µM arasında) çalışmaların olduğu [Vedrine vd (2003), Lupu vd (2013), Sethuraman vd. (2015), Albayati vd. (2019), Serafin vd. (2011), Nambiar vd. (2013),] ve immobilize edilen PPO enzim miktarının genellikle 100 U – 170 U arasında değiştiği görülmüştür [Vedrine vd. (2003), Wang vd. (2009), Mayorga vd. (2013), Vicentini vd. (2015), Apetrei vd. (2011)]. Bu nedenle 134.35 U PPO

içeren Pt/PEDOT-NFs/PPO-2 biyosensörünün analitik performansının tam olarak değerlendirilebilmesi için daha düşük derişim aralığında çalışılması amaçlanmış ve tespit sınırı, duyarlılık, kararlılık, girişim etkisi, gerçek numune analizi ve raf ömrü gibi çalışmaları yapılmıştır.

Pt/PEDOT-NFs/PPO-2 biyosensörü için 0.05 µM -1.5 mM arası akım – zaman grafiği ve gözlenen akım fark değerlerinin katekol derişimi ile değişimi Şekil 4.59'da gösterilmiştir. Amperometrik analiz sonucu biyosensörün 0.05 µM – 50 µM aralığında [y=113.92x+0.48187 (R^2=0.9902)] akım-substrat miktarı arasında doğrusal ilişki olduğu (Şekil 4.60.a), duyarlılığın 5667.6 µA/mM.cm^2 ve tespit sınırının ise 0.000188 mM (0.188 µM) olduğu bulunmuştur.

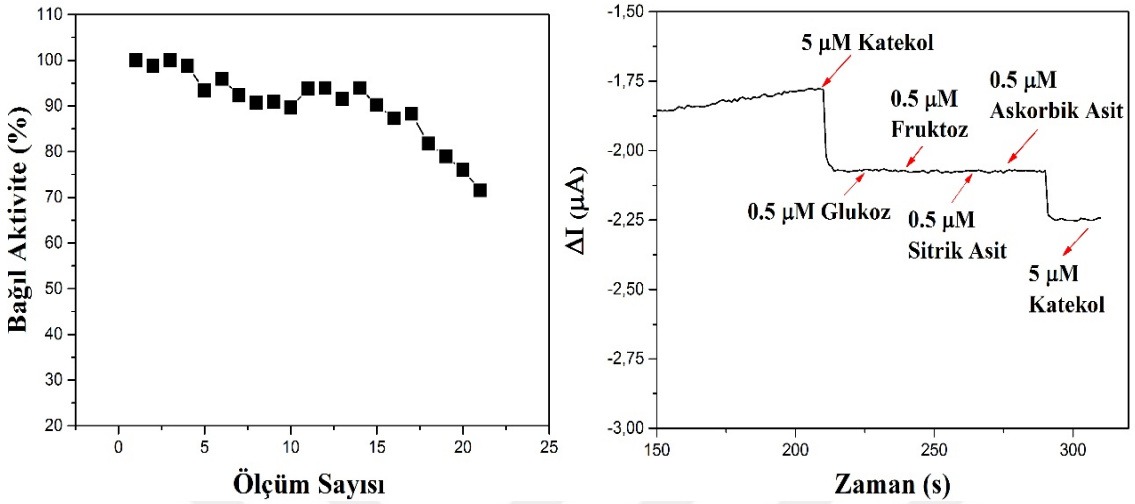


Şekil 4.59. a) Pt/PEDOT-NFs/PPO-2 için 0.05 µM -1.5 mM arası akım – zaman grafiği ve **b)** gözlenen akım fark değerlerinin katekol derişimi ile değişimi (-0.1 V; pH=7; 0.1 M fosfat tamponu, oda sıcaklığı)



Şekil 4.60. a) Pt/PEDOT-NFs/PPO-2 enzim elektrodunun kalibrasyon grafiği ve **b)** Lineweaver-Burk eğrisi (0.10 M pH 7 fosfat tamponu, -0.1 V, oda sıcaklığı)

Pt/PEDOT-NFs/PPO-2enzim elektrodunun Lineweaver-Burk eğrisi (Şekil 4.60.b) gösterilmiştir. Biyosensör için K_m ve I_{max} değerleri sırasıyla 0.035 mM ve 8.46 µA olarak bulunmuştur.



Şekil 4.61. a) Pt/PEDOT-NFs/PPO-2 enzim elektrodu ile art arda kullanılabilirlik grafiği ve **b)** girişim etkisi grafiği

Pt/PEDOT-NFs/PPO-2 enzim elektrotlarının 21. kullanımda % 71.6 aktivite gösterdiği, standart sapmanın ±0.0444 ve varyasyon katsayısının (CV) % 8.33 (n=21) olduğu bulunmuştur(Şekil 4.61.a).

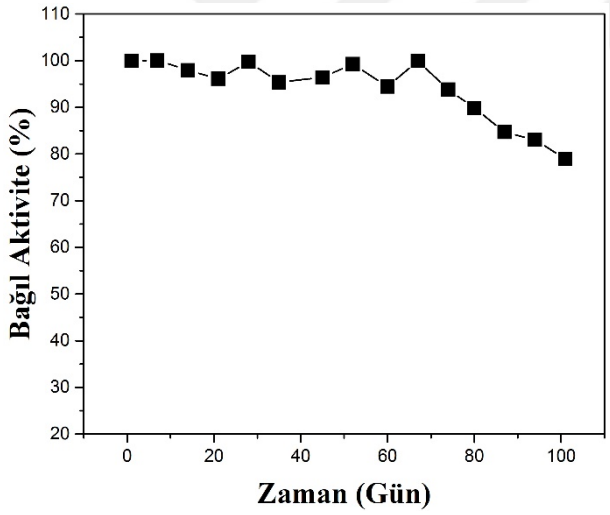
Biyosensörün katekoldan başka maddelere verdiği tepkinin değerlendirilmesi için, girişim etkisi çalışması yapılmıştır. 5 M'lık katekol, 0.5 M'lık glukoz, fruktoz, sitrik asit ve askorbik asit çözeltileri hazırlanmış ve sırasıyla elektrokimyasal hücreye eklenmiştir. İnterferant çözeltileri katekol derişiminin 10'da biri oranında hazırlanmıştır. Bu çözeltilerin seyreltik kullanılmalarının sebebi, biyolojik çevrelerde katekolun daha fazla miktarda bulunmasıdır (Thota ve Ganesh 2014). Şekil 4.61.b incelendiğinde katekol biyosensörünün, glukoz, fruktoz, sitrik asit ve askorbik asit gibi maddeler varlığında bile katekola karşı seçici davrandığı tespit edilmiştir Katekolun iyi tanımlanmış sinyali ile diğer maddelerin girişimleri karşılaştırıldığında, girişimlerin önemsiz olduğu görülmüştür. Bu sonuç, interferent bakımından zengin ortamlarda bile PEDOT nanolif tabanlı biyosensörlerin yüksek seçiciliğe sahip olduğunu göstermiştir.

Pt/PEDOT-NFs/PPO-2biyosensörünün girişim etkisi çalışmasından sonra şebeke suyunda ve endsüstriyel suda katekol ve fenol miktarının tayini için gerçek numune analizi çalışması yapılmıştır. Bunun için şebeke suyu ve organize sanayi bölgesinden alınan endüstriyel şebeke suyunda 0.1 µM'lık katekol ve fenol çözeltileri hazırlanmıştır. Derişimi bilinen miktarda bu çözeltilerden alınarak tampon çözeltiye eklenmiş ve ölçülen amperometrik cevap akımlarına denk gelen derişim değerleri, kalibrasyon grafiğinden elde edilen denklemler kullanılarak hesaplanmıştır. Çizelge 4.11'de yer alan Pt/PEDOT-NFs/PPO-2biyosensörünün şebeke sularındaki teorik katekol ve fenol tayini sonuçları ile deneysel sonuçları (referans sonuçlar) birbiri ile tutarlı çıkmıştır.

Çizelge 4.11. Pt/PEDOT-NFs/PPO-2 biyosensörünün şebeke sularındaki katekol ve fenol tayini sonuçları

Örnek	Analit türü	Teorik Konsantrasyon (µM)	Deneysel Konsantrasyon (µM)	Geri Kazanım (%)
Şebeke (çeşme) suyu	Katekol	50	49.89	99.78
Endüstriyel şebeke suyu	Katekol	50	50.13	100.26
Şebeke (çeşme) suyu	Fenol	50	50.27	100.54
Endüstriyel şebeke suyu	Fenol	50	51.24	102.48

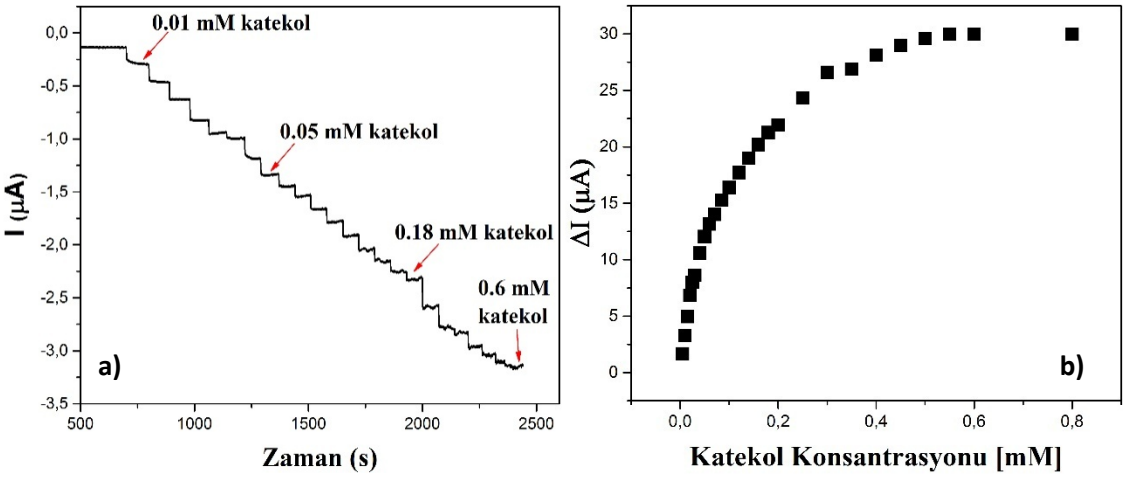
Pt/PEDOT-NFs/PPO-2biyosensörünün raf ömrü tayini için -0.1 V sabit potansiyelde 10 µM katekol ilavesi ile aktiviteler haftada bir kontrol edilmiş ve 101 gün boyunca aktivitelerinin kontrolüne devam edilmiştir. Şekil 4.62 incelendiğinde 74.gün sonunda başlangıç aktivitesinin % 90 oranında biyosensörün cevap verdiğini ve 101.gün (~15. hafta) sonunda ise % 78.94 aktivite gösterdiği belirlenmiştir.



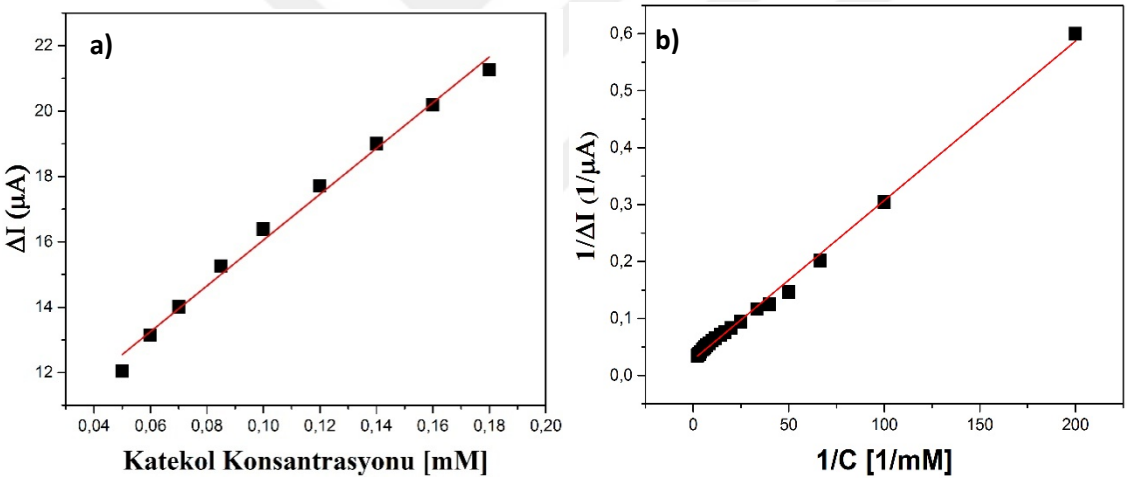
Şekil 4.62. Pt/PEDOT-NFs/PPO-2 enzim elektrodunun raf ömrü grafiği (0.10 M pH 7 fosfat tamponu, -0.1 V, oda sıcaklığı)

4.6.5. Pt/PEDOT-NFs/PPO-3 biyosensörü ile ilgili kronoamperometrik bulgular

Pt/PEDOT-NFs/PPO-3 biyosensörü için 0.01-0.6 mM arası akım – zaman grafiği ve gözlenen akım fark değerlerinin katekol derişimi ile değişimi Şekil 4.63'te gösterilmiştir. Biyosensörün 0.05 mM – 0.18 mM aralığında [y=70.03x+9.049 (R^2=0.9902)] (Şekil 4.64.a), LOD'un 0.0037 mM (3.7 µM) ve duyarlılığın 3484.1 µA/mM.cm^2 olduğu bulunmuştur.



Şekil 4.63. a) Pt/PEDOT-NFs/PPO-3 için 0.01-0.6 mM arası akım – zaman grafiği ve **b)** gözlenen akım fark değerlerinin katekol derişimi ile değişimi (-0.1 V; pH=7; 0.1 M fosfat tamponu, oda sıcaklığı)



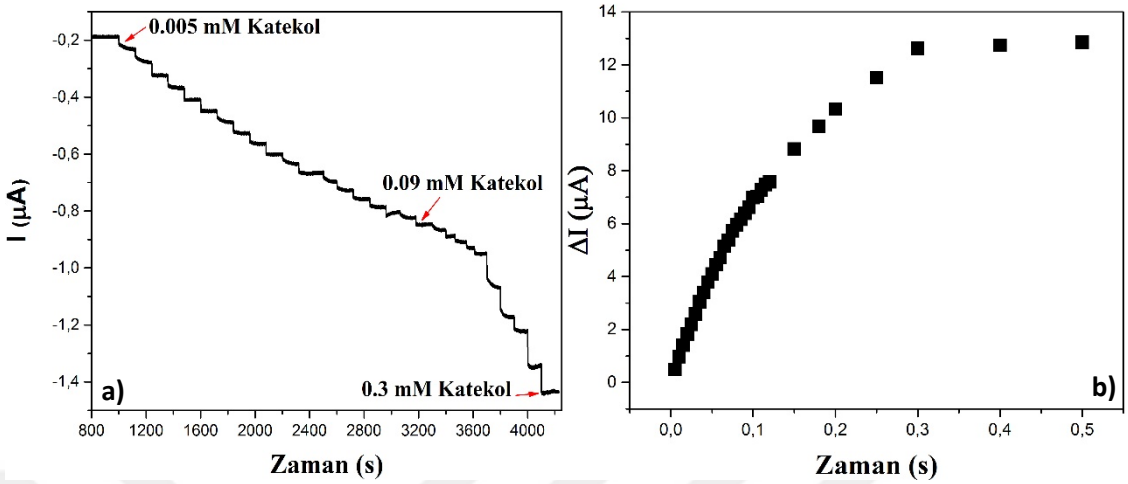
Şekil 4.64. a) Pt/PEDOT-NFs/PPO-3 enzim elektrodunun kalibrasyon grafiği ve **b)** Lineweaver-Burk eğrisi (0.10 M pH 7 fosfat tamponu, -0.1 V, oda sıcaklığı)

Şekil 4.64.b'de, Pt/PEDOT-NFs/PPO-3enzim elektrodunun Lineweaver-Burk eğrisi gösterilmiştir.Hazırlanan biyosensör için K_m ve I_{max} değerleri sırasıyla 0.102 mM ve 36.3 µA olarak bulunmuştur.

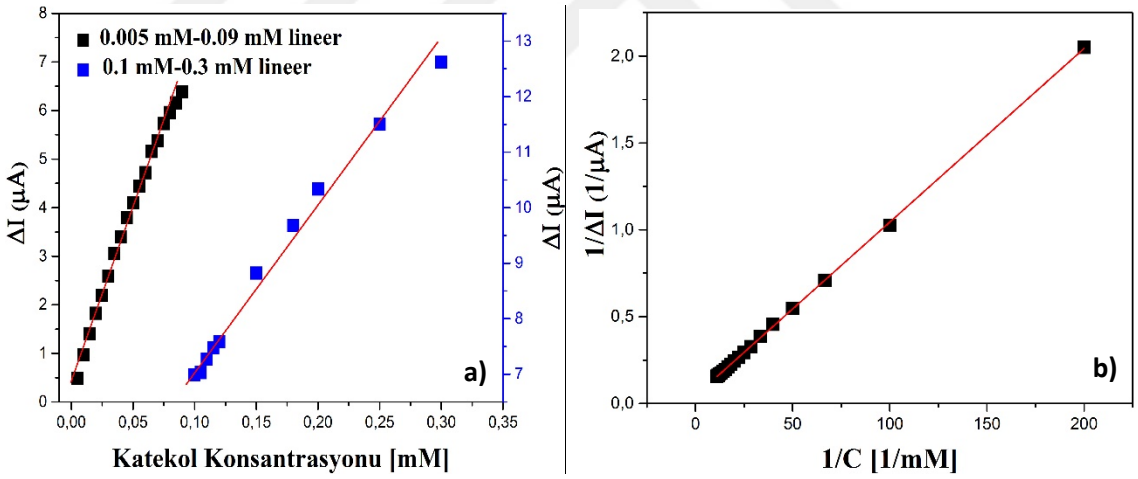
4.6.6. Pt/PEDOT-NFs/PPO-4 biyosensörü ile ilgili kronoamperometrik bulgular

Pt/PEDOT-NFs/PPO-4 biyosensörü için 0.05 mM-0.5 mMarası akım – zaman grafiği ve gözlenen akım fark değerlerinin katekol derişimi ile değişimi Şekil 4.65'te gösterilmiştir. Biyosensörün 0.005 mM – 0.09 mM aralığında [y=69.87x+0.444 (R^2=0.997)] ve 0.1 mM – 0.3 mM aralığında [y=29.31x+4.151 (R^2=0.987)] doğrusal olduğu (Şekil 4.66.a) ve LOD'un ise 0.0256 mM (25.6 µM) olduğu bulunmuştur.

Biyosensörün duyarlılığı 0.005 mM – 0.09 mM için 3476.12 µA/mM.cm^2 ve 0.1 mM – 0.3 mM için 1458.2 µA/mM.cm^2 olarak bulunmuştur.



Şekil 4.65. a) Pt/PEDOT-NFs/PPO-4 için 0.05-0.5 mM arası akım – zaman grafiği ve **b)** gözlenen akım fark değerlerinin katekol derişimi ile değişimi (-0.1 V; pH=7; 0.1 M fosfat tamponu, oda sıcaklığı)



Şekil 4.66. a) Pt/PEDOT-NFs/PPO-4 enzim elektrodunun kalibrasyon grafiği ve **b)** Lineweaver-Burk eğrisi (0.10 M pH 7 fosfat tamponu, -0.1 V, oda sıcaklığı)

Şekil 4.66.b'deki, Lineweaver-Burk grafiğinden K_m ve I_{max} değerleri sırasıyla 0.023 mM ve 2.3 µA olarak bulunmuştur.

4.7. PEDOT-MWCNT Tabanlı Polifenol Biyosensörleri ile İlgili Bulgular

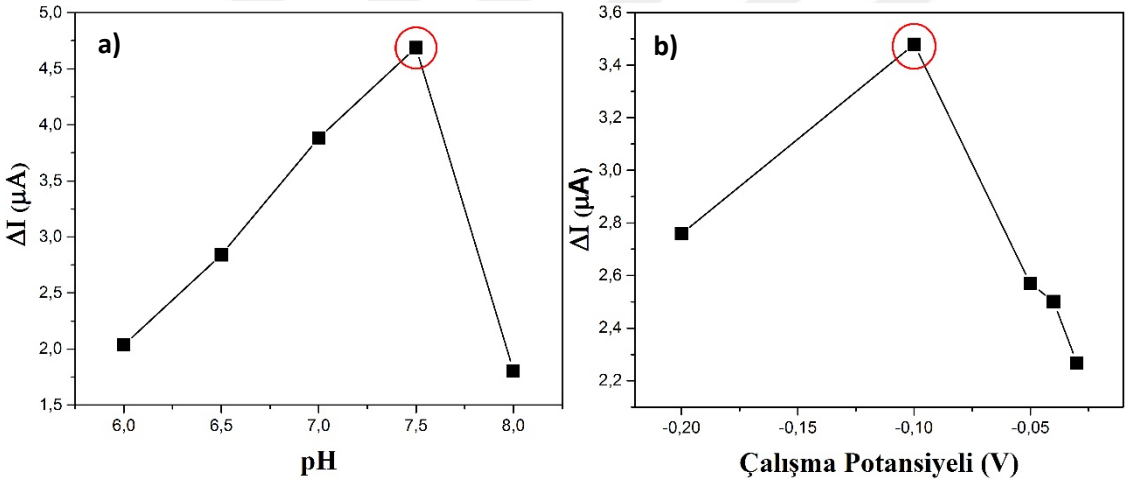
4 farklı enzim içeriğine sahip Pt/PEDOT-MWCNT-NFs/PPO polifenol biyosensörleri hazırlanmış ve amperometrik yöntemle incelenmiştir. Elektrotlar Pt/PEDOT-MWCNT-NFs/PPO-1 (67.175 U PPO), Pt/PEDOT-MWCNT-NFs/PPO-2

(134.35 U PPO), Pt/PEDOT-MWCNT-NFs/PPO-3 (268.7 U PPO) ve Pt/PEDOT-MWCNT-NFs/PPO-4 (403.1 U PPO) olarak adlandırılmıştır. Hazırlanan enzim elektrotları 0,1 M fosfat tamponu ile yıkanarak kullanıma hazır hale getirilmiş ve elektrotlar 0.1 M, pH=7.0 fosfat tamponu içerisinde buzdolabında +4°C'de saklanmıştır.

4.7.1. Çalışma potansiyeli ve pH etkisi

Optimum pH ve çalışma potansiyeli çalışmalarında, Pt/PEDOT-MWCNT-NFs/PPO-2 (134.35 U PPO) elektrodu kullanılmıştır ve enzim elektrodunun optimizasyonu için, 0.1 M'lık farklı pH'lardaki (6–8) fosfat tamponları içerisinde, -0.2 V sabit potansiyel altında eklenen 0.05 mM katekol derişimine karşılık gelen akım değerleri ölçülerek ΔI'e karşı pH grafiğe geçirilmiştir. Şekil 4.67.a'daki grafikten görüleceği gibi optimum pH 7.5 olarak bulunmuştur.

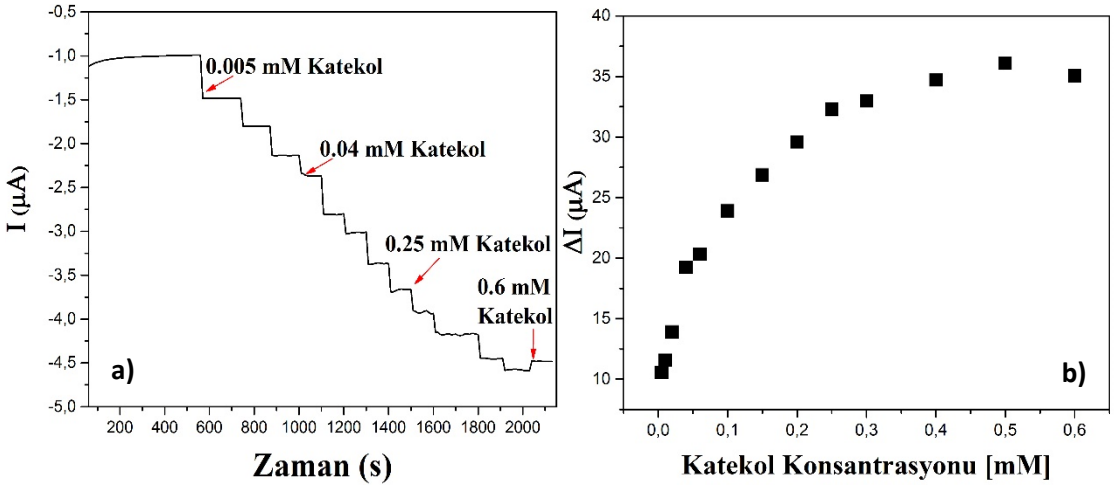
Optimum çalışma potansiyelini bulmak için, pH'ı 7.5 olan 0.1 M'lık fosfat tamponunda, -0.2 V ile -0.03 V arasında değişen potansiyellerde eklenen 0.05 mM katekol derişimine karşılık gelen akım şiddetleri ölçülmüştür (Şekil 4.67.b). Optimum çalışma potansiyeli -0.1 V olarak belirlenmiştir.



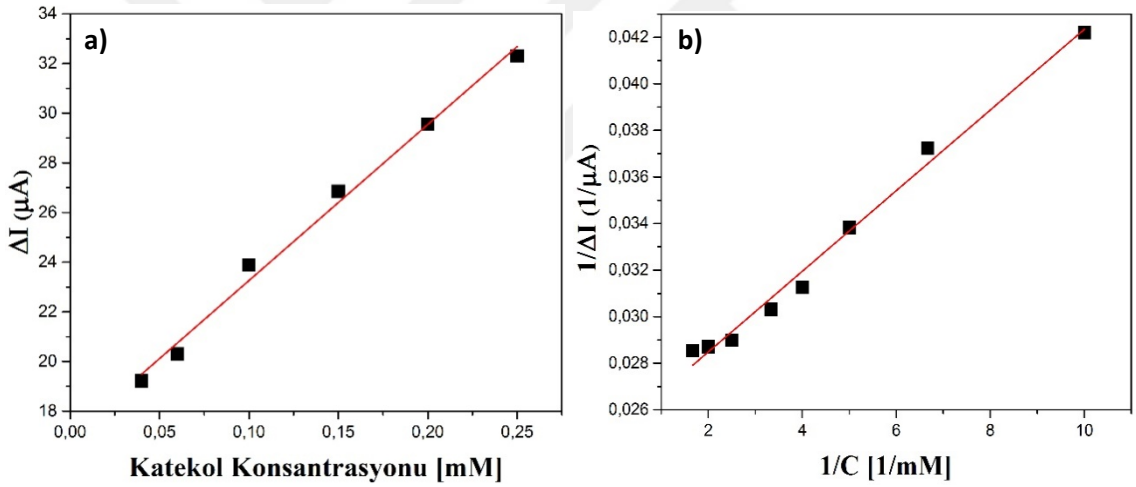
Şekil 4.67. Pt/PEDOT-MWCNT-NFs/PPO enzim biyosensörü için akım farkına karşı **a)** pH ve **b)** potansiyel grafiği

4.7.2. Pt/PEDOT-MWCNT-NFs/PPO-1 biyosensörü ile ilgili kronoamperometrik bulgular

Pt/PEDOT-MWCNT-NFs/PPO-1 biyosensörü için 0.005-0.6 mM arası akım – zaman grafiği ve gözlenen akım fark değerlerinin katekol derişimi ile değişimi Şekil 4.68'de gösterilmiştir. Biyosensörün 0.04 mM – 0.25 mM aralığında [y=62.82x+16.97 (R^2=0.9904)] doğrusal olduğu (Şekil 4.69.a), LOD)'un 0.0168 mM (16.8 μM) olduğu ve duyarlılığın 3125.4 μA/mM.cm^2 olduğu bulunmuştur.



Şekil 4.68. a) Pt/PEDOT-MWCNT-NFs/PPO-1 için 0.005-0.6 mM arası akım – zaman grafiği ve **b)** gözlenen akım fark değerlerinin katekol derişimi ile değişimi (-0.1 V; pH=7.5; 0.1 M fosfat tamponu, oda sıcaklığı)

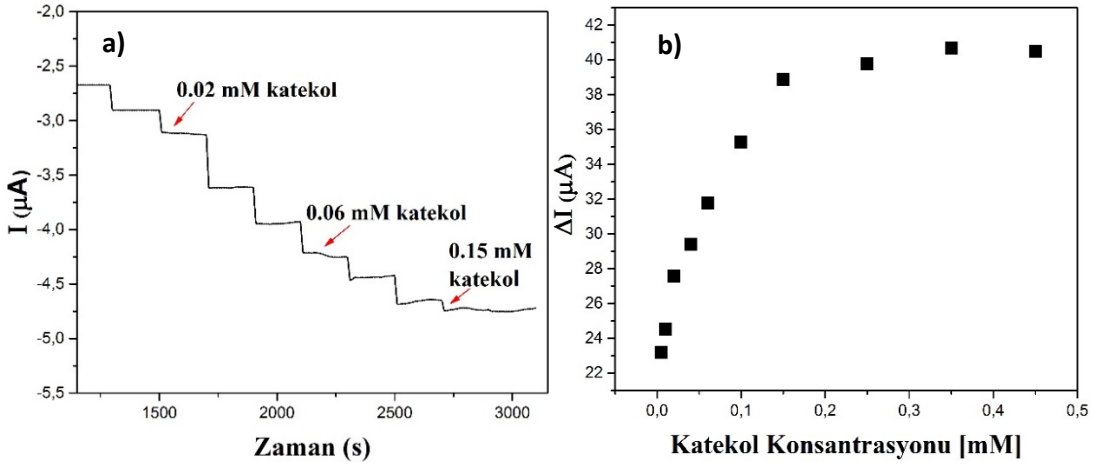


Şekil 4.69. a) Pt/PEDOT-MWCNT-NFs/PPO-1 enzim elektrodunun kalibrasyon grafiği ve **b)** Lineweaver-Burk eğrisi (0.10 M pH 7.5 fosfat tamponu, -0.1 V, oda sıcaklığı)

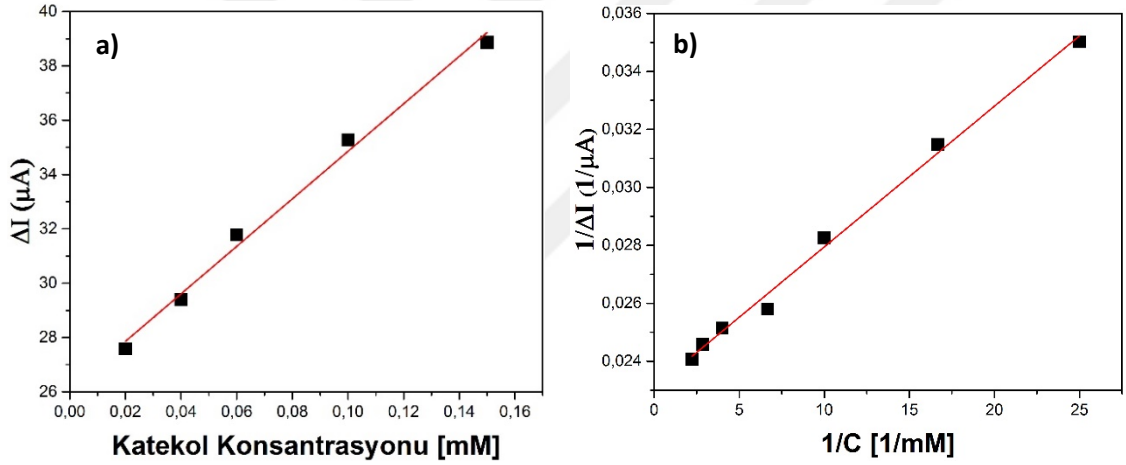
Şekil 4.69.b'deki Lineweaver-Burk grafiğinden biyosensör için K_m ve I_{max} değerleri sırasıyla 0.0692 mM ve 40 µA olarak bulunmuştur.

4.7.3. Pt/PEDOT-MWCNT-NFs/PPO-2 biyosensörü ile ilgili kronoamperometrik bulgular

Pt/PEDOT-MWCNT-NFs/PPO-2 biyosensörü için 0.005-0.45 mMarası akım – zaman grafiği ve gözlenen akım fark değerlerinin katekol derişimi ile değişimi Şekil 4.70'te gösterilmiştir. Biyosensörün 0.02 mM – 0.15 mM lineer aralığında [y=87.45x+26.1 (R^2=0.9901)] doğrusal olduğu (Şekil 4.71.a) tespit sınırının 0.0209 mM (20.9 µM) olduğu ve biyosensörün duyarlılığının 4351 µA/mM.cm^2 olduğu bulunmuştur.



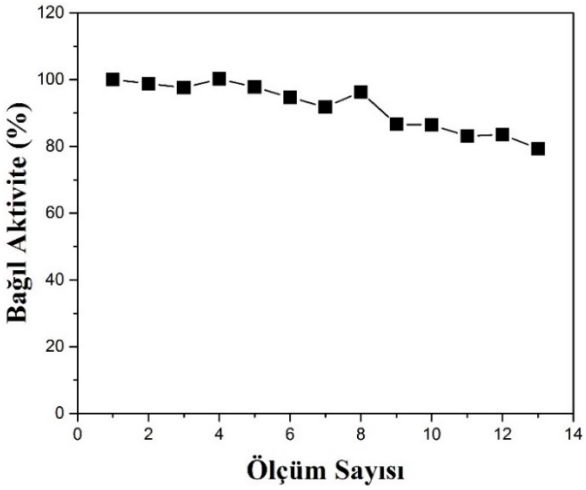
Şekil 4.70. a) Pt/PEDOT-MWCNT-NFs/PPO-2 için 0.005-0.45 mM arası akım – zaman grafiği ve **b)** gözlenen akım fark değerlerinin katekol derişimi ile değişimi (-0.1 V; pH=7.5; 0.1 M fosfat tamponu, oda sıcaklığı)



Şekil 4.71. a) Pt/PEDOT-MWCNT-NFs/PPO-2 enzim elektrodunun kalibrasyon grafiği ve **b)** Lineweaver-Burk eğrisi (0.10 M pH 7.5 fosfat tamponu, -0.1 V, oda sıcaklığı)

Pt/PEDOT-MWCNT-NFs/PPO-2biyosensörü için Şekil 4.70.b'den hesaplanan K_m ve I_{max} değerleri sırasıyla 0.0173 mM ve 43.3 µA olarak bulunmuştur.

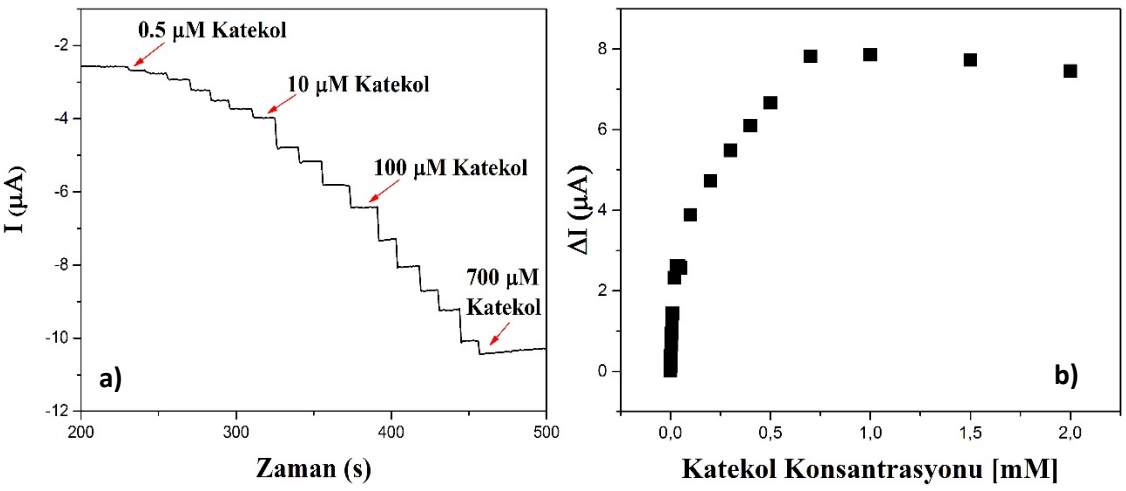
Kullanım kararlılığı için yapılan ölçümler, Pt/PEDOT-MWCNT-NFs/PPO-2elektrodunun 13. kullanımda % 79.3 aktivite gösterdiği (Şekil 4.72), standart sapmanın ±0.763 ve varyasyon katsayısının (CV) % 2.93 (n=13) olduğunu bulunmuştur.



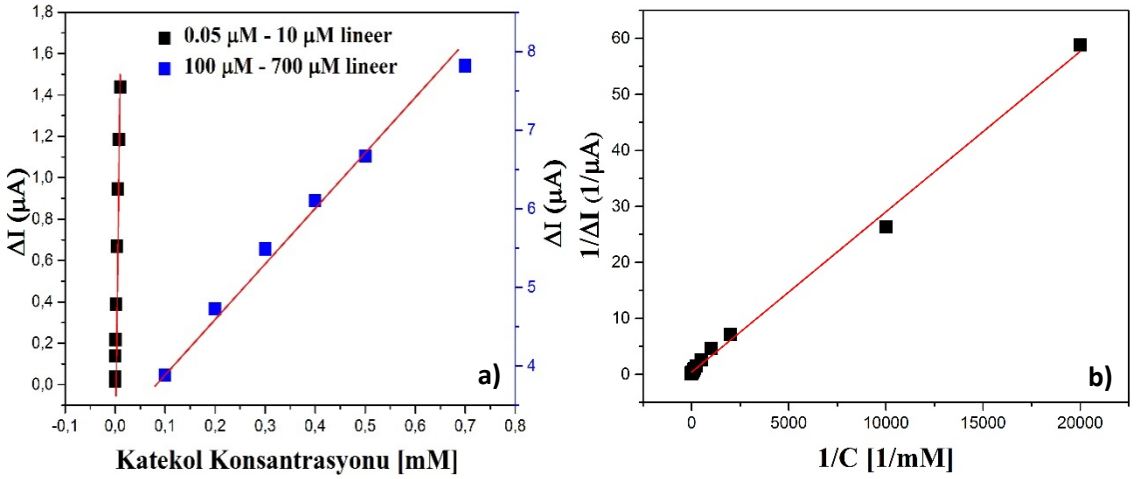
Şekil 4.72. Pt/PEDOT-MWCNT-NFs/PPO-2'nin art arda kullanılabilirliği

MWCNT içermeyen biyosensörlerde olduğu gibi 134.35 U PPO içeren Pt/PEDOT-MWCNT-NFs/PPO-2 biyosensörüiçin, daha düşük derişimlerde de çalışılması amaçlanmış ve tespit sınırı, duyarlılık, kararlılık, girişim etkisi, gerçek numune analizi ve raf ömrü gibi çalışmaları yapılmıştır.

Pt/PEDOT-MWCNT-NFs/PPO-2 biyosensörü için 0.5 µM – 2 mMarası akım – zaman grafiği ve gözlenen akım fark değerlerinin katekol derişimi ile değişimi Şekil 4.73'te gösterilmiştir. Amperometrik analiz sonucu biyosensörün 0.05 µM – 10 µM aralığında [y=141.55x+0.0618 (R^2=0.9945)] ve 100 µM – 700 µM aralığında [y=6.46x+3.411 (R^2=0.9905)] doğrusal olduğu (Şekil 4.74.a), tespit sınırının ise 0.063 µM olduğu bulunmuştur. Biyosensörün duyarlılığı ve 0.05 µM – 10 µM için 7042.2 µA/mM.cm^2 olarak ve 100 µM – 700 µM için 321.4 µA/mM.cm^2 olarak bulunmuştur.

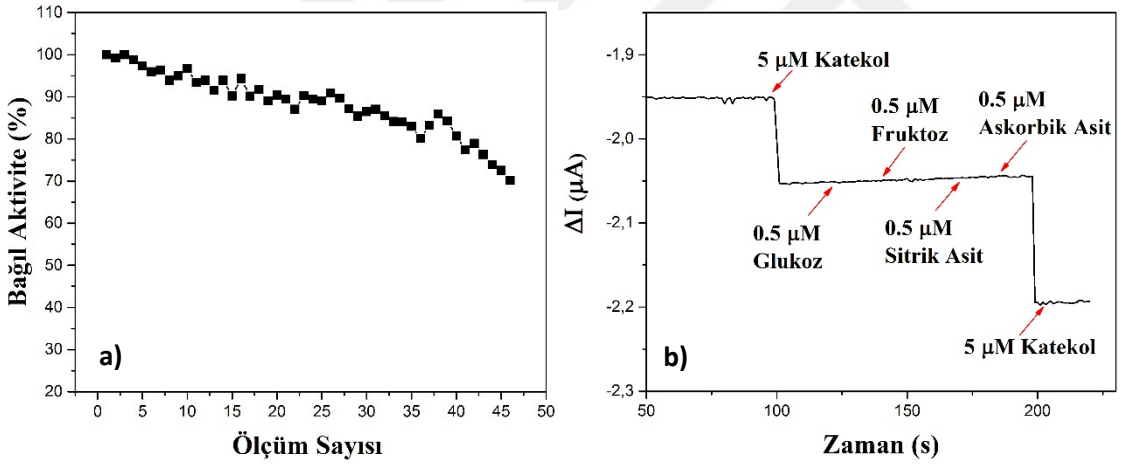


Şekil 4.73. a) Pt/PEDOT-MWCNT-NFs/PPO-2 için 0-2 mM arası akım – zaman grafiği ve **b)** gözlenen akım fark değerlerinin katekol derişimi ile değişimi (-0.1 V; pH=7.5; 0.1 M fosfat tamponu, oda sıcaklığı)



Şekil 4.74. a) Pt/PEDOT-MWCNT-NFs/PPO-2 enzim elektrodunun kalibrasyon grafiği ve **b)** Lineweaver-Burk eğrisi (0.10 M pH 7.5 fosfat tamponu, -0.1 V, oda sıcaklığı)

Şekil 4.74.b'den, K_m ve I_{max} değerleri sırasıyla 0.0073 mM ve 2.61 µA olarak bulunmuştur.



Şekil 4.75. a) Pt/PEDOT-MWCNT-NFs/PPO-2'nin art arda kullanılabilirliği ve **b)** girişim etkisi grafiği

Pt/PEDOT-MWCNT-NFs/PPO-2 enzim elektrotlarının kullanım kararlılığının değerlendirilmesi için oda koşullarında, bir gün içerisinde arka arkaya ölçümler yapılmıştır. Biyosensörün 46. kullanımda % 71.85 aktivite gösterdiği bulunmuştur (Şekil 4.75.a). Alınan ölçümler sonucunda standart sapmanın ±0.0146 ve varyasyon katsayısının (CV) % 6.32 (n=46) olduğu hesaplanmıştır.

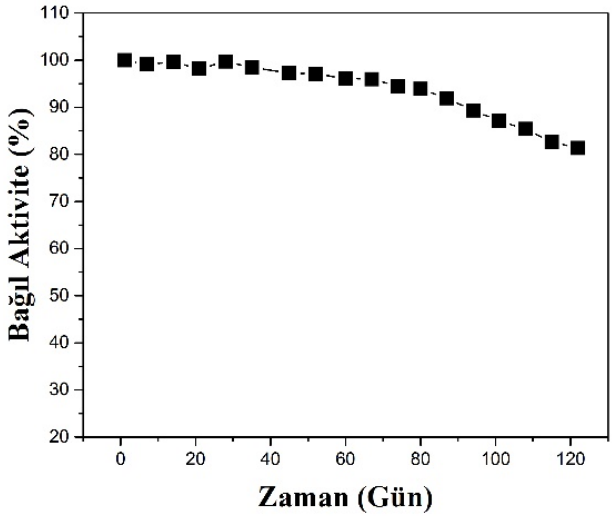
Biyosensörün katekoldan başka maddelere verdiği tepkinin değerlendirilmesi için, girişim etkisi çalışması yapılmıştır. Şekil 4.75.b incelendiğinde katekol biyosensörünün glukoz, fruktoz, sitrik asit ve askorbik asit gibi maddeler varlığında bile katekola karşı seçici davrandığı tespit edilmiştir.

Daha sonra şebeke suyunda ve endüstriyel suda katekol ve fenol miktarının tayini için gerçek numune analizi çalışması yapılmıştır. Bunun için, şebeke suyu ve organize sanayi bölgesinden alınan endüstriyel şebeke suyunda 0.1 µM'lık katekol ve fenol çözeltileri hazırlanmıştır. Derişimini bildiğimiz miktarda bu çözeltilerden alınarak tampon çözeltiye eklenmiş ve ölçülen amperometrik cevap akımlarına denk gelen derişim değerleri, kalibrasyon grafiğinden elde edilen denklemler kullanılarak hesaplanmıştır. Çizelge 4.12'de yer alan Pt/PEDOT-MWCNT-NFs/PPO-2 biyosensörünün şebeke sularındaki teorik katekol ve fenol tayini sonuçları ile deneysel sonuçları (referans sonuçlar) birbiri ile tutarlı çıkmıştır.

Çizelge 4.12. Pt/PEDOT-MWCNT-NFs/PPO-2 biyosensörünün şebeke sularındaki katekol ve fenol tayini sonuçları

Örnek	Analit türü	Teorik Konsantrasyon (µM)	Deneysel Konsantrasyon (µM)	Geri Kazanım (%)
Şebeke (çeşme) suyu	Katekol	5	5.10	102.4
Endüstriyel şebeke suyu	Katekol	5	5.09	101.9
Şebeke (çeşme) suyu	Fenol	5	5.01	100.2
Endüstriyel şebeke suyu	Fenol	5	5.12	102.5

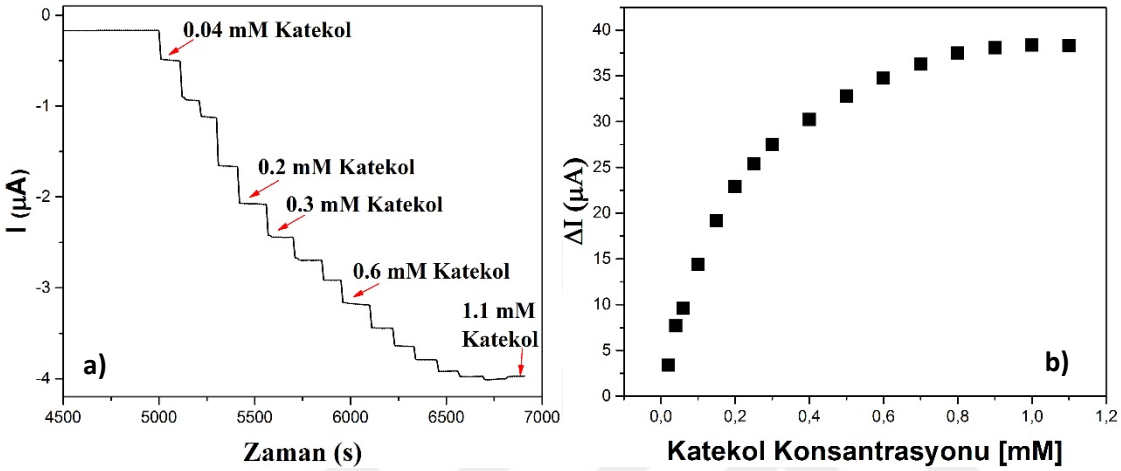
Pt/PEDOT-MWCNT-NFs/PPO-2 biyosensörünün raf ömrü tayini için -0.1 V sabit potansiyelde 10 µM katekol ilavesi ile aktiviteler haftada bir kontrol edilmiş ve 122 gün boyunca aktivitelerinin kontrolüne devam edilmiştir. Şekil 4.76 incelendiğinde 87.gün sonunda başlangıç aktivitesinin % 91.95 korunduğunu ve 122.gün (~17 hafta) sonunda ise % 81.3 aktivite gösterdiği belirlenmiştir.



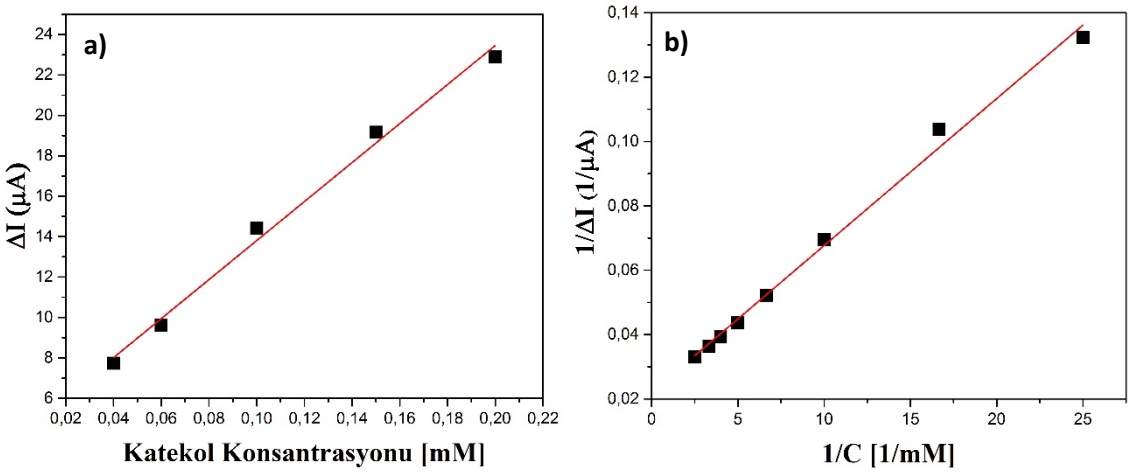
Şekil 4.76. Pt/PEDOT-MWCNT-NFs/PPO-2 enzim elektrodunun raf ömrü grafiği (0.10 M pH 7.5 fosfat tamponu, -0.1 V, oda sıcaklığı)

4.7.4. Pt/PEDOT-MWCNT-NFs/PPO-3 biyosensörü ile ilgili kronoamperometrik bulgular

Pt/PEDOT-MWCNT-NFs/PPO-3 biyosensörü için 0.01 mM-1.1 mM arası akım – zaman grafiği ve gözlenen akım fark değerlerinin katekol derişimi ile değişimi Şekil 4.77'de gösterilmiştir. Biyosensörün 0.04 mM – 0.2 mM aralığında [y=96.51x+4.151 (R^2=0.9907)] doğrusal olduğu (Şekil 4.78.a), duyarlılığın 4801.5 µA/mM.cm^2 ve LOD'un 0.006 mM (6 µM) olduğu bulunmuştur. Şekil 4.77.b'den hesaplanan K_m ve I_{max} değerleri sırasıyla 0.21 mM ve 45.45 µA olarak bulunmuştur.



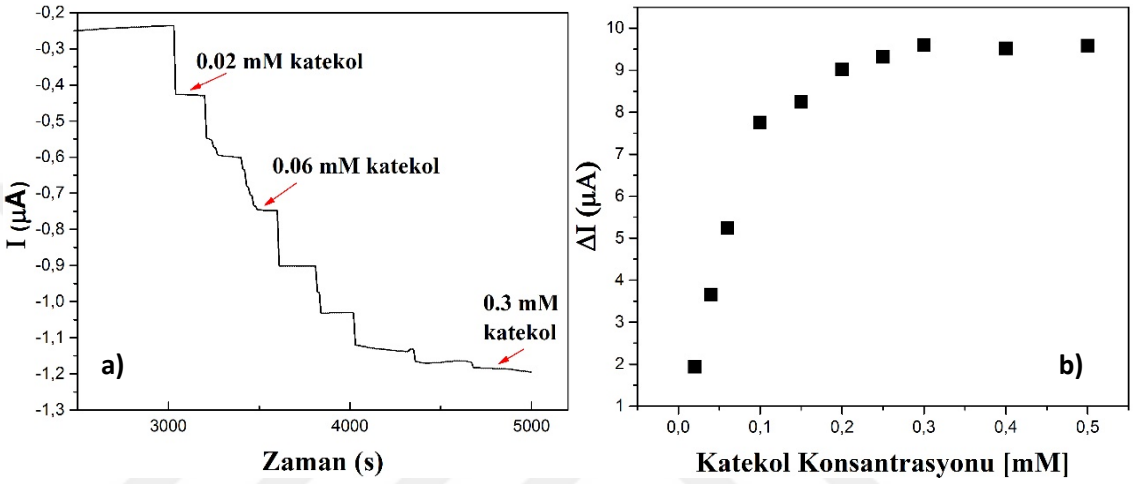
Şekil 4.77. a) Pt/PEDOT-MWCNT-NFs/PPO-3 için 0.01-1.1 mM arası akım – zaman grafiği ve **b)** gözlenen akım fark değerlerinin katekol derişimi ile değişimi (-0.1 V; pH=7.5; 0.1 M fosfat tamponu, oda sıcaklığı)



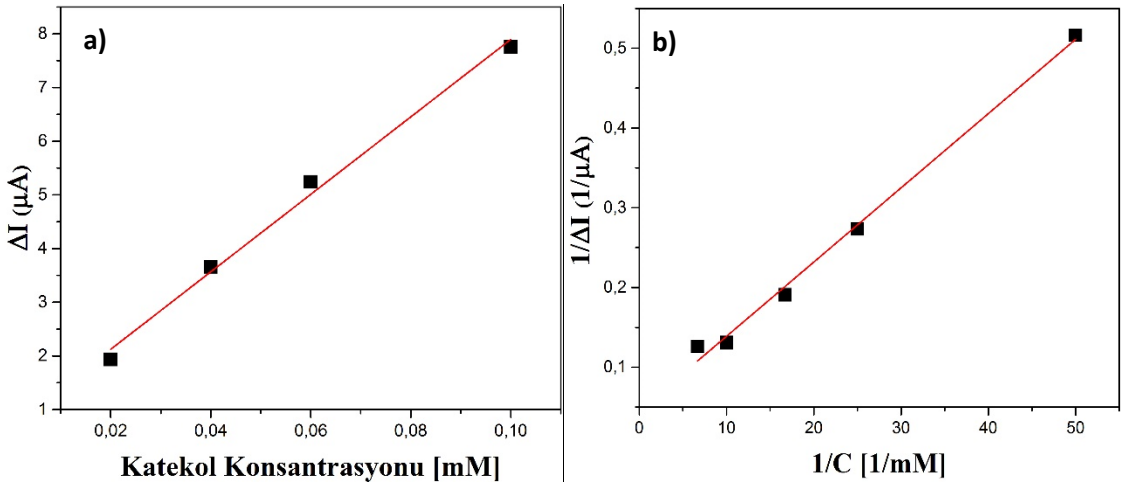
Şekil 4.78. a) Pt/PEDOT-MWCNT-NFs/PPO-3 enzim elektrodunun kalibrasyon grafiği ve **b)** Lineweaver-Burk eğrisi (b) (0.10 M pH 7.5 fosfat tamponu, -0.1 V, oda sıcaklığı)

4.7.5. Pt/PEDOT-MWCNT-NFs/PPO-4 biyosensörü ile ilgili kronoamperometrik bulgular

Pt/PEDOT-MWCNT-NFs/PPO-4 biyosensörü için 0.02-0.5 mM arası akım – zaman grafiği ve gözlenen akım fark değerlerinin katekol derişimi ile değişimi Şekil 4.79'da gösterilmiştir. Amperometrik analiz sonucu biyosensörün 0.02 mM – 0.1 mM aralığında [y=72.15x+0.680 (R^2=0.9904)] (Şekil 4.80.a) doğrusal olduğu, duyarlılığın 3590 µA/mM.cm^2 ve LOD'un ise 0.00911 mM (9.11 µM) olduğu bulunmuştur. Şekil 4.80.b'den hesaplanan K_m ve I_{max} değerleri sırasıyla 0.204 mM ve 21.93 µA olarak bulunmuştur.



Şekil 4.79. a) Pt/PEDOT-MWCNT-NFs/PPO-4 için 0.02-0.5 mM arası akım – zaman grafiği ve **b)** gözlenen akım fark değerlerinin katekol derişimi ile değişimi (-0.1 V; pH=7.5; 0.1 M fosfat tamponu, oda sıcaklığı)



Şekil 4.80. a) Pt/PEDOT-MWCNT-NFs/PPO-4 enzim elektrodunun kalibrasyon grafiği ve **b)** Lineweaver-Burk eğrisi (0.10 M pH 7.5 fosfat tamponu, -0.1 V, oda sıcaklığı)

Çizelge 4.13'te üretilen tüm polifenol biyosensörlerinin performansları gösterilmiştir. Biyosensörlerin duyarlılıkları 1171.6 μA/mM.cm^2'den 4801.5 μA/mM.cm^2'ye ve LOD değerleri 3.5 μM'dan 25.6 μM'a değişiklik göstermiştir. Kararlılık çalışmaları yapılırken, 0.05 mM katekol tampon çözeltiye eklenmiş ve değişen akım miktarından % bağıl aktivite değeri hesaplanmıştır. Pt/PEDOT-NFs/PPO-1 ve Pt/PEDOT-MWCNT-NFs/PPO-2 biyosensörleri sırasıyla 23 kez ve 13 kez art arda kullanım sonucunda %80'lerde bağıl aktivite göstermiştir.

Çizelge 4.13'te Pt/PEDOT-NFs/PPO-2 ve Pt/PEDOT-MWCNT-NFs/PPO-2 polifenol biyosensörlerinin daha düşük derişim aralığındaki performansları da gösterilmiştir. MWCNT içermeyen Pt/PEDOT-NFs/PPO-2 biyosensörünün duyarlılığı 0.5 μM – 50 μM aralığı için 5667.6 μA/mM.cm^2 olarak, MWCNT içerenPt/PEDOT-MWCNT-NFs/PPO-2 biyosensörünün duyarlılığı 0.5 μM – 10 μM aralığı için 7042.2 μA/mM.cm^2 olarak bulunmuştur. Yapılan çalışmalar sonucunda MWCNT içeren biyosensörün daha yüksek duyarlılığa ve daha düşük LOD değerine sahip olduğu, tekrar kullanım kararlılığının ve raf ömrünün ise daha iyi performans gösterdiği bulunmuştur.

İncelenen PEDOT nanolif tabanlı tüm biyosensörlerin cevap süreleri kıyaslandığında, glukoz biyosensörlerinin tepki sürelerinin polifenol biyosensörlerinden çok daha kısa olduğu gözlenmiştir. Polifenol biyosensörlerinin stabil hale gelmesinin uzun sürdüğü ve artan enzim konsantrasyonu ile cevap sürelerinin 40 sn'den 8dk'ya kadar uzadığı gözlenmiştir.

Çizelge 4.13. PEDOT nanolif tabanlı polifenol biyosensörlerinin performansları

	Lineer aralık	**Duyarlılık ($\mu A/mM.cm^2$)**	**LOD (µM)**	**K_m (mM)**	**I_{max} (µA)**
PEDOT-NFs/PPO-1	0.03 mM – 0.24 mM	1171.6	3.9	0.068	8.9
PEDOT-MWCNT-NFs/PPO-1	0.04 mM – 0.25 mM	3125.4	16.8	0.069	40.0
PEDOT-NFs/PPO-2	0.02 mM – 0.15 mM	3827.8	3.5	0.044	23.3
PEDOT-MWCNT-NFs/PPO-2	0.02 mM – 0.15 mM	4351.0	20.9	0.017	43.3
PEDOT-NFs/PPO-3	0.05 mM – 0.18 mM	3483.1	3.7	0.102	36.3
PEDOT-MWCNT-NFs/PPO-3	0.04 mM – 0.2 mM	4801.5	6.0	0.210	45.4
PEDOT-NFs/PPO-4	0.005 mM – 0.09 mM 0.1 mM – 0.3 mM	3476.1 1458.2	25.6	0.023	2.3
PEDOT-MWCNT-NFs/PPO-4	0.02 mM – 0.1 mM	3590.0	9.1	0.204	21.9
Düşük derişim aralığındaki çalışmalar	**Lineer aralık**	**Duyarlılık ($\mu A/mM.cm^2$)**	**LOD (µM)**	**K_m (mM)**	**I_{max} (µA)**
PEDOT-NFs/PPO-2	0.05 µM – 50 µM	5667.6	0.188	0.035	8.4
PEDOT-MWCNT-NFs/PPO-2	0.05 µM – 10 µM 100 µM - 700 µM	7042.2 321.40	0.063	0.007	2.6

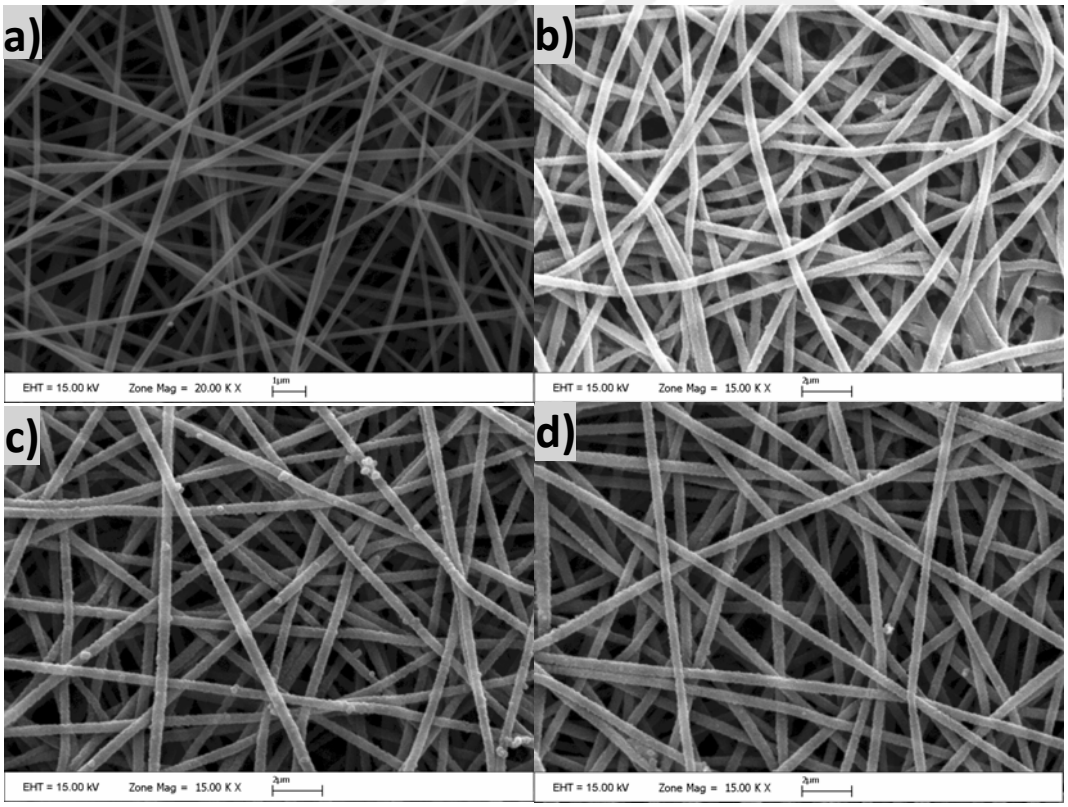
4.8. İletken PPy Nanolifleri ile İlgili Bulgular

4.8.1. PPy nanoliflerinin hazırlanması

PPy nanoliflerinin eldesi için daha önceden optimum olarak belirlediğimiz kütlece %20'lik oksidant çözeltisi kullanılarak farklı polimerizasyon sürelerinde (3dk-5dk) kimyasal buhar polimerizasyonu gerçekleştirilmiştir. Elde edilen PPy nanolifleri hem döngüsel voltametri ile hem de morfolojik olarak incelenmiş ve buna göre uygun polimerizasyon süresi belirlenmiştir.

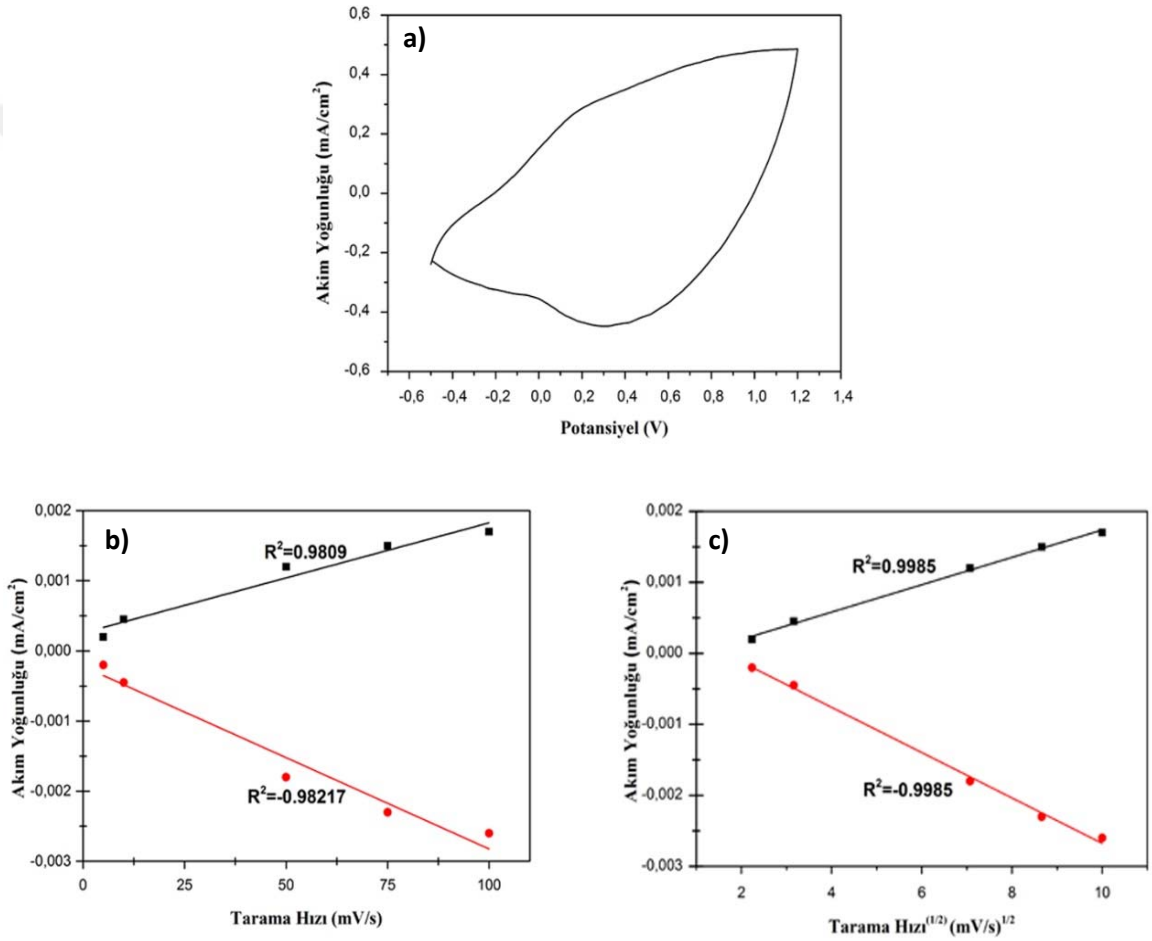
4.8.2. PPy nanoliflerinin morfolojik karakterizasyonu

PPy nanoliflerinin morfolojik karakterizasyonu taramalı elektron mikroskobu (SEM) ile doğrudan lif matı üzerinden incelenmiştir. Farklı polimerizasyon süreleri ile elde edilen nanoliflerin boncuksuz, homojen morfolojiye sahip olduğu gözlenmiştir (Şekil 4.81). Kimyasal buhar polimerizasyonu sonucunda PAN nanoliflerinin yüzeyine kaplanan PPy lif çapında artış meydana getirmiştir. PAN nanoliflerinin (Şekil 4.81.a) çaplarının ortalaması 240 ± 12 nm iken PPy nanoliflerinin çaplarının artan polimerizasyon süresine bağlı olarak 330 ± 10 nm'den 455 nm'ye değiştiği gözlenmiş ve 3 dk'lık polimerizasyon süresi çalışmalarımız için optimum seçilmiştir. Biyosensör çalışmalarında çalışma elektrodu olarak kullanılacak olan Pt disk elektrot yüzeyine PPy nanolifleri kaplanmış ve Pt/PPy-NFs elektrotları olarak adlandırılmıştır.



Şekil 4.81. a) PAN nanoliflerinin ve farklı polimerizasyon sürelerinde hazırlanan PPy nanoliflerinin SEM görüntüleri **b)** 3 dk, **c)** 4 dk ve **d)** 5 dk.

Şekil 4.82.a'da Pt disk elektrot üzerine kaplanan PPy nanoliflerinin 0.1 M NBu_4PF_6/ACN içersinde -0.5 V ile +1.2 V arasındaki döngüsel voltamogramı gösterilmiştir. PPy nanolifleri, +0.56 V'da oksidasyon piki ve +0.3 V'da indirgenme piki göstermiştir. PPy nanoliflerinin redoks davranışının (Şekil 4.82.b-c), kimyasal olarak sentezlenen PPy (Ansari 2006, Kaplin ve Qutubuddin 1995, Ramírez vd. 2019) ve PPy nanolifleri (Müller vd. 2011) ile yapılan çalışmalarla uyumlu olduğu gözlenmiştir. PPy nanoliflerinin elektrokimyasal sinyali tarama hızının karekökü ile doğrusal bir korelasyon ortaya çıkarmıştır.Artan tarama hızı ile pik akımının arttığı ve pik potansiyelinin değişmediği gözlenmiştir.Bu sonuç elektroaktif polimer nanoliflerinin elektrot yüzeyinde olduğunu ve redoks davranışının difüzyon kontrollü olduğunu göstermektedir(Damlin vd. 2004, M. Kumar ve Ando 2010, Kvarnstrijms vd. 1999, Ocampo vd. 2006).

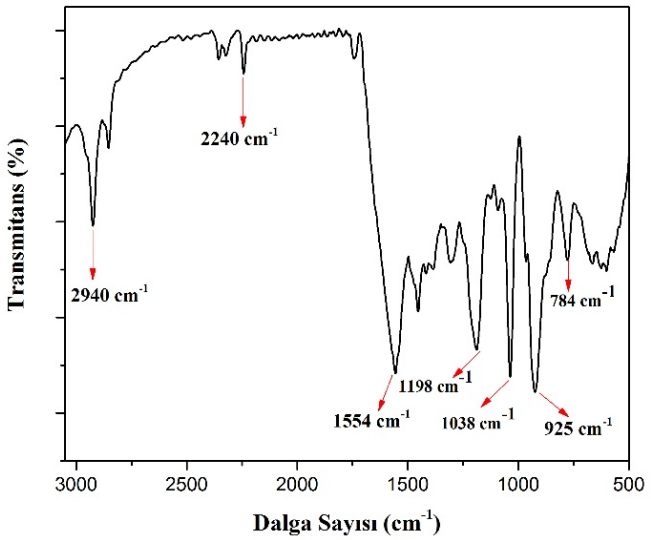


Şekil 4.82. a) PPy nanoliflerinin döngüsel voltamogramı (100 mV/s), **b)** tarama hızlarına karşı ve **c)** tarama hızlarının karekköüne karşı anodik ve katodik akım yoğunluğu grafiği

4.8.3. PPy nanoliflerinin yapısal karakterizasyonu

Şekil 4.83 incelendiğinde PPy nanoliflerine ait FTIR spektrumunda yalnızca PPy'ün karakteristik piklerinin değil aynı zamanda PAN'a ait karakteristik piklerinde yer

aldığı gözlenmiştir. Dalga sayısı 2940 cm^{-1} olan pik PAN'a ait C-H esneme pikini, dalga sayısı 2240 cm^{-1} olan pik PAN'a ait C≡N esneme pikini gösterirken dalga sayısı 1554 cm^{-1} olan pik PPy'ün C=C esneme pikini, 1451 cm^{-1} ve 1198 cm^{-1} olan pik C-N esneme pikini göstermiştir. Ayrıca, halka deformasyon piki 784 cm^{-1} olarak, pirol halkasının =C-H'a ait düzlemde titreşim piki 1038 cm^{-1} ve pirol halkasının C=C'ye ait düzlemde bükülme piki 925 cm^{-1} olarak bulunmuştur (Srivastava vd. 2007, X. Yang ve Li 2010). FTIR sonuçları, hem PAN'a hem de PPy'e ait karakteristik pikleri içerdiğinden PAN nanolifleri üzerine PPy polimerinin kaplandığını göstermiştir.



Şekil 4.83. PPy nanoliflerine ait FTIR spektrumu

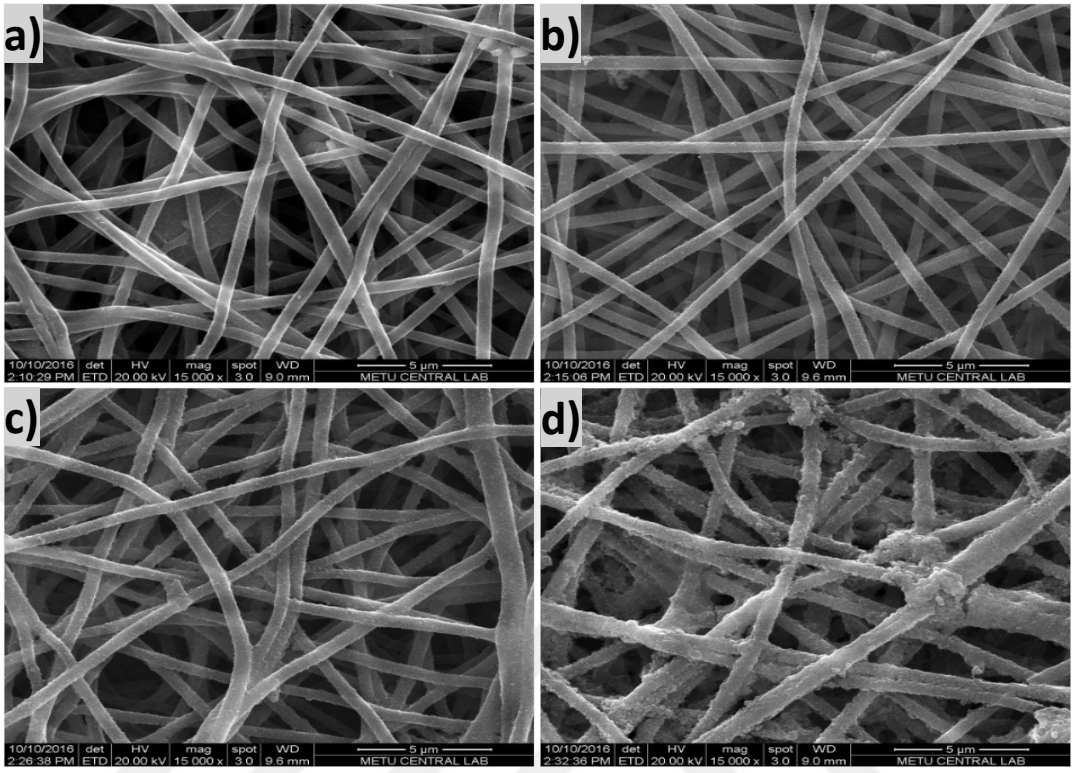
4.9. PPy Tabanlı Amperometrik Glukoz Biyosensörleri ile İlgili Bulgular

Optimum enzim miktarını belirlemek için, elde edilen Pt/PPy-NFs elektrotlarına farklı hacimlerde GOx/tampon çözeltisinden damlatılarak enzim immobilizasyonu gerçekleştirilmiş ve böylece 5 farklı Pt/PPy-NFs/GOx glukoz biyosensörü hazırlanmıştır. Elde edilen glukoz biyosensörleri kronoamperometrik yöntemle anodik ve katodik olarak incelenmiş ve elektrotlar Pt/PPy-NFs/GOx-1 (46.25 U), Pt/PPy-NFs/GOx-2 (92.5 U), Pt/PPy-NFs/GOx-3 (185 U), Pt/PPy-NFs/GOx-4 (277.5 U) ve Pt/PPy-NFs/GOx-5 (370 U) olarak adlandırılmıştır.

4.9.1. Pt/PPy-NFs/GOx elektrotlarının morfolojik analizi

Hazırlanan Pt/PPy-NFs/GOx elektrotlarının enzim immobilizasyonu sonucu morfolojilerindeki ve lif çaplarındaki meydana gelen değişimi incelemek için, taramalı elektron mikroskobu (SEM) kullanılmıştır. PPy nanoliflerinin lif çapı 330 ± 10 nm ölçülmüşken (Şekil 4.84.b), fosfat tamponunda saklanan homojen PPy nanoliflerinin lif çapı 499 ± 14 nm ölçülmüştür (Şekil 4.84.a). Bu durum, akrilik polimerlerin su gibi yüksek dipollü çözücülerle etkileşiminde, çözücülerin güçlü plastikleştirici etkisi ile akrilik polimerlerin yapılarında şişme meydana getirmesi ve lif çaplarında artışa sebep olması ile açıklanmıştır (Grobelny vd. 1988). Enzim miktarının artmasıyla nanolif

yüzeylerinde daha fazla enzim birikmiş ve nanolif çaplarında artış meydana gelmiştir. Çizelge 4.14'te artan enzim miktarı ile değişen nanolif çapları gösterilmiştir.



Şekil 4.84. a) pH 7 fosfat tamponunda bekletilen PPy nanolifleri, **b)** Pt/PPy-NFs/GOx-1 **c)** Pt/PPy-NFs/GOx-3, **d)** Pt/PPy-NFs/GOx-5 nanoliflerinin SEM görüntüleri

Çizelge 4.14 Farklı enzim birimleri içeren PPy nanoliflerinin çapları

PPy nanolifleri	330 ± 10 nm
Fosfat tamponunda saklanan PPy nanolifleri	499 ± 14 nm
Pt/PPy-NFs/GOx-1 nanolifleri	517 ± 7 nm
Pt/PPy-NFs/GOx-2 nanolifleri	548 ± 6 nm
Pt/PPy-NFs/GOx-3 nanolifleri	561 ± 20 nm
Pt/PPy-NFs/GOx-4 nanolifleri	-
Pt/PPy-NFs/GOx-5 nanolifleri	615 ± 26 nm

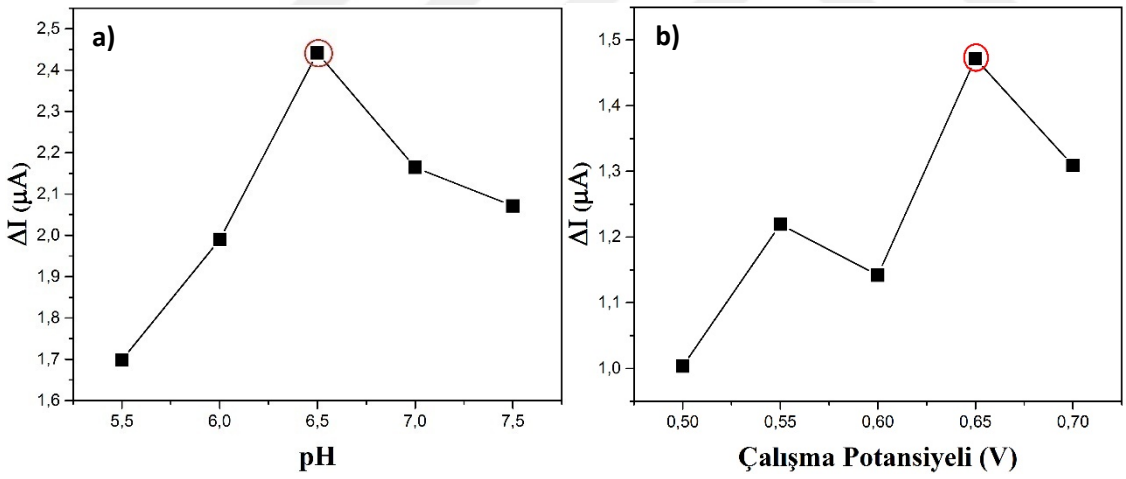
4.9.2. Biyosensörlerin analitik performansının hidrojen peroksit ölçümüne bağlı olarak incelenmesi

Tampon çözeltinin pH'ı, uygulanan potansiyel ve enzim miktarı gibi parametreler biyosensör performansını etkilediği için, kronoamperometrik ölçümlere başlamadan önce optimum pH ve optimum potansiyel çalışmaları yapılmıştır.

4.9.2.1. Çalışma potansiyeli ve pH etkisi

Biyosensör çalışmalarına başlamadan önce Pt/PPy-NFs/GOxenzim elektrodu için uygun çalışma koşulları belirlenmiştir. Optimum pH ve çalışma potansiyeli çalışmalarında; Pt/PPy-NFs/GOx-2 (92,5 U GOx) elektrodu kullanılmıştır ve çeşitli pH'larda (5.5 – 7.5) 0.1M'lık fosfat tamponları hazırlanmış ve 0.7 V sabit potansiyel altında sisteme 0.5 mM derişiminde glukoz ilave edilmiştir. Meydana gelen akım değişimleri ölçülerek ΔI'e karşı pH grafiğe geçirilmiş ve optimum pH 6.5 olarak bulunmuştur (Şekil 4.85.a).

Optimum çalışma potansiyelini bulmak için, +0.5 V ile + 0.7 V arasında sabit glukoz derişiminde (0.5 mM) 5 farklı potansiyelde akım şiddetleri ölçülmüş ve potansiyele karşı akım şiddeti değişimi grafiğe (Şekil 4.85.b) geçirilmiştir. H_2O_2 için en yüksek akım değerinin ölçüldüğü 0.65 V'un glukozun oksidasyonu için önerilen mekanizma ile uyumlu olduğu bulunmuştur (Ekanayake vd. 2008). Bundan sonraki çalışmalarda uygulama potansiyeli olarak 0.65 V kullanılmıştır.

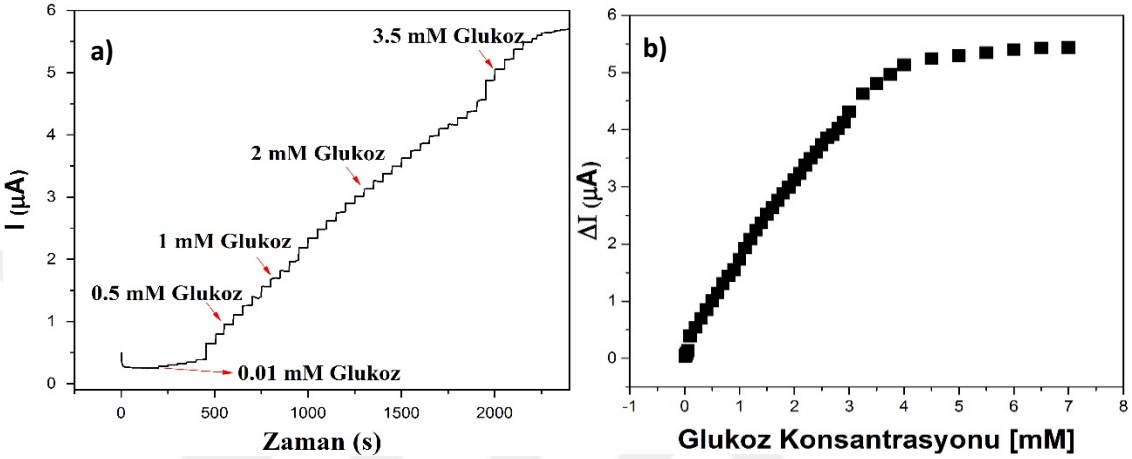


Şekil 4.85. Pt/PPy-NFs/GOxenzim biyosensörü için akım değişimine karşı **a)** pH ve **b)** potansiyel grafiği

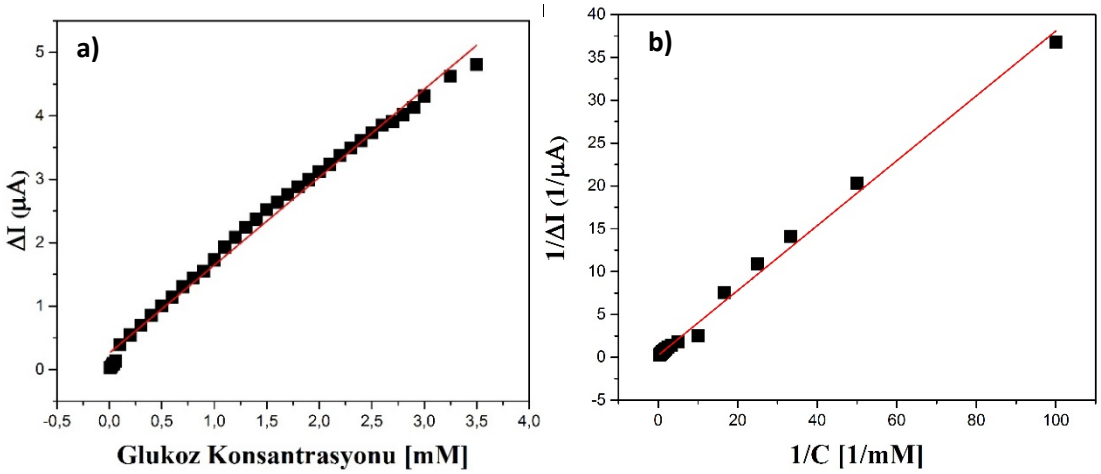
4.9.2.2. Pt/PPy-NFs/GOx-1 biyosensörü ile ilgili kronoamperometrik bulgular

Çalışma elektrodu yüzeyindeki enzimatik reaksiyon sonucu oluşan hidrojen peroksit 0.65 V sabit potansiyelde Ag/AgCl referans elektroduna karşı ölçülmüştür. Şekil 4.86.a'da, Pt/PPy-NFs/GOx-1 glukoz biyosensörünün 0.65 V sabit potansiyelde, her glukoz eklenmesinden sonraki akım değerlerinin zamana karşı grafiği gösterilmiştir. Kararlı halde (dengede) bulunan sisteme glukoz ilavesiyle, akım belirgin bir şekilde

artmış ve sistem yeniden kararlı hale gelmiştir. Sistem doygun hale gelene kadar, ortama her glukoz ilavesinde aynı olaylar olmuştur. Sistem doygun hale geldikten sonra ise akımda çok fazla artış meydana gelmemiş (Şekil 4.86.b) ve sistem linearlikten sapmaya başlamıştır (Ekanayake vd. 2008). Şekil 4.86.b incelendiğinde 3.5 mM'da daha yüksek miktarda glukoz eklemesinin doğrusal davranıştan sapmaya neden olduğu görülmüştür. Amperometrik analiz sonucu biyosensörün 0.01-3.5 mM (10 µM-3500 µM) aralığında [y=1.385x+0.2603 (R^2=0.99086)] doğrusal olduğu (Şekil 4.87.a), duyarlılığın 68.95 µA/mM.cm^{2}olduğu ve tespit sınırının ise 0.0078 mM (7.8 µM) olduğu bulunmuştur.



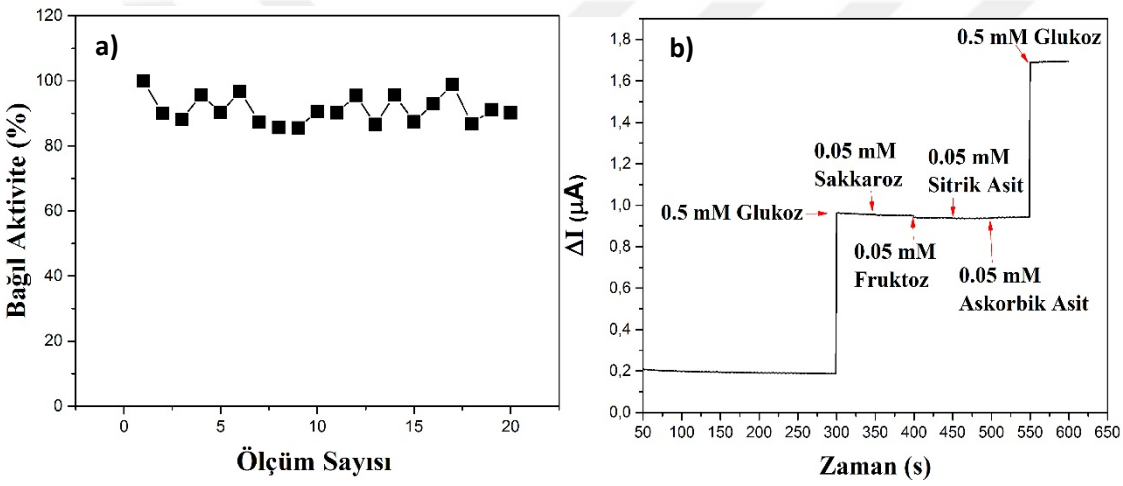
Şekil 4.86. a) Pt/PPy-NFs/GOx-1 enzim elektrodu için 0.01-7 mM arası akım – zaman grafiği ve **b)** gözlenen akım fark değerlerinin glukoz derişimi ile değişimi [0.65 V; pH=6.5; 0.1 M fosfat tamponu, oda sıcaklığı]



Şekil 4.87. a) Pt/PPy-NFs/GOx-1 enzim elektrodunun 0.01-3.5 mM aralığında kalibrasyon grafiği ve **b)** Lineweaver-Burk eğrisi (0.10 M pH 6.5 fosfat tamponu, 0.65 V, oda sıcaklığı)

Şekil 4.87.b'den hesaplanan , K_m ve I_{max} değerleri sırasıyla 1.88 mM ve 4.76 µA olarak bulunmuştur. Bu değerler literatürdeki bazı çalışmalara göre daha düşüktür (Ekanayake vd. 2008, Palod ve Singh 2015, Uang ve Chou 2002). K_m katsayısı, enzim ve substratın birbirine olan ilgisini göstermektedir ve K_m değeri ne kadar küçükse enzimin substrata karşı ilgisi o kadar büyük olmaktadır. Yapılan bu çalışmada literatüre göre düşük bulunan K_m değerinin, enzimin immobilize edildiği nanoliflerin sahip olduğu geniş yüzey alanı ve gözenekli yapısından kaynaklandığı, bu sayede daha fazla enzimin immobilize edilmesine olanak sağlaması ve substrata karşı olan ilgisini arttırdığı düşünülmektedir (Zeybek 2010, Baş 2011).

Pt/PPy-NFs/GOx-1 enzim elektrotlarının kullanım kararlılığının değerlendirilmesi için oda koşullarında, bir gün içerisinde arka arkaya ölçümler yapılmıştır. Ölçümler sonucunda standart sapma ±0.047 olarak ve varyasyon katsayısı (CV) % 6.77 (n=20) olarak hesaplanmıştır. Pt/PPy-NFs/GOx-1elektrodunu 20. kullanımda % 90.13 aktivite gösterdiği bulunmuştur (Şekil 4.88.a).



Şekil 4.88. a) Pt/PPy-NFs/GOx-1'in art arda kullanılabilirliği ve **b)** glukoz, sükroz, fruktoz, sitrik asit ve askorbik asite karşı amperometrik sinyalleri

Biyosensörün glukoz haricindeki maddelere verdiği tepkinin değerlendirilmesi için, girişim etkisi çalışması yapılmıştır. 0.5 M'lık glukoz ve 0.05M'lık sükroz, fruktoz, sitrik asit ve askorbik asit çözeltileri hazırlanmış, sırasıyla elektrokimyasal hücreye eklenmiştir. İnterferant çözeltileri glukoz derişiminin 10'da biri oranında daha seyreltik olacak şekilde hazırlanmış ve bu şekilde kullanılmıştır. Bu çözeltilerin seyreltik kullanılmalarının sebebi; biyolojik çevrelerde glukozun, yaklaşık 30 kat daha fazla miktarda bulunmasındır (Thota ve Ganesh 2014). Şekil 4.88.b incelendiğinde glukoz biyosensörünün sakkaroz, fruktoz, sitrik asit ve askorbik asit gibi maddeler varlığında bile glukoza karşı seçici davrandığı tespit edilmiştir. Glukozun iyi tanımlanmış sinyali ile diğer maddelerinki karşılaştırıldığında, girişim etkisi olmadığı tespit edilmiştir. Bu sonuç, interferent bakımından zengin ortamlarda bile PPy nanolif tabanlı biyosensörlerin yüksek seçiciliğe sahip olduğunu göstermiştir (Çetin ve Camurlu 2017)

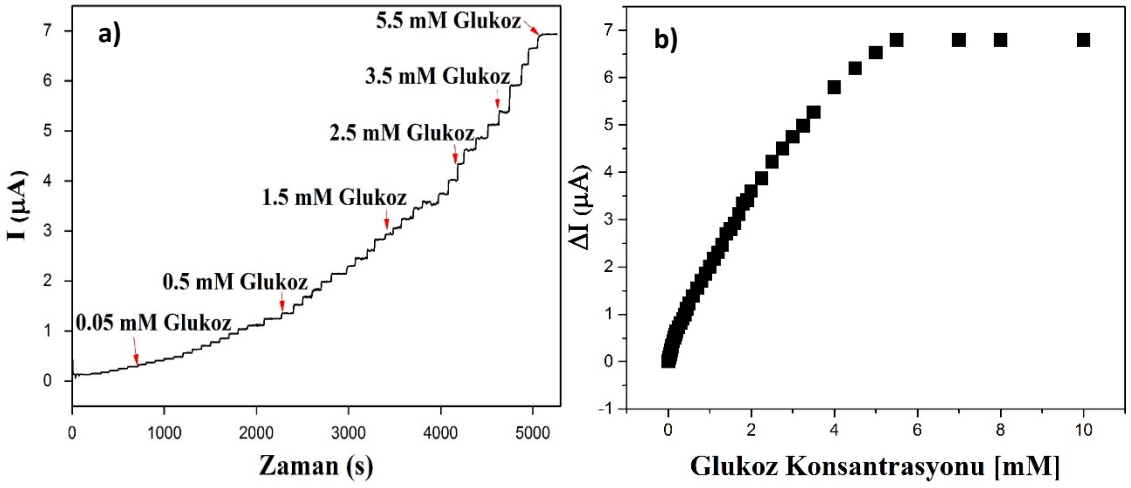
Pt/PPy-NFs/GOx-1 biyosensörünün girişim etkisi çalışmasından sonra ticari meyve sularında glukoz miktarının tayini ile gerçek numune analizi yapılmıştır. Cappy vişne suyu ve karışık meyve suyu seyreltilmeden tampon çözeltiye eklenmiş ve ölçülen amperometrik cevap akımlarına denk gelen derişim değerleri kalibrasyon grafiğinden elde edilen denklemler kullanılarak hesaplanmıştır. Çizelge 4.16'de yer alan Pt/PPy-NFs/GOx-1 biyosensörünün ticari meyve sularındaki glukoz tayini sonuçları ile HPLC sonuçları (referans sonuçlar) birbiri ile tutarlı çıkmıştır.

Çizelge 4.15. Pt/PPy-NFs/GOx-1 biyosensörü ile ticari meyve sularındaki glukoz tayini

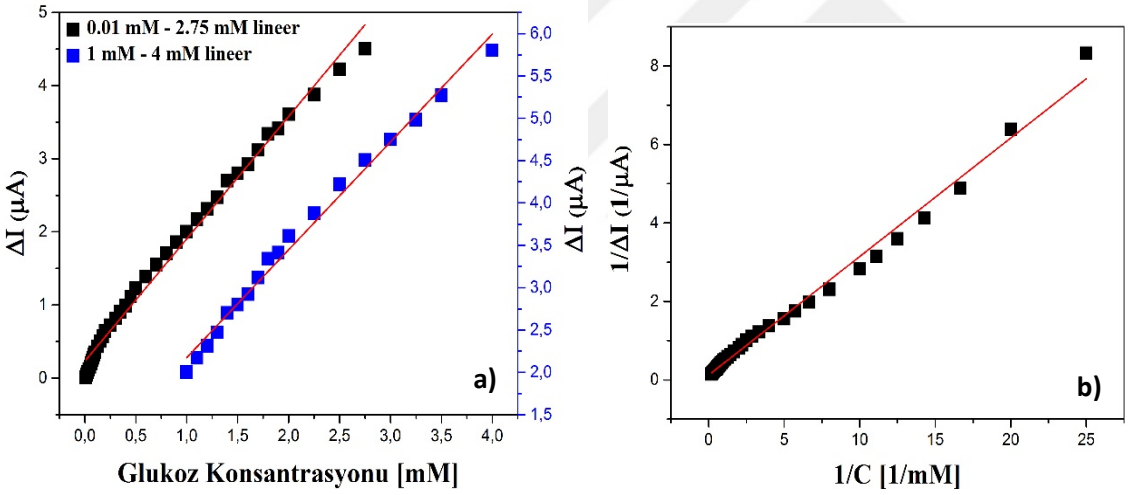
Örnek	**Pt/PPy-NFs/GOx-1 biyosensörü (g/100 ml)**	**HPLC Analizi (g/100 ml)**	**Geri Kazanım (%)**
Cappy vişne suyu	4.478 ± 0.034	4.474 ± 0.122	100.2
Cappy karışık meyve suyu	3.278 ± 0.011	3.261 ± 0.027	100.6

4.9.2.3. Pt/PPy-NFs/GOx-2 biyosensörü ile ilgili kronoamperometrik bulgular

Pt/PPy-NFs/GOx-2 biyosensörü için 0.01 mM-10 mM arası akım –zaman grafiği ve gözlenen akım fark değerlerinin glukoz derişimi ile değişimi Şekil 4.89'da gösterilmiştir. Amperometrik analiz sonucu biyosensörün 0.01-2.75 mM aralığında [y=1.273x+0.8997 (R^2=0.9894)] ve 1 mM-4 mM aralığında [y=1.6727x+0.2311 (R^2=0.9904)] arasında doğrusal olduğu (Şekil 4.90.a) ve LOD'un 0.00821 mM (8.21 µM) olduğu bulunmuştur. Biyosensörün duyarlılığı 0.01-2.75 mM için 53.28 µA/mM.cm^2 olarak, 1 mM-4 mM için 40.57 µA/mM.cm^2 olarak bulunmuştur. Şekil 4.90.a, Pt/PPy-NFs/GOx-2 enzim elektrodunun kalibrasyon grafiğini ve Şekil 4.90.b Lineweaver Burk grafiğini verir. Biyosensör için K_m ve I_{max} değerleri sırasıyla 2.49 mM ve 8.27 µA olarak bulunmuştur.

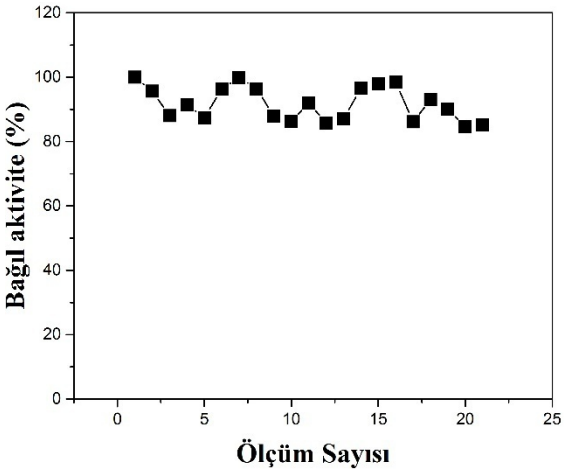


Şekil 4.89. a) Pt/PPy-NFs/GOx-2 enzim elektrodu için 0.01 mM-10 mM arası akım – zaman grafiği ve **b)** gözlenen akım fark değerlerinin glukoz derişimi ile değişimi [0.65 V; pH=6.5; 0.1 M fosfat tamponu, oda sıcaklığında]



Şekil 4.90. a) Pt/PPy-NFs/GOx-2 enzim elektrodunun kalibrasyon grafiği ve **b)** Lineweaver-Burk eğrisi (0.10 M pH 6.5 fosfat tamponu, 0.65 V, oda sıcaklığı)

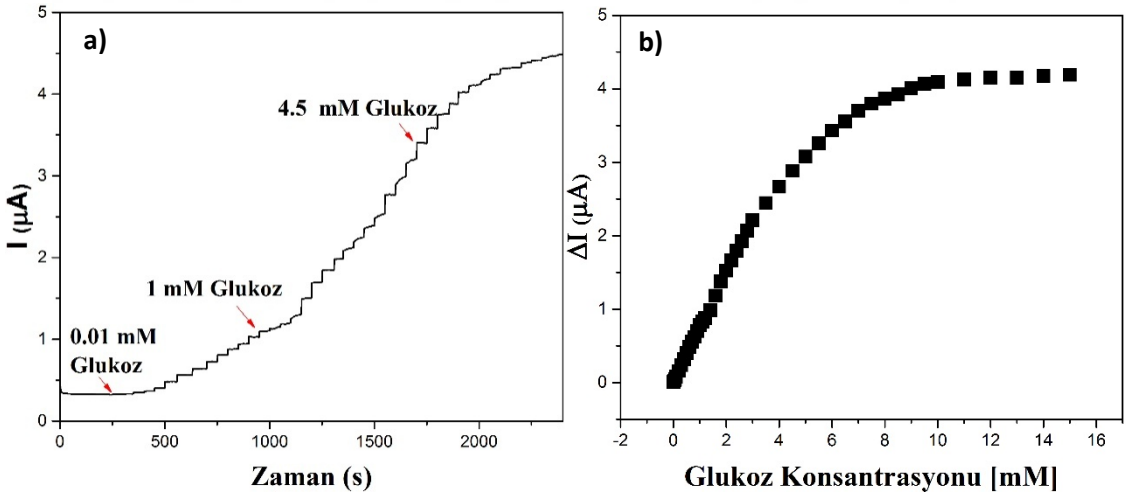
Biyosensörün kullanım kararlılığı bir gün içerisinde arka arkaya ölçümler ile incelenmiştir. Pt/PPy-NFs/GOx-2 biyosensörünün 21. kullanımda % 85.07 aktivite gösterdiği bulunmuştur (Şekil 4.91). Ölçümler sonucunda standart sapma ±0.315 olarak ve varyasyon katsayısı (CV) % 7.19 (n=21) olarak hesaplanmıştır.



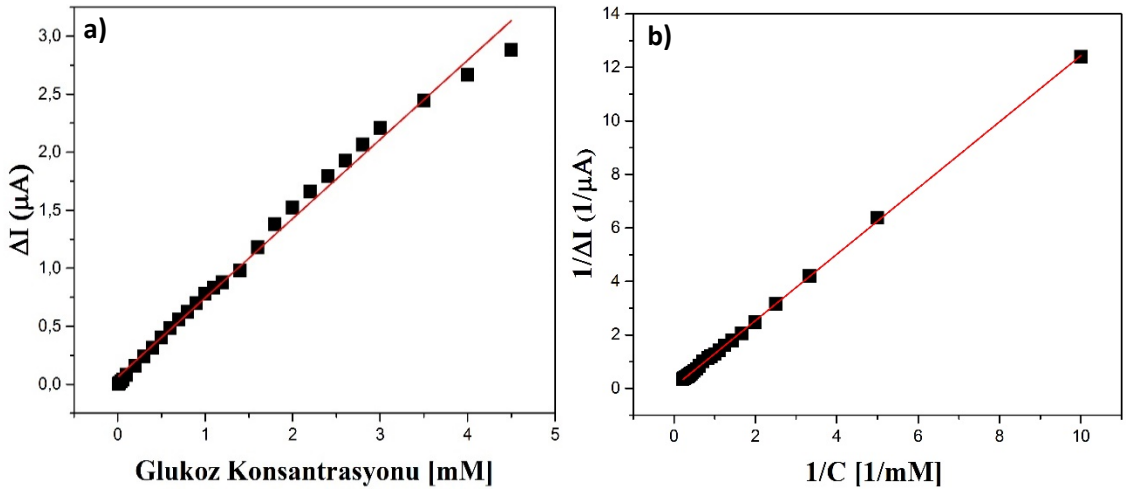
Şekil 4.91. Pt/PPy-NFs/GOx-2'nin art arda kullanılabilirliği

4.9.2.4. Pt/PPy-NFs/GOx-3 biyosensörü ile ilgili kronoamperometrik bulgular

Pt/PPy-NFs/GOx-3 biyosensörü için 0.01 mM-15 mM arası akım –zaman grafiği ve gözlenen akım fark değerlerinin glukoz derişimi ile değişimi Şekil 4.92'de gösterilmiştir. Biyosensörün 0.01 mM – 4.5 mM aralığında [y=0.6826x+0.06184 (R^2=0.9917)] doğrusal olduğu (Şekil 4.93.a), duyarlılığın 33.98 µA/mM.cm^2 olduğu ve LOD'un 0.0075 mM (7.5 µM) olduğu bulunmuştur. Şekil 4.93.b'den hesaplanan, K_m ve I_{max} değerleri sırasıyla 22.02 mM ve 17.76 µA olarak bulunmuştur.

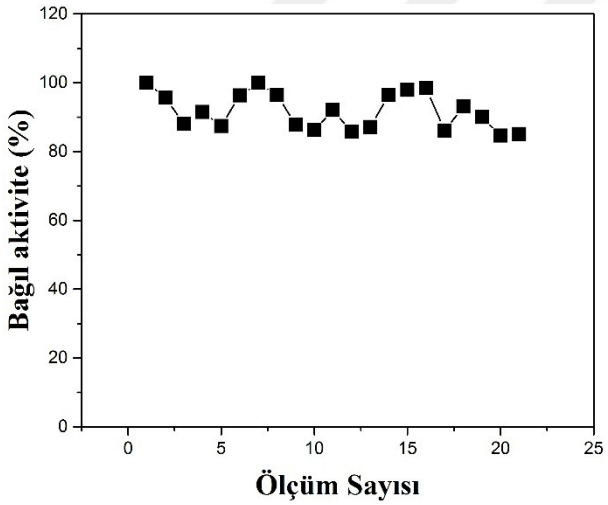


Şekil 4.92. a) Pt/PPy-NFs/GOx-3 enzim elektrodu için 0.01-15 mM arası akım – zaman grafiği ve **b)** gözlenen akım fark değerlerinin glukoz derişimi ile değişimi [0.65 V; pH=6.5; 0.1 M fosfat tamponu, oda sıcaklığı]



Şekil 4.93. a) Pt/PPy-NFs/GOx-3 enzim elektrodunun kalibrasyon grafiği ve **b)** Lineweaver-Burk eğrisi (0.10 M pH 6.5 fosfat tamponu, 0.65 V, oda sıcaklığı)

Pt/PPy-NFs/GOx-3 enzim elektrotlarının kullanım kararlılığının değerlendirilmesi için oda koşullarında aynı gün içerisinde arka arkaya ölçümler yapılmıştır. Ölçümler sonucunda standart sapma ±0.211 olarak ve varyasyon katsayısı (CV) % 10.67 (n=21) olarak hesaplanmıştır. Pt/PPy-NFs/GOx-3elektrodunu 21. kullanımda % 85.07 aktivite gösterdiği bulunmuştur (Şekil 4.94).

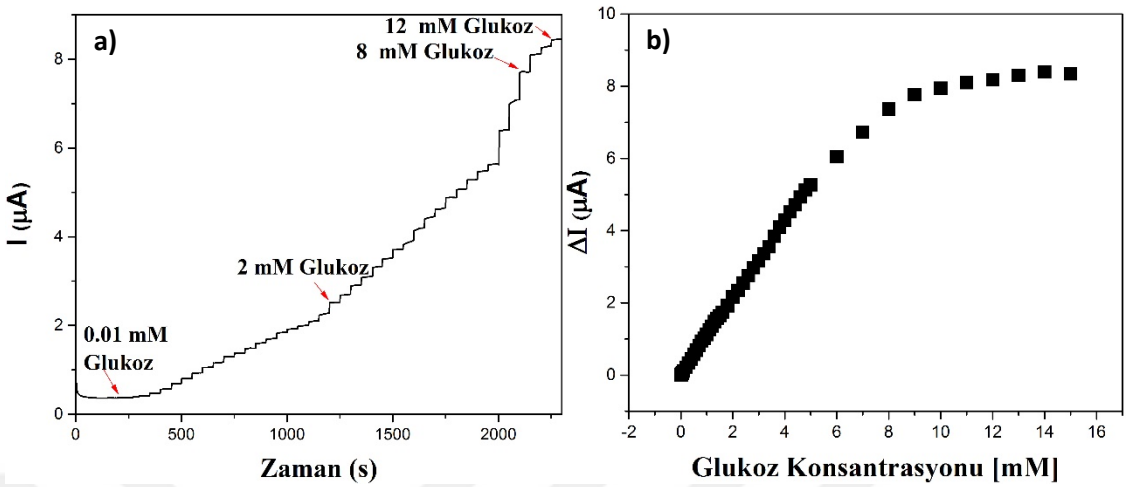


Şekil 4.94. Pt/PPy-NFs/GOx-3'ün art arda kullanılabilirliği

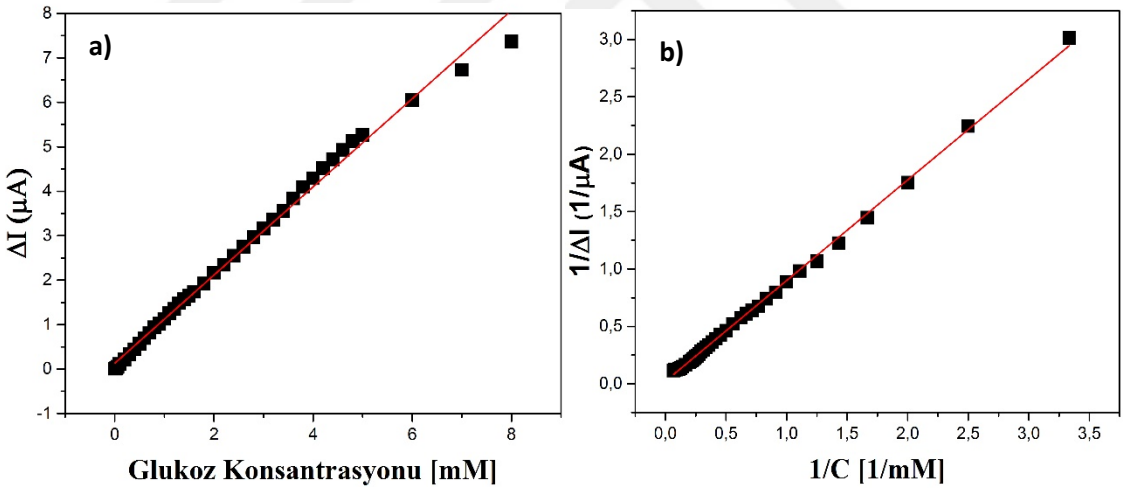
4.9.2.5. Pt/PPy-NFs/GOx-4 biyosensörü ile ilgili kronoamperometrik bulgular

Pt/PPy-NFs/GOx-4 biyosensörü için 0.01 mM-15 mM arası akım –zaman grafiği ve gözlenen akım fark değerlerinin glukoz derişimi ile değişimi Şekil 4.95'te gösterilmiştir. Biyosensörün 0.01 mM – 8 mM aralığında [y=0.99233x+0.12781 (R^2=0.9931)] doğrusal olduğu (Şekil 4.96.a) ve LOD'un 0.0081 mM (8.1 μM) olduğu bulunmuştur. Biyosensörün duyarlılığı ise 31.6 μA/mM.cm^2 olarak bulunmuştur.Şekil

4.96.b'den hesaplanan, K_m ve I_{max} değerleri sırasıyla, 39.9 mM ve 46.6 µA olarak bulunmuştur.

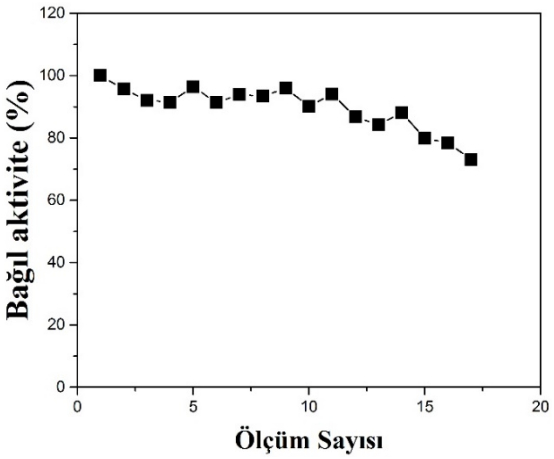


Şekil 4.95. a) Pt/PPy-NFs/GOx-4 enzim elektrodu için 0.01-15 mM arası akım – zaman grafiği ve **b)** gözlenen akım fark değerlerinin glukoz derişimi ile değişimi [0.65 V; pH=6.5; 0.1 M fosfat tamponu, oda sıcaklığı]



Şekil 4.96. a) Pt/PPy-NFs/GOx-4 enzim elektrodunun kalibrasyon grafiği ve **b)** Lineweaver-Burk eğrisi (0.10 M pH 6.5 fosfat tamponu, 0.65 V, oda sıcaklığı)

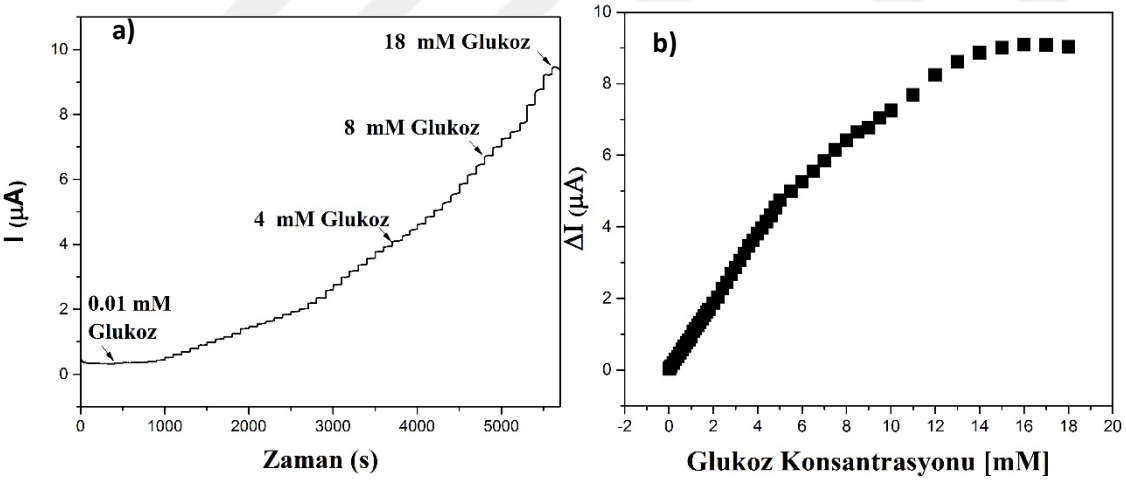
Pt/PPy-NFs/GOx-4 biyosensörünün18. kullanımda % 70.02 aktivite gösterdiği, standart sapmanın ±0.287 olduğu ve varyasyon katsayısının (CV) % 9.29 (n=18) olduğu hesaplanmıştır (Şekil 4.97).



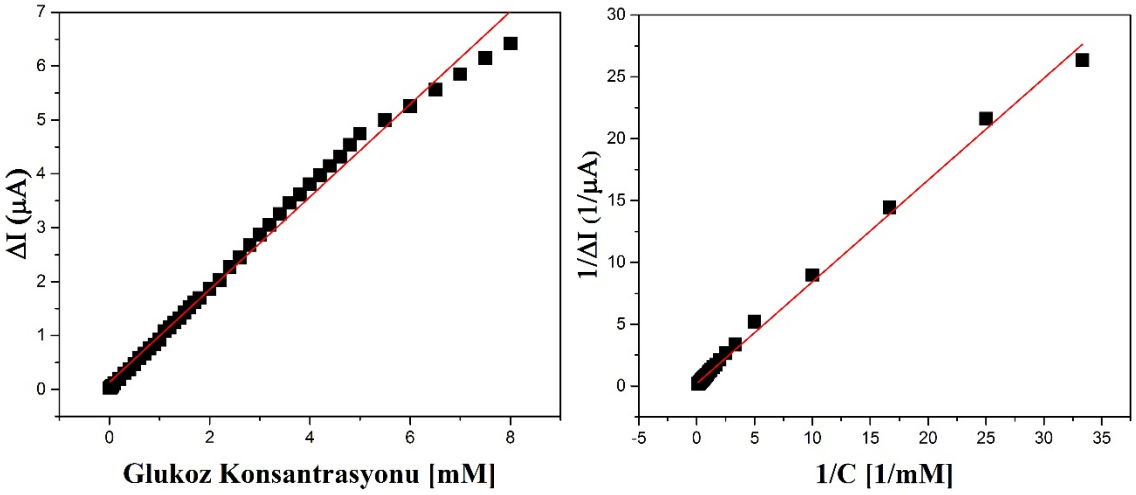
Şekil 4.97. Pt/PPy-NFs/GOx-4'ün art arda kullanılabilirliği

4.9.2.6. Pt/PPy-NFs/GOx-5 biyosensörü ile ilgili kronoamperometrik bulgular

Pt/PPy-NFs/GOx-5 biyosensörü için 0.01-18 mM arası akım –zaman grafiği ve gözlenen akım fark değerlerinin glukoz derişimi ile değişimi Şekil 4.98'de gösterilmiştir. Amperometrik analiz sonucu biyosensörün 0.01 mM – 8 mM lineer aralığında [y=0.86x+0.13196 (R^2=0.99105)] doğrusal olduğu (Şekil 4.99.a), duyarlılığın 42.78 µA/mM.cm^2 olduğu ve LOD'un 0.0031 mM (3.1 µM) olduğu bulunmuştur.



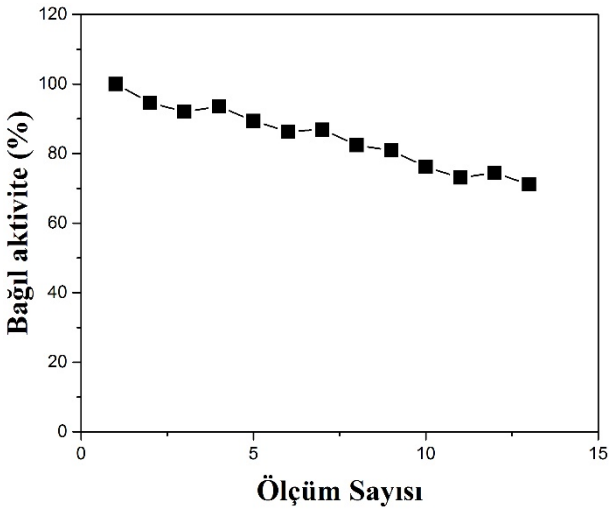
Şekil 4.98. a) Pt/PPy-NFs/GOx-5 enzim elektrodu için 0.01-18 mM arası akım – zaman grafiği ve **b)** gözlenen akım fark değerlerinin glukoz derişimi ile değişimi [0.65 V; pH=6.5; 0.1 M fosfat tamponu, oda sıcaklığı]



Şekil 4.99. a) Pt/PPy-NFs/GOx-5 enzim elektrodunun kalibrasyon grafiği ve **b)** Lineweaver-Burk eğrisi (0.10 M pH 6.5 fosfat tamponu, 0.65 V, oda sıcaklığı)

Pt/PPy-NFs/GOx-5enzim elektrodunun Lineweaver Burk eğrisi çizilerek hazırlanan biyosensör için K_m ve I_{max} değerleri, sırasıyla, 4.17 mM ve 5.07 µA olarak bulunmuştur (Şekil 4.99.b).

Pt/PPy-NFs/GOx-5enzim elektrotlarının kullanım kararlılığının değerlendirilmesi için oda koşullarında, bir gün içerisinde arka arkaya ölçümler yapılmıştır. Ölçümler sonucunda standart sapma ±0.4283 olarak ve varyasyon katsayısı (CV) % 9.48 (n=13) olarak hesaplanmıştır. Pt/PPy-NFs/GOx-5elektrodununun 13. kullanımda % 71.126 aktivite gösterdiği bulunmuştur (Şekil 4.100).



Şekil 4.100. Pt/PPy-NFs/GOx-5'in art arda kullanılabilirliği

Çizelge 4.16'da üretilen tüm biyosensörlerin analitik performansları gösterilmiştir. Biyosensörlerin duyarlılıkları 31.6 µA/mM.cm^2'den 68.95 µA/mM.cm^2'ye ve LOD değerleri 3.1 µM'dan 8.21 µM'a değişiklik göstermiştir.

Kararlılık çalışmaları yapılırken, 0.5 mM glukoz tampon çözeltiye eklenmiş ve değişen akım miktarından % bağıl aktivite değeri hesaplanmıştır. Pt/PPy-NFs/GOx-1 ve Pt/PPy-NFs/GOx-2 biyosensörleri hariç, genellikle diğer biyosensörler 13 kez ve 17 kez art arda kullanımlarda %70 bağıl aktivite göstermiştir. Bu çizelgeye göre, Pt/PPy-NFs/GOx-1 en yüksek kararlılık, en düşük Km, en düşük standart sapma, düşük LOD ve en yüksek duyarlılık gösterdiği için en iyi biyosensör olarak seçilmiştir. Bu nedenle, girişim etkisi, gerçek numune analizi ve raf ömrü gibi çalışmalar yalnızca bu biyosensör için yapılmıştır.

Çizelge 4.16. Pt/PPy-NFs/GOx biyosensörlerinin performansları (+0.65 V)

	PPy-NFs/GOx-1	**PPy-NFs/GOx-2**	**PPy-NFs/GOx-3**	**PPy-NFs/GOx-4**	**PPy-NFs/GOx-5**
Lineer aralık	0.01 – 3.5 mM	0.015– 2.75 mM ve 1 – 4 mM	0.01 – 4.5 mM	0.01 - 8 mM	0.01 - 8 mM
Duyarlılık ($\mu A/mM.cm^2$)	68.95	53.28 ve 40.57	33.98	31.6	42.78
LOD (μM)	7.8	8.21	7.5	8.1	3.1
Kullanım Kararlılığı	20.kullanımda % 90.12	21.kullanımda % 84.64	21.kullanımda % 85.07	18.kullanımda % 70.02	13.kullanımda % 71.126
Std. sapma	±0.047	± 0.315	±0.211	±0.287	±0.4283
Rsd	% 6.77	% 7.19	% 10.67	% 9.29	% 9.48
$\mathbf{K_m}$	1.88	2.49	22.02	39.9	4.17
$\mathbf{I_{max}}$ (μA)	4.76	8.27	17.76	45.6	5.07
Cevap süresi (s)	1-2	1-2	1-2	1-2	200
Lif çapı (nm)	516±2.47	547±2.67	560.44±6.47	-	615.22±7.9

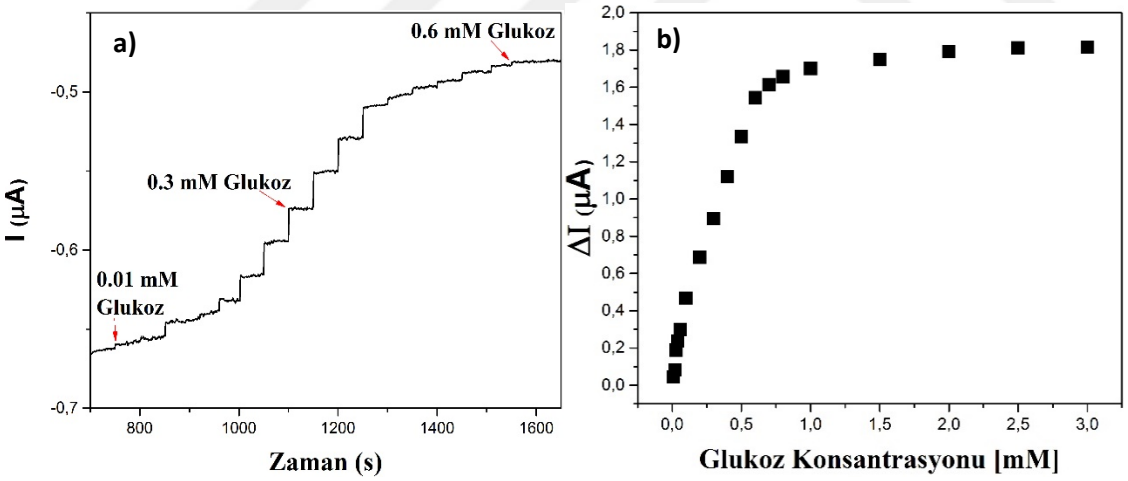
4.9.3. Biyosensörlerin analitik performansının oksijen tüketimi ölçümüne bağlı olarak incelenmesi

Hidrojen peroksit oluşumuna bağlı olarak ölçüm yapılan biyosensörler daha basit olma avantajına sahiptir. İçeceklerde ve yiyeceklerde yaygın olarak bulunan sitrik asit, sükroz, fruktoz ve askorbik asit (AA) gibi birçok elektroaktif türün, yüksek potansiyelde oksitlenebilir olması ve sinyallerinin biyosensörlerin seçiciliğini etkileyebilmesi biyosensörler açısından istenmeyen bir durum oluşturmaktadır. Bu nedenle oksijen tüketiminin ölçülmesi, düşük çalışma potansiyelli bir yaklaşım olarak kabul edilmiş ve glukozun elektrokimyasal tayini için uygulanmıştır (Çetin ve Camurlu 2018).

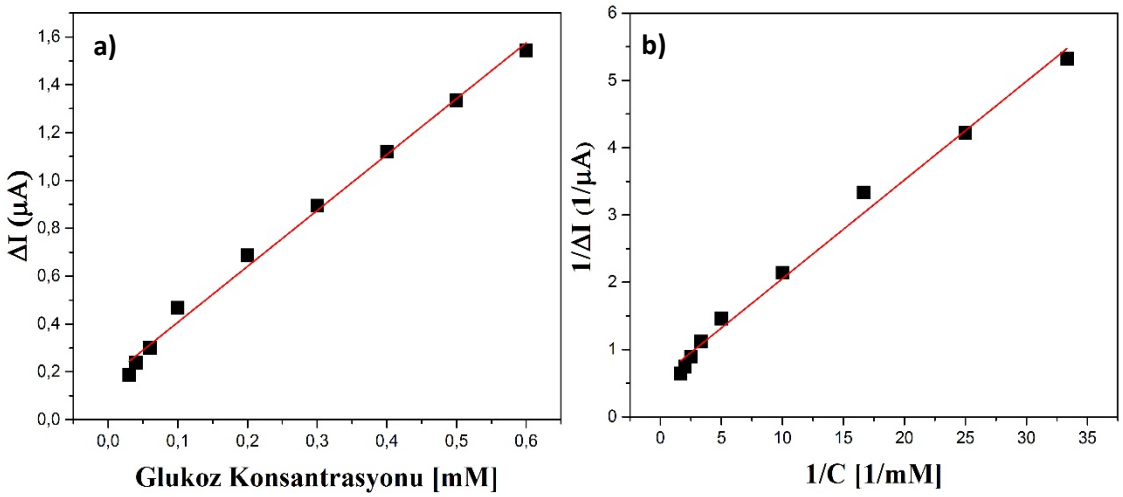
PPy-NFs/GOx nanolifli biyosensörlerin tüm performanslarını görmek için, farklı enzim yüklemelerine sahip Pt/PPy-NFs/GOx-1 ve Pt/PPy-NFs/GOx-3 biyosensörleri hazırlanmış ve -0.65 V'da kronoamperometrik ölçümleri yapılmıştır.

4.9.3.1. Pt/PPy-NFs/GOx-1 biyosensörü ile ilgili kronoamperometrik bulgular

Pt/PPy-NFs/GOx-1 biyosensörü için 0.01 mM -3 mM arası akım –zaman grafiği ve gözlenen akım fark değerlerinin glukoz derişimi ile değişimi Şekil 4.101'de gösterilmiştir. Biyosensörün 0.03 mM – 0.6 mM aralığında [y=2.335x+0.1944 (R^2=0.9935)] doğrusal olduğu (Şekil 4.102.a), LOD'un 0.0701 mM (70.1 µM) olduğu ve duyarlılığın 116.42 µA/mM.cm^2 olduğu bulunmuştur.Pt/PPy-NFs/GOx-1biyosensörü için K_m ve I_{max} değerleri, sırasıyla, 0.25 mM ve 1.69 µA olarak bulunmuştur (Şekil 4.102.b).

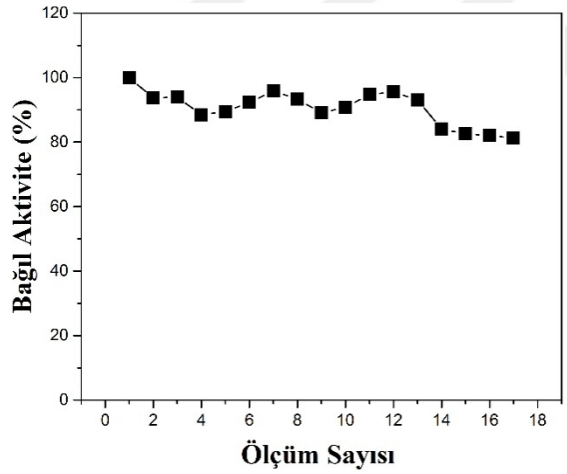


Şekil 4.101. a) Pt/PPy-NFs/GOx-1 için 0.01 mM-3 mM arası akım – zaman grafiği ve **b)** gözlenen akım fark değerlerinin glukoz derişimi ile değişimi (-0.65 V; pH=6.5; 0.1 M fosfat tamponu, oda sıcaklığı)



Şekil 4.102. a) Pt/PPy-NFs/GOx-1 enzim elektrodunun kalibrasyon grafiği ve **b)** Lineweaver-Burk eğrisi (0.10 M pH 6.5 fosfat tamponu, -0.65 V, oda sıcaklığı)

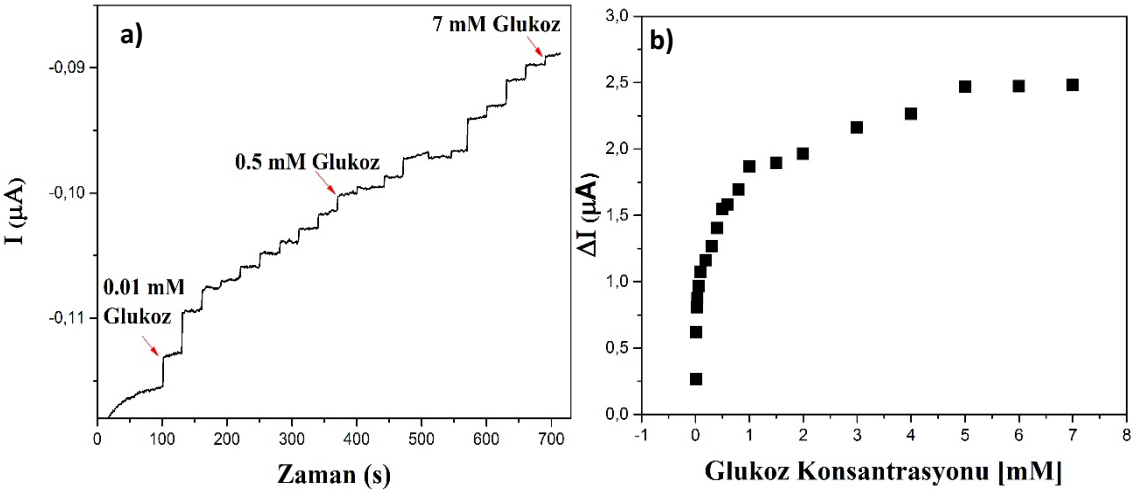
Pt/PPy-NFs/GOx-1biyosensörünün kullanım kararlılığının 17. kullanımda % 81.28 aktivite gösterdiği bulunmuştur (Şekil 4.103). Ölçümler sonucunda standart sapma ±0.874 olarak ve varyasyon katsayısı (CV) % 5.78 (n=17) olarak hesaplanmıştır.



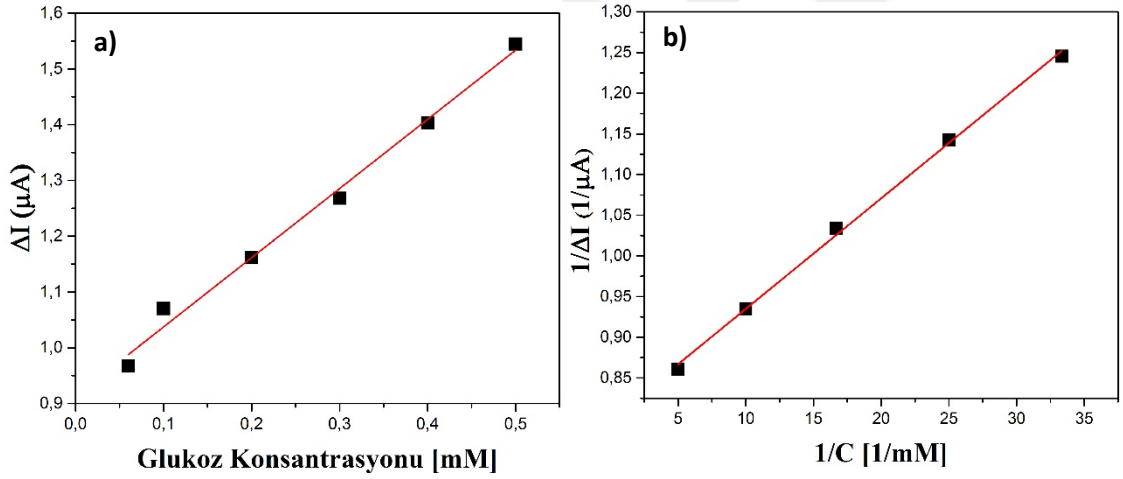
Şekil 4.103. Pt/PPy-NFs/GOx-1'in art arda kullanılabilirliği

4.9.3.2. Pt/PPy-NFs/GOx-3 biyosensörü ile ilgili kronoamperometrik bulgular

Pt/PPy-NFs/GOx-3 biyosensörü için 0.01 mM-7 mM arası akım –zaman grafiği ve gözlenen akım fark değerlerinin glukoz derişimi ile değişimi Şekil 4.104'te gösterilmiştir. Amperometrik analiz sonucu biyosensörün 0.06 mM – 0.5 mM aralığında [y=1.241x+0.9132 (R^2=0.9896)] doğrusal olduğu (Şekil 4.105.b) ve LOD'un 0.289 mM (289 μM) olduğu bulunmuştur. Biyosensörün duyarlılığı 0.06 mM – 0.5 mM için 62.2 μA/mM.cm^2 olarak bulunmuştur.Pt/PPy-NFs/GOx-3biyosensörü için K_m ve I_{max} değerleri sırasıyla 0.017 mM ve 1.252 μA olarak bulunmuştur (Şekil 4.105.b).

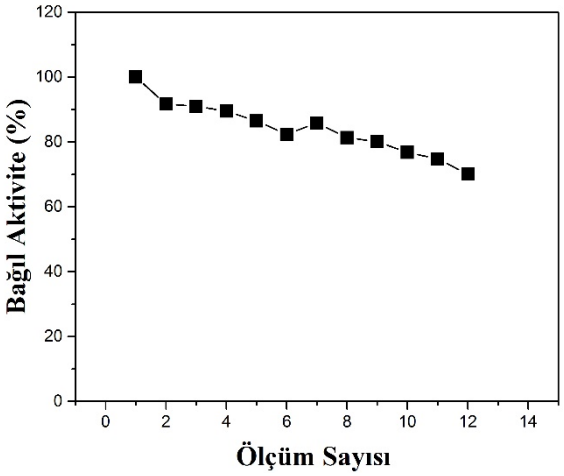


Şekil 4.104. a) Pt/PPy-NFs/GOx-3 için 0.01 mM-7 mM arası akım – zaman grafiği ve **b)** gözlenen akım fark değerlerinin glukoz derişimi ile değişimi (-0.65 V; pH=6.5; 0.1 M fosfat tamponu, oda sıcaklığı)



Şekil 4.105. a) Pt/PPy-NFs/GOx-3 enzim elektrodunun kalibrasyon grafiği ve **b)** Lineweaver-Burk eğrisi (0.10 M pH 6.5 fosfat tamponu, -0.65 V, oda sıcaklığı)

Pt/PPy-NFs/GOx-3biyosensörünün 12. kullanımda % 70.03 aktivite gösterdiği bulunmuştur (Şekil 4.106). Standart sapma ±0.727 olarak ve varyasyon katsayısı (CV) ise % 12.19 (n=12) olarak hesaplanmıştır.



Şekil 4.106. Pt/PPy-NFs/GOx-3'ün art arda kullanılabilirliği

Çizelge 4.17'de Pt/PPy-NFs/GOx-1 ve Pt/PPy-NFs/GOx-3 biyosensörlerinin, oksijen tüketimi ölçümüne dayalı sonuçları gösterilmiştir.

Çizelge 4.17. Pt/PPy-NFs/GOx enzim elektrotlarına ait amperometrik sonuçlar (0.1 M fosfat tamponu, pH:6.5 / -0.65V)

	Pt/PPy-NFs/GOx-1	**Pt/PPy-NFs/GOx-3**
Linear aralık	0.03 – 0.6 mM	0.06 – 0.5 mM
Glukoz duyarlılığı	116.42 µA/mM.cm^2	62.2 µA/mM.cm^2
LOD	0.0701 mM 70.1 µM	0.289 mM 289 µM
Kullanım Kararlığı	17. kullanımda %81.28	12. kullanımda %70.03
Std. sapma	±0.874	±0.727
Rsd	% 5.78	% 12.19
K_m	0.25 mM	0.017 mM
I_{max}	1.69 µA	1.252 µA
Cevap süresi	1-2 s	1-2 s

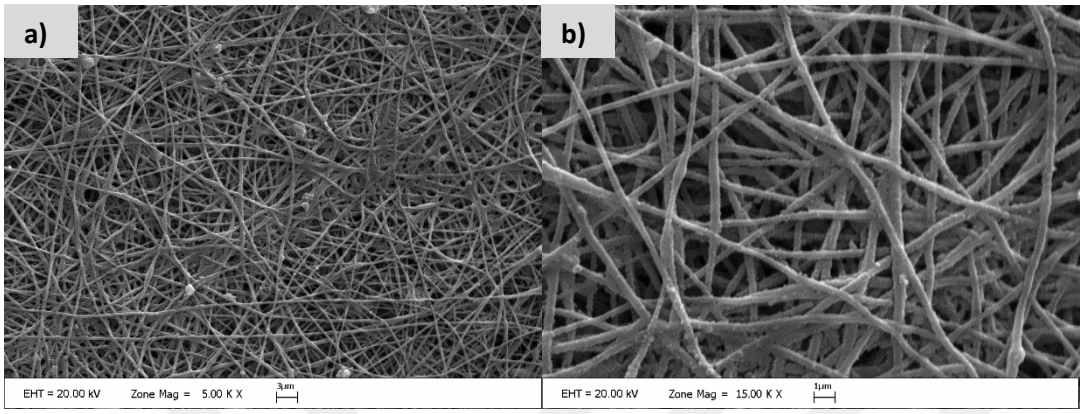
4.10. PPy-MWCNT Nanolifleri ile İlgili Bulgular

4.10.1. PPy-MWCNT nanoliflerinin hazırlanması

Daha önceden belirlenen koşullarda PAN/MWCNT nanolifleri hazırlanmış ve kimyasal buhar polimerizasyonu ile PPy nanolifleri elde edilmiştir.

4.10.2. PPy-MWCNT nanoliflerinin morfolojik analizi

Şekil 4.107'de, PAN/MWCNT içeren nanoliflerin üzerine kaplanan PPy nanolifleri gösterilmiştir. PAN/MWCNT nanoliflerine ait ortalama lif çapı 170 ± 10nm iken PPy-MWCNT nanoliflerinin ortalama lif çapı 234 ± 5 nm olarak bulunmuştur.



Şekil 4.107. PPy-MWCNT nanoliflerine ait SEM görüntüleri **a)** 5000 kat büyütme **b)** 15000 kat büyütme

PPy-MWCNT nanoliflerinin morfolojik analizlerinin ardından elektrokimyasal analizleri de yapılmıştır ve PPy-MWCNT nanoliflerinin elektrokimyasal sinyali, MWCNT'siz çalışmalarda olduğu gibi tarama hızının karekökü ile bir korelasyon ortaya çıkarmıştır. Bu sonuç, redoks davranışının difüzyon kontrollü olduğunu göstermiştir (Çetin ve Camurlu 2018, M. Kumar ve Ando 2010) (EK-2, Şekil 8.2).

4.10.3. PPy-MWCNT tabanlı glukoz biyosensörleri ile ilgili bulgular

PPy-MWCNT nanoliflerinden, Pt/PPy-MWCNT-NFs/GOx glukoz biyosensörleri hazırlanmış ve glukoz biyosensörleri kronoamperometrik yöntemle incelenmiştir. Farklı enzim miktarı içeren elektrotlar Pt/PPy-MWCNT-NFs/GOx-1 (46.25 U GOx), Pt/PPy-MWCNT-NFs/GOx-2 (92.5 U GOx), Pt/PPy-MWCNT-NFs/GOx-3 (185 U GOx) ve Pt/PPy-MWCNT-NFs/GOx-4 (277.5 U GOx) olarak adlandırılmıştır. Hazırlanan enzim elektrotları 0.1 M fosfat tamponu ile yıkanarak kullanıma hazır hale getirilmiş ve elektrotlar 0.1 M, pH=7.0 fosfat tamponu içerisinde buzdolabında +4^{o}C'de saklanmıştır.

4.10.3.1. Biyosensörlerin analitik performanslarının hidrojenperoksit ölçümüne bağlı olarak incelenmesi

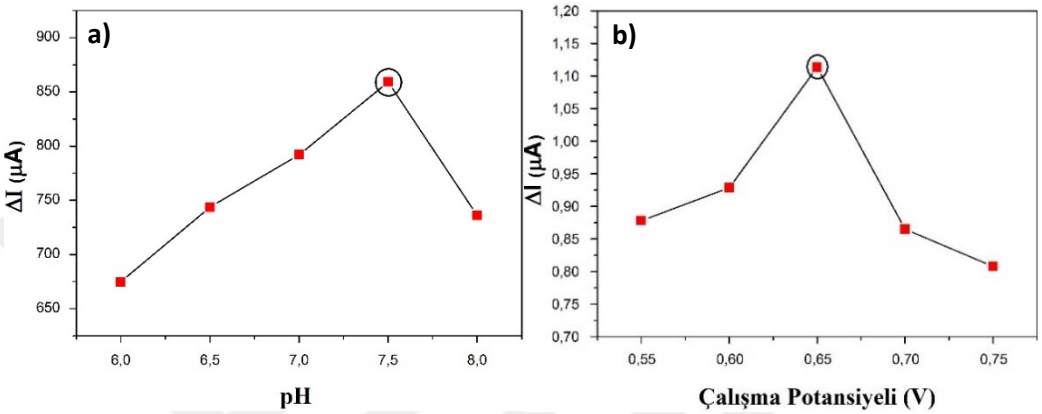
Tampon çözeltinin pH'ı, uygulanan potansiyel ve enzim miktarı gibi parametreler biyosensör performansını etkilediği için, kronoamperometrik ölçümlere başlamadan önce optimum pH ve optimum potansiyel çalışmaları yapılmıştır.

Çalışma potansiyeli ve pH etkisi

Optimum pH ve çalışma potansiyeli çalışmalarında Pt/PPy-MWCNT-NFs/GOx-2 (92.5 U GOx) elektrodu kullanılmıştır. Enzim elektrodunun aktivitesine ortam pH'nın

etkisini araştırmak amacıyla çeşitli pH'larda (5.5 – 8) 0.1 M'lık fosfat tamponları hazırlanmıştır. 0.5 mM glukoz derişiminde, 0.6 V sabit potansiyel uygulandığında kararlı haldeki akım değerleri ölçülerek ΔI'e karşı pH grafiğe geçirilmiştir. Şekil 4.108.a'daki grafikten görüleceği gibi optimum pH 7.5 olarak bulunmuştur.

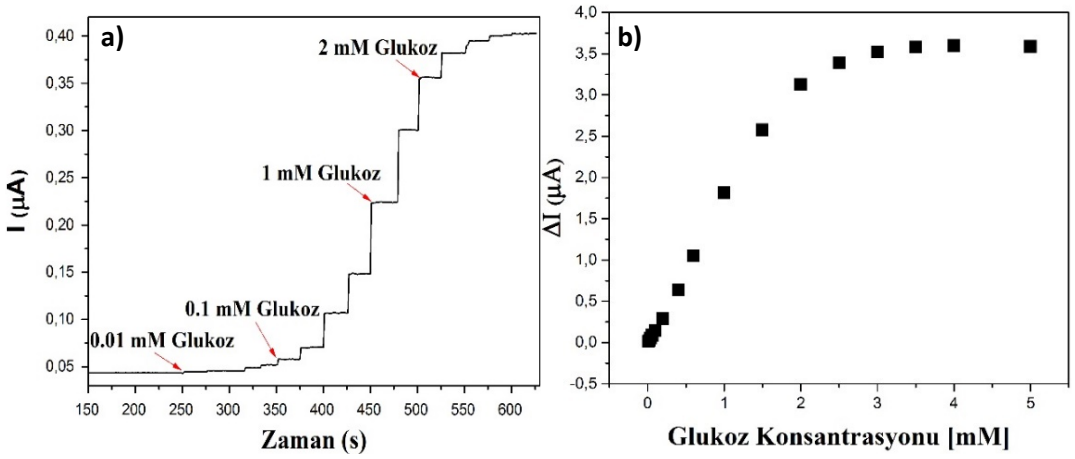
Optimum çalışma potansiyelini belirlemek için, farklı potansiyeller (0.55 V– 0.75 V potansiyeller arasında) uygulanarak 0.5 mM derişiminde glukoz sisteme ilave edilmiş ve akım şiddetleri ölçülmüştür. Potansiyele karşı akım şiddeti değişimi grafiğe (Şekil 4.108.b) geçirilmiş ve 0.65 V optimum uygulama potansiyeli olarak belirlenmiştir.



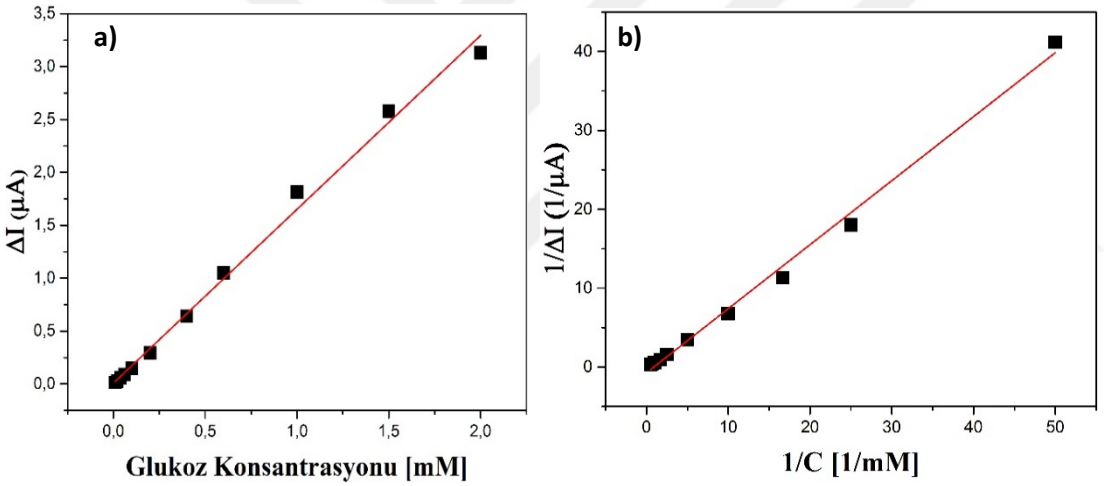
Şekil 4.108. Pt/PPy-MWCNT-NFs/GOx enzim biyosensörü için akım farkına karşı **a)** pH ve **b)** potansiyel grafiği

Pt/PPy-MWCNT-NFs/GOx-1 biyosensörü ile ilgili kronoamperometrik bulgular

Pt/PPy-MWCNT-NFs/GOx-1 biyosensörü için 0.01 mM-5 mM arası akım – zaman grafiği ve gözlenen akım fark değerlerinin glukoz derişimi ile değişimi Şekil 4.109'da gösterilmiştir. Biyosensörün 0.01 mM – 2 mM aralığında [y=1.643x+0.0069 (R^2=0.997)] doğrusal olduğu (Şekil 4.110.a) ve LOD'un 0.00238 mM (2.38 μM) olduğu bulunmuştur. Biyosensörün duyarlılığı 81.74 μA/mM.cm^2 olarak bulunmuştur.Şekil 4.110.b'deki grafikten biyosensör için K_m ve I_{max} değerleri sırasıyla 1.13 mM ve 1.39 μA olarak bulunmuştur.

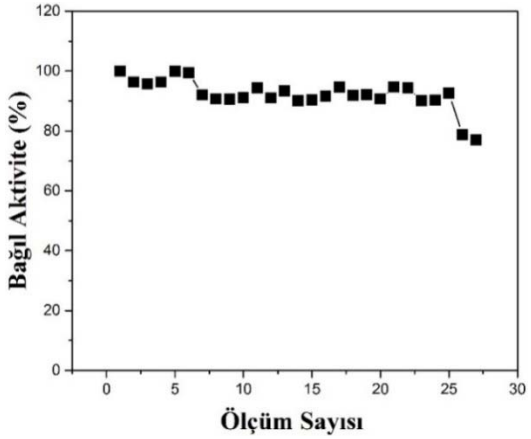


Şekil 4.109. a) Pt/PPy-MWCNT-NFs/GOx-1 için 0.01 mM-5 mM arası akım – zaman grafiği ve **b)** gözlenen akım fark değerlerinin glukoz derişimi ile değişimi (0.65 V; pH=7.5; 0.1 M fosfat tamponu, oda sıcaklığı)



Şekil 4.110. a) Pt/PPy-MWCNT-NFs/GOx-1 enzim elektrodunun kalibrasyon grafiği ve **b)** Lineweaver-Burk eğrisi (0.10 M pH 7.5 fosfat tamponu, 0.65 V, oda sıcaklığı)

Pt/PPy-MWCNT-NFs/GOx-1 enzim elektrotlarının kullanım kararlılığının değerlendirilmesi için oda koşullarında, bir gün içerisinde arka arkaya ölçümler yapılmış ve standart sapma ±0.0396 ve varyasyon katsayısı (CV) % 3.275 (n=27) olarak hesaplanmıştır. Pt/PPy-MWCNT-NFs/GOx-1elektrodunun 27. kullanımda % 77.07 aktivite gösterdiği bulunmuştur (Şekil 4.111).



Şekil 4.111. Pt/PPy-MWCNT-NFs/GOx-1'in art arda kullanılabilirliği

MWCNT kullanımının sensör duyarlılığı üzerine etkisinin daha net değerlendirilebilmesi için aynı enzim miktarına sahip MWCNT'li ve MWCNT'siz PPy tabanlı glukoz biyosensörleri karşılaştırılırken her iki biyosensörde aynı lineer aralıkta tekrar değerlendirilmiştir.Pt/PPy-MWCNT-NFs/GOx-1 biyosensörünün, aynı miktarda GOx içeren ancak MWCNT içermeyen Pt/PPy-NFs/GOx-1 biyosensörine göre daha yüksek duyarlılık gösterdiği ve daha düşük LOD'a sahip olduğu bulunmuştur (Çizelge 4.18).

Çizelge 4.18. Pt/PPy-NFs/GOx-1 ve Pt/PPy-MWCNT-NFs/GOx-1 biyosensörlerinin karşılaştırılması

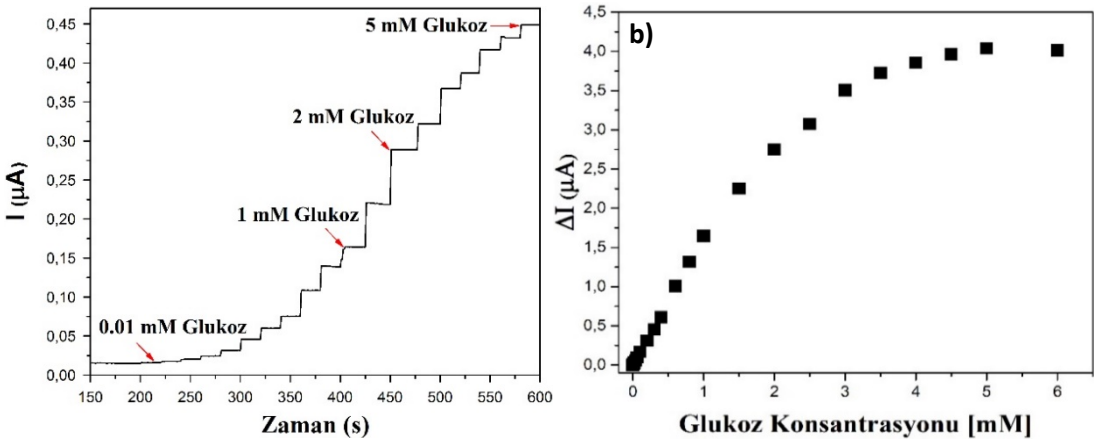
0.01 mM – 2 mM aralığında	**Pt/PPy-NFs/GOx-1**	**Pt/PPy-MWCNT-NFs/GOx-1**
Duyarlılık (µA/mM.cm^2)	77.42	81.74
LOD (µM)	7.8	2.38
K_m (mM)	1.42	1.13
I_{max} (µA)	3.76	1.4

Pt/PPy-MWCNT-NFs/GOx-2 biyosensörü ile ilgili kronoamperometrik bulgular

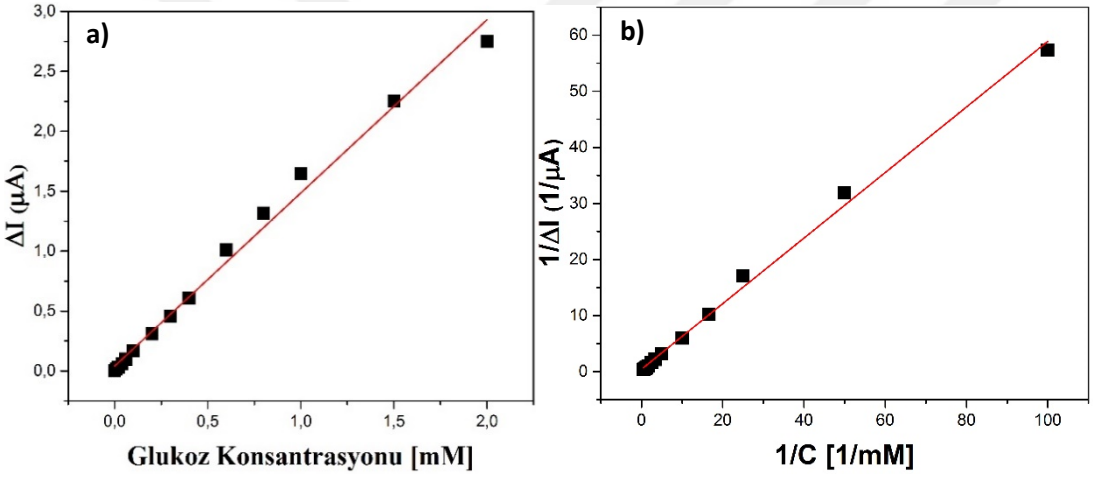
Pt/PPy-MWCNT-NFs/GOx-2 biyosensörü için 0.01 mM-6 mM arasıakım – zaman grafiği ve gözlenen akım fark değerlerinin glukoz derişimi ile değişimi Şekil 4.112'de gösterilmiştir. Amperometrik analiz sonucu biyosensörün 0.01 mM – 2 mM aralığında [y=1.445x+0.0397 (R^2=0.995)] doğrusal olduğu (Şekil 4.113.a) ve LOD'un 0.00282 mM (2.82 µM) olduğu bulunmuştur. Biyosensörün duyarlılığı 71.9 µA/mM.cm^2 olarak bulunmuştur.

Şekil 4.113, Pt/PPy-MWCNT-NFs/GOx-2 enzim elektrodunun kalibrasyon grafiğini (Şekil 4.113.a) ve Lineweaver Burk grafiğini (Şekil 4.113.b) verir. Biyosensör için K_m ve I_{max} değerleri sırasıyla 1.4 mM ve 2.4 µA olarak bulunmuştur.

a)



Şekil 4.112. a) Pt/PPy-MWCNT-NFs/GOx-2 için 0.01 mM-6 mM arası akım – zaman grafiği ve **b)** gözlenen akım fark değerlerinin glukoz derişimi ile değişimi



Şekil 4.113. a) Pt/PPy-MWCNT-NFs/GOx-2 enzim elektrodunun kalibrasyon grafiği ve **b)** Lineweaver-Burk eğrisi (0.10 M pH 7.5 fosfat tamponu, 0.65 V, oda sıcaklığı)

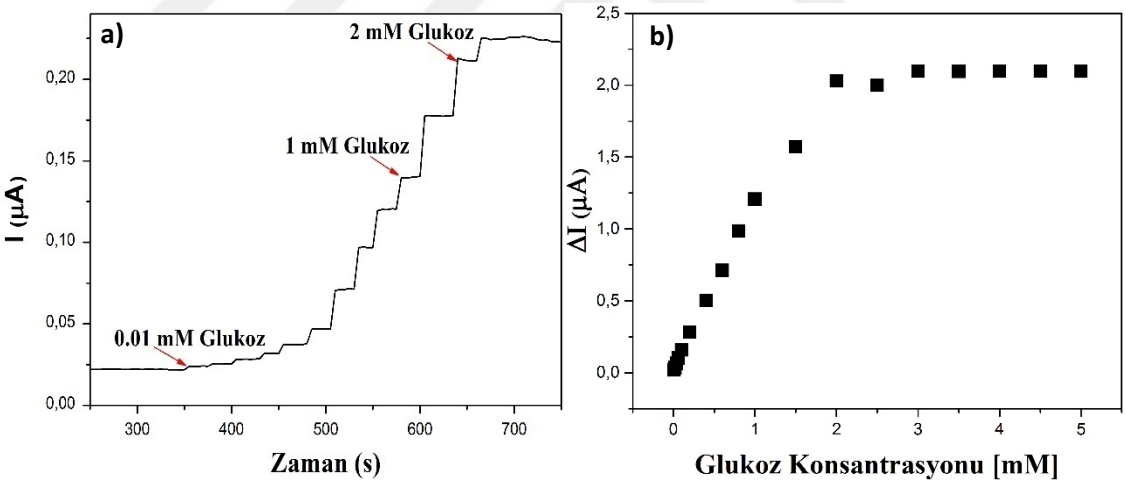
Yapılan çalışmalar sonucunda, Pt/PPy-MWCNT-NFs/GOx-2 biyosensörünün, aynı miktarda GOx içeren ancak MWCNT içermeyen biyosensöre göre daha yüksek duyarlılık gösterdiği, daha düşük LOD'a ve Km değerine sahip olduğu bulunmuştur (Çizelge 4.19). Aynı enzim miktarına sahip MWCNT'li ve MWCNT'siz PPy tabanlı glukoz biyosensörleri karşılaştırılırken her iki biyosensör için de aynı lineer aralıktaki değerler çizelgede gösterilmiştir.

Çizelge 4.19. Pt/PPy-NFs/GOx-2 ve Pt/PPy-MWCNT-NFs/GOx-2 biyosensörlerinin karşılaştırılması

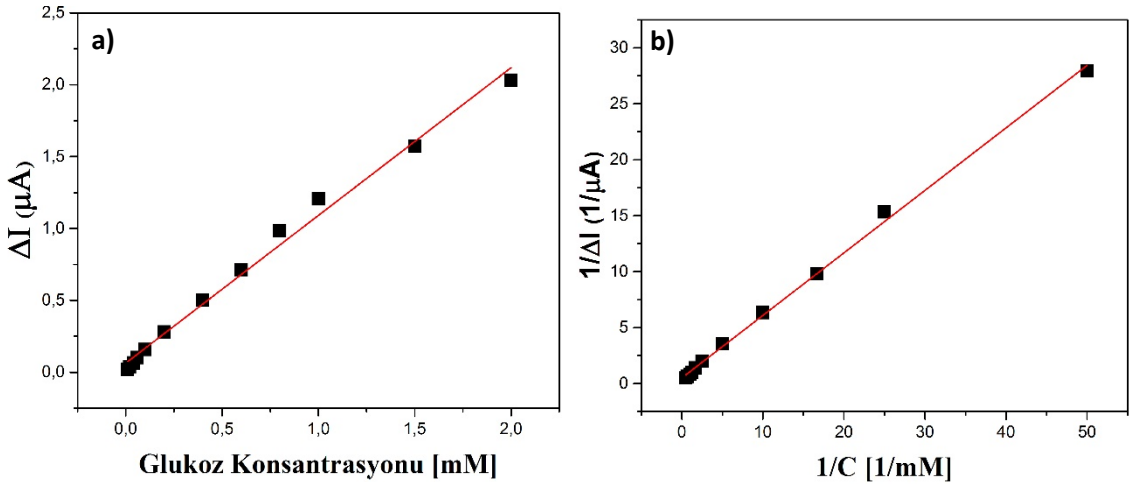
0.01 mM – 2 mM aralığında	**Pt/PPy-NFs/GOx-2**	**Pt/PPy-MWCNT-NFs/GOx-2**
Duyarlılık (µA/mM.cm^2)	56.022	71.9
LOD (µM)	8.21	2.82
K_m (mM)	2.34	1.403
I_{max} (µA)	7.745	2.4

Pt/PPy-MWCNT-NFs/GOx-3 biyosensörü ile ilgilikronoamperometrik bulgular

Pt/PPy-MWCNT-NFs/GOx-3 biyosensörü için 0.01 mM-5 mM arasıakım – zaman grafiği ve gözlenen akım fark değerlerinin glukoz derişimi ile değişimi Şekil 4.114'te gösterilmiştir. Biyosensörün 0.01 mM – 2 mM lineer aralığında [y=1.027x+0.06326 (R^2=0.990)] doğrusal ilişki olduğu (Şekil 4.115.a), duyarlılığın 51.09 µA/mM.cm^2 olduğu ve tespit sınırının ise 0.00243 mM (2.43 µM) olduğu bulunmuştur. Şekil 4.115.b'deki grafikten K_m ve I_{max} değerleri sırasıyla 1.11 mM ve 1.98 µA olarak bulunmuştur.



Şekil 4.114. a) Pt/PPy-MWCNT-NFs/GOx-3 için 0.01 mM-5 mM arası akım – zaman grafiği ve **b)** gözlenen akım fark değerlerinin glukoz derişimi ile değişimi (0.65 V; pH=7.5; 0.1 M fosfat tamponu, oda sıcaklığı)



Şekil 4.115. a) Pt/PPy-MWCNT-NFs/GOx-3 enzim elektrodunun kalibrasyon grafiği ve **b)** Lineweaver-Burk eğrisi (0.10 M pH 7.5 fosfat tamponu, 0.65 V, oda sıcaklığı)

Aynı enzim miktarına sahip MWCNT'li ve MWCNT'siz PPy tabanlı glukoz biyosensörleri karşılaştırılırken her iki biyosensör içinde aynı lineer aralıktaki değerler Çizelge 4.20'de gösterilmiştir. Pt/PPy-MWCNT-NFs/GOx-3 biyosensörünün, aynı miktarda GOx içeren ancak MWCNT içermeyen biyosensöre göre daha yüksek duyarlılık gösterdiği ve daha düşük LOD'a sahip olduğu bulunmuştur (Çizelge 4.20).

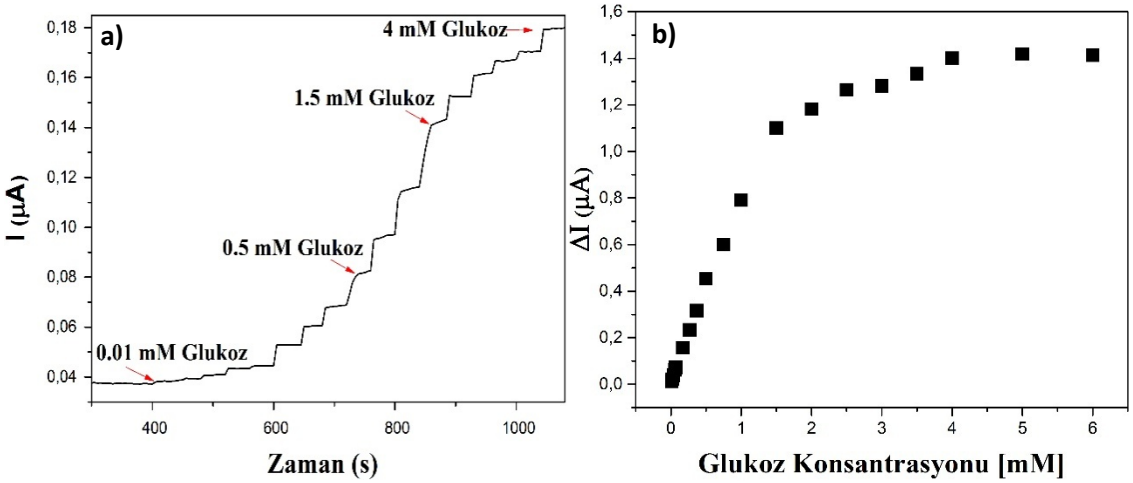
Çizelge 4.20. Pt/PPy-NFs/GOx-3 ve Pt/PPy-MWCNT-NFs/GOx-3 biyosensörlerinin karşılaştırılması

0.01 mM – 2 mM aralığında	**Pt/PPy-NFs/GOx-3**	**Pt/PPy-MWCNT-NFs/GOx-3**
Duyarlılık (μA/mM.cm^2)	37.21	51.09
LOD (μM)	7.50	2.43
K_m (mM)	20.06	1.11
I_{max} (μA)	16.21	1.98

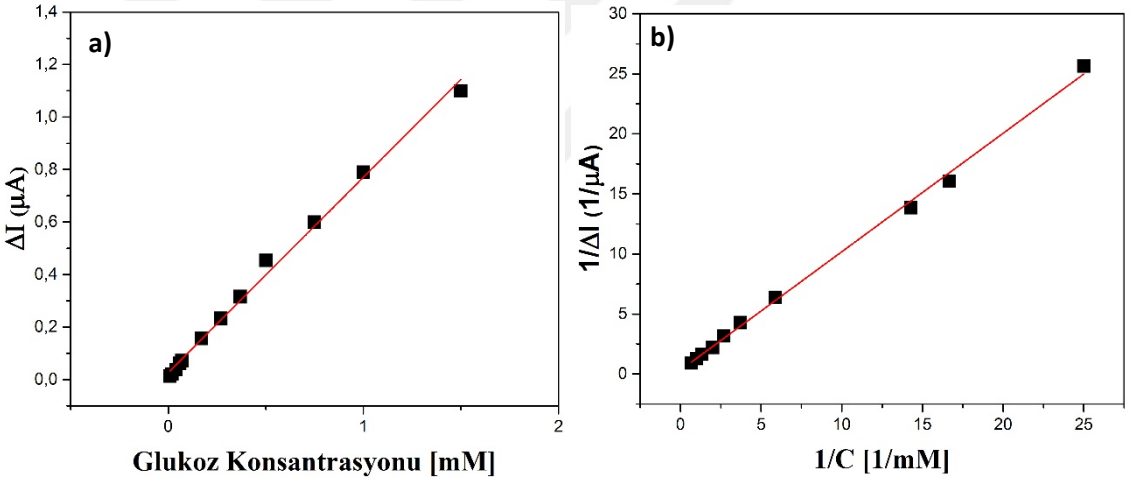
Pt/PPy-MWCNT-NFs/GOx-4 biyosensörü ile ilgilikronoamperometrik bulgular

Pt/PPy-MWCNT-NFs/GOx-4 biyosensörü için 0.01 mM-6 mM arasıakım – zaman grafiği ve gözlenen akım fark değerlerinin glukoz derişimi ile değişimi Şekil 4.116'da gösterilmiştir. Biyosensörün 0.01 mM – 1.5 mM aralığında [y=0.744x+0.0262 (R^2=0.9943)] doğrusal olduğu (Şekil 4.117.a) ve LOD'un 0.00376 mM (3.76 μM) olduğu bulunmuştur. Biyosensörün duyarlılığı 0.01 mM – 1.5 mM için 37.01 μA/mM.cm^2 olarak bulunmuştur.

Şekil 4.117.a, Pt/PPy-MWCNT-NFs/GOx-4 enzim elektrodunun kalibrasyon grafiğini ve Şekil 4.117.b,Lineweaver Burk grafiğini verir. Biyosensör için K_m ve I_{max} değerleri sırasıyla 3.1 mM ve 3.141 μA olarak bulunmuştur.



Şekil 4.116. a) Pt/PPy-MWCNT-NFs/GOx-4 için 0.01 mM-6 mM arası akım – zaman grafiği ve **b)** gözlenen akım fark değerlerinin glukoz derişimi ile değişimi (0.65 V; pH=7.5; 0.1 M fosfat tamponu, oda sıcaklığı)



Şekil 4.117. a) Pt/PPy-MWCNT-NFs/GOx-4 enzim elektrodunun kalibrasyon grafiği ve **b)** Lineweaver-Burk eğrisi (0.10 M pH 7.5 fosfat tamponu, 0.65 V, oda sıcaklığı)

Aynı enzim miktarına sahip Pt/PPy-MWCNT-NFs/GOx-4 ve Pt/PPy-NFs/GOx-4 biyosensörleri karşılaştırılırken her iki biyosensör için de aynı doğrusal aralıktaki değerler çizelgede gösterilmiştir. Pt/PPy-MWCNT-NFs/GOx-4 biyosensörünün, aynı miktarda GOx içeren, ancak MWCNT içermeyen biyosensör ile aynı duyarlılığı gösterdiği ancakçok daha düşük LOD'a ve daha düşük Km değerine sahip olduğu bulunmuştur (Çizelge 4.21).

Çizelge 4.21. Pt/PPy-NFs/GOx-4 ve Pt/PPy-MWCNT-NFs/GOx-4 biyosensörlerinin karşılaştırılması

0.01 mM – 1.5 mM aralığında	**Pt/PPy-NFs/GOx-4**	**Pt/PPy-MWCNT-NFs/GOx-4**
Duyarlılık (μA/mM.cm^2)	36.03	37.01
LOD (μM)	39.90	3.76
K_m (mM)	16.14	3.10
I_{max} (μA)	17.39	3.14

Çizelge 4.22'de üretilen tüm PPy-MWCNT-NFs/GOx biyosensörlerinin performansları gösterilmiştir. Biyosensörlerin duyarlılıkları 37.01 μA/mM.cm^2'den 81.74 μA/mM.cm^2'ye, LOD değerleri 2.38 μM'dan 3.76 μM'a değişiklik göstermiştir. Bu çizelgeye göre, Pt/PPy-MWCNT-NFs/GOx-1 en düşük Km, en düşük LOD ve en yüksek duyarlılık gösterdiği için en iyi enzim konsantrasyonunun GOx-1 olduğu düşünülmüştür. Bu nedenle kararlılık ve raf ömrü gibi çalışmalar yalnızca bu biyosensör için yapılmıştır.

Çizelge 4.22.PPy-MWCNT-NFs/GOx biyosensörlerinin performansları (+0.65V)

Biyosensör	**Lineer Aralık (mM)**	**Duyarlılık (μA/mM.cm^{-2})**	**LOD (μM)**	**Km (mM)**
Pt/PPy-MWCNTs-NFs/GOx-1	0.01 - 2.0	81.74	2.38	1.13
Pt/PPy-MWCNTs-NFs/GOx-2	0.01 - 2.0	71.90	2.82	1.40
Pt/PPy-MWCNTs-NFs/GOx-3	0.01 - 2.0	50.25	2.43	1.11
Pt/PPy-MWCNTs-NFs/GOx-4	0.01 - 1.5	37.01	3.76	3.10

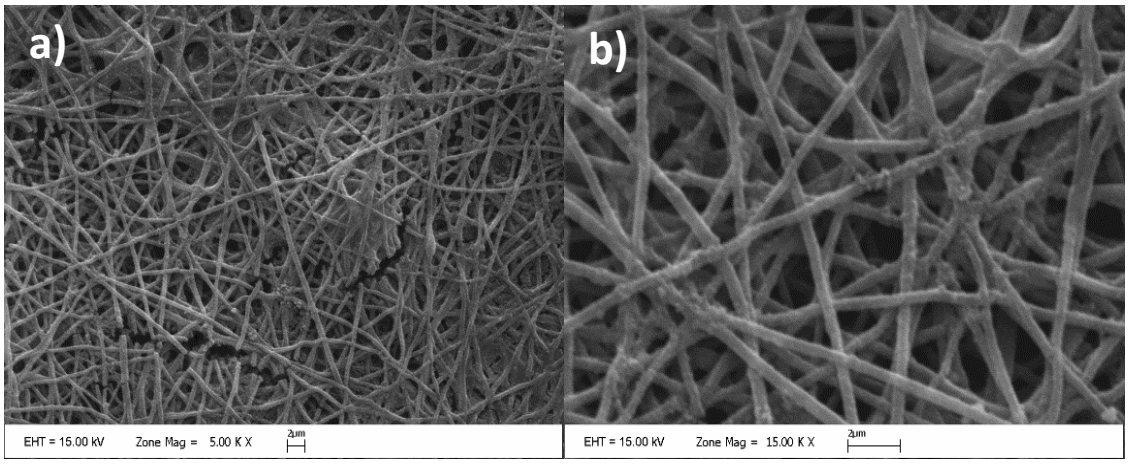
4.11. PPy Tabanlı Polifenol Biyosensörleri ile İlgili Bulgular

Pt/PPy-NFs elektrotları daha önceden belirlenen koşullarda hazırlanmış ve elektrot yüzeylerine farklı konsantrasyonlardaki PPO enzimleri immobilize edilmiştir. Hazırlanan polifenol biyosensörleri kronoamperometrik yöntemle katodik olarak incelenmiş ve farklı enzim birimleri içeren elektrotlar, Pt/PPy-NFs/PPO-1 (67.175 U) , Pt/PPy-NFs/PPO-2 (134.35 U), Pt/PPy-NFs/PPO-3 (268.7 U) ve Pt/PPy-NFs/PPO-4 (403.1 U) olarak adlandırılmıştır.

4.11.1. Pt/PPy-NFs/PPO elektrotlarının morfolojik analizi

Hazırlanan Pt/PPy-NFs/PPO elektrotlarının enzim immobilizasyonu sonucu morfolojilerindeki ve lif çaplarındaki meydana gelen değişimi incelemek için, taramalı

elektron mikroskobu (SEM) kullanılmıştır. 134.35 U PPO içeren PPy nanoliflerinin lif çapı 647 ± 25 nm ölçülmüştür (Şekil 4.118).

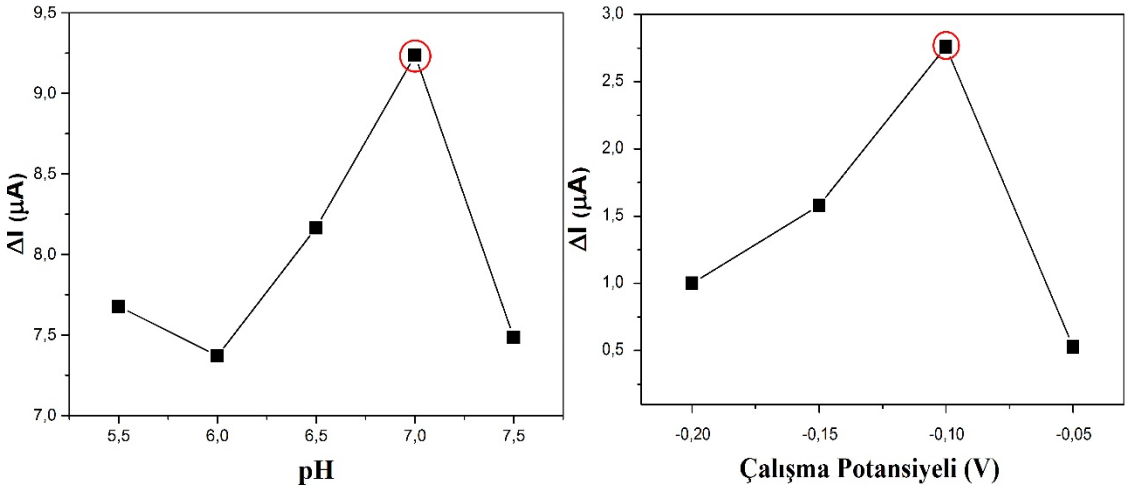


Şekil 4.118. Pt/PPy-NFs/PPO-2 nanoliflerine ait SEM görüntüleri **a)** 5000 kat büyütme, **b)**15000 kat büyütme

4.11.2. Çalışma potansiyeli ve pH etkisi

Biyosensörler için ampreometrik ölçümlere başlamadan önce optimizasyon işlemleri yapılmıştır. Burada Pt/PPy-NFs/PPO-2 (134.35 U GOx) elektrodu kullanılmıştır ve ilk olarak çeşitli pH'larda (5.5–7.5) 0.1M'lık fosfat tamponları hazırlanmıştır. Farklı pH'taki fosfat tamponlarında -0.2 V sabit potansiyelde, 0.5 mM katekol sisteme eklenmiş ve kararlı haldeki akım değerleri ölçülerek ΔI'e karşı pH grafiğine geçirilmiştir. Şekil 119.a'daki grafikten görüleceği gibi optimum pH 7 olarak bulunmuştur (Şekil 4.119.a).

Optimum pH belirlendikten sonra, optimum çalışma potansiyeli için 0.5 mM katekol sisteme eklenmiş ve çeşitli potansiyeller (-0.2 V ile -0.05 V arasında) uygulanarak kararlı haldeki akım değerleri ölçülmüş ve ΔI'e karşı potansiyel grafiğine geçirilmiştir (Şekil 4.119.b). Optimum çalışma potansiyeli -0.1 V olarak belirlenmiştir.

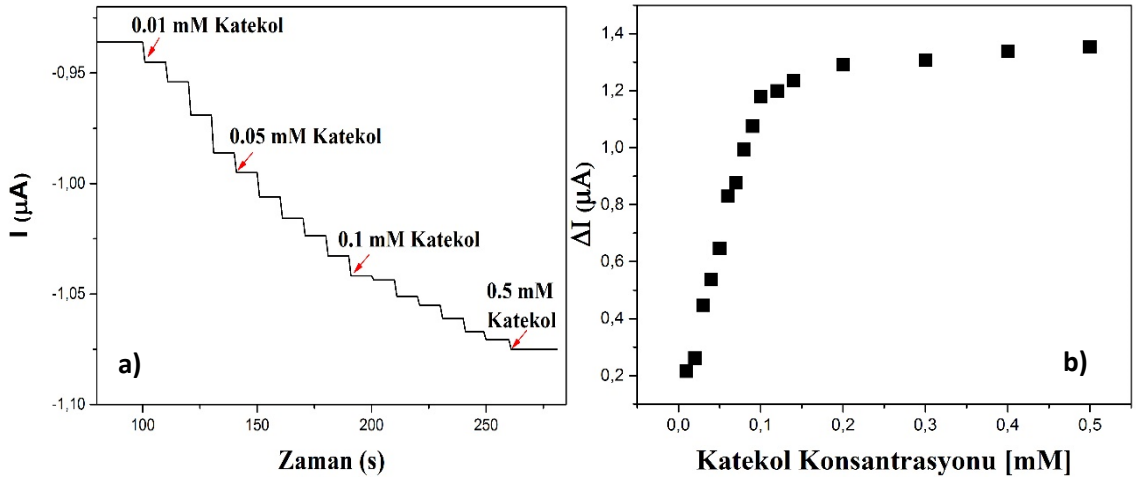


Şekil 4.119. Pt/PPy-NFs/PPO enzim biyosensörü için akım farkına karşı **a)** pH ve **b)** potansiyel grafiği

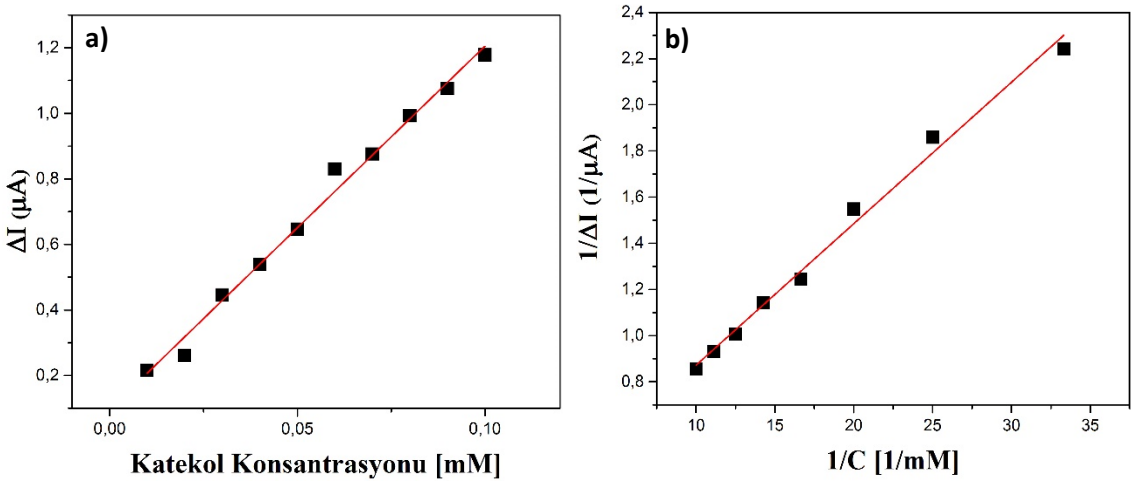
4.11.3. Pt/PPy-NFs/PPO-1 biyosensörü ile ilgili kronoamperometrik bulgular

Pt/PPy-NFs/PPO-1 biyosensörü için 0.01 mM-0.5 mM arasıakım –zaman grafiği ve gözlenen akım fark değerlerinin katekol derişimi ile değişimi Şekil 4.120'de gösterilmiştir. Biyosensörün 0.01 mM – 0.1 mM (10 µM-100 µM) aralığında [y=11.089x+0.0958 (R^2=0.989)] doğrusal olduğu (Şekil 4.121.a), duyarlılığın 551.73 µA/mM.cm^2 olduğu ve LOD'un 0.0121 mM (12.1 µM) olduğu bulunmuştur.

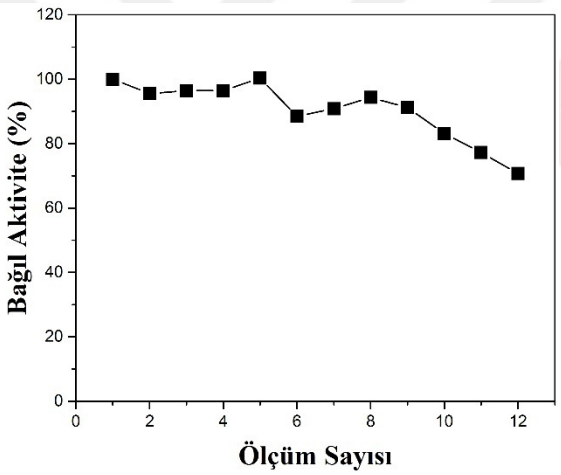
Şekil 4.121, Pt/PPy-NFs/PPO-1 enzim elektrodunun kalibrasyon grafiğini (Şekil 4.121.a) ve Lineweaver Burk grafiğini (Şekil 4.121.b) verir. Biyosensör için K_m ve I_{max} değerleri, sırasıyla, 0.24 mM ve 3.865 µA olarak bulunmuştur.



Şekil 4.120. a) Pt/PPy-NFs/PPO-1 için 0.01 mM-0.5 mM arası akım – zaman grafiği ve **b)** gözlenen akım fark değerlerinin katekol derişimi ile değişimi (-0.1 V; pH=7; 0.1 M fosfat tamponu, oda sıcaklığı)



Şekil 4.121. Pt/PPy-NFs/PPO-1 enzim elektrodunun kalibrasyon grafiği **a)** ve Lineweaver-Burk eğrisi **b)** (0.10 M pH 7 fosfat tamponu, -0.1 V, oda sıcaklığı)



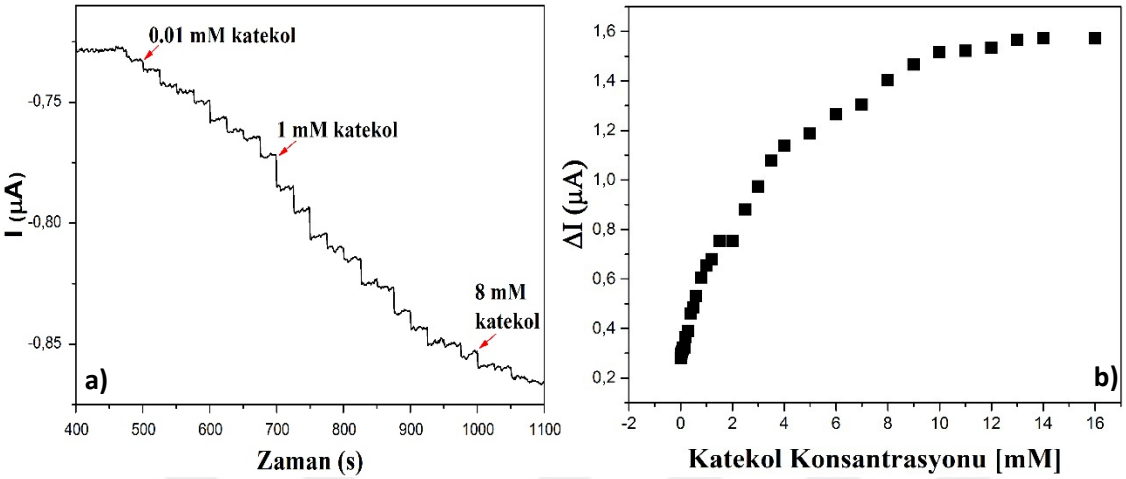
Şekil 4.122. Pt/PPy-NFs/PPO-1'in art arda kullanılabilirliği

Pt/PPy-NFs/PPO-1 enzim elektrotlarının kullanım kararlılığının değerlendirilmesi için oda koşullarında aynı gün içerisinde 0.5 mM katekol eklenerek arka arkaya ölçümler yapılmıştır. Alınan ölçümler sonucunda standart sapma ±0.0294 olarak ve varyasyon katsayısı (CV) % 9.71 (n=12) olarak hesaplanmıştır. Pt/PPy-NFs/PPO-1elektrodunun 27. kullanımda % 70.71 aktivite gösterdiği bulunmuştur (Şekil 4.122).

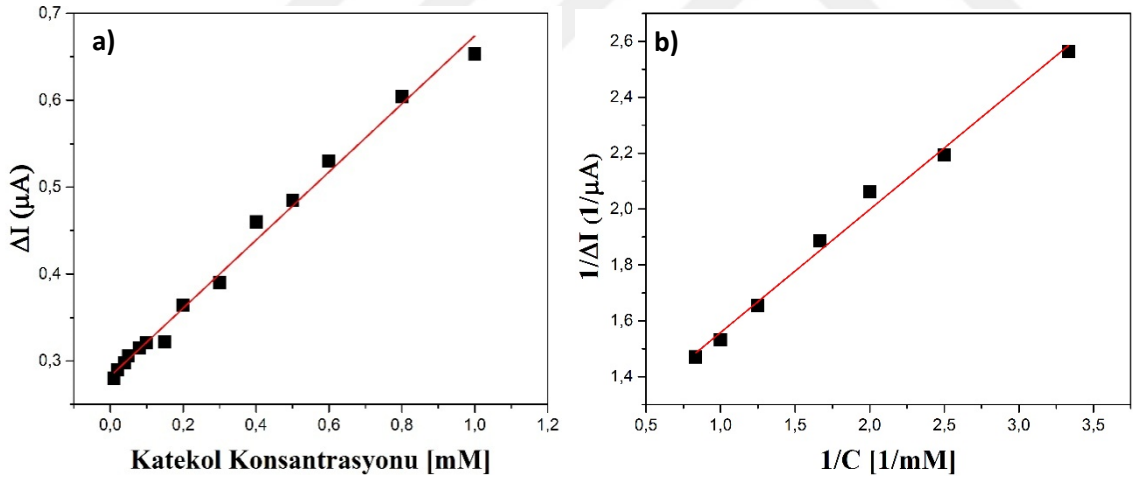
4.11.4. Pt/PPy-NFs/PPO-2 biyosensörü ile ilgili kronoamperometrik bulgular

Pt/PPy-NFs/PPO-2 biyosensörü için 0.01 mM-16 mM arasıakım –zaman grafiği ve gözlenen akım fark değerlerinin katekol derişimi ile değişimi Şekil 4.122'de gösterilmiştir. Amperometrik analiz sonucu biyosensörün 0.01 mM – 1 mM (10 µM-1000 µM) aralığında [y=0.3915x+0.2824 (R^2=0.9908)] doğrusal olduğu (Şekil 4.123.a), tespit

sınırının ise 0.01389 mM (13.89 µM) olduğu bulunmuştur. Biyosensörün duyarlılığı 0.01 mM – 1 mM için 19.48 µA/mM.cm^2 olarak bulunmuştur.Şekil 4.123.b grafiğinden hesaplanan K_m ve I_{max} değerleri, sırasıyla, 0.05 mM ve 0.337 µA olarak bulunmuştur.

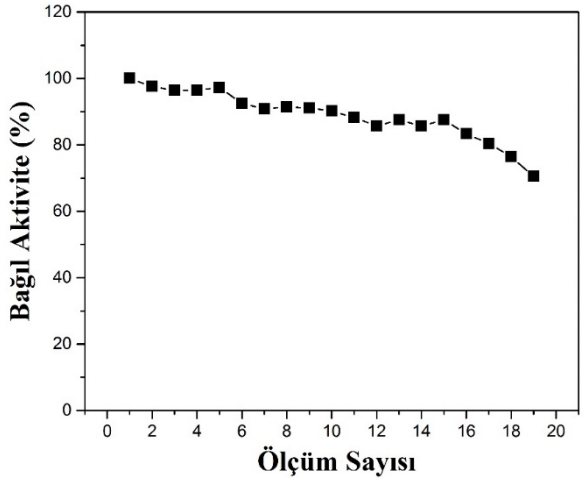


Şekil 4.123. a) Pt/PPy-NFs/PPO-2 için 0.01 mM-16 mM arası akım – zaman grafiği ve **b)** gözlenen akım fark değerlerinin katekol derişimi ile değişimi (-0.1 V; pH=7; 0.1 M fosfat tamponu, oda sıcaklığı)



Şekil 4.124. a) Pt/PPy-NFs/PPO-2 enzim elektrodunun kalibrasyon grafiği ve **b)** Lineweaver-Burk eğrisi (0.10 M pH 7 fosfat tamponu, -0.1 V, oda sıcaklığı)

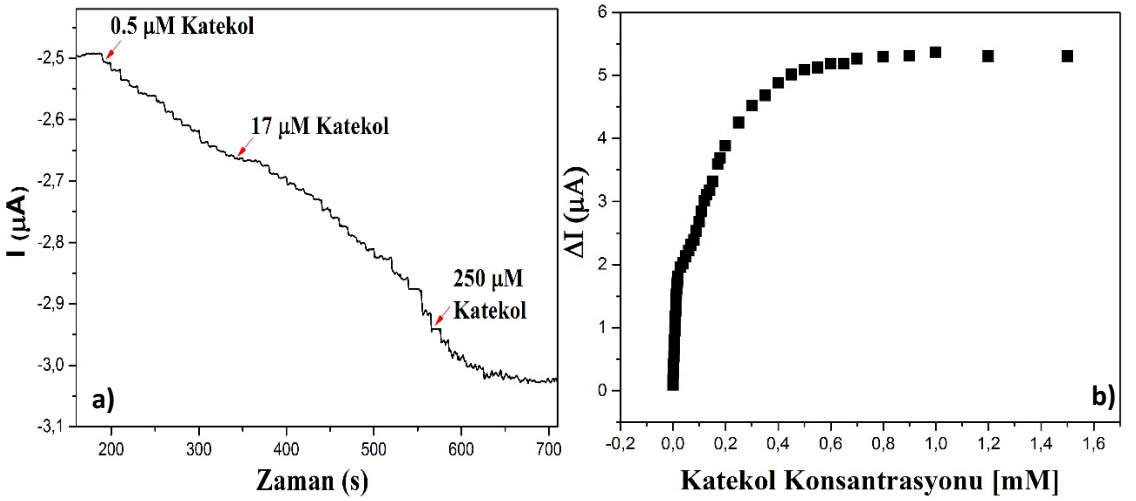
Pt/PPy-NFs/PPO-2elektrodunun 19. kullanımda % 70.46 aktivite gösterdiği bulunmuştur (Şekil 4.125). Alınan ölçümler sonucunda standart sapmanın ±0.0313 ve varyasyon katsayısının (CV) % 8.14 (n=19) olduğu hesaplanmıştır.



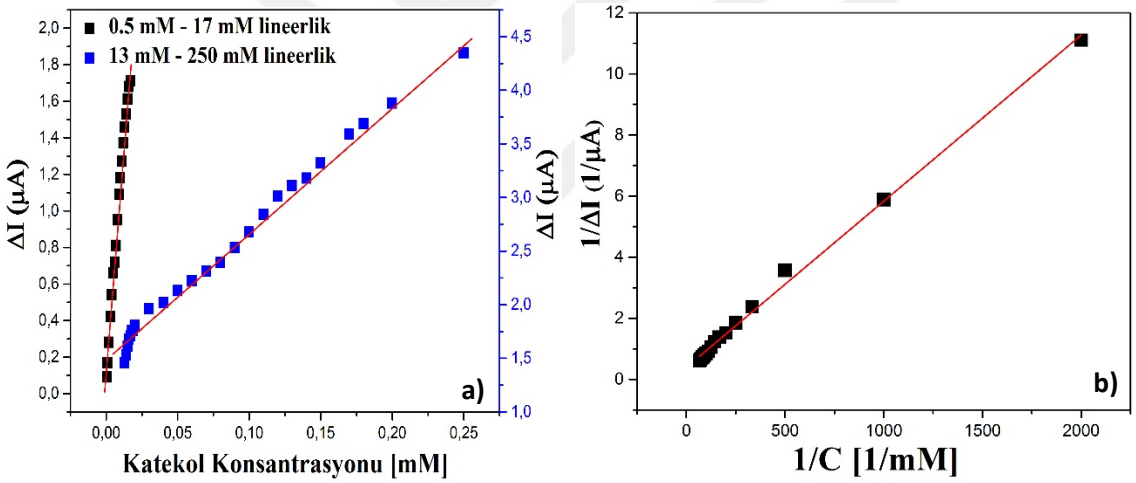
Şekil 4.125. Pt/PPy-NFs/PPO-2'nin art arda kullanılabilirliği

Literatürdeki PPy tabanlı polifenol biyosensör çalışmaları incelendiğinde genellikle lineer aralığın 0.1 µM - 50 µM arasında olduğu [Rasejh vd (2004), Ozoner vd (2009), Li vd. (2017), Ramu vd.(2021), Mailley vd. (2004), Cosnier vd. (1999), Vellaichamy vd. (2017)] ve immobilize edilen PPO enzim miktarının genellikle 100 U – 170 U arasında değiştiği görülmüştür. Bu nedenle, 134.35 U PPO içeren Pt/PPy-NFs/GOx-2 biyosensörünün daha düşük derişim aralığında çalışılması amaçlanmış ve LOD, duyarlılık, kararlılık, girişim etkisi, gerçek numune analizi ve raf ömrü gibi çalışmaları yapılmıştır.

Pt/PPy-NFs/PPO-2 biyosensörünün 0.5 µM-1.5 mM arasındaki akım – zaman grafiği ve gözlenen akım değişim değerlerinin katekol derişimi ile değişimi Şekil 4.126'da gösterilmiştir.Biyosensörün 0.5 µM – 17 µM aralığında [$y=100.84x+0.1144$ ($R^2=0.990$)] ve 13 µM – 250 µM aralığında [$y=11.98x+1.493$ ($R^2=0.992$)] doğrusal olduğu (Şekil 4.127.a) ve LOD'un ise 0.000496 mM (0.496 µM) olduğu bulunmuştur. Biyosensörün duyarlılığı 0.5 µM – 17 µM aralığı için 5016.9 µA/mM.cm^2 olarak ve 13 µM – 250 µM aralığı için 596.1 µA/mM.cm^2 olarak bulunmuştur.Şekil 4.127.b'deki grafikten hesaplanan K_m ve I_{max} değerleri, sırasıyla, 0.014 mM ve 2.54 µA olarak bulunmuştur.

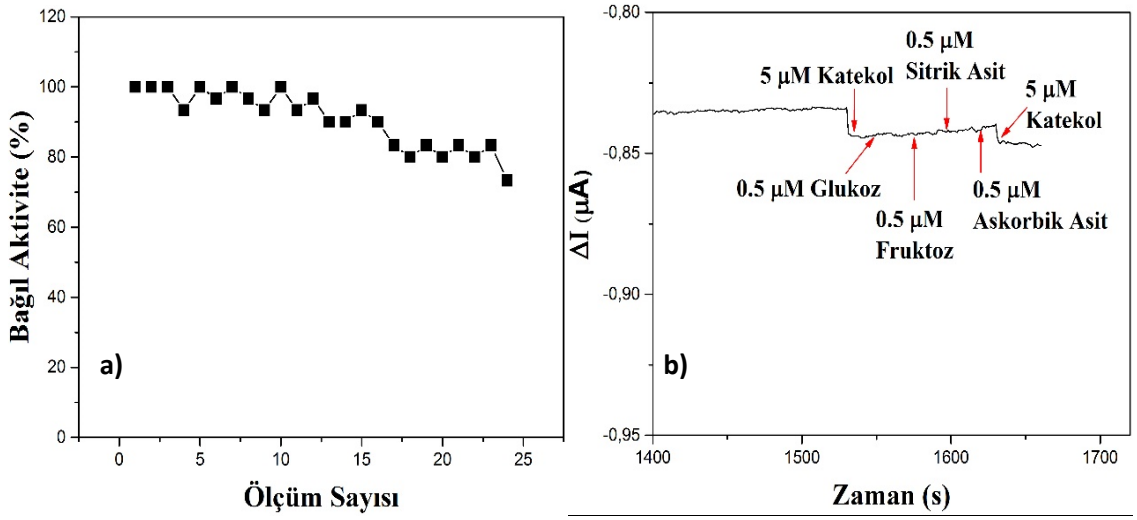


Şekil 4.126. a) Pt/PPy-NFs/PPO-2 için 0.5 µM-1.5 mM arası akım – zaman grafiği ve **b)** gözlenen akım fark değerlerinin katekol derişimi ile değişimi (-0.1 V; pH=7; 0.1 M fosfat tamponu, oda sıcaklığı)



Şekil 4.127. a) Pt/PPy-NFs/PPO-2 enzim elektrodunun kalibrasyon grafiği ve **b)** Lineweaver-Burk eğrisi (0.10 M pH 7 fosfat tamponu, -0.1 V, oda sıcaklığı)

Pt/PPy-NFs/PPO-2enzim elektrotlarının kullanım kararlılığının değerlendirilmesi için oda koşullarında, bir gün içerisinde arka arkaya ölçümler yapılmıştır. Alınan ölçümler sonucunda standart sapma ±0.0024 olarak ve varyasyon katsayısı (CV) % 8.75 (n=24) olarak hesaplanmıştır. Pt/PPy-NFs/PPO-2elektrodunun 24. kullanımda % 73.33 aktivite gösterdiği bulunmuştur (Şekil 4.128.a).



Şekil 4.128. a) Pt/PPy-NFs/PPO-2'nin art arda kullanılabilirlik grafiği ve **b)** girişim etkisi grafiği

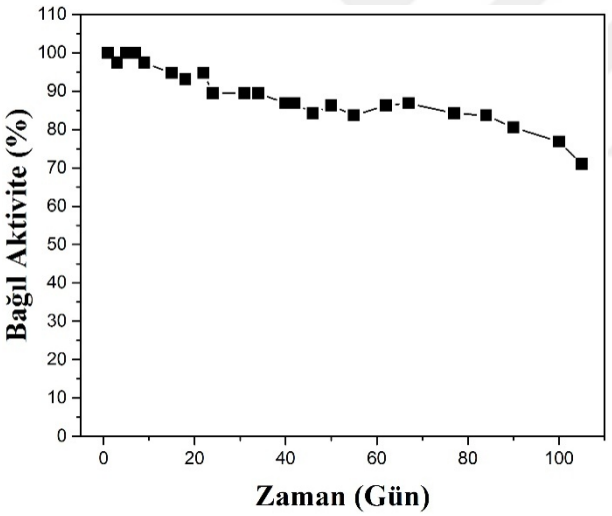
Biyosensörün katekoldan başka maddelere verdiği tepkinin değerlendirilmesi için girişim etkisi çalışması yapılmıştır. Bunun için, 5 M'lık katekol ve 0.5 M'lık glukoz, fruktoz, sitrik asit ve askorbik asit çözeltileri hazırlanmış, sırasıyla elektrokimyasal hücreye eklenmiştir. Şekil 4.128.b incelendiğinde katekol biyosensörünün glukoz, fruktoz, sitrik asit ve askorbik asit gibi maddeler varlığında bile katekola karşı seçici davrandığı tespit edilmiştir.

Pt/PPy-NFs/PPO-2biyosensörünün girişim etkisi çalışmasından sonra şebeke suyunda ve endüstriyel suda katekol ve fenol miktarının tayini için gerçek numune analizi çalışması yapılmıştır. Bunun için şebeke suyu ve organize sanayi bölgesinden alınan endüstriyel şebeke suyunda 0.1 μM'lık katekol ve fenol çözeltileri hazırlanmıştır. Derişimini bildiğimiz miktarda bu çözeltilerden alınarak tampon çözeltisine eklenmiş ve amperometrik cevap akımlarına denk gelen derişim değerleri, kalibrasyon grafiğinden elde edilen denklemler kullanılarak hesaplanmıştır. Çizelge 4.23'te yer alan Pt/PPy-NFs/PPO-2biyosensörünün şebeke sularındaki teorik katekol ve fenol tayini sonuçları ile deneysel sonuçları (referans sonuçlar) birbiri ile tutarlı çıkmıştır.

Çizelge 4.23. Pt/PPy-NFs/PPO-2 biyosensörü ile şebeke sularındaki katekol ve fenol tayini

Örnek	Analit türü	Teorik Konsantrasyon (µM)	Deneysel Konsantrasyon (µM)	Geri Kazanım (%)
Şebeke (çeşme) suyu	Katekol	200	199.6	99.82
Endüstriyel şebeke suyu	Katekol	200	202.9	101.44
Şebeke (çeşme) suyu	Fenol	50	50.2	100.48
Endüstriyel şebeke suyu	Fenol	50	51.4	102.88

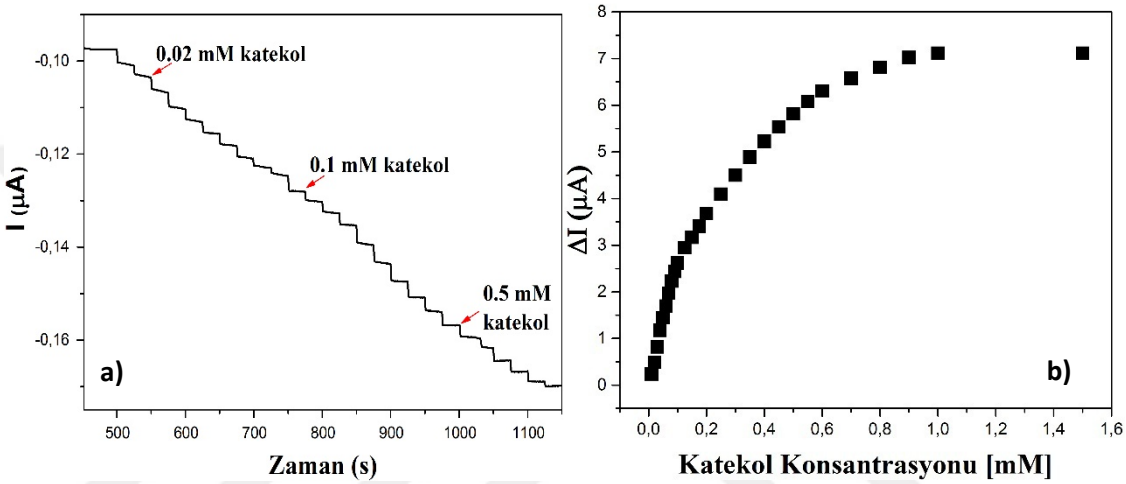
Pt/PPy-NFs/PPO-2 biyosensörünün raf ömrü tayini için -0.1 V sabit potansiyelde 10 µM katekol ilavesi ile sensör aktivitesi beş günde bir kontrol edilmiş ve 105 gün boyunca çalışmaya devam edilmiştir. Şekil 4.129 incelendiğinde 25.gün sonunda başlangıç aktivitesinin % 90 oranında korunduğunu ve 105.gün (15. hafta) sonunda ise % 71.1 aktivite gösterdiği belirlenmiştir.



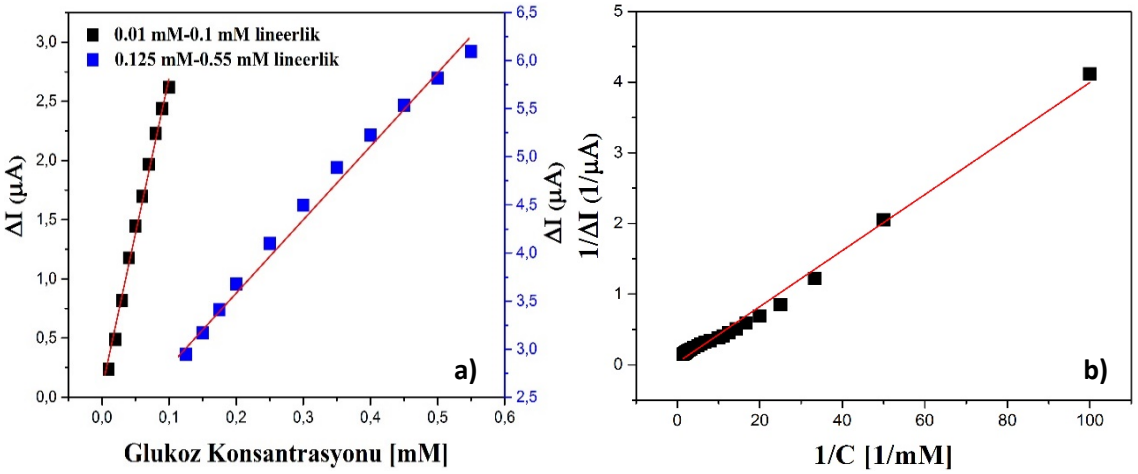
Şekil 4.129. Pt/PPy-NFs/PPO-2 enzim elektrodunun raf ömrü grafiği (0.10 M pH 7 fosfat tamponu, -0.1 V, oda sıcaklığı)

4.11.5. Pt/PPy-NFs/PPO-3 biyosensörü ile ilgili kronoamperometrik bulgular

Pt/PPy-NFs/PPO-3 için 0.01 mM-1.5 mM arası akım – zaman grafiği ve gözlenen akım fark değerlerinin katekol derişimi ile değişimi Şekil 4.130'da gösterilmiştir. Biyosensörün 0.01 mM – 0.1 mM (10 µM-100 µM) aralığında [y=27.115+0.0196 (R^2=0.9928)] ve 0.125 mM – 0.55 mM aralığında [y=7.489x+2.138 (R^2=0.9905)] doğrusal olduğu (Şekil 4.131.a), LOD'un ise 0.00238 mM (2.38 µM) olduğu bulunmuştur. Biyosensörün duyarlılığı 0.01 mM – 0.1 mM aralığı için 863.5 µA/mM.cm^2 olarak ve 0.125 mM – 0.55 mM için 238.5 µA/mM.cm^2 olarak bulunmuştur. Biyosensör için K_m ve I_{max} değerleri, sırasıyla, 1.3 mM ve 32.67 µA olarak bulunmuştur (Şekil 4.131.b).



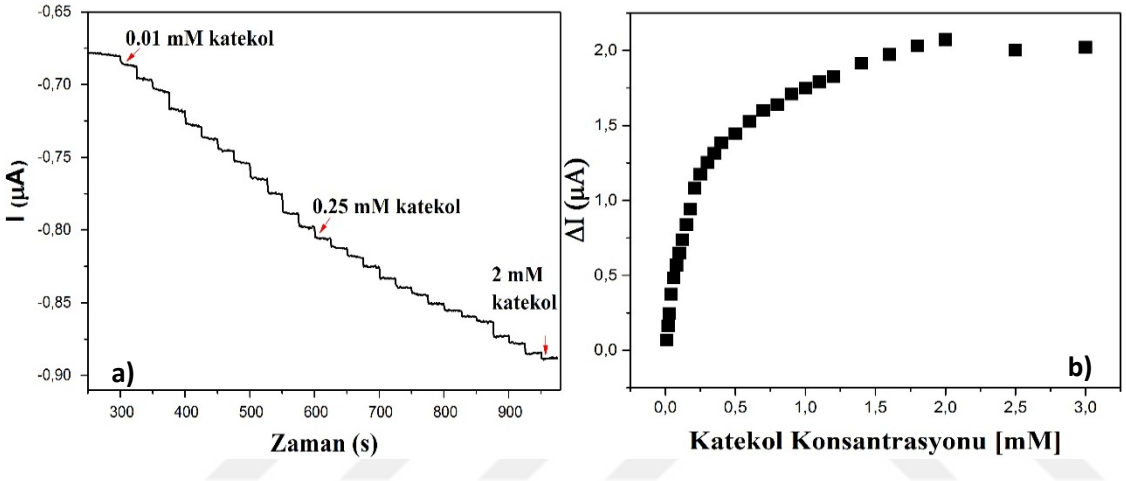
Şekil 4.130. a) Pt/PPy-NFs/PPO-3 için 0-1.5 mM arası akım – zaman grafiği ve **b)** gözlenen akım fark değerlerinin katekol derişimi ile değişimi (-0.1 V; pH=7; 0.1 M fosfat tamponu, oda sıcaklığı)



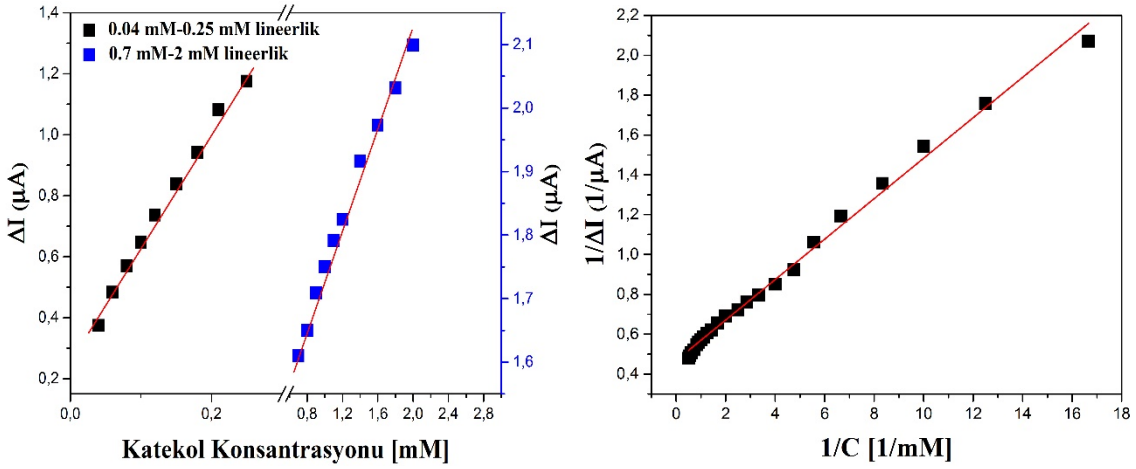
Şekil 4.131. a) Pt/PPy-NFs/PPO-3 enzim elektrodunun kalibrasyon grafiği ve **b)** Lineweaver-Burk eğrisi (0.10 M pH 7 fosfat tamponu, -0.1 V, oda sıcaklığı)

4.11.6. Pt/PPy-NFs/PPO-4 biyosensörü ile ilgili kronoamperometrik bulgular

Pt/PPy-NFs/PPO-4 için 0.01 mM-5 mMarası akım – zaman grafiği ve gözlenen akım fark değerlerinin katekol derişimi ile değişimi Şekil 4.132'de gösterilmiştir. Amperometrik analiz sonucu biyosensörün 0.04 mM – 0.25 mM aralığında [y=3.819x+0.255 (R^2=0.9925)] ve 0.7 mM – 2 mM aralığında [y=0.374x+1.367 (R^2=0.990)] doğrusal olduğu (Şekil 4.133.a) ve LOD'un ise 0.01683 mM (16.83 µM) olduğu bulunmuştur. Biyosensörün duyarlılığı 0.04 mM – 0.25 mM aralığı için 121.7 µA/mM.cm^2 olarak ve 0.7 mM – 2 mM aralığı için 11.91 µA/mM.cm^2 olarak bulunmuştur.Şekil 4.133.b'deki, grafikten hesaplanan K_m ve I_{max} değerleri, sırasıyla, 0.22 mM ve 2.14 µA olarak bulunmuştur.



Şekil 4.132. a) Pt/PPy-NFs/PPO-4 için 0.01 mM-5 mM arası akım – zaman grafiği ve **b)** gözlenen akım fark değerlerinin katekol derişimi ile değişimi (-0.1 V; pH=7; 0.1 M fosfat tamponu, oda sıcaklığı)



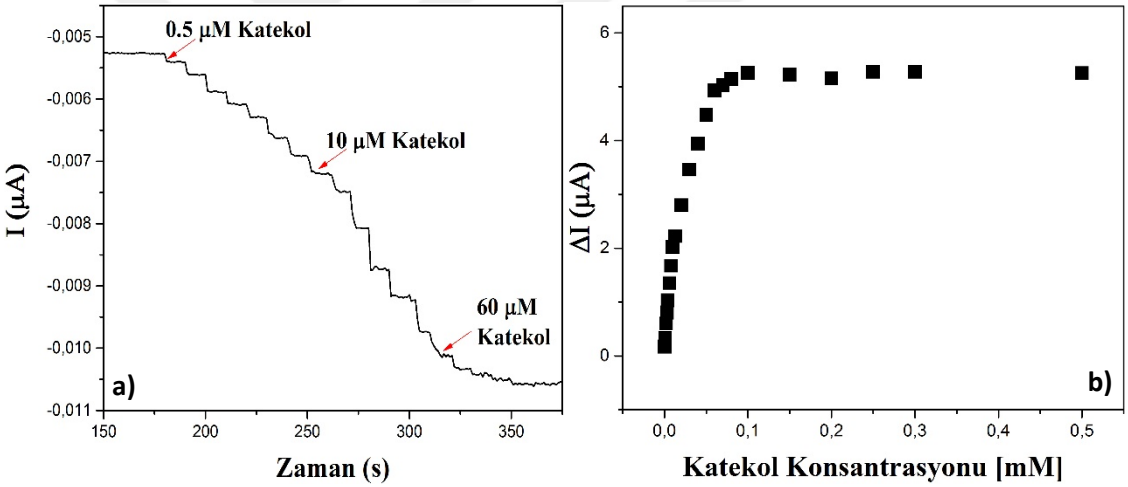
Şekil 4.133. a) Pt/PPy-NFs/PPO-4 enzim elektrodunun kalibrasyon grafiği ve **b)** Lineweaver-Burk eğrisi (0.10 M pH 7 fosfat tamponu, -0.1 V, oda sıcaklığı)

4.12. PPy-MWCNT Tabanlı Polifenol Biyosensörleri ile İlgili Bulgular

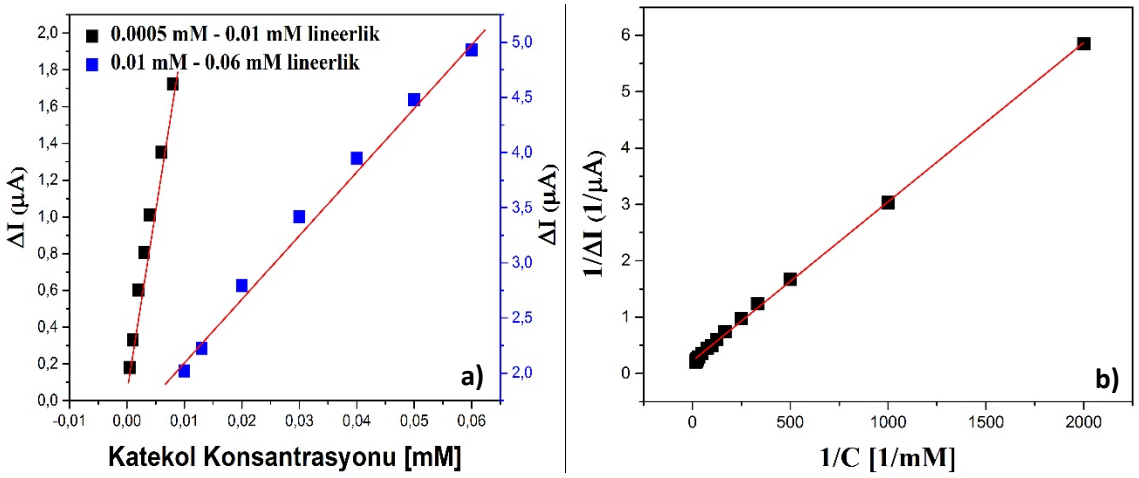
4.12.1. Pt/PPy-MWCNT-NFs/PPO-2 biyosensörü ile ilgili kronoamperometrik bulgular

Pt/PPy-NFs/PPO polifenol biyosensörlerinin analitik ölçümleri yapıldıktan sonra optimum seçilen enzim miktarını (134.35 U) içeren Pt/PPy-MWCNT-NFs/PPO-2 biyosensörü hazırlanmış ve daha düşük derişim aralığında çalışılmıştır.

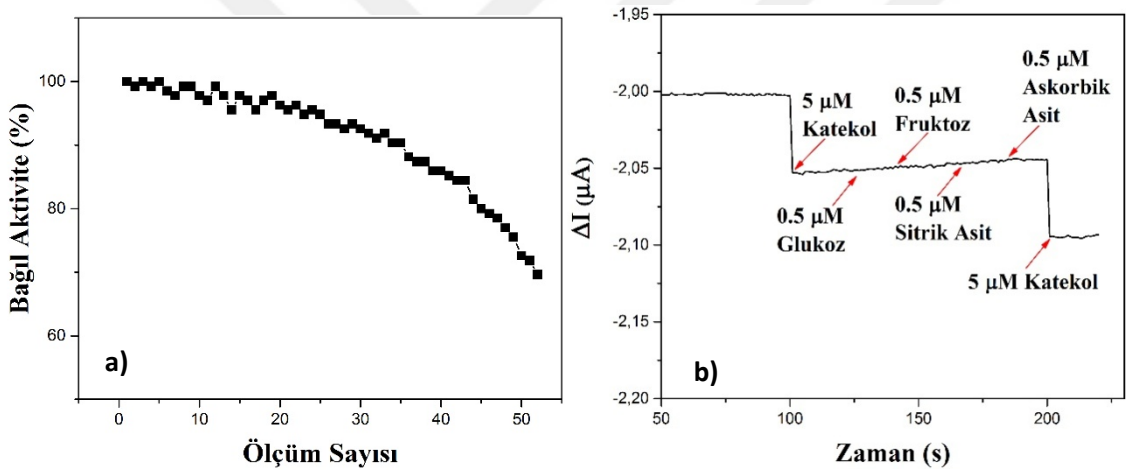
Pt/PPy-MWCNT-NFs/PPO-2 için 0.5 µM -0.5 mMarası akım – zaman grafiği ve gözlenen akım fark değerlerinin katekol derişimi ile değişimi Şekil 4.134'de gösterilmiştir. Amperometrik analiz sonucu biyosensörün 0.5 µM – 10 µM aralığında [y=201.31x+0.1522 (R^2=0.990)] ve 10 µM – 60 µM aralığında [y=58.43x+1.5403 (R^2=0.990)] doğrusal olduğu (Şekil 4.135.a) ve LOD'un ise 0.000404 mM (0.404 µM) olduğu bulunmuştur. Biyosensörün duyarlılığı 0.5 µM – 10 µM için 10015 µA/mM.cm^2 ve 10 µM – 60 µM için 2907 µA/mM.cm^2 olarak bulunmuştur. Şekil 4.135.a, Pt/PPy-MWCNT-NFs/PPO-2enzim elektrodunun kalibrasyon grafiğini veŞekil 4.135.bLineweaver Burk grafiğini göstermektedir.Lineweaver Burk grafiği kullanılarak biyosensör için K_m ve I_{max} değerleri sırasıyla, 0.013 mM ve 4.51 µA olarak bulunmuştur.



Şekil 4.134. a) Pt/PPy-MWCNT-NFs/PPO-2 için 0.5 µM -0.5 mM arası akım – zaman grafiği ve **b)** gözlenen akım fark değerlerinin katekol derişimi ile değişimi (-0.1 V; pH=7; 0.1 M fosfat tamponu, oda sıcaklığı)



Şekil 4.135. a) Pt/PPy-MWCNT-NFs/PPO-2 enzim elektrodunun kalibrasyon grafiği ve **b)** Lineweaver-Burk eğrisi (0.10 M pH 7 fosfat tamponu, -0.1 V, oda sıcaklığı)



Şekil 4.136. a) Pt/PPy-MWCNT-NFs/PPO-2'nin art arda kullanılabilirliği ve **b)** girişim etkisi grafiği

Pt/PPy-MWCNT-NFs/PPO-2 enzim elektrotlarının kullanım kararlılığının değerlendirilmesi için oda koşullarında, bir gün içerisinde arka arkaya ölçümler yapılmış ve standart sapma ±0.0103 ve varyasyon katsayısı (CV) % 8.397 (n=51) olarak hesaplanmıştır. Pt/PPy-MWCNT-NFs/PPO-2 elektrodunun 51. kullanımda % 71.85 aktivite gösterdiği bulunmuştur (Şekil 4.136.a).

Biyosensörün katekoldan başka maddelere verdiği tepkinin değerlendirilmesi için girişim etkisi çalışması yapılmıştır. Şekil 4.134.b incelendiğinde katekol biyosensörünün glukoz, fruktoz, sitrik asit ve askorbik asit gibi maddeler varlığında bile katekola karşı seçici davrandığı tespit edilmiştir

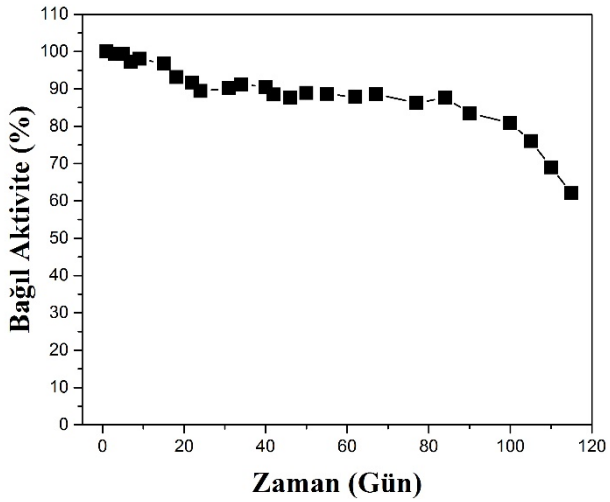
Pt/PPy-MWCNT-NFs/PPO-2biyosensörünün girişim etkisi çalışmasından sonra şebeke suyunda ve endüstriyel suda katekol ve fenol miktarının tayini için çalışmalar

yapılmıştır. Bunun için, şebeke suyu ve organize sanayi bölgesinden alınan endüstriyel şebeke suyunda 0.1 µM'lık katekol ve fenol çözeltileri hazırlanmıştır. Derişimini bildiğimiz miktarda bu çözeltilerden alınarak tampon çözeltiye eklenmiş ve ölçülen amperometrik cevap akımlarına denk gelen derişim değerleri, kalibrasyon grafiğinden elde edilen denklemler kullanılarak hesaplanmıştır. Çizelge 4.24'te yer alan Pt/PPy-MWCNT-NFs/PPO-2biyosensörünün şebeke sularındaki teorik katekol ve fenol tayini sonuçları ile deneysel sonuçları (referans sonuçlar) birbiri ile tutarlı çıkmıştır.

Çizelge 4.24. Pt/PPy-MWCNT-NFs/PPO-2 biyosensörü ile şebeke sularındaki katekol ve fenol tayini

Örnek	Analit türü	Teorik Konsantrasyon (µM)	Deneysel Konsantrasyon (µM)	Geri Kazanım (%)
Şebeke (çeşme) suyu	Katekol	60	63.24	105.4
Endüstriyel şebeke suyu	Katekol	60	60.82	101.4
Şebeke (çeşme) suyu	Fenol	10	9.955	99.5
Endüstriyel şebeke suyu	Fenol	10	10.04	100.5

Pt/PPy-MWCNT-NFs/PPO-2 biyosensörünün raf ömrü tayini için -0.1 V sabit potansiyelde 10 µM katekol ilavesi ile aktiviteler beş günde bir kontrol edilmiş ve 115 gün boyunca aktivitelerinin kontrolüne devam edilmiştir. Şekil 4.137 incelendiğinde 42.gün sonunda başlangıç aktivitesinin % 90 oranında biyosensörün cevap verdiğini ve 115.gün (17. hafta) sonunda ise % 62.06 aktivite gösterdiği belirlenmiştir.



Şekil 4.137. Pt/PPy-MWCNT-NFs/PPO-2 enzim elektrodunun raf ömrü grafiği (0.10 M pH 7 fosfat tamponu, -0.1 V, oda sıcaklığı)

Çizelge 4.25'te üretilen tüm polifenol biyosensörlerinin performansları gösterilmiştir. Biyosensörlerin duyarlılıkları 19.48 μA/mM.cm^2'den 863.6 μA/mM.cm^2'ye ve LOD değerleri 12.1 μM'dan 96 μM'a değişiklik göstermiştir. Kararlılık çalışmaları yapılırken, 0.05 mM katekol tampon çözeltiye eklenmiş ve değişen akım miktarından % bağıl aktivite değeri hesaplanmıştır. Pt/PPy-NFs/PPO-1 ve Pt/PPy-NFs/GOx-2 biyosensörleri 12 kez ve 19 kez art arda kullanım arasında %70'lerde bağıl aktivite göstermiştir. Bu çizelgeye göre Pt/PPy-NFs/PPO-3; en yüksek duyarlılığı göstermiştir.

Çizelge 4.25'te Pt/PPy-NFs/PPO-2 ve Pt/PPy-MWCNT-NFs/PPO-2 polifenol biyosensörlerinin daha düşük derişim aralığındaki performansları da gösterilmiştir. MWCNT içermeyen Pt/PPy-NFs/PPO-2 biyosensörünün duyarlılıkları 0.5 μM – 17 μM aralığı için 5016.9 μA/mM.cm^2 olarak ve 13 μM – 250 μM aralığı için 596.1 μA/mM.cm^2 olarak bulunmuştur. MWCNT içerenPt/PPy-MWCNT-NFs/PPO-2 biyosensörünün duyarlılıkları 0.5 μM – 10 μM için 10015 μA/mM.cm^2 olarak ve 10 μM – 60 μM için 2907 μA/mM.cm^2 olarak bulunmuştur. Yapılan çalışmalar sonucunda MWCNT içeren biyosensörün daha yüksek duyarlılık ve daha düşük LOD değerine sahip olduğu bulunmuş, tekrar kullanım kararlılığının ise MWCNT içermeyen biyosensörlere göre 2 kat daha iyi performans gösterdiği bulunmuştur.

Çizelge 4.25. Pt/PPy-NFs/PPO biyosensörlerinin performansları (pH:7 / -0.1 V)

	Lineer aralık	**Duyarlılık ($\mu A/mM.cm^2$)**	**LOD (µM)**	**K_m (mM)**	**I_{max} (µA)**	**Cevap süresi (s)**
PPy-NFs/PPO-1	10 µM – 100 µM	551.71	12.1	0.24	3.865	30
PPy-NFs/PPO-2	10 µM – 1000 µM	19.48	13.89	0.394	0.895	60
PPy-NFs/PPO-3	10 µM – 100 µM 125 µM – 550 µM	863.6 238.5	24.7	1.3	32.67	180
PPy-NFs/PPO-4	40 µM – 250 µM 70 µM – 2000 µM	121.7 11.91	96	0.22	2.14	300
Düşük derişim aralığındaki çalışmalar	**Lineer aralık**	**Duyarlılık ($\mu A/mM.cm^2$)**	**LOD (µM)**	**K_m (mM)**	**I_{max} (µA)**	**Cevap süresi (s)**
PPy-NFs/PPO-2	0.5 µM – 17 µM 13 µM – 250 µM	5017 596.1	0.496	0.014	2.54	30
PPy-MWCNT-NFs/PPO-2	0.5 µM – 10 µM 10 µM – 60 µM	10015 2907	0.404	0.013	4.51	30

5. TARTIŞMA

Bu tez çalışması kapsamında, PAN/PEDOT ve PAN/PPy tabanlı iletken nanolifler elde edilerek, glukoz ve fenol türevleri (katekol) gibi insan sağlığına olumsuz etkileri olan ve kontrol altında tutulması gereken bileşiklerin analizine olanak sağlayan yüksek hassasiyete sahip biyosensörlerin hazırlanması ve gerçek numunelerde analizlerinin yapılması amaçlanmıştır. İlk olarak, homojen PAN nanolifleri, elektrospinning yöntemi ile hazırlanmış daha sonra kimyasal buhar polimerizasyonu ile iletken PEDOT ve PPy nanolifleri elde edilmiştir.

Elde edilen iletken nanoliflere, farklı birimlerde GOx (46.25U, 92.5U, 185U, 277.5U ve 370U) ve PPO (67.175U, 134.35U, 268.7U, 403.1U ve 537.4U) içeren enzimler yüklendikten sonra kütlece %1'lik GA çözeltisinden damlatılarak enzim immobilizasyonu gerçekleştirilmiştir. Hazırlanan PEDOT ve PPy nanolif tabanlı glukoz ve polifenol biyosensörlerinin pH ve çalışma potansiyeli gibi optimum çalışma koşulları belirlendikten sonra, tüm biyosensörlerin analitik performansları incelenmiştir.

Biyosensörlerin performanslarını geliştirmek, seçiciliği ve duyarlılığı arttırmak için; sahip oldukları geniş yüzey alanı ve iyi elektriksel iletkenlikler gibi özellikleri nedeniyle MWCNT'ler kullanılmıştır. Bunun için, elektrospinning yöntemiyle PAN/MWCNT içeren homojen nanolifler elde edilmiş, ardından kimyasal buhar polimerizasyonu yöntemi ile bu lifler PEDOT ve PPy ile kaplanmıştır. Elde edilen PEDOT-MWCNT ve PPy-MWCNT nanolif tabanlı çalışma elektrotlarına farklı birimlerde GOx (46.25U, 92.5U, 185U, 277.5U ve 370U) ve PPO (67.175U, 134.35U, 268.7U ve 403.1U) içeren enzimler yüklenmiş ve kütlece %1'lik GA çözeltisinden damlatılarak enzim immobilizasyonu gerçekleştirilmiştir. Elde edilen PEDOT-MWCNT ve PPy-MWCNT nanolif tabanlı glukoz ve polifenol biyosensörlerinin pH ve çalışma potansiyeli gibi optimum çalışma koşulları belirlendikten sonra, tüm biyosensörlerin analitik performansları incelenmiştir.

5.1. Glukoz Biyosensörleri

Glukoz biyosensörlerinde kullanılan elektrot yüzeyinde meydana gelen glukoz ile glukoz oksidaz enzimi arasındaki reaksiyon Eşitlik 5.1'de verilmiştir. Birinci nesil biyosensörlerin çalışma prensibi genelde enzimatik reaksiyon sonucu oluşan H_2O_2'in yükseltgenmesinin (Eşitlik 5.2) izlenmesi ya da bu enzimatik reaksiyonda tüketilen O_2'nin indirgenmesi (Eşitlik 5.3) reaksiyonunun takip edilmesi esasına dayanmaktadır. Bu nedenle, tez kapsamında hazırlanan glukoz biyosensörleri hem H_2O_2'in yükseltgenmesi hem de O_2'nin indirgenmesi kullanılarak takip edilmiştir.

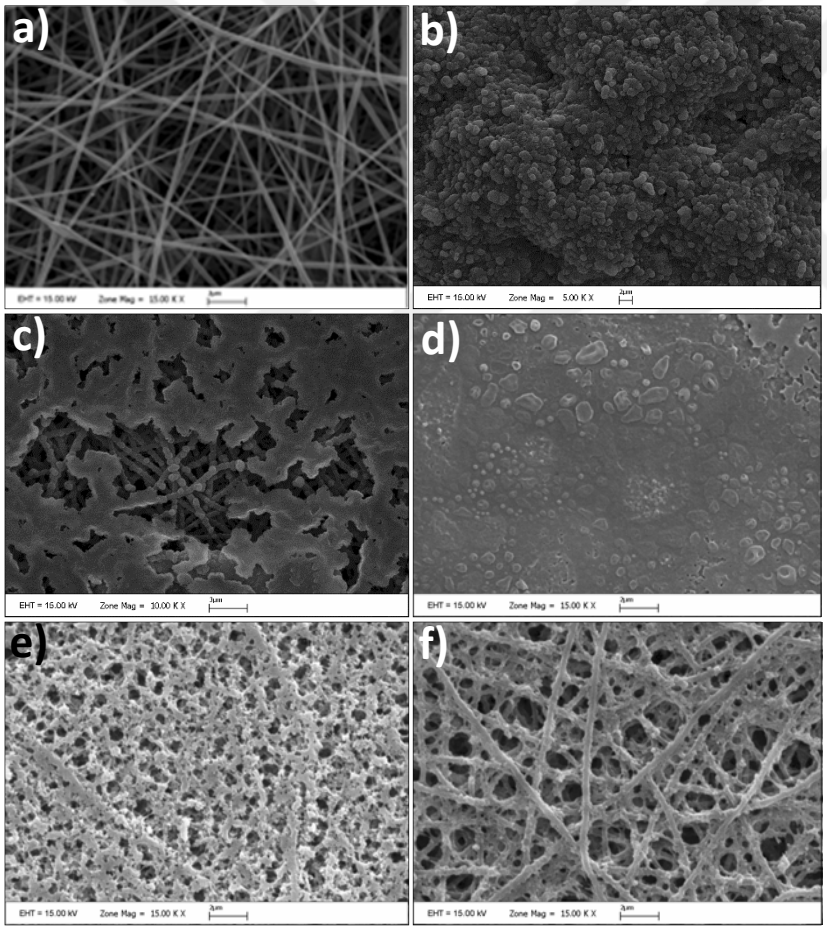
$$Glukoz + O_2 \xrightarrow{GOx} Glukonik\ asit + H_2O_2 \quad (5.1)$$

$$H_2O_2 \rightarrow O_2 + 2H^+ + 2e^- \quad (5.2)$$

$$O_2 + 2H^+ + 2e^- \rightarrow H_2O_2 \quad (5.3)$$

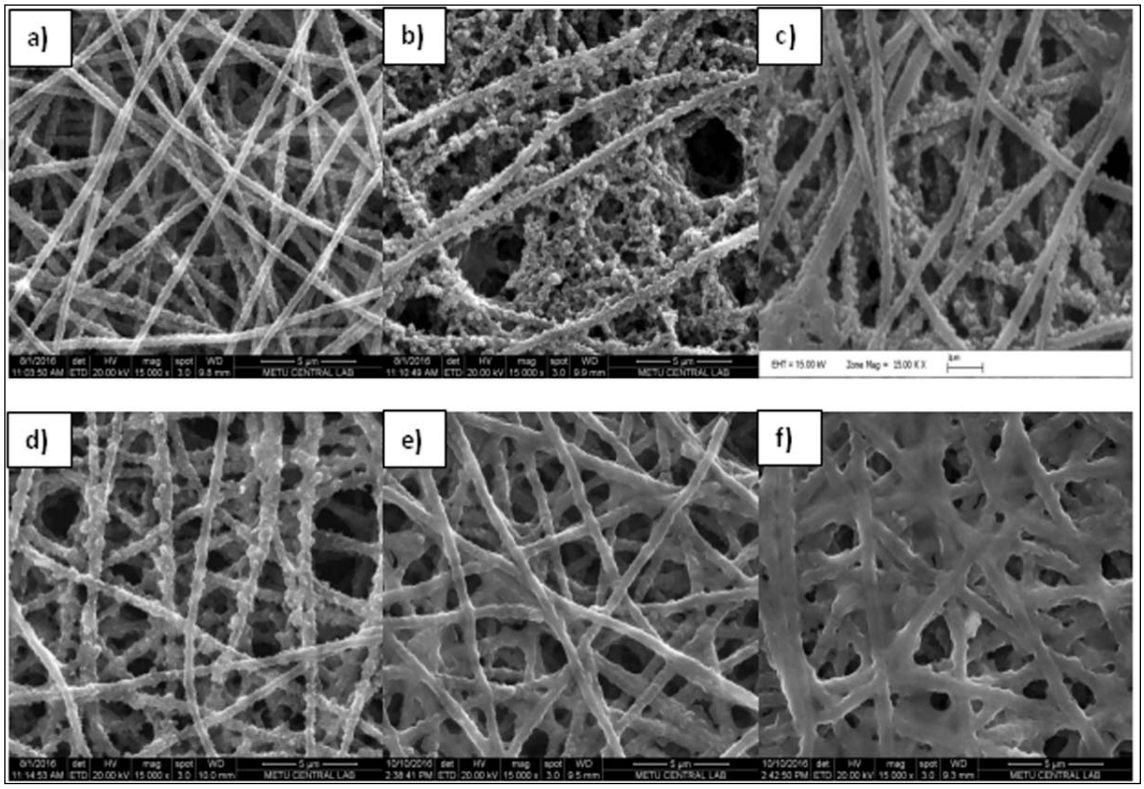
5.1.1. PEDOT tabanlı glukoz biyosensörleri

PEDOT nanolif tabanlı glukoz biyosensörlerini hazırlamak için öncelikle homojen PEDOT nanolifleri elde edilmiştir. Bu nedenle farklı polimerizasyon sürelerinde PAN nanolifleri yüzeyinde EDOT'un kimyasal buhar polimerizasyonları gerçekleştirilmiş ve elde edilen lifler morfolojik olarak incelenmiştir. PAN nanoliflerinin EDOT monomerine daha uzun süre maruz bırakılması, daha yüksek miktarlarda PEDOT oluşumuna yol açmış ve PAN nanoliflerinin değişmesine neden olmuştur (Şekil 5.1).Polimerizasyon sürelerinin 10 dakikadan uzun olması nanolif yapısının tamamen kaybolmasına neden olmuş ve morfolojiyi olumsuz etkilemiştir. Bu nedenle, 5 dk'lık polimerizasyon süresi çalışmalarımız için optimum polimerizasyon süresi olarak seçilmiştir. Elde edilen homojen, gözenekli PEDOT nanoliflerinin çaplarının ortalama 350 ± 20 nm olduğu bulunmuştur. Kimyasal buhar polimerizasyonu sonucunda PAN nanoliflerinin (ortalama çapları 240 ± 12 nm) yüzeyine kaplanan PEDOT polimeri lif çapında artış meydana getirmiş ve PAN nanoliflerinin morfolojisini değiştirmiştir.



Şekil 5.1. a) PAN nanolifleri ile farklı polimerizasyon sürelerinde elde edilen PEDOT nanoliflerinin SEM görüntüleri **b)** 24 sa, **c)** 3 sa, **d)** 15 dk, **e)** 10 dk, **f)** 5 dk

Daha sonra, Pt elektrot yüzeyinde elde edilen PEDOT nanoliflerine farklı birimlerde GOx enzimi yüklenerek PEDOT nanolif tabanlı glukoz biyosensörleri hazırlanmıştır. Farklı birimlerde enzim içeren PEDOT nanoliflerinin morfolojileri incelendiğinde PEDOT nanoliflerinin lif çapı 350 ± 20 nm ölçülmüşken (Şekil 5.1.f), fosfat tamponunda saklanan PEDOT nanoliflerinin lif çapı 420 ± 5 nm ölçülmüştür (Şekil 5.2.a). Bu durum, polar çözücülerin güçlü plastikleştirici etkisinden dolayı akrilik polimerlerin yapılarında şişme meydana getirmesi ve lif çaplarında artışa sebep olması ile açıklanmıştır (Grobelny vd. 1988). Enzim miktarının artmasıyla nanolif yüzeylerinde daha fazla enzim birikmiş ve nanolif çaplarında artış(435 nm'den 780 nm'ye) meydana gelmiştir. Ayrıca, immobilize edilen enzim miktarının çok fazla olduğu durumlarda (Şekil 5.2.f) lif yapısının büyük ölçüde kaybolduğu gözlenmiştir.



Şekil 5.2. a) Fosfat tamponunda bekletilen (pH 7) PEDOT, **b)** PEDOT-NFs/GOx-1, **c)** PEDOT-NFs/GOx-2, **d)** PEDOT-NFs/GOx-3, **e)** PEDOT-NFs/GOx-4 ve **f)** PEDOT-NFs/GOx-5 nanoliflerine ait SEM görüntüleri

Hazırlanan PEDOT nanolif tabanlı glukoz biyosensörleri hem H_2O_2'in yükseltgenmesi (anodik) hem de oksijenin indirgenmesi (katodik) kullanılaraktakip edilmiş ve biyosensörlerin analitik performanslarına göre (duyarlılık, LOD, K_m, vb.) optimum enzim miktarı belirlenmiştir.

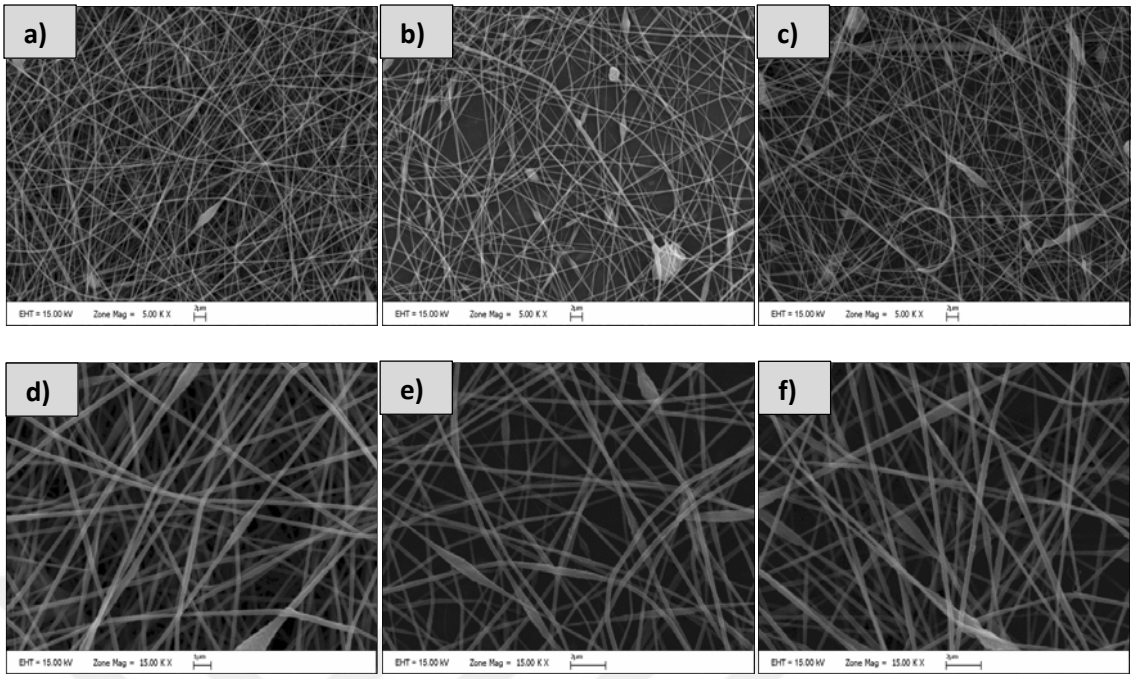
Enzimatik reaksiyon sonucu oluşan H_2O_2'in yükseltgenmesinin takip edildiği Pt/PEDOT-NFs/GOx biyosensörlerine ait amperometrik sonuçlar incelendiğinde, biyosensörlerin duyarlılıklarının 24.47 μA/mM.cm^2'den 85.2 μA/mM.cm^2'ye ve LOD değerlerinin 1.1 μM'dan 9.6 μM'a değişiklik gösterdiği gözlenmiştir.

Literatürdeki PEDOT nanolif ve PEDOT filmi içeren diğer glukoz biyosensörleri ile hazırladığımız tüm Pt/PEDOT-NFs/GOx biyosensörleri karşılaştırıldığında, elde ettiğimiz PEDOT nanolif tabanlı glukoz biyosensörlerinin yüksek duyarlılıklara ve düşük LOD değerlerine sahip oldukları görülmüştür (Layton ve Abidian 2011, Santhosh vd. 2009). Örneğin; Hosseini vd. (2014) ve Santhosh vd. (2009)'nin yaptıkları paladyum-PEDOT nanolif tabanlı glukoz biyosensörleri çalışmalarında duyarlılıklar sırasıyla 24.04 $\mu A/mM.cm^2$ ve 1.6 $\mu A/mM.cm^2$ olarak bulunmuştur. Yang vd. (2014) ve Layton vd. (2011)'nin yapmış olduğu PEDOT nanolif tabanlı glukoz biyosensörlerinin duyarlılıkları ise sırasıyla 6.4 $\mu A/mM.cm^2$ ve 5.7 $\mu A/mM.cm^2$ olarak bulunmuştur. Yang vd. (2014)'nin yapmış olduğu biyosensör çalışmasında LOD değerleri 0.12 mM (120 µM) ile 0.56 mM (560 µM) arasında değişkenlik göstermiştir. Yine Aleeva vd. (2018)'nin ve Santosh vd. (2009)'nin yapmış olduğu PEDOT bazlı glukoz biyosensörlerinde LOD değerleri sırasıyla 0.11 mM (110 µM) ve 75 mM olarak bulunmuştur.

Pt/PEDOT-NFs/GOx-3 en yüksek kararlılık, en düşük standart sapma, düşük LOD (2.9 µM) ve yüksek duyarlılık (74.22 $\mu A/mM.cm^2$) gösterdiği için en yüksek performanslı biyosensör olarak seçilmiştir. Kinetik parametreler incelendiğinde ise Pt/PEDOT-NFs/GOx-3'ün en düşük Km'ye (0.911 mM), sahip olduğu ve art arda yapılan 24 ölçüm sonucunda akım cevabının (bağıl aktivite %93.13) aynı kaldığı görülmüştür. Yüksek bağıl aktivite gözlenmesinin sebebinin, gözenekli PEDOT nanoliflerinin GOx moleküllerini aktivite kaybı olmaksızın koruyabilmesi olduğu düşünülmüştür (Çetin ve Camurlu 2018). Bulunan Km değerinin literatürdeki; en düşük Km değerine sahip olduğu ve bunun sonucu olarak en yüksek enzim-substrat arasındaki ilgiye sahip olduğu gözlenmiştir (Aleeva vd. 2018).

Biyosensörlerin performanslarını geliştirmek için, PEDOT-MWCNT nanolif tabanlı glukoz biyosensörlerinin hazırlanması planlanmış ve bu nedenle ilk olarak PAN-MWCNT nanoliflerinin eldesi sağlanmıştır. Kütlece %7'lik PAN/DMF konsantrasyonu sabit kalacak şekilde, çözünen PAN miktarının %10'u, %20'si ve %30'u kadar MWCNT içeren çözeltilerden nanolifler elde edilmiş ve bunlara ait nanolif çaplarının sırası ile 170 ± 10nm, 220± 16 nm ve 240± 15 nm olduğu bulunmuştur (Şekil 5.3). %10 MWCNT içeren çözeltiden elde edilen nanolifler, sahip olduğu homojen lif morfolojisi ve dar çapları sebebi ile biyosensör çalışmaları için tercih edilmiş ve PEDOT ile kaplanmıştır. Ardından farklı birimlerdeki GOx enzimleri yüklenmiştir.

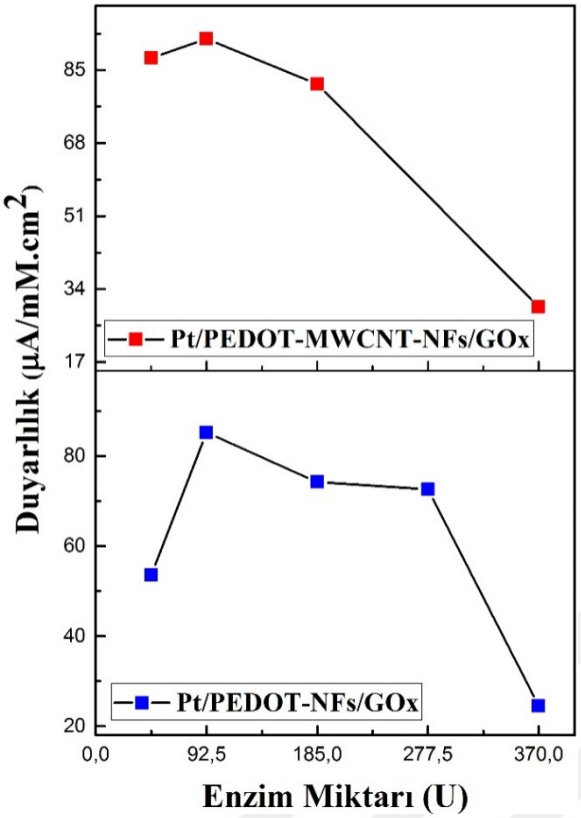
Enzimatik reaksiyon sonucu oluşan H_2O_2'in yükseltgenmesinin takip edildiği Pt/PEDOT-MWCNT-NFs/GOx biyosensörlerine ait amperometrik sonuçlar incelendiğinde (Çizelge 5.1) GOx-1, GOx-2 ve GOx-3 için enzim miktarının artışıyla duyarlılık değerlerinde sınırlı bir değişim olduğu gözlenmiştir.GOx-1 ve GOx-2 arasında sabit bir lineer aralıkta (~1.5 mM'a kadar) duyarlılığın 87.8 $\mu A/mM.cm^2$'den 92.94 $\mu A/mM.cm^2$'ye arttığı gözlenmiş ve GOx-3 için duyarlılık 81.7 $\mu A/mM.cm^2$olarak bulunmuştur.Pt/PEDOT-MWCNT-NFs/GOx-3 biyosensörü için en düşük Km değeri (1.12 mM) ile en düşük LOD değeri (2.3 µM) bulunmuştur.



Şekil 5.3. PAN miktarının **a-d)** %10'u, **b-e)** %20'si ve **c-f)** %30'u kadar MWCNT içeren çözeltilerden elde edilen nanoliflere ait SEM görüntüleri

Literatürdeki PEDOT-CNT bazlı glukoz biyosensörleri ile bu tez kapsamında hazırlananPEDOT-MWCNT nanolif tabanlı biyosensörler kıyaslandığında en yüksek duyarlılığın Wu vd. (2019)'nin yapmış olduğu PEDOT-CNT-GOx biyosensörüne (1439.1 μA/mM.cm^2) ait olduğu bulunmuştur. Bunun haricinde, literatürdeki tüm çalışmalara göre duyarlılık değerleri incelendiğinde hazırladığımız Pt/PEDOT-MWCNT-NFs/GOx biyosensörlerinden, enzim miktarları GOx-1, GOx-2 ve GOx-3 olan biyosensörlerin daha yüksek duyarlılık değerlerine sahip oldukları bulunmuştur. Örneğin, Chiu vd. (2009), Zhou vd. (2018) ve Barsan vd. (2016)'nin yaptıkları PEDOT-CNT bazlı glukoz biyosensörleri çalışmalarında duyarlılıklar sırasıyla, 2.67 μA/mM.cm^2, 0.895 μA/mM.cm^2 ve 42.2 μA/mM.cm^2 olarak bulunmuştur.

GOx-5'teki artan enzim konsantrasyonu PEDOT kaplı MWCNT içeren nanolif biyosensörünün lineer aralığını 7 mM'a kadar genişletmiş ve duyarlılığı ~%60 azaltmıştır. Bu durum bize optimum enzim miktarının GOx-1 ve GOx-3 arasında olduğunu, daha fazla artan enzim miktarının duyarlılık açısından olumsuz olduğunu göstermiştir. Benzer durum, hazırladığımız PEDOT nanolif tabanlı GOx biyosensörlerinde de gözlemiştir. Optimum enzim konsantrasyonunun GOx-1 ve GOx-4 arasında olabileceğini ve 370 U enzim konsantrasyonunun duyarlılığı düşürdüğü gözlenmiştir (Şekil 5.4).



Şekil 5.4. H_2O_2'in yükseltgenmesinin takip edildiği biyosensörlerde, enzim miktarı ile biyosensör duyarlılığı arasındaki ilişki

Nanoliflerde enzim miktarının artmasının biyosensörlerde geniş bir lineer aralık ve düşük duyarlılığa sebep olması, fazla enzim yüklemesinin protein-protein etkileşimlerinin artmasına, enzimin uygun konformasyonunu inhibe etmesine ve bunun da sterik etkiye ve immobilize enzimin aktif bölgesine substratın difüzyonunu sınırlandırabilmesi ile açıklanmaktadır (Balogh-Weiser vd. 2018, Moreno-Cortez vd. 2015, Shrivastava vd. 2011). Ayrıca, enzim miktarının artmasının, genel olarak lif morfolojisini de etkilediği gözlenmiştir. Moreno-Cortez vd. 'nin yapmış olduğu PVA nanolif tabanlı papain enzimi içeren metal sensörü çalışmasında artan enzim miktarının homojen lif morfolojisini bozduğu, nanolif çaplarını arttırdığını, boncuksu yapılar oluşturduğunu ve katalitik aktivitede keskin bir düşüş olduğunu gözlemlemişlerdir. Bu durumu, enzimlerin katı bir matriks içine hapsedilmiş olması ve bunun bir sonucu olarak, substrata erişimin serbest enzime kıyasla daha kısıtlı olması ile açıklamışlardır (Moreno-Cortez vd. 2015). Yapılan diğer bir çalışmada, Balogh-Weiser vd. (2018)'de poliaspartamid nanolif tabanlı lipaz enzimi içeren biyosensör çalışmasında artan enzim miktarının nanolif çapında artışa neden olduğunu, homojen lif morfolojisini bozarak boncuksu yapıları oluşturduğunu ve spesifik enzim aktivitesinde bir azalma olduğunu gözlemlemişlerdir (Balogh-Weiser vd. 2018).Bu nedenle, enzim miktarının çok fazla artmasının, yalnızca immobilize enzimin aktif bölgesine substratın difüzyonunu sınırlandırmasından kaynaklı olmadığı, aynı zamanda lif morfolojisinin bozulmasıyla da biyosensörlerin duyarlılığını negatif olarak etkilediği gözlenmiştir.

Pt/PEDOT-MWCNT-NFs/GOx-2 en yüksek duyarlılık (92.24 μA/mM.cm^2), düşük LOD (7.7 μM) ve düşük Km (2.21 mM) gösterdiği için en iyi performanslı biyosensör olarak seçilmiştir. Art arda yapılan 32 ölçüm sonucunda bağıl aktivitenin %80.6 olduğu görülmüştür.

Enzimatik reaksiyon sonucu oluşan H_2O_2'in yükseltgenmesinin takip edildiği tüm glukoz biyosensörlerine ait amperometrik sonuçlar incelendiğinde (Çizelge 5.1), MWCNT içeren biyosensörlerin lineer aralıklarının daraldığı ve duyarlılıklarında artış meydana geldiği gözlenmiştir. Pt/PEDOT-NFs/GOx ve Pt/PEDOT-MWCNT-NFs/GOx biyosensörleri için, duyarlılıklardaki artışlar GOx-1 için ~%35 iken (53.58 μA/mM.cm^2'dan 87.8 μA/mM.cm^2'e) GOx-2'de ~%8 (85.2 μA/mM.cm^2'dan 92.24 μA/mM.cm^2'e) ve GOx-3'de ~%10 (74.22 μA/mM.cm^2'dan 81.7 μA/mM.cm^2'e), GOx-5'de ~%6 (24.47 μA/mM.cm^2'dan 29.8 μA/mM.cm^2'e) olmuştur. Yapılan çalışmalar sonucunda yüksek hassasiyet, düşük LOD gibi istenilen biyosensör gereksinimlerine göre elektrospinning çözeltisine MWCNT'ler eklenerek veya çeşitli enzim konsantrasyonları denenerek, biyosensörlerin performanslarının geliştirilebileceği gözlenmiştir.

Peroksit oluşumu ölçümüne dayalı biyosensörler daha basit olma avantajına sahipken, bu tür biyosensörlerde yüksek hassasiyete ulaşmak için yüksek bir çalışma potansiyelinin gerekliliği bazen bir dezavantaj oluşturmaktadır. İçeceklerde ve yiyeceklerde yaygın olarak bulunan interferantların yükseltgenebilir olması ve interferanttan kaynaklanan sinyallerin biyosensörlerin seçiciliğini etkilemesi, bazı durumlarda yüksek potansiyelde çalışılmasını engellemektedir. Bu nedenle oksijen tüketiminin ölçülmesi, düşük çalışma potansiyelli bir yaklaşım olarak kabul edilmiş (Çetin ve Camurlu 2018) ve glukozun elektrokimyasal tayini için tez çalışmamızda uygulanmıştır.Bu nedenle tüm Pt/PEDOT-NFs/GOx biyosensörlerin katodik alanda oksijen tüketimi takip edilmiştir. Biyosensörlerin katodik bölgedeki amperometrik tepkileri incelendiğinde, duyarlılıkların 111.78 μA/mM.cm^2'den 272.58 μA/mM.cm^2'ye ve LOD değerlerinin 19.2 μM'dan 165 μM'a değişiklik gösterdiği gözlenmiştir. Pt/PEDOT-NFs/GOx-4 biyosensörü hariç tüm biyosensörler 5-15 art arda kullanım arasında %80'den fazla bağıl aktivite göstermiştir.

Tezde elde edilen bulgular literatürdeki oksijen takibine dayalı sonuçlarla karşılaştırıldığında, Pt/PEDOT-NFs/GOx-2 biyosensörünün negatif potansiyeldeki duyarlılığının (272.58 μA/mM.cm^2); Kaya vd'nin(2018) yapmış olduğu PEDOT-ferrosen-3-(1H-pirol-1-il)anilin biyosensörünün sahip olduğu duyarlılıktan (112.2 μA/mM.cm^2) çok daha yüksek olduğu görülmüştür. Aynı şekilde, Chen (2020)'nin hazırladığı PEDOT-karbon fiber tabanlı glukoz biyosensörünün duyarlılık değerinden (8.5 μA/mM.cm^2) ve Guo ve Li (2010)'nin hazırlamış olduğu PEDOT-NiO glukoz biyosensörünün duyarlılık değerinden (16.9 μA/mM.cm^2) daha yüksek duyarlılığa sahip olduğu görülmüştür. Çizelge 5.1'e göre Pt/PEDOT-NFs/GOx-2; en yüksek kararlılık, en düşük K_m ve en yüksek bir duyarlılık gösterdiği için performansı en iyi biyosensör olarak seçilmiştir.

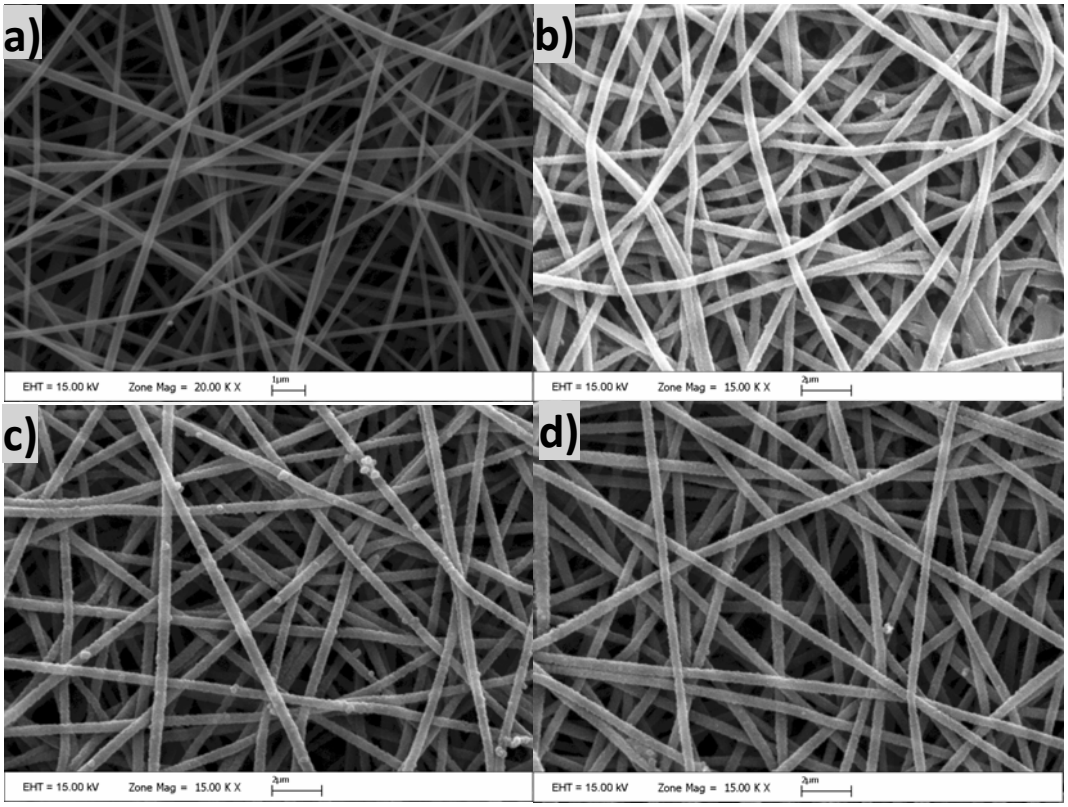
Hem H_2O_2 hem de O_2 takibine dayalı olarak yapılan çalışmalarda PEDOT nanoliflerinin enzim immobilizasyonu için uygun olduğu görülmüştür.

Çizelge 5.1. PEDOT nanolif tabanlı glukoz biyosensörlerinin analitik performansları

Biyosensör	Takip edilen bileşen	Potansiyel (V)	Duyarlılık (μA/mM.cm^2)	Doğrusal aralık (mM)	LOD (μM)	K_m (mM)	I_{max} (μM)
Pt/PEDOT-NFs/GOx-1	H_2O_2	0.6	53.5	0.01-2.5	7.2	2.07	3.97
Pt/PEDOT-NFs/GOx-1	O_2	-0.6	236.3	0.01-0.8	19.2	0.81	9.3
Pt/PEDOT-NFs/GOx-2	H_2O_2	0.6	85.2 ve 67.8	0.01-1.9 ve 0.06 - 5.0	9.6	4.28	12.95
Pt/PEDOT-NFs/GOx-2	O_2	-0.6	272.5	0.01-0.6	67.8	0.057	1.25
Pt/PEDOT-NFs/GOx-3	H_2O_2	0.6	74.2	0.01-1.7	2.9	0.91	2.89
Pt/PEDOT-NFs/GOx-3	O_2	-0.6	111.7	0.01-0.8	165	0.55	3.95
Pt/PEDOT-NFs/GOx-4	H_2O_2	0.6	72.6 ve 45.6	0.01-1 ve 0.1-4.5	4	4.07	11.24
Pt/PEDOT-NFs/GOx-4	O_2	-0.6	177.7	0.04-1	80	0.12	4.92
Pt/PEDOT-NFs/GOx-5	H_2O_2	0.6	24.4	0.01-14	1.1	3.19	4.43
Pt/PEDOT-NFs/GOx-5	O_2	-0.6	196.3	0.01-0.7	108	0.121	1.89
Pt/PEDOT-MWCNT-NFs/GOx-1	H_2O_2	0.65	87.8	0.01-1.5	6.3	2.64	7.6
Pt/PEDOT-MWCNT-NFs/GOx-2	H_2O_2	0.65	92.2	0.01-1.2	7.75	2.21	3.12
Pt/PEDOT-MWCNT-NFs/GOx-3	H_2O_2	0.65	81.7	0.01-1.6	2.3	1.12	2.73
Pt/PEDOT-MWCNT-NFs/GOx-5	H_2O_2	0.65	29.8	0.01-7	4.28	22.52	18.52

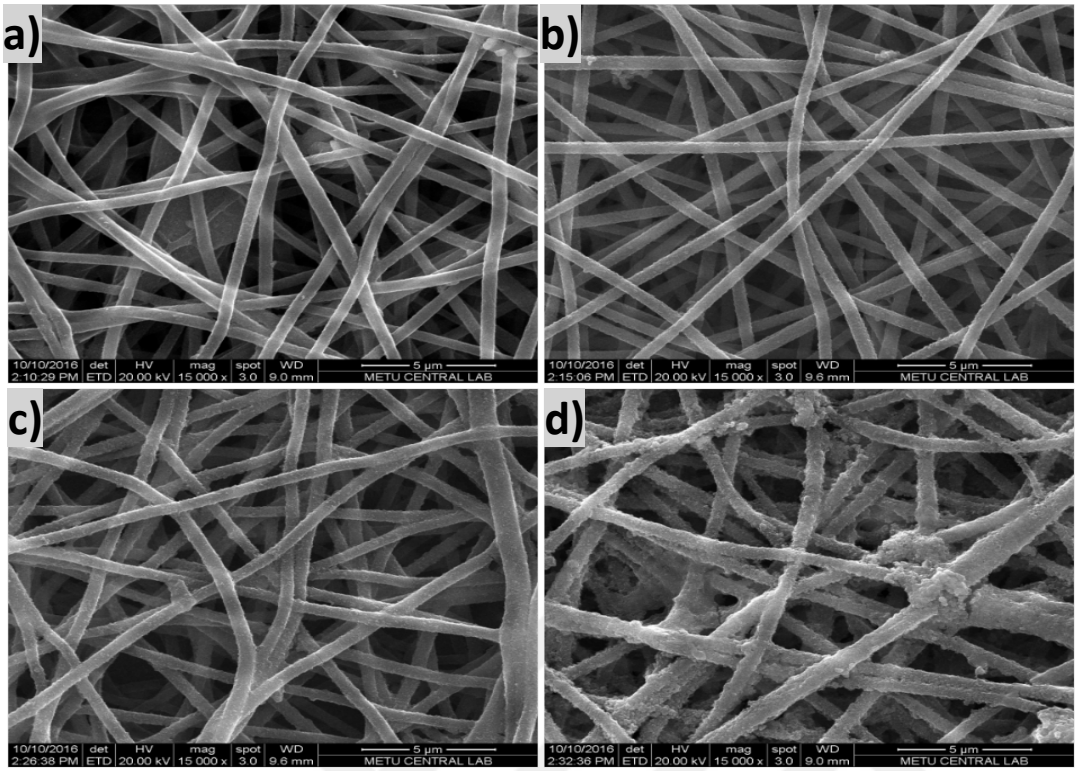
5.1.2. PPy tabanlı glukoz biyosensörleri

PPy nanolif tabanlı glukoz biyosensörlerini hazırlamadan önce PPy nanolifleri elde edilmiştir. Bunun için, farklı polimerizasyon sürelerinde PAN nanolifleri yüzeyinde pirolun kimyasal buhar polimerizasyonları gerçekleştirilmiş ve elde edilen lifler morfolojik olarak incelenmiştir. Nanoliflerin boncuksuz ve homojen morfolojiye sahip olduğu gözlenmiştir (Şekil 5.5). Kimyasal buhar polimerizasyonu sonucunda PAN nanoliflerinin yüzeyine kaplanan PPy polimeri lif çapında artış meydana getirmiştir. PAN nanoliflerinin (Şekil 5.5.a) çaplarının ortalaması 240 ± 12 nm iken PPy nanoliflerinin çaplarının, artan polimerizasyon süresine bağlı olarak 330 nm'den 455 nm'ye değiştiği gözlenmiş ve 3 dk'lık polimerizasyon süresi (Şekil 5.5.b) çalışmalarımız için optimum polimerizasyon süresi olarak seçilmiştir.



Şekil 5.5. a) PAN nanoliflerinin ve farklı polimerizasyon sürelerinde hazırlanan PPy nanoliflerinin SEM görüntüleri **b)** 3 dk, **c)** 4 dk ve **d)** 5 dk.

Daha sonra, Pt elektrot yüzeyinde elde edilen PPy nanoliflerine farklı birimlerde GOx enzimi yüklenmiş ve PPy nanolif tabanlı glukoz biyosensörleri hazırlanmıştır. pH'ı 7 olan fosfat tamponunda saklanan homojen PPy nanoliflerinin lif çapı 499.16 ± 4.6 nm ölçülmüş (Şekil 5.6.a) ve enzim miktarının artmasıyla nanolif yüzeylerinde daha fazla enzim birikmiş ve nanolif çaplarında artış meydana gelmiştir.



Şekil 5.6. a) pH 7 fosfat tamponunda bekletilen PPy nanolifleri, **b)** Pt/PPy-NFs/GOx-1 **c)** Pt/PPy-NFs/GOx-3, **d)** Pt/PPy-NFs/GOx-5 nanoliflerinin SEM görüntüleri

Enzimatik reaksiyon sonucu oluşan H_2O_2'in yükseltgenmesinin takip edildiği Pt/PPy-NFs/GOx biyosensörlerine ait amperometrik sonuçlar incelendiğinde, biyosensörlerin duyarlılıklarının 31.6 µA/mM.cm^2'den 68.95 µA/mM.cm^2'ye ve LOD değerlerinin 3.1 µM'dan 8.2 µM'a değişiklik gösterdiği gözlenmiştir.

Literatürdeki PPy nanolif ve PPy film içeren glukoz biyosensörleri ile tezde hazırlanan tüm Pt/PPy-NFs/GOx biyosensörleri karşılaştırıldığında, Pt/PPy-NFs/GOx biyosensörlerinin yüksek duyarlılıklara sahip olduğu görülmüştür (Damlin vd. 2004, Olea vd. 2008, Jianjun Wang vd.2005, Joseph Wang ve Musameh 2005). Örneğin Ekabutr vd. (2013), Palod vd. (2015), Xu vd. (2012) ve Liv vd. (2012)'nin yaptıkları PPy nanolif tabanlı glukoz biyosensörleri çalışmalarında duyarlılıklar sırası ile 5.41 µA/mM.cm^2, 1.9 µA/mM.cm^2, 9.97 µA/mM.cm^2 ve1.003 µA/mM.cm^2 olarak bulunmuştur. Yine Abu-Rabeah vd. (2009) ve Zhang vd. (2015)'nin yapmış olduğu PPy film içeren glukoz biyosensörlerinde duyarlılıklar sırası ile 16 µA/mM.cm^2 ve 18.4 µA/mM.cm^2 olarak bulunmuştur.

Enzimatik reaksiyon sonucu oluşan H_2O_2'in yükseltgenmesinin takip edildiği PPy nanolifli biyosensörlerin içinde Pt/PPy-NFs/GOx-1; en düşük Km (1.88 mM), düşük LOD değeri (7.8 µM) ve en yüksek duyarlılığa (68.95 µA/mM.cm^2) sahip olduğundan en iyi performanslı biyosensör olarak seçilmiştir. Pt/PPy-NFs/GOx-1 biyosensörünün 3 s'den daha kısa bir sürede kararlı duruma (steady state) geldiği görülmüş ve bu durumun nanoliflerin hızlı elektron değişimi ve iyi bir elektrokatalitik oksidatif davranışa sahip

olmasından kaynaklandığı düşünülmüştür. Pt/PPy-NFs/GOx-1 biyosensörünün art arda yapılan 20 ölçüm sonucunda akım cevabının (bağıl aktivite %90.12) aynı kaldığı görülmüştür. Yüksek bağıl aktivite gözlenmesinin nedeninin PPy nanoliflerinin GOx moleküllerini aktivite kaybı olmaksızın koruyabilmesi olduğu düşünülmüştür. Pt/PPy-NFs/GOx-1 biyosensörünün analitik performansı literatürdeki çalışmalarla kıyaslandığında yüksek duyarlılığa(Damlinvd. 2004, Ekabutr vd. 2013, Olea vd. 2008, Palod ve Singh 2015, Joseph Wang ve Musameh 2005) ve düşük LOD değerine (Ekabutr vd. 2013, Valentini vd.2013) sahip olduğu gözlenmiştir. Örneğin; Ekanayake vd. (2008)'nin, yapmış olduğu PPy bazlı glukoz biyosensöründe duyarlılık 62.5 μA/mM.cm^2 olarak ve Valentini vd (2012)'nin yapmış olduğu PPy-Au-GOx film tabanlı çalışmasında ise LOD değeri 50 μM olarak bulunmuştur. Pt/PPy-NFs/GOx-1 biyosensörünün K_m değerinin (1.88 μM) ise literatürdeki PPybazlı biyosensörler arasındaki en düşük K_m değeri olduğu ve bunun sonucu olarak hazırladığımız biyosensörün en yüksek enzim-substrat arasındaki ilgiye sahip olduğu gözlenmiştir. Palod vd. (2015)'nin, Ekanayake vd. (2008)'nin ve Uang vd. (2003)'nin yapmış olduğu PPy bazlı glukoz biyosensörlerinde Km değerleri sırasıyla 15.9 mM, 7.01 mM ve 37.6 mM olarak bulunmuştur.

PPy nanolif tabanlı glukoz biyosensörlerinin performanslarını geliştirmek için, PPy-MWCNT nanolif tabanlı glukoz biyosensörleri hazırlanmıştır. Bunun nedenle, optimum olarak belirlenen kütlece %10 MWCNT içeren PAN/MWCNT/DMF çözeltisinden elde edilen homojen nanoliflerPPy ile kaplanmış ve farklı birimlerde GOx enzimi immobilize edilerek glukoz biyosensörleri hazırlanmıştır.

Hazırladığımız PPy-MWCNT nanolif tabanlı glukoz biyosensörleri incelendiğinde (Çizelge 5.2) lineerliğin Pt/PPy-MWCNT-NFs/GOx-1, Pt/PPy-MWCNT-NFs/GOx-2 ve Pt/PPy-MWCNT-NFs/GOx-3 için 0.01 mM-2 mM arasında olduğu, duyarlılıkların ise GOx-1'den GOx-4'e 81.72 μA/mM.cm^2'den 37.01'e azaldığı gözlenmiştir. LOD değerleri incelendiğinde ise GOx-1, GOx-2 ve GOx-3'ün benzer değerlerde (2.38 μM, 2.82 μM, 2.43 μM) olduğu gözlenmiştir. PEDOT nanolif tabanlı glukoz biyosensörü çalışmasında olduğu gibi artan enzim miktarı ile duyarlılık değerlerindeki azalma trendi PPy nanolif tabanlı glukoz biyosensörlerinde de gözlenmiştir.

PPy-MWCNT nanolif tabanlı glukoz biyosensörlerinin amperometrik sonuçları literatürdeki PPy-MWCNT bazlı glukoz biyosensörleri ile karşılaştırıldığında, en yüksek duyarlılığın Shrestha vd. (2016)'nin yapmış olduğu PPy-Nafion-MWCNT-GOx filmi içeren biyosensöre (2860.3 μA/mM.cm^2) ait olduğu bulunmuştur. Bunun haricinde, literatürdeki tüm çalışmalara göre Pt/PPy-MWCNT-NFs/GOx-1 biyosensörünün en yüksek duyarlılık değerine (81.74 μA/mM.cm^2) sahip olduğu bulunmuştur. Örneğin; Ekabutr vd. (2013), Shrestha vd. (2017), Raicopol vd. (2013), Singh vd. (2012) ve Branzoi vd. (2009)'nin yaptıkları PPy-CNT bazlı glukoz biyosensörleri çalışmalarında duyarlılıklar sırasıyla 5.41 μA/mM.cm^2, 54.2 μA/mM.cm^2, 6 μA/mM.cm^2,13.8μA/mM.cm^2 ve 15.56 μA/mM.cm^2 olarak bulunmuştur. LOD değeri literatürdeki çalışmalarla kıyaslandığında ise Pt/PPy-MWCNT-NFs/GOx-1 biyosensörünün en düşük LOD değerine (2.38 μM) sahip olduğu bulunmuştur. Örneğin; Ekabutr vd. (2013), Shrestha vd. (2016), Wang vd. (2005), Shrestha vd. (2017), Raicopol vd. (2013), Singh vd. (2012) ve Branzoi vd. (2009)'nin hazırlamış olduğu PPy-CNT bazlı biyosensör çalışmalarında LOD değerleri sırasıyla 15.51 μM, 5 μM, 200 μM, 5 μM, 10 μM, 100 μM ve 50 μM olarak bulunmuştur. Sahip olduğu yüksek duyarlılık (81.74

µA/mM.cm^2), düşük LOD (2.38 µM)ve düşük Km (1.13 mM) gibi özellikler, Pt/PPy-MWCNT-NFs/GOx-1 biyosensörünü bu çalışma için optimum yapmıştır.

Enzimatik reaksiyon sonucu oluşan H_2O_2'in yükseltgenmesinin takip edildiği glukoz biyosensörlerine ait sonuçlar incelendiğinde MWCNT içeren biyosensörlerin lineer aralıklarının daraldığı ve duyarlılıklarında artış meydana geldiği gözlenmiştir (Çizelge 5.2). LOD değerleri ise MWCNT içeren biyosensörlerde daha düşük bulunmuş 7-8 M'dan 1-3 M'a inmiştir. Yapılan çalışmalar, PPy nanolif tabanlı GOx biyosensörlerinin MWCNT ile yeniden tasarlanması sonucunda biyosensörlerin duyarlılıklarının arttığını göstermiştir.

Literatür çalışmalarının bir bölümü de enzimatik reaksiyonlarda kullanılan oksijenin takip edildiği çalışmalardır. Bu nedenle, Pt/PPy-NFs/GOx-1 ve Pt/PPy-NFs/GOx-3 biyosensörleri katodik bölgede de çalışılarak oksijen tüketimi takip edilmiştir. Sonuçlar incelendiğinde, duyarlılıkların 116.42 µA/mM.cm^2'den 62.2 µA/mM.cm^2'ye ve LOD değerlerinin 70.1 µM (0.0701 mM)'dan 289 µM (0.289 mM)'a değişiklik gösterdiği gözlenmiştir. Pt/PPy-NFs/GOx-1 geniş lineer aralık, düşük K_m ve en yüksek duyarlılık gösterdiği için en iyi biyosensör olarak seçilmiştir.

Tezde elde edilen bulgular literatürdeki oksijen takibine dayalı sonuçlarla karşılaştırıldığında, Pt/PPy-NFs/GOx-1 biyosensörünün katodik bölgedeki duyarlılığının (116.42 µA/mM.cm^2) Wu vd.'nin (2016) oksijen takibine dayalı yaptıkları çalışmadaki PPy-grafen oksit/Au biyosensörünün duyarlılığından (40 µA/mM.cm^2) çok daha yüksek olduğu görülmüştür. LOD değeri 70.1 µM olan Pt/PPy-NFs/GOx-1 biyosensörünün, German vd.'nin(2020) yaptığı PPy-Au filmi içeren glukoz biyosensörünün sahip olduğu LOD değerinden (100 µM) daha düşük değere sahip olduğu görülmüştür.

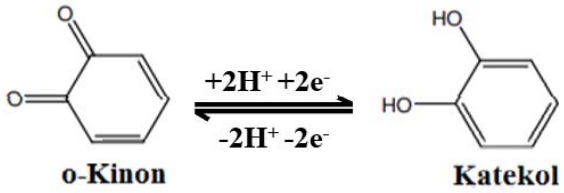
Genel olarak, PEDOT-MWCNT nanolif içeren GOx biyosensörleri ile PPy-MWCNT nanolif içeren GOx biyosensörleri kıyaslandığında; PPy-MWCNT için GOx-1 (46.25 U) optimize edilmeye uygun en yüksek enzim konsantrasyonu iken, PEDOT-MWCNT için 2 kat (GOx-2; 92.5 U), hatta 4 kat (GOx-3; 185 U) daha fazla GOx enziminin duyarlılığı düşürmeden, immobilize olabileceği gözlenmiştir. Bu durum, PEDOT tabanlı biyosensörlerin, PPy tabanlı biyosensörlere oranla H_2O_2'ye karşı üstün stabiliteye sahip olması ile açıklanmıştır (A. Kros vd. 2001, Alexander Kros vd. 2005). Ayrıca, PPy-MWCNT nanolif içeren GOx biyosensörleri için en düşük LOD değerine enzim miktarının en düşük olduğu GOx-1'de ulaşılırken, PEDOT-MWCNT nanolif içeren biyosensörler için GOx-3'te ulaşılmıştır. Enzimin substrata olan afinitesini gösteren Km değerleri incelendiğinde Pt/PPy-MWCNT-NFs/GOx-1 biyosensörünün Km değerinin (1.13 mM), Pt/PEDOT-MWCNT-NFs/GOx-1 biyosensörünün Km değerinden (2.64 mM) daha düşük olduğu ve aynı enzim miktarları için duyarlılıklarının da benzer olduğu (Pt/PPy-MWCNT-NFs/GOx-1 için 81.74 µA/mM.cm^2 ve Pt/PEDOT-MWCNT-NFs/GOx-1 için 87.8 µA/mM.cm^2) gözlenmiştir. Bu durum, düşük miktarda glukoz tespiti gerektiğinde, ekonomik açıdan PPy kullanılmasının daha avantajlı olduğunu göstermiştir.

Çizelge 5.2. PPy nanolif tabanlı glukoz biyosensörlerinin analitik performansları

Biyosensör	Takip edilen bileşen	Potansiyel (V)	Duyarlılık ($\mu A/mM.cm^2$)	Doğrusal aralık (mM)	LOD (μM)	K_m (mM)	I_{max} (μM)
Pt/PPy-NFs/GOx-1	H_2O_2	0.65	68.95	0.01-3.5	7.8	1.88	4.76
Pt/PPy-NFs/GOx-1	O_2	-0.65	116.42	0.03-0.6	70.1	0.25	1.69
Pt/PPy-NFs/GOx-2	H_2O_2	0.65	53.28 40.57	0.015-2.75 1-4	8.2	2.49	8.27
Pt/PPy-NFs/GOx-3	H_2O_2	0.65	33.98	0.01-4.5	7.5	22.02	17.76
Pt/PPy-NFs/GOx-3	O_2	-0.65	62.20	0.06-0.5	289.0	0.017	1.25
Pt/PPy-NFs/GOx-4	H_2O_2	0.65	31.60	0.01-8	8.1	39.90	45.60
Pt/PPy-NFs/GOx-5	H_2O_2	0.65	42.78	0.01-8	3.1	4.17	5.07
Pt/PPy-MWCNT-NFs/GOx-1	H_2O_2	0.65	81.74	0.01-2	2.3	1.13	1.40
Pt/PPy-MWCNT-NFs/GOx-2	H_2O_2	0.65	71.90	0.01-2	2.8	1.40	2.40
Pt/PPy-MWCNT-NFs/GOx-3	H_2O_2	0.65	50.25	0.01-2	2.4	1.11	1.98
Pt/PPy-MWCNT-NFs/GOx-4	H_2O_2	0.65	37.01	0.01-1.5	3.7	3.10	3.14

5.2. Polifenol Biyosensörleri

İnsan sağlığına zararlı olan fenolik bileşiklerin tespiti için polifenol oksidaz enzimi (Tirosinaz) kullanılarak elektrokimyasal biyosensörlerin geliştirilmesiyle, fenolik sensör çalışmaları hız kazanmıştır. Kullanılan polifenol oksidaz enzimi, moleküler oksijen varlığında fenollerin hidroksilasyonu ile katekole dönüşümünü ve katekolün o-kinonlara oksidayonunu sağlamaktadır. Polifenol biyosensörlerinin amperometrik analizlerinde o-kinonun, elektrokimyasal etki ile indirgenerek yeniden katekole dönüşümü takip edilmiştir (Şekil 5.7) (Queiroz vd. 2008).



Şekil 5.7. Polifenollerin ölçüm mekanizması

Tezin bu kısmında, elektrospinning yöntemiyle elde edilen PAN nanolifleri ve PAN-MWCNT nanolifleri üzerine PEDOT ve PPy iletken polimerleri kaplandıktan sonra polifenol oksidaz enzimi immobilize edilmiş ve böylece PAN/PEDOT Pt/PEDOT-NFs/PPO, Pt/PEDOT-MWCNT-NFs/PPO, Pt/PPy-NFs/PPO ve Pt/PPy-MWCNT-NFs/PPO biyosensörleri hazırlanmıştır. Bu biyosensörler çalışma koşulları açısından optimize edilmiş ve analitik performansları incelenmiştir.

5.2.1. PEDOT tabanlı polifenol biyosensörleri

Pt/PEDOT-NFs/PPO polifenol biyosensörlerine ait amperometrik sonuçlar incelendiğinde (Çizelge 5.3), biyosensörlerin duyarlılıklarının 1171.6 µA/mM.cm^2'den 3827.8 µA/mM.cm^2 'ye ve LOD değerlerinin 3.5 µM'dan 25.6 µM'a değişiklik gösterdiği gözlenmiştir. Üretilen PEDOT nanolifli biyosensörlerin içinde Pt/PEDOT-NFs/PPO-2; düşük Km, düşük LOD ve en yüksek duyarlılığa sahip olduğu için bu çalışmada en iyi biyosensör olarak seçilmiştir.

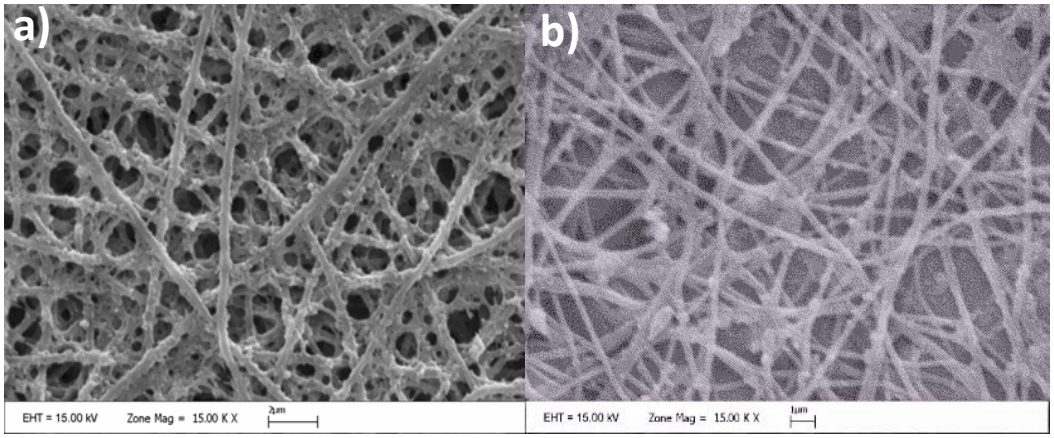
Literatürdeki PEDOT film içeren diğer polifenol biyosensörleri ile Pt/PEDOT-NFs/PPO-2 biyosensörü karşılaştırıldığında,Pt/PEDOT-NFs/PPO-2 biyosensörünün en yüksek duyarlılığa (3827.8 µA/mM.cm^2) ve geniş lineer aralığa sahip olduğu görülmüştür(Albayati vd. 2019, Lete vd. 2017, Lupu vd. 2013). Örneğin, Vedrine vd. (2003), Lupu vd. (2013) ve Lete vd (2017)'ninelektrokimyasal olarak hazırladıkları PEDOT film tabanlı polifenol biyosensörleri için duyarlılıklar sırasıyla 1999 µA/mM.cm^2 olarak, 0.83 µA/mM.cm^2 olarak ve 2.4 µA/mM.cm^2 olarak bulunmuştur. Kinetik parametreler incelendiğinde ise Pt/PEDOT-NFs/PPO-2'nin oldukça düşük Km'ye (0.068 mM) sahip olduğu gözlenmiştir.

Literatürdeki PEDOT-CNT tabanlı polifenol biyosensörleri incelendiğinde ise karbon nanotüp içeren biyosensörlerin, karbon nanotüp içermeyen biyosensörlere göre daha yüksek duyarlılığa (Lete vd. 2015), daha düşük LOD değerine (Albayati vd. 2019)

ve daha iyi kullanım kararlılığına sahip olduğu görülmüştür. Hazırladığımız Pt/PEDOT-MWCNT-NFs/PPO biyosensörleri içerisinde sahip olduğu yüksek duyarlılık (4351 μA/mM.cm^2) , düşük Km (0.0173 mM) ve düşük LOD (20.9 μM) değeri gibi özellikleri ile Pt/PEDOT-MWCNT-NFs/PPO-2 biyosensörü en iyi biyosensör olarak seçilmiştir.Literatürdeki çalışmalarla kıyaslandığında,en yüksek duyarlılığın Lete vd. (2015)'nin yapmış olduğu PEDOT-CNT-PPO film içeren biyosensöre (6368 μA/mM.cm^2) ait olduğu bulunmuştur. Bunun haricinde, Pt/PEDOT-MWCNT-NFs/PPO-2 biyosensörünün performansları, karbon nanotüp içeren PEDOT film tabanlı biyosensörler ile karşılaştırıldığında, Pt/PEDOT-MWCNT-NFs/PPO-2 biyosensörünün daha yüksek duyarlılık ve daha düşük LOD değerine sahip olduğu gözlenmiştir (Albayati vd. 2019, Negash vd. 2015).Yapılan araştırmalar sonucunda, literatürde PEDOT nanolif içeren polifenol biyosensörlerine ait çalışmalara hiç rastlanmamıştır.

Pt/PEDOT-NFs/PPO biyosensörleri ve Pt/PEDOT-MWCNT-NFs/PPO biyosensörleri incelendiğinde (Çizelge 5.3) MWCNT içeren ve MWCNT içermeyen polifenol biyosensörleri birbirleri ile benzer lineer aralıklar içinde kalırken, duyarlılıkları enzim konsantrasyonuna göre farklı oranlarda artmıştır. Örneğin, Pt/PEDOT-MWCNT-NFs/PPO-1 biyosensörü için duyarlılıkta neredeyse üç kat artış (%266) (1171.6 μA/mM.cm^2'den 3125.4μA/mM.cm^2'ye) gözlemlenirken, enzim konsantrasyonunun iki kat (PPO-2) veya dört kat (PPO-3) artması biyosensör duyarlılıklarında sırasıyla sadece %13 (3827.8 μA/mM.cm^2'den 4351μA/mM.cm^2'ye)ve %37 (3483.1μA/mM.cm^2'den 4801.5μA/mM.cm^2'ye) artışa yol açmıştır. Enzim konsantrasyonunun, başlangıçtaki miktardan altı kat daha fazla olduğu (PPO-1'e karşı PPO-4) biyosensörde ise duyarlılık değerleri kıyaslandığında (3476.12 μA/mM.cm^2'den 3590 μA/mM.cm^2'ye) neredeyse hiç artış olmadığı gözlenmiştir. Bu durum, MWCNT'lerin molekül ve dönüştürücü arasındaki elektron transferini geliştirmesinden ve oldukça hassas tepki elde etmek için daha düşük bir enzim konsantrasyonunun gerekli olmasıyla açıklanabilmektedir. Ayrıca, önceki çalışmalarımızda da görüldüğü gibi, artan enzim miktarının lif yapısını bozarak, lif morfolojisi üzerine olumsuz etkiye sahip olması da bu durumu açıklamaktadır (Şekil 5.8).

Lineweaver-Burk grafiklerinden hesaplanan görünen Km değerleri, Pt/PEDOT-NFs/PPO-1 ve Pt/PEDOT-MWCNT-NFs/PPO-1 biyosensörleri için benzer bir değere (0.068 mM ve 0.069 mM) sahipken, enzim miktarının iki kat artması (PPO-2) durumunda %50'lik bir azalma (0.044 mM'dan 0.017 mM'a) gözlenmiştir. Artan enzim konsantrasyonu (PPO-3) için Km değerinde yaklaşık iki kat artış (0.102 mM'dan 0.21 mM'a) gözlenmişken, PPO-4 için Km değerinde yaklaşık 10 kat artış (0.023 mM'dan 0.204'mM) gözlenmiştir. Km değerleri, spesifik substrat için biyomolekülün afinitesini temsil eder ve bununla ters orantılı olarak değiştiğinden; bu parametreler ayrıca enzimatik içerikteki bir artışın uygun olmayan konformasyon nedeniyle kısmi enzim inaktivasyonuna yol açtığı hipotezini de doğrulamaktadır. Bu durum, "intihar inaktivasyonu" olarak adlandırılan belirli bir miktar katekolün kinona dönüştürüldükten sonra, tirozinazın katekol tarafından kendi inhibisyonuna yol açan hızlı kinetiği nedeniyle olabilmektedir (Krol ve Bolton 1997).



Şekil 5.8. a) Pt/PEDOT-NFs nanoliflerine ve **b)** Pt/PEDOT-NFs/PPO-2 nanoliflerine ait 15000 kat büyütme ile elde edilen SEM görüntüleri

Literatürdeki PEDOT tabanlı polifenol biyosensör çalışmaları incelendiğinde daha düşük derişimlerde de (0.1 µM - 50 µM arasında) çalışmaların olduğu görülmüştür [Vedrine vd (2003), Lupu vd (2013), Sethuraman vd. (2015), Albayati vd. (2019), Serafin vd. (2011), Nambiar vd. (2013)]. Bu nedenle 134.35 U PPO içeren Pt/PEDOT-NFs/PPO-2 ve Pt/PEDOT-MWCNT-NFs/PPO-2 biyosensörleri için daha düşük aralıklarda da çalışmalar yapılmıştır. Pt/PEDOT-NFs/PPO-2 ve Pt/PEDOT-MWCNT-NFs/PPO-2 polifenol biyosensörlerinin analitik performansları incelendiğinde (Çizelge 5.3), MWCNT içermeyen Pt/PEDOT-NFs/PPO-2 biyosensörünün duyarlılığı0.5 µM – 50 µM lineer aralığı için 5667.6 µA/mM.cm^2 olarak bulunmuştur. MWCNT içeren Pt/PEDOT-MWCNT-NFs/PPO-2 biyosensörü ise iki lineer aralık sergilemiş ve 0.5 µM – 10 µM lineer aralığı için duyarlılık 7042.2 µA/mM.cm^2 olarak bulunmuşken 100 µM – 700 µM lineer aralığı için duyarlılık 321.4 µA/mM.cm^2 olarak bulunmuştur. İki biyosensörün duyarlılıkları karşılaştırıldığında, nanoliflere MWCNT'lerin dahil edilmesi ile duyarlılıkta %40'lık bir iyileşme olduğunu göstermektedir. Pt/PEDOT-NFs/PPO-2 ve Pt/PEDOT-MWCNT-NFs/PPO-2 polifenol biyosensörlerinin LOD değerleri ise sırasıyla 0.188 µM ve 0.114 µM olarak bulunmuştur.Kinon indirgemesine dayalı elektrokimyasal fenol biyoalgılamasında yer alan hız sınırlayıcı adımlar, substratların difüzyonu ve çözünürlüğü, elektrot yüzeyinde o-kinonun elektrokimyasal indirgenme hızı ve enzimatik reaksiyon kinetiği ile ilgilidir. Bu çalışmada substrat değişmediğinden, MWCNT'lerin yapıya dahil edilmesinin elektrokimyasal indirgemeyi kolaylaştırdığı düşünülmektedir. Bununla birlikte, Km değerindeki beş katlık bir azalma, MWCNT nanolif matrisinin enzim konformasyonunu koruyan daha uygun bir immobilizasyon platformu sağlayabileceğini, böylece gelişmiş enzim kinetiğine ve dolayısıyla daha hızlı substrat inhibisyonuna yol açabileceğini göstermiştir.

Yapılan çalışmalar sonucunda MWCNT içeren biyosensörün tekrar kullanım kararlılığının, MWCNT içermeyen biyosensörlere göre daha iyi performans gösterdiği bulunmuştur. Pt/PEDOT-NFs/PPO-2 biyosensörünün 21. kullanımda %71.6 bağıl aktivite gösterdiği, Pt/PEDOT-MWCNT-NFs/PPO-2 biyosensörünün ise 46. kullanımda %71.85 bağıl aktivite gösterdiği bulunmuştur. Pt/PEDOT-NFs/PPO-2 biyosensörünün raf ömrü analizi sonuçları 74. günde ilk aktivitenin %90'ını koruduğunu ve 101. günde

aktivitenin %78.9'unu korunduğunu göstermiştir. Pt/PEDOT-MWCNT-NFs/PPO-2 biyosensörünün raf ömrü analizi sonuçları ise 87. günde ilk aktivitenin %91.9'unu koruduğunu ve 122. günde aktivitenin %81.3 korunduğunu göstermiştir. Biyosensörleri MWCNT ile modifiye etmenin, analitik performansı geliştirdiği, kullanım kararlılığını arttırdığı ve raf ömrünü uzattığı gözlenmiştir.

Çizelge 5.3. PEDOT nanolif tabanlı polifenol biyosensörlerinin analitik performansları

Biyosensör	**Takip edilen bileşen**	**Potansiyel (V)**	**Duyarlılık (µA/mM.cm^2)**	**Doğrusal aralık (mM)**	**LOD (µM)**	**K_m (mM)**	**I_{max} (µA)**
Pt/PEDOT-NFs/PPO-1	Katekol	-0.1	1171.6	0.03 -0.24	3.9	0.068	8.91
Pt/PEDOT-NFs/PPO-2	Katekol	-0.1	3827.8	0.02 -0.15	3.5	0.044	23.31
Pt/PEDOT-NFs/PPO-3	Katekol	-0.1	3483.1	0.05 -0.18	3.7	0.102	36.3
Pt/PEDOT-NFs/PPO-4	Katekol	-0.1	3476.12 ve 1458.2	0.005 -0.09 0.1 -0.3	25.6	0.023	2.3
Pt/PEDOT-MWCNT-NFs/PPO-1	Katekol	-0.1	3125.4	0.04 -0.25	16.8	0.0692	40
Pt/PEDOT-MWCNT-NFs/PPO-2	Katekol	-0.1	4351	0.02 -0.15	20.9	0.0173	43.3
Pt/PEDOT-MWCNT-NFs/PPO-3	Katekol	-0.1	4801.5	0.04 -0.2	6	0.21	45.45
Pt/PEDOT-MWCNT-NFs/PPO-4	Katekol	-0.1	3590	0.02-0.1	9.11	0.204	21.93
Biyosensörler	**Takip edilen bileşen**	**Potansiyel (V)**	**Duyarlılık (µA/mM.cm^2)**	**Doğrusal aralık (µM)**	**LOD (µM)**	**K_m (mM)**	**I_{max} (µM)**
Pt/PEDOT-NFs/PPO-2	Katekol	-0.1	5667.6	0.05-50	0.188	0.035	8.46
Pt/PEDOT-MWCNT-NFs/PPO-2	Katekol	-0.1	7042.2 ve 321.4	0.05 -10	0.114	0.0073	2.61

5.2.2. PPy tabanlı polifenol biyosensörleri

Polifenol oksidaz enzimi ile PPy ve PPy-MWCNT nanolif içeren polifenol biyosensörleri hazırlanmış ve çalışma koşulları açısından optimize edildikten sonra analitik performansları incelenmiştir. İlk olarak, farklı miktarlarda polifenol oksidaz enzimi içeren Pt/PPy-NFs/PPO-1, Pt/PPy-NFs/PPO-2, Pt/PPy-NFs/PPO-3 ve Pt/PPy-NFs/PPO-4 biyosensörlerinin analitik performansları karşılaştırılmış ardından optimum seçilen enzim miktarı kullanılarak, PPy-MWCNT nanolif içeren biyosensör hazırlanmıştır.

Çizelge 5.4'te yer alan biyosensörlerinin analitik performansları incelendiğinde, biyosensörlerin duyarlılıklarının 19.48 μA/mM.cm^2'den 863.6 μA/mM.cm^2'ye, LOD değerlerinin 12.1 μM'dan 96 μM'a değişiklik gösterdiği ve lineer aralıkların 10 μM'dan 2000μM'a kadar olduğu gözlenmiştir.

Literatürdeki PPy tabanlı polifenol biyosensör çalışmaları incelendiğinde ise genellikle lineer aralığın 0.1 μM - 50 μM arasında olduğu (Cosnier vd. 1999, H. Li vd. 2017, Mailley vd. 2004, Ozoner vd. 2010, Rajesh vd. 2004, Ramu vd. 2021, Vellaichamy vd. 2017) ve immobilize edilen PPO enzim miktarının genellikle 100 U – 170 U arasında değiştiği görülmüştür (C. Apetrei vd. 2011, Mayorga-Martinez vd. 2013, X. Wang vd. 2009). Bu nedenle 134.35 U PPO çalışmalar için optimum seçilmiş ve daha düşük konsantrasyonlarda daha dar lineer aralıkta çalışılması amaçlanmış ve duyarlılık, kararlılık, girişim etkisi, gerçek numune analizi ve raf ömrü gibi çalışmaları yapılmıştır.

134.35 U PPO içeren PPy nanolif ve PPy-MWCNT nanolif tabanlı biyosensörleri, literatürdeki PPy ve PPy-MWCNT tabanlı diğer polifenol biyosensörleri ile karşılaştırdığımızda; Pt/PPy-MWCNT-NFs/GOx-2 biyosensörünün katekole karşı en yüksek duyarlılığa (10015 μA/mM.cm^2) sahip olduğu görülmüştür. Örneğin, Rasejh vd. (2003), Rasejh vd. (2005) Abu-Rabeah vd. (2005), Apetrei vd. (2019), Mailley vd. (2004), Cosnier vd. (1999) ve Vellaichamy vd. (2017)'nin yaptıkları PPy film içeren polifenol biyosensörleri çalışmalarında duyarlılıklar, sırasıyla, 2100 μA/mM.cm^2, 330 μA/mM.cm^2, 0.35μA/mM.cm^2, 37.45 μA/mM.cm^2, 0.475μA/mM.cm^2, 65 μA/mM.cm^2 ve11.3μA/mM.cm^2 olarak bulunmuştur. PPy-CNT tabanlı polifenol biyosensörleri incelendiğinde karbon nanotüp içeren biyosensörlerin daha yüksek duyarlılığa, daha düşük LOD değerine ve daha iyi kullanım kararlılığına sahip olduğu görülmüştür (H. Li ve ark. 2017, Ozoner ve ark. 2010). CNT içeren çalışmalarla Pt/PPy-MWCNT-NFs/PPO-2 biyosensörünün performanslarını karşılaştırıldığında da daha yüksek duyarlılık, daha düşük LOD değerine sahip olduğu ve daha iyi kullanım kararlılığı gösterdiği de gözlenmiştir (H. Li vd. 2017, Ozoner vd. 2010).

Düşük derişim aralığında MWCNT içermeyen Pt/PPy-NFs/PPO-2 biyosensörünün duyarlılıkları 0.5 μM – 17 μM lineer aralığı için 5017 μA/mM.cm^2 olarak ve 13 μM – 250 μM lineer aralığı için 596.1 μA/mM.cm^2 olarak bulunmuştur. MWCNT içerenPt/PPy-MWCNT-NFs/PPO-2 biyosensörünün duyarlılıklarıise 0.5 μM – 10 μM lineer aralığı için 10015 μA/mM.cm^2 ve 10 μM – 60 μM lineer aralığı için 2907 μA/mM.cm^2 olarak bulunmuştur (Çizelge 5.4). Yapılan çalışma sonucunda Pt/PPy-MWCNT-NFs/PPO-2 biyosensörünün literatürdeki en yüksek duyarlılığa sahip olduğu gözlenmiştir (H. Li vd. 2017, Njagi ve Andreescu 2007).Nanoliflere MWCNT'lerin dahil edilmesi, birinci lineer aralıkta biyosensör duyarlılığında iki kat artışa (5017

µA/mM.cm^2'den 10015 µA/mM.cm^2'ye) ve sonuç olarak daralan ikinci doğrusal aralık için duyarlılıkta beş kat artışa (596.1µA/mM.cm^2 'den 2907 µA/mM.cm^2 'ye) yol açmıştır. Bu durum, MWCNT'ler ve PPy arasındaki etkileşimin, biyomolekül ve dönüştürücü arasındaki elektron transferini, yüksek oranda arttırdığını göstermektedir.

Geliştirilen biyosensörler hem kulanım kararlılığı hem de raf ömrü açısından da değerlendirilmiştir. Pt/PPy-NFs/PPO-2 biyosensörünün 24. kullanımda %73.3 bağıl aktivite gösterdiği, Pt/PPy-MWCNT-NFs/PPO-2 biyosensörünün ise 51. kullanımda %71.85 bağıl aktivite gösterdiği bulunmuştur. Bu sonuçlar, MWCNT'lerin nanoliflere dahil edilmesinin, geliştirilen biyosensörlerin performansını yalnızca biyomolekül ve dönüştürücü arasında elektron taşınmasını artırarak değil, aynı zamanda fiziksel takviye sağlayarak da geliştirdiğini göstermektedir. Pt/PPy-NFs/PPO-2 biyosensörünün raf ömrü analizi sonuçları 25. günde ilk aktivitenin %90'ını koruduğunu ve 105. günde aktivitenin %71.1 korunduğunu göstermiştir. Pt/PPy-MWCNT-NFs/PPO-2 biyosensörünün raf ömrü analizi sonuçları ise 42. günde ilk aktivitenin %90'ını koruduğunu ve 115. günde aktivitenin %70.1 korunduğunu göstermiştir. Biyosensörleri MWCNT ile modifiye etmenin, analitik performansı geliştirdiği, kullanım kararlılığını arttırdığı ve raf ömrünü uzattığı gözlenmiştir.

Lineweaver Burk grafiğinden hesaplanan K_m ve I_{max}, Pt/PPy-NFs/PPO-2 biyosensörü için sırasıyla,0.014 mM (14 µM) ve 2.54 µA olarak, Pt/PPy-MWCNT-NFs/PPO-2 biyosensörü için sırasıyla,0.013 mM (13 µM) ve 4.51 µA olarak bulunmuştur. Çok düşük katekol konsantrasyonlarında her iki biyosensör de benzer algılama kabiliyeti göstermiştir (LOD'ları benzer).

Çizelge 5.4. PPy nanolif tabanlı polifenol biyosensörlerinin analitik performanslar

Biyosensör	**Takip edilen bileşen**	**Potansiyel (V)**	**Duyarlılık ($\mu A/mM.cm^2$)**	**Doğrusal aralık (mM)**	**LOD (µM)**	**K_m (mM)**	**I_{max} (µA)**
Pt/PPy-NFs/PPO-1	Katekol	-0.1	551.71	0.01 -0.1	12.1	0.24	3.865
Pt/PPy-NFs/PPO-2	Katekol	-0.1	19.48	0.01 -1	13.89	0.05	0.337
Pt/PPy-NFs/PPO-2	Katekol	-0.1	21.72	0.01 -0.1	-	0.047	0.333
Pt/PPy-NFs/PPO-3	Katekol	-0.1	863.6 238.5	0.01 -0.10. 125 -0.55	24.7	1.3	32.67
Pt/PPy-NFs/PPO-4	Katekol	-0.1	121.7 11.91	0.04 -0.25 0.07 -2	96	0.22	2.14
Biyosensörler	**Takip edilen bileşen**	**Potansiyel (V)**	**Duyarlılık ($\mu A/mM.cm^2$)**	**Doğrusal aralık (µM)**	**LOD (µM)**	**K_m (mM)**	**I_{max} (µM)**
Pt/PPy-NFs/PPO-2	Katekol	-0.1	5017 596.1	0.5 -17 13 -250	0.496	0.014	2.54
Pt/PPy-MWCNT-NFs/PPO-2	Katekol	-0.1	10015 2907	0.5 – 10 10 – 60	0.404	0.013	4.51

6. SONUÇLAR

Bu çalışmada, biyosensörlerin çalışma elektrotlarında iletken nanoliflerin kullanılmalarının daha iyi analitik sonuçlar sağlayacağı hipotezi ile glukoz ve polifenol biyosensörleri hazırlanmıştır. Bu noktada iletken nanoliflerin yüksek gözenekli yapısı, geniş yüzey alanı, yüksek elektriksel iletkenlikleri ve sahip oldukları üstün mekanik özellikleri dikkate alınmıştır. PAN ucuz olması, iyi mekanik özellikler göstermesi ve suda çözünmemesi; PEDOT, PPy ucuz olmaları ve yüksek iletkenliğe sahip iyi bilenen polimerler olmaları sebepleri ile tercih edilmiştir. İletken polimerlerin hazırlanmasında elektrospinning ve kimyasal buhar polimerizasyonu ise basit, ucuz ve etkin yöntemler oldukları için tercih edilmiştir.

PAN nanolifleri ile ilgili çalışmalarda optimum çalışma koşullarının %7'lik PAN/DMF çözeltisi ile 0.5 ml/saat besleme hızı, 15 kV uygulama potansiyeli ve şırınga ucu-toplayıcı arasındaki mesafenin ise 15 cm olduğu bulunmuştur. PAN nanoliflerinin; homojen lif morfoljisine sahip, boncuksuz ve 240 ± 12 nm lif çapına sahip oldukları tespit edilmiştir. MWCNT'nin literatürde bilinen olumlu etkilerinden yaralanmak üzere PAN/MWCNT nanolifleri çeşitli çözeltiler ile hazırlanmıştır. Bunlar arasında %7'lik PAN/DMF konsantrasyonu sabit kalacak şekilde, çözünen PAN miktarının %10'u kadar MWCNT içeren çözelti konsantrasyonu optimum seçilmiştir. Bu nanoliflerin çapının 170 ± 10 nm olduğu ve homojen lif morfolojisine sahip olduğu belirlenmiştir.

Bir sonraki aşamada PAN ve PAN/MWCNT nanolifleri üzerine kimyasal buhar polimerizasyonu yöntemi ile EDOT ve Py'ün polimerizasyonu sağlanmıştır. İletken polimer kaplanmış nanolifler SEM'de morfolojik olarak ve döngüsel voltametri ile elektrokimyasal olarak incelenmiş ve optimum polimerizasyon süreleri belirlenmiştir. Morfolojik analiz sonucunda artan polimerizasyon süresinin lif morfolojisini bozduğu ve bu nedenle PEDOT için optimum polimerizasyon süresinin 5 dk, PPy için optimum polimerizasyon süresinin 3 dk olduğu bulunmuştur. PEDOT, PEDOT/MWCNT, PPy, PPy/MWCNT nanoliflerin ortalama çaplarının sırası ile 350 ± 20 nm, 304 ± 10 nm, 330 ± 10 nm, 234 ± 5 nm olduğu tespit edilmiştir.

Pt yüzeyine kaplanan PEDOT, PEDOT/MWCNT,PPy, PPy/MWCNT nanoliflerine, farklı birimlerde GOx (46.25U, 92.5U, 185U, 277.5U ve 370U) ve PPO (67.175U, 134.35U, 268.7U, 403.1U ve 537.4U) içeren enzimler yüklendik sonra kütlece %1'lik GA çözeltisinden damlatılarak enzim immobilizasyonu gerçekleştirilmiştir. Hazırlanan PEDOT ve PPy nanolif tabanlı glukoz ve polifenol biyosensörlerinin pH ve çalışma potansiyeli gibi optimum çalışma koşulları belirlendikten sonra, tüm biyosensörlerin analitik performansları incelenmiştir. MWCNT içeren ve MWCNT içermeyen iletken nanoliflerden, 25 glukoz ve 16 polifenol olmak üzere toplamda 41 farklı enzim biyosensörü hazırlanmıştır. Glukoz biyosensörleri hem H_2O_2 ölçümüne bağlı olarak hem de O_2 ölçümüne bağlı olarak kronoamperometrik ölçüm yapacak biçimde tasarlanmıştır. Polifenol biyosensörleri ise enzimatik reaksiyon sonucu oluşan katekolün takibini temel almaktadır.

H_2O_2'in yükseltgenmesinin takip edildiği PEDOT nanolif tabanlı glukoz biyosensörlerinin duyarlılıklarının 24.47 $\mu A/mM.cm^2$ ile 85.2 $\mu A/mM.cm^2$ arasında, lineer aralıklarının 0.01 mM – 14 mM arasında ve LOD değerlerinin 1.1 µM – 9.6 µM arasında olduğu bulunmuştur. Bu biyosensör sınıfından Pt/PEDOT-NFs/GOx-3 en

yüksek kararlılığa (24. kullanım sonucunda bağıl aktivite %93.13), en düşük standart sapmaya, en düşük K_m'ye, düşük LOD'a ve oldukça yüksek bir duyarlılığa sahip olması sebebi ile en iyi sensör (Çizelge 6.1) olarak belirlenmiştir. Raf ömrü çalışması 90. gün sonunda aktivitenin %79'unun korunduğunu göstermiştir. Pt/PEDOT-NFs/GOx-3 biyosensörünün 3 s'den daha kısa bir sürede kararlı duruma (steady state) geldiği görülmüştür. Bu durum nanoliflerin hızlı elektron değişimi ve iyi bir elektrokatalitik oksidatif davranışa sahip olmasının bir sonucudur. Biyosensörlerin cevap süresi incelendiğinde ise, enzim miktarının artmasıyla cevap süresinin arttığı gözlenmiştir. Bu durum ise, artan enzim miktarının nanolif morfolojisini bozmasını ve enzimin aktif bölgesine substratın difüzyonunu sınırlandırmasının bir sonucudur.

Pt/PEDOT-MWCNT-NFs/GOx biyosensörlerinde duyarlılıkların 29.8 $\mu A/mM.cm^2$'den 92.94 $\mu A/mM.cm^2$'ye değiştiği ve lineer aralıkların 0.01 mM-1.6 mM arasında olduğu bulunmuştur. Pt/PEDOT- MWCNT-NFs/GOx-2 en yüksek duyarlılık, düşük LOD ile en iyi biyosensör performansı (Çizelge 6.1) sergilemiştir. Hazırladığımız PEDOT-MWCNT nanolif tabanlı biyosensörün literatürdeki PEDOT-CNT bazlı glukoz biyosensörleri ile analitik performanlarını kıyasladığımızda en yüksek duyarlılığın Wu vd. (2019)'nin yapmış olduğu PEDOT-CNT-GOx biyosensörüne (1439.1 $\mu A/mM.cm^2$) ait olduğu belirlenmiştir. Onun haricinde hazırladığımız Pt/PEDOT- MWCNT-NFs/GOx-2 en yüksek duyarlılığa sahip olduğu bulunmuştur (Barsan vd. 2016, Chiu vd. 2009, P. Zhou vd. 2018).

H_2O_2'in yükseltgenmesinin takip edildiği Pt/PEDOT-NFs/GOx biyosensörleri ve Pt/PEDOT-MWCNT-NFs/GOx biyosensörlerine ait amperometrik sonuçlar incelendiğinde MWCNT içeren biyosensörlerin lineer aralıklarının daraldığı ve duyarlılıklarında artış meydana geldiği belirlenmiştir.

PEDOT nanolif ve PEDOT-MWCNT nanolif tabanlı biyosensörlerde yüksek bağıl aktivite gözlenmesinin sebebinin, gözenekli PEDOT nanoliflerinin GOx moleküllerini aktivite kaybı olmaksızın koruyabilmesi olduğu sonucuna varılmıştır. Ayrıca, yüksek duyarlılık, düşük LOD gibi özellikler elektrospinning çözeltisine MWCNT'lerin eklenerek veya çeşitli enzim konsantrasyonlarının denenerek, biyosensörlerin performanslarının geliştirilebileceği ortaya koyulmuştur.

O_2'in indirgenmesinin takip edildiği katodik bölgedeki (-0.6 V) PEDOT nanolif tabanlı glukoz biyosensörlerinin lineer aralıkları genellikle 0.01 mM ile 1 mM arasında ve LOD değerleri 19.2 µM ile 165 µM arasında bulunmuştur. Biyosensörler arasında Pt/PEDOT-NFs/GOx-2'un H_2O_2'in yükseltgenmesinin takip edildiği çalışmalardaki gibi en iyi performanslı biyosensör olarak değerlendirilmiştir.

PPy nanolif tabanlı glukoz biyosensörlerinin anodik bölgedeki (+0.65 V) sonuçları incelendiğinde, lineer aralıkların 0.01 mM ile 8 mM arasında olduğu ve LOD değerlerinin 3.1 µM ile 8.21 µM arasında olduğu bulunmuştur. PPy-MWCNT nanolif tabanlı glukoz biyosensörlerde ise duyarlılığının 37.01 $\mu A/mM.cm^2$ ile 81.74 $\mu A/mM.cm^2$ arasında değiştiği ve LOD değerlerinin ilk üç enzim konsantrasyonu (GOx-1, GOx-2 ve GOx-3) için benzer değerlerde (2.38 µM, 2.82 µM, 2.43 µM) olduğu bulunmuştur. Her iki sınıf biyosensör için de GOx-1 (Çizelge 6.1) en yüksek performanslı biyosensör olarak belirlenmiştir.

H_2O_2'in yükseltgenmesinin takip edildiği Pt/PPy-NFs/GOx biyosensörleri ve Pt/PPy-MWCNT-NFs/GOx biyosensörlerine ait sonuçlar incelendiğinde MWCNT içeren biyosensörlerin lineer aralıklarının daraldığı ve duyarlılıklarında artış meydana geldiği gözlenmiştir. LOD değerleri ise MWCNT içeren biyosensörlerde daha düşük bulunarak 7-8 μM'dan 2-3 μM'a inmiştir.

PPy-MWCNT nanolif tabanlı glukoz biyosensörlerinin amperometrik sonuçları literatürdeki PPy-MWCNT bazlı glukoz biyosensörleri ile karşılaştırıldığında, PPy-Nafion-MWCNT-GOx filmi içeren sadece bir çalışmanın bizim sonuçlarımızdan daha iyi olduğu (duyarlılık; 2860.3 μA/mM.cm^2) bulunmuştur. O çalışmanın haricinde ise, hazırladığımız Pt/PPy-MWCNT-NFs/GOx-1 biyosensörün literatürdeki tüm çalışmalardan daha yüksek duyarlılığa sahip olduğu (81.74 μA/mM.cm^2) bulunmuştur (Brânzoi vd. 2009, Ekabutr vd. 2013, Raicopol vd. 2013, Shrestha vd. 2017, Singh vd. 2009).

PPy nanolif tabanlı glukoz biyosensörlerinin katodik bölgedeki (-0.65 V) sonuçları incelendiğinde ise, duyarlılıkların 116.42 μA/mM.cm^2'den 62.2 μA/mM.cm^2'ye ve LOD değerlerinin 70.1 μM (0.0701 mM)'dan 289 μM (0.289 mM)'a değişiklik gösterdiği gözlenmiştir. Pt/PPy-NFs/GOx-1 geniş lineer aralık (0.03 mM – 0.6 mM), düşük K_m 0.25 ve en yüksek duyarlılık (116.42 μA/mM.cm^2) gösterdiği için en iyi biyosensör olarak seçilmiştir. Pt/PPy-NFs/GOx-1 biyosensörünün analitik sonuçları, literatürdeki diğer PPy tabanlı çalışmalarla kıyaslandığında hazırladığımız biyosensörlerin en yüksek duyarlılık değerlerine sahip oldukları gözlenmiştir (Damlin vd. 2004, Ekabutr vd. 2013, Ekanayake vd.. 2008, Olea vd.2008, Palod ve Singh 2015, Valentini vd. 2013, Joseph Wang ve Musameh 2005).

Hem PEDOT hem de PPy tabanlı biyosensörlerin tekrar kullanılabilirlilik çalışmaları incelendiğinde O_2 dayalı ölçümlerde duyarlılığın daha yüksek olmasına karşın art arda kullanılabilirliğin daha düşük olduğu gözlenmiştir.

Hazırladığımız PEDOT ve PPy nanolif tabanlı tüm glukoz biyosensörlerinin performansları karşılaştırıldığında, PEDOT nanolif tabanlı biyosensörlerin PPy nanolif tabanlı biyosensörlerden daha yüksek duyarlılık gösterdikleri tespit edilmiştir. Bu durum, PEDOT polimerinin daha yüksek iletkenliğe sahip olmasının ve PEDOT nanoliflerinin morfolojisinin PPy nanoliflerine göre daha gözenekli olmasının sonucudur. Gözenekli yapı, enzimin matris içerisine daha iyi hapsedilebilmesini sağlayarak GOx moleküllerini aktivite kaybı olmaksızın koruyabilmektedir.

Artan enzim konsantrasyonu ile hazırlanan tüm glukoz biyosensörlerin analitik sonuçları incelendiğinde, genellikle yüksek GOx konsantrasyonlarında lineer aralıkların genişlediği ve duyarlılıkların azaldığı gözlenmiştir. Artan enzim konsantrasyonu nanolif yüzeyine daha fazla miktarda enzimin immobilize olmasına ve lif morfolojisinin bozulmasına, nanolif çaplarının artmasına sebep olmaktadır. Bozulan nanolif morfolojisi, yüzey alanın küçülmesine ve nanoliflerin sahip olduğu yüksek gözenekli yapıyı bozmasına neden olarak immobilize enzimin aktif merkezine substratın difüzyonunu sınırlandırmaktadır. Bu durum biyosensör performanslarının düşmesine neden olmaktadır.

PEDOT nanolif tabanlı tüm polifenol biyosensörlerinin analitik sonuçları incelendiğinde, oldukça yüksek duyarlılıkların olduğu (1171.6 μA/mM.cm^2'den 3827.8 μA/mM.cm^2 'ye) ve LOD değerlerinin ise 3.5 μM ile 25.6 μM arasında değiştiği gözlenmiştir. Üretilen PEDOT nanolif tabanlı biyosensörlerin içinde düşük Km (0.044 mM), düşük LOD (3.5 μM) ve en yüksek duyarlılığa (3827.8 μA/mM.cm^2) sahip olan Pt/PEDOT-NFs/PPO-2 bu çalışmadaki en iyi biyosensör olarak seçilmiştir. Hazırladığımız Pt/PEDOT-NFs/PPO-2 biyosensörünün duyarlılığının, literatürdeki karbon nanotüp içermeyen PEDOT tabanlı polifenol çalışmaları arasındaki en yüksek duyarlılığa (3827.8 μA/mM.cm^2) sahip olduğu bulunmuştur (Albayati vd.2019, Lete vd. 2017, Lupu vd. 2013).

Pt/PEDOT-NFs/PPO biyosensörleri ve Pt/PEDOT-MWCNT-NFs/PPO biyosensörleri kıyaslandığında MWCNT içeren polifenol biyosensörlerinin duyarlılıklarının artan enzim konsantrasyonlarına göre farklı oranlarda arttığı, ancak en yüksek enzim konsantrasyonunda neredeyse hiç artış olmadığı gözlenmiştir. Artan enzim konsantrasyonu ile hazırlanan biyosensörlerin analitik sonuçları incelendiğinde ise, genellikle yüksek PPO konsantrasyonlarında lineer aralıkların genişlediği ve duyarlılıkların azaldığı gözlenmiştir.

Pt/PEDOT-NFs/PPO-2 ve Pt/PEDOT-MWCNT-NFs/PPO-2 polifenol biyosensörlerinin daha düşük derişim aralığında analite verdiği tepkiler de incelenmiş ve bu çalışmalarda duyarlılıklarının arttığı gözlenmiştir. Ayrıca, MWCNT içeren biyosensörün tekrar kullanım kararlılığının ve raf ömrünün, MWCNT içermeyen biyosensörlere göre daha iyi performans gösterdiği de bulunmuştur. Pt/PEDOT-NFs/PPO-2 biyosensörünün 21. kullanımda %71.6 bağıl aktivite gösterdiği, Pt/PEDOT-MWCNT-NFs/PPO-2 biyosensörünün ise 46. kullanımda %71.85 bağıl aktivite gösterdiği bulunmuştur. Raf ömrü çalışmaları incelendiğinde ise Pt/PEDOT-NFs/PPO-2 biyosensörünün 74. günde ilk aktivitesinin %90'ınını koruduğunu ve 101. Günde ise aktivitesinin %78.9'unu koruduğunu göstermiştir. Pt/PEDOT-MWCNT-NFs/PPO-2 biyosensörünün ise 87. günde ilk aktivitesinin %91.9'ununu koruduğunu ve 122. günde aktivitesinin %81.3'ünü koruduğunu göstermiştir (Çizelge 6.1).

Düşük derişim aralığındaki çalışmalarımızın sonuçları, literatürdeki en yüksek duyarlılık değerine (6368 μA/mM.cm^2) sahip olan ve PEDOT-CNT film içeren polifenol biyosensörlerinden daha iyi performanslara sahip olduğumuzu da göstermiştir (Lete ve ark. 2015).

PEDOT tabanlı polifenol biyosensörlerinin ardından, PPy nanolif içeren ve PPy-MWCNT nanolif içeren polifenol biyosensörleri için çalışmalar yapılmıştır. MWCNT içermeyen biyosensörler incelendiğinde, duyarlılıklarının 19.48 μA/mM.cm^2'den 863,6 μA/mM.cm^2'ye, LOD değerlerinin 12.1 μM'dan 96 μM'a değişiklik gösterdiği ve lineer aralıkların 0.01 mM'dan 2mM'a kadar olduğu gözlenmiştir.

Düşük derişim aralığında ise 134.35 U PPO içeren Pt/PPy-NFs/PPO-2 ve Pt/PPy-MWCNT-NFs/PPO-2 biyosensörlerin sırası ile duyarlılıkları 596.1 μA/mM.cm^2 ve 10015 μA/mM.cm^2, LOD'u 0.496 μM ve 0.404 μM bulunmuştur. Biyosensörlerin kararlılık ve raf ömrü çalışmaları yapılmış Pt/PPy-NFs/PPO-2 biyosensörünün 24. kullanımda %73.3 bağıl aktivite gösterdiği ve raf ömrü analizi sonuçlarının 25. günde ilk aktivitesinin %90'ınını koruduğunu ve 105. günde ise aktivitesinin %71.1'ini koruduğunu

göstermiştir. Pt/PPy-MWCNT-NFs/PPO-2 biyosensörünün ise 51. kullanımda %71.85 bağıl aktivite gösterdiği ve raf ömrü analizi sonuçlarının ise 42. günde ilk aktivitesinin %90'ınını koruduğunu ve 115. günde aktivitesinin %70.1'ini koruduğunu göstermiştir (Çizelge 6.1).

Pt/PPy-MWCNT-NFs/GOx-2 biyosensörünün literürdeki diğer PPy tabanlı çalışmalardan daha yüksek duyarlılığa (10015 $\mu A/mM.cm^2$) sahip olduğu da görülmüştür (Abu-Rabeah vd.2005, R. M. Apetrei vd. 2019, Cosnier vd. 1999, Mailley vd. 2004, Vellaichamy vd. 2017).

PEDOT ve PPy nanolif tabanlı tüm polifenol biyosensörleri karşılaştırıldığında, PEDOT nanolif tabanlı biyosensörlerin PPy nanolif tabanlı biyosensörlerden daha yüksek duyarlılık ve daha düşük LOD gösterdikleri belirlenmiştir. Bu durum PEDOT polimerinin daha yüksek iletkenliğe sahip olması ile ilişkili olduğu düşünülmüştür.

Bu tez çalışması sonucunda, karbon nanotüple modifiye edilen biyosensörlerin, elektrokimyasal süreçleri hızlandırarak, biyomolekül ve dönüştürücü arasında elektron taşınmasını artırdığı, enzim konformasyonunu koruyarak daha uygun bir immobilizasyona olanak sağladığı ve mekanik takviye sağlayarak da biyosensörlerin performansını geliştirdiği gözlenmiştir. MWCNT nanolif içeren tüm biyosensörler, aynı polimeri ve aynı enzim konsantrasyonunu içeren biyosensörlerle kıyaslandıklarında, MWCNT içeren biyosensörlerin daha yüksek duyarlılık, daha dar lineer aralık ve daha düşük LOD değeri gösterdiği, kullanım kararlılığı ve raf ömrünü ise arttırdığı gözlenmiştir.

Çizelge 6.1. En iyi performansa sahip tüm biyosensörler

Biyosensör	Takip edilen bileşen	Potansiyel (V)	Duyarlılık ($\mu A/mM.cm^2$)	Doğrusal aralık (mM)	LOD (μM)	K_m (mM)	I_{max} (μA)	Kararlılık
Pt/PEDOT-NFs/GOx-3	H_2O_2	+ 0.6	74.22	0.01-1.7	2.9	0.911	2.89	24. kullanım sonucunda bağıl aktivite %93.13
Pt/PEDOT-MWCNT-NFs/GOx-2	H_2O_2	+ 0.65	92.24	0.01-1.2	7.7	2.21	3.12	32. kullanım sonucunda bağıl aktivite %80.6
Pt/PEDOT-NFs/GOx-2	O_2	- 0.6	272.58	0.01-0.6	67.8	0.057	1.25	20. kullanım sonucunda bağıl aktivite %90.12
Pt/PPy-NFs/GOx-1	H_2O_2	+ 0.65	68.95	0.01-3.5	7.8	1.88	4.76	20. kullanım sonucunda bağıl aktivite %90.13
Pt/PPy-MWCNT-NFs/GOx-1	H_2O_2	+ 0.65	81.74	0.01-2	2.4	1.13	1.40	27. kullanım sonucunda bağıl aktivite %77.07
Pt/PPy-NFs/GOx-1	O_2	- 0.65	116.42	0.03-0.6	70.1	0.25	1.69	17. kullanım sonucunda bağıl aktivite %81.28
Biyosensör	**Takip edilen bileşen**	**Potansiyel (V)**	**Duyarlılık ($\mu A/mM.cm^2$)**	**Doğrusal aralık (μM)**	**LOD (μM)**	**K_m (mM)**	**I_{max} (μA)**	**Kararlılık**
Pt/PEDOT-NFs/PPO-2	Katekol	-0.1	5667.60	0.05-50	0.188	0.035	8.46	21. kullanım sonucunda bağıl aktivite %71.6
Pt/PEDOT-MWCNT-NFs/PPO-2	Katekol	-0.1	7042.20 321.4	0.05-10 100-700	0.114	0.0073	2.61	46. kullanım sonucunda bağıl aktivite %71.85
Pt/PPy- NFs/PPO-2	Katekol	-0.1	5017 596.1	0.5-17 13-250	0.496	0.014	2.54	24. kullanım sonucunda bağıl aktivite %73.3
Pt/PPy-MWCNT-NFs/PPO-2	Katekol	-0.1	10015 2907	0.5 – 10 10 – 60	0.404	0.013	4.51	51. kullanım sonucunda bağıl aktivite %71.85

7. KAYNAKLAR

Abu-Rabeah, K., Marks, R. S.2009. Impedance study of the hybrid molecule alginate-pyrrole: Demonstration as host matrix for the construction of a highly sensitive amperometric glucose biosensor. *Sensors and Actuators, B: Chemical*, 136(2):516–522.

Abu-Rabeah, K., Polyak, B., Ionescu, R. E., Cosnier, S., Marks, R. S.2005. Synthesis and characterization of a pyrrole-alginate conjugate and its application in a biosensor construction. *Biomacromolecules*, 6(6): 3315–3318.

Adomavičiūtė, E.2007. The 5th Central European Conference 'Fibre Grade Polymers', ss. 69–72, 5-8 Eylül, Jagiellonion Üniversitesi, Krakow.

Alam, M. M., Wang, J., Guo, Y., Lee, S. P., Tseng, H.2005. Electrolyte-Gated Transistors Based on Conducting Polymer Nanowire Junction Arrays. *J. Phys. Chem. B*, 109 (26) : 12777–12784.

Albayati, S. A. R., Kashanian, S., Nazari, M., Rezaei, S.2019. Novel fabrication of a laccase biosensor to detect phenolic compounds using a carboxylated multiwalled carbon nanotube on the electropolymerized support. *Bulletin of Materials Science*, 42(4): 1–8.

Aleeva, Y., Maira, G., Scopelliti, M., Vinciguerra, V., Scandurra, G., Cannata, G., Giusi, G., Ciofi, C., Figa, V., Occhipinti, L. G., Pignataro, B. G.2018. Amperometric Biosensor and Front-End Electronics for Remote Glucose Monitoring by Crosslinked PEDOT-Glucose Oxidase. *IEEE Sensors Journal,* 18(12): 4869–4878.

Aleshin, A. N.2006. Polymer nanofibers and nanotubes: Charge transport and device applications. *Advanced Materials*, 18(1): 17–27.

Ali, M. A., Kim, H. H., Lee, C. Y., Soh, H. S., Lee, J. G.2009. Effects of the FeCl 3 Concentration on the Polymerization of Conductive Poly (3 , 4-ethylenedioxythiophene) Thin Films on (3-aminopropyl) Trimethoxysilane Monolayer-Coated SiO_2 Surfaces.*Metals and Materials*, 15(6): 977–981.

Altun, A., 2019. İletken polimer tabanlı amperometrik biyosensörlerin geliştirilmesi. Doktora tezi, Akdeniz Üniversitesi, Antalya, 133 s.

Ansari, R.2006. Polypyrrole Conducting Electroactive Polymers: Synthesis and Stability Studies. *E-Journal of Chemistry*, 3(4): 186–201.

Aparecido A., P. F., Carolina, V. U., Michelle, D. S. C., Naira, C. P., Marcos, V. F., Glauco, P. dos S., Cecílio, S. F., Assis, V. B., Hideki, Y.2013. Amperometric Biosensor for Diagnosis of Disease. State of the Art in Biosensors - Environmental and Medical Applications, Londra, pp. 253-286.

Apetrei, C., Rodríguez-Méndez, M. L., De Saja, J. A.2011. Amperometric tyrosinase based biosensor using an electropolymerized phosphate-doped polypyrrole film as an immobilization support. Application for detection of phenolic compounds. *Electrochimica Acta*, 56(24): 8919–8925.

Apetrei, R. M., Cârâc, G., Bahrim, G., Camurlu, P.2019. Utilization of enzyme extract self-encapsulated within polypyrrole in sensitive detection of catechol. *Enzyme*

and Microbial Technology, 128(2): 34–39.

Arogba, S. S.2000. Mango (Mangifera indica) Kernel: Chromatographic analysis of the tannin, and stability study of the associated polyphenol oxidase activity. *Journal of Food Composition and Analysis*, 13(2): 149–156.

Arslan, H., Arslan, F.2011. Preparation of a polypyrrole-polyvinylsulphonate composite film biosensor for determination of phenol based on entrapment of polyphenol oxidase. *Artificial Cells, Blood Substitutes, and Biotechnology*, 39(5): 341–345.

Babel, A., Li, D., Xia, Y., Jenekhe, S. A.2005. Electrospun Nanofibers of Blends of Conjugated Polymers : Morphology, Optical Properties, and Field-Effect Transistors. *Macromolecules,* 38 (11) : 4705–4711.

Ballav, N., Maity, A., Mishra, S. B.2012. High efficient removal of chromium (VI) using glycine doped polypyrrole adsorbent from aqueous solution. *Chemical Engineering Journal,* 198 (199): 536–546.

Balogh-Weiser, D., Németh, C., Ender, F., Gyarmati, B., Szilágyi, A., Poppe, L.2018. Electrospun Nanofibers for Entrapment of Biomolecules. Electrospinning Method Used to Create Functional Nanocomposites Films, pp.135-147.

Bankar, S. B., Bule, M. V, Singhal, R. S., Ananthanarayan, L.2009. Glucose oxidase-An overview. *Biotechnology Advances,* 27(4): 489–501.

Barsan, M. M., Pifferi, V., Falciola, L., Brett, C. M. A.2016. New CNT/poly(brilliant green) and CNT/poly(3,4-ethylenedioxythiophene) based electrochemical enzyme biosensors. *Analytica Chimica Acta*, 927: 35–45.

Bereket, G., Hür, E., Şahin, Y.2005. Electrodeposition of polyaniline, poly(2-iodoaniline), and poly(aniline-co-2-iodoaniline) on steel surfaces and corrosion protection of steel. *Applied Surface Science*, 252(5): 1233–1244.

Bisoffi, M., Severns, V., Branch, D. W., Edwards, T. L., Larson, R. S.2013. Rapid detection of human immunodeficiency virus types 1 and 2 by use of an improved piezoelectric biosensor. *Journal of Clinical Microbiology*, 51(6): 1685–1691.

Bollella, P.2020. Biosensors; Recent Advances and Future Challenges. *Sensors,* 20 (22): 1-5.

Borisov, S. M., Wolfbeis, O. S.2008. Optical Biosensors. *Chem. Rev.*, 106(941): 423–461.

Boutry, C.M., Gerber, I., Hierold, C. 2013. Electrically conducting biodegradable polymer composites (polylactide-polypyrrole and polycaprolactone-polypyrrole) for passive resonant circuits. *Polymer Engineering and Science*, 53(6):1196-1208.

Brânzoi, V., Pilan, L., Brânzoi, F.2009. Amperometric glucose biosensor based on electropolymerized carbon nanotube/polypyrrole composite film. *Revue Roumaine de Chimie*, 54(10): 783–789.

Buchko, C. J., Chen, L. C., Shen, Y., Martin, D. C.1999. Processing and microstructural characterization of porous biocompatible protein polymer thin films. *Polymer,* 40(26): 7397–7407.

Çetin, M.Z., Camurlu, P.2017. Utilization of Polypyrrole Nanofibers in Glucose

Detection. *Journal of The Electrochemical Society*, 164(12): 585–590.

Çetin, M. Z., Camurlu, P.2018. An amperometric glucose biosensor based on PEDOT nanofibers. *RSC Advances*, 8(35): 19724–19731.

Çetiner, S., Kalaoğlu, F., Karakaş, H., Saraç, A. S.2013. *Textile Research Journal,* 80(17) : 1784-1792.

Chiu, J. Y., Yu, C. M., Yen, M. J., Chen, L. C.2009. Glucose sensing electrodes based on a poly(3,4-ethylenedioxythiophene)/Prussian blue bilayer and multi-walled carbon nanotubes. *Biosensors and Bioelectronics,* 24(7): 2015–2020.

Cho, D., Hoepker, N., Frey, M. W.2012. Fabrication and characterization of conducting polyvinyl alcohol nanofibers. *Materials Letters,* 68: 293–295.

Choi, J., Lee, J., Choi, J., Jung, D., Eun, S.2010. Electrospun PEDOT : PSS / PVP nanofibers as the chemiresistor in chemical vapour sensing. *Synthetic Metals,* 160: 1415–1421.

Chong, E. J., Phan, T. T., Lim, I. J., Zhang, Y. Z., Bay, B. H.2007. Evaluation of electrospun PCL / gelatin nanofibrous scaffold for wound healing and layered dermal reconstitution. *Acta Biomaterialia*, 3 (3): 321–330.

Colak, A., Özen, A., Dincer, B., Güner, S., Ayaz, F. A.2005. Diphenolases from two cultivars of cherry laurel (Laurocerasus officinalis Roem.) fruits at an early stage of maturation. *Food Chemistry*, 90(4): 801–807.

Cosnier, S., Stoytcheva, M., Senillou, A., Perrot, H., Furriel, R. P. M., Leone, F. A.1999. A biotinylated conducting polypyrrole for the spatially controlled construction of an amperometric biosensor. *Analytical Chemistry*, 71(17): 3692–3697.

Cowie, J. M. G., Elexpuru, E. M., McEwen, I. J.1991. Miscibility of solution-chlorinated polyethylene with poly(α-methylstyrene-co-acrylonitrile). *Journal of Polymer Science Part B: Polymer Physics,* 29(4): 407–412.

Damlin, P., Kvarnstr??m, C., Ivaska, A.2004. Electrochemical synthesis and in situ spectroelectrochemical characterization of poly(3,4-ethylenedioxythiophene) (PEDOT) in room temperature ionic liquids. *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 570(1): 113–122.

Danielsson, B., Hedberg, U., Rank, M., Xie, B.1992. Recent investigations on calorimetric biosensors. *Sensors and Actuators: B. Chemical,* 6(1–3): 138–142.

Deitzel, J. M., Kleinmeyer, J., Harris, D., Tan, N. C. B.2001. The effect of processing variables on the morphology of electrospun nanofibers and textiles. *Polymer*, 42 (1): 261–272.

Demir, M. M., Yilgor, I., Yilgor, E., Erman, B.2002. Electrospinning of polyurethane Fibers. *Polymer,* 43 (11): 3303–3309.

Dong, C. K., Dae, J. K.2008. Molecular recognition and specific interactions for biosensing applications. *Sensors,* 8(10): 6605–6641.

Duvail, J. L., Rétho, P., Garreau, S., Louarn, G., Godon, C., Demoustier-Champagne, S.2002. Transport and vibrational properties of poly(3,4-ethylenedioxythiophene) nanofibers. *Synthetic Metals*, 131(1–3): 123–128.

Ekabutr, P., Chailapakul, O., Supaphol, P.2013. Modification of disposable screen-printed carbon electrode surfaces with conductive electrospun nanofibers for biosensor applications. *Journal of Applied Polymer Science*, 130(6): 3885–3893.

Ekanayake, E. M. I. M., Preethichandra, D. M. G., Kaneto, K.2008. An amperometric glucose biosensor with enhanced measurement stability and sensitivity using an artificially porous conducting polymer. *IEEE Transactions on Instrumentation and Measurement,* 57(8): 1621–1626.

Eren, O., Ucar, N., Onen, A., Kizildag, N.2015. Composite Nanofibers of Polyacrylonitrile (PAN) and Amino-functionalized Carbon Nanotubes Electrospun from Dimethylsulfoxide. *Marmara Journal of Pure and Apply Science*, 90(1): 95–98.

Esposito, E., Durán, N.2000. Potential applications of oxidative enzymes and phenoloxidase-like compounds in wastewater and soil treatment: A review. *Applied Catalysis B: Environmental*, 28(2): 83–99.

García-Guzmán, J. J., López-Iglesias, D., Cubillana-Aguilera, L., Lete, C., Lupu, S., Palacios-Santander, J. M., Bellido-Milla, D.2018. Assessment of the Polyphenol Indices and Antioxidant Capacity for Beers and Wines Using a Tyrosinase-Based Biosensor Prepared by Sinusoidal Current Method. *Sensors*, 19(1): 66-80.

Ge, H., Teasdale, P. R., G. Wallace, G.1991. Electrochemical chromatography -packings, hardware and mechanisms of interaction. *Journal of Chromatography A,* 544 (34):, 305–316.

Geng, X., Kwon, O. H., Jang, J.2005. Electrospinning of chitosan dissolved in concentrated acetic acid solution. *Biomaterials,* 26(27): 5427–5432.

Gibson, T. D.1999. Biosensors: The stability problem. *Analusis*, 27(7): 630–638.

Goriushkina, T. B., Soldatkin, A. P., Dzyadevych, S. V.2009. Application of amperometric biosensors for analysis of ethanol, glucose, and lactate in wine. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57(15): 6528–6535.

Grobelny, J., Sok, M., Turska, E.1988. Investigation of structural changes in polyacrylonitrile (PAN) on swelling.^{1}H Broad-line NMR study. *Europan Polymer Journal*, 24(12): 1195–1201.

Guo, C., Zhou, L., Lv, J.2013. Effects of expandable graphite and modified ammonium polyphosphate on the flame-retardant and mechanical properties of wood flour-polypropylene composites. *Polymers and Polymer Composites,* 21(7): 449–456.

Haghi, A. K., Akbari, M.2007. Trends in electrospinning of natural nanofibers.*Physica Status Solidi*, (a), 204 (6): 1830–1834.

Hämmerle, M., Hilgert, K., Horn, M. A., Moos, R.2011. Analysis of volatile alcohols in apple juices by an electrochemical biosensor measuring in the headspace above the liquid. *Sensors and Actuators, B: Chemical*, 158 (1): 313–318.

Han, M. G., Foulger, S. H.2006. Facile synthesis of poly(3,4-ethylenedioxythiophene) nanofibers from an aqueous surfactant solution. *Nano-Micro Small*, 2(10): 1164–1169.

Heeger, A. J.2001. Semiconducting and Metallic Polymers: The Fourth Generation of

Polymeric Materials (Nobel Lecture). Angewandte Chemie, 40(14): 2591–2611.

Hohman, M. M., Shin, M., Rutledge, G., Brenner, M. P., Rutledge, G.2001. Electrospinning and electrically forced jets . II . Applications.*Physics of Fluids*, 13 (8): 2221-2236.

Hosseini, H., Rezaei, S. J. T., Rahmani, P., Sharifi, R., Nabid, M. R., Bagheri, A.2014. Nonenzymatic glucose and hydrogen peroxide sensors based on catalytic properties of palladium nanoparticles/poly(3,4-ethylenedioxythiophene) nanofibers. *Sensors and Actuators, B: Chemical*, 195: 85–91.

Hou, H., Ge, J. J., Zeng, J., Li, Q., Reneker, D. H., Greiner, A., Cheng, S. Z. D., Marburg, P. V, September, R. V, Re, V., Recei, M., December, V.2005. Electrospun Polyacrylonitrile Nanofibers Containing a High Concentration of Well-Aligned Multiwall Carbon Nanotubes. *Chemistry of Material*, 17(5): 967–973.

Hui, Y., Bian, C., Xia, S., Tong, J., Wang, J.2018. Synthesis and electrochemical sensing application of poly(3,4- ethylenedioxythiophene)-based materials: A review. *Analytica Chimica Acta*, 1022: 1-19.

Idris, R., Effendi, S., Arshad, B., Abdullah, N., Shaheen, M., Universiti, K.2015. Comparative Study of the Electrospun PAN Nanofiber Reinforced with CNT and CNF : Effect on Morphology , Thermal Stability and Electro- Conductivity Properties. *Advanced Materials Research*, 1107:295-300.

Inamuddin, R. T. A., Ahamed, M. I., Asiri, A. M.2019. Biosensors : Materials and applications. *Materials Research Foundations*, 326 p.

Jang, B. S., Seshadri, V., Khil, M., Kumar, A., Marquez, M., Mather, P. T., Sotzing, G. A.2005. Welded Electrochromic Conductive Polymer Nanofibers by Electrostatic Spinning. *Advanced Materials*, 17: 2177–2180.

Jegannathan, K. R., Abang, S., Poncelet, D., Chan, E. S., Ravindra, P.2008. Production of biodiesel using immobilized lipase-A critical review. *Critical Reviews in Biotechnology*, 28(4): 253–264.

Jian, F., Haitao, N. I. U., Tong, L. I. N., Xungai, W.2008. Applications of electrospun nanofibers. *Chinese Science Bulletin*, 53(15): 2265-2286.

Johnson, K. A., Goody, R. S.2011. The original Michaelis constant: Translation of the 1913 Michaelis-Menten Paper. *Biochemistry*, 50(39): 8264–8269.

Jun, L. Y., Yon, L. S., Mubarak, N. M., Bing, C. H., Pan, S., Danquah, M. K., Abdullah, E. C., Khalid, M.2019. An overview of immobilized enzyme technologies for dye and phenolic removal from wastewater. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 7(2): 1-14.

Kaplin, D. A., Qutubuddin, S.1995. Electrochemically synthesized polypyrrole films: effects of polymerization potential and electrolyte type. *Polymer*, 36(6): 1275–1286.

Kar, P. 2013. Doping in Conjugated Polymers. Wiley-Scrivener, New Jersey, 176 p.

Katti, D. S., Robinson, K. W., Ko, F. K., Laurencin, C. T.2004. Bioresorbable nanofiber-based systems for wound healing and drug delivery: Optimization of fabrication parameters. *Journal of Biomedical Materials Research - Part B Applied*

Biomaterials, 70(2): 286–296.

Kavrayan, D., Aydemir, T.2001. Partial purification and characterization of polyphenoloxidase from peppermint (Mentha piperita). *Food Chemistry*, 74(2): 147–154.

Kaya, H. Z., Söylemez, S., Udum, Y. A., Toppare, L.2018. Application of an Efficient Amperometric Glucose Sensing Electrode Based on a Bilayer Polymer Film Platform. *Journal of The Electrochemical Society*, 165(16): 939–945.

Kellenberger, C. A., Chen, C., Whiteley, A. T., Portnoy, D. A., Hammond, M. C.2015. RNA-Based Fluorescent Biosensors for Live Cell Imaging of Second Messenger Cyclic di-AMP. *Journal of the American Chemical Society*, 137(20): 6432–6435.

Krings, L. H. M., Havinga, E. E., Donkers, J. J. T. M., Vork, F. T. A.1993. The application of polypyrrole as counterelectrode in electrolytic capacitors. *Synthetic Metals*, 54(1–3): 453–460.

Krol, E. S., Bolton, J. L.1997. Oxidation of 4-alkylphenols and catechols by tyrosinase: Ortho-substituents alter the mechanism of quinoid formation. *Chemico-Biological Interactions*, 104(1):, 11–27.

Kros, A., Van Hövell, S. W. F. M., Sommerdijk, N. A. J. M., Nolte, R. J. M.2001. Poly(3,4-ethylenedioxythiophene)-based glucose biosensors. *Advanced Materials*, 13(20): 1555–1557.

Kros, Alexander, Sommerdijk, N. A. J. M., Nolte, R. J. M.2005. Poly(pyrrole) versus poly(3,4-ethylenedioxythiophene): Implications for biosensor applications. *Sensors and Actuators, B: Chemical*, 106(1): 289–295.

Kumar, D., Sharma, R. C.1998. Advances in conductive polymers. *European Polymer Journal*, 34(8): 1053–1060.

Kumar, M., Ando, Y.2010. Chemical vapor deposition of carbon nanotubes: a review on growth mechanism and mass production. *Journal of Nanoscience and Nanotechnology*, 10(6): 3739–3758.

Kvarnstrijms, C., Ahonen, H. J., Kankarec, J.1999. In situ FTIR spectroelectrochemical characterization of poly(3,4-ethylenedioxythiophene) films.*Synthetic Metals*, 101: 66.

Kvarnström, C.2010. György Inzelt, Conducting polymers. A new era in electrochemistry. *Journal of Solid State Electrochemistry*, 14(5): 917–917.

Laforgue, A.2011. All-textile flexible supercapacitors using electrospun poly(3,4-ethylenedioxythiophene) nanofibers. *Journal of Power Sources*, 196(1): 559–564.

Laforgue, A., Robitaille, L.2008. Highly conductive PEDOT nanofibers obtained by combination of electrospinning and vapour-phase polymerization. *Polymer Preprints*, 49(2): 624–625.

Laforgue, A., Robitaille, L.2010a. Deposition of ultrathin coatings of polypyrrole and poly(3,4- ethylenedioxythiophene) onto electrospun nanofibers using a vapor-phase polymerization method. *Chemistry of Materials*, 22(8): 2474–2480.

Laforgue, A., Robitaille, L.2010b. Production of conductive PEDOT nanofibers by the combination of electrospinning and vapor-phase polymerization.

Macromolecules, 43(9): 4194–4200.

Lai, C. Y. (Kevin), Foot, P. J. S., Brown, J. W., Spearman, P.2017. A urea potentiometric biosensor based on a thiophene copolymer. *Biosensors*, 7(1): 1–13.

Lata, S., Batra, B., Singala, N., Pundir, C. S.2013. Construction of amperometric l-amino acid biosensor based on l-amino acid oxidase immobilized onto ZnONPs/c-MWCNT/PANI/AuE. *Sensors and Actuators, B: Chemical*, 188: 1080–1088.

Law, J. W. F., Mutalib, N. S. A., Chan, K. G., Lee, L. H.2014. Rapid metho ds for the detection of foodborne bacterial pathogens: Principles, applications, advantages and limitations. *Frontiers in Microbiology*, 5(11): 1–20.

Layton, K. N., Abidian, M. R.2011. Conducting polymer nanofiber-based biosensor for detection of neurochemicals.ss. 298–301, 27 Nisan-1 Mayıs, Proceedings of the 5th International IEEE EMBS Conference on Neural Engineering Cancun, April 27 - May 1, 2011.

Lee, B. H., Cho, Y. H., Shin, H., Kim, J., Lee, J., Lee, H., Sung, M. M.2006. Selective Vapor-Phase Deposition of Conductive Poly (3,4-ethylenedioxythiophene) Thin Films on Patterned $FeCl_3$ Formed by Microcontact Printing. Bull. *Korean Chem. Soc,* 27(10): 1633–1637.

Lee, J. S., Choi, K. H., Ghim, H. Do, Kim, S. S., Chun, D. H., Kim, H. Y., Lyoo, W. S.2004. Role of molecular weight of atactic poly(vinyl alcohol) (PVA) in the structure and properties of PVA nanofabric prepared by electrospinning. *Journal of Applied Polymer Science*, 93(4): 1638–1646.

Lee, T. H., Do, K., Lee, W. Y., Jeon, S. S., Kim, C., Ko, J., Im, S. S.2012. High-performance dye-sensitized solar cells based on PEDOT nanofibers as an efficient catalytic counter electrode. *Journal of Materials Chemistry*, 22: 21624–21629.

Lee, Y. H., Mutharasan, R.2005. Biosensors. Sensor Technology Handbook, Chapter 6 Biosensors. Elsevier, pp. 161–180.

Lete, C., Berger, D., Matei, C., Lupu, S.2016. Electrochemical and microgravimetric studies of poly[3,4-ethylenedioxythiophene]-tyrosinase biocomposite material electrodeposited onto gold electrodes by a sinusoidal voltages method. *Journal of Solid State Electrochemistry*, 20(11): 3043–3051.

Lete, C., Lakard, B., Hihn, J. Y., del Campo, F. J., Lupu, S.2017. Use of sinusoidal voltages with fixed frequency in the preparation of tyrosinase based electrochemical biosensors for dopamine electroanalysis. *Sensors and Actuators, B: Chemical,* 240: 801–809.

Lete, C., Lupu, S., Lakard, B., Hihn, J. Y., Del Campo, F. J.2015. Multi-analyte determination of dopamine and catechol at single-walled carbon nanotubes - Conducting polymer - Tyrosinase based electrochemical biosensors. *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 744: 53–61.

Li, Dan, Wang, Y., Xia, Y.2004. Electrospinning Nanofibers as Uniaxially Aligned Arrays and Layer-by-Layer Stacked Films. *Advanced Materials*, 16(4): 361–366.

Li, Dapeng, Frey, M. W., Baeumner, A. J.2006. Electrospun polylactic acid nanofiber membranes as substrates for biosensor assemblies. *Journal of Membrane Science,* 279(1–2): 354–363.

Li, H., Hu, X., Zhu, H., Zang, Y., Xue, H.2017. Amperometric phenol biosensor based on a new immobilization matrix: Polypyrrole nanotubes derived from methyl orange as dopant. *International Journal of Electrochemical Science*, 12(7): 6714–6728.

Li, J., Lin, X.2007. Glucose biosensor based on immobilization of glucose oxidase in poly(o-aminophenol) film on polypyrrole-Pt nanocomposite modified glassy carbon electrode. *Biosensors and Bioelectronics*, 22(12): 2898–2905.

Li, Z., Blum, F. D., Bertino, M. F., Kim, C., Pillalamarri, S. K.2008. One-step fabrication of a polyaniline nanofiber vapor sensor.*Sensors and Actuators B : Chemical*, 134: 31–35.

Liang, D., Hsiao, B. S., Chu, B.2007. Functional electrospun nanofibrous scaffolds for biomedical applications. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 59: 1392–1412.

Liu, H., Reccius, C. H., Craighead, H. G., Liu, H., Reccius, C. H., Craighead, H. G.2005. Single electrospun regioregular poly(3-hexylthiophene) nanofiber fieldeffect transistor. *Applied Physics Letter*, 87(25): 1-3.

Long, F., Zhu, A., Shi, H.2013. Recent advances in optical biosensors for environmental monitoring and early warning. *Sensors*, 13(10): 13928–13948.

Lupu, S., Lete, C., Balaure, P. C., Campo, F. J. Del, Muñoz, F. X., Lakard, B., Hihn, J. Y.2013. In situ electrodeposition of biocomposite materials by sinusoidal voltages on microelectrodes array for tyrosinase based amperometric biosensor development. *Sensors and Actuators, B: Chemical*, 181: 136–143.

Lupu, S., Lete, C., Balaure, P. C., Caval, D. I., Mihailciuc, C., Lakard, B., Hihn, J. Y., del Campo, F. J.2013. Development of amperometric biosensors based on nanostructured tyrosinase-conducting polymer composite electrodes. *Sensors,* 13(5): 6759–6774.

Mailley, P., Cummings, E. A., Mailley, S., Cosnier, S., Eggins, B. R., McAdams, E.2004. Amperometric detection of phenolic compounds by polypyrrole-based composite carbon paste electrodes. *Bioelectrochemistry*, 63(1–2): 291–296.

Marrazza, G.2014. Piezoelectric biosensors for organophosphate and carbamate pesticides: A review. *Biosensors*, 4(3): 301–317.

Matthan, J., Uusimäki, A., Torvela, H., Leppävuori, S.1988. Past and future impact of electroactive polymers on the electronics sector. *Makromolekulare Chemie-Macromolecular Symposia*, 22(1): 161–190.

Mayorga-Martinez, C. C., Cadevall, M., Guix, M., Ros, J., Merkoçi, A.2013. Bismuth nanoparticles for phenolic compounds biosensing application. *Biosensors and Bioelectronics*, 40(1): 57–62.

Maziz, A., Ozgur, E., Berguard, C., Uzun, L., 2021. Progress in conducting polymers For Biointerfacing and biorecognition applications. *Sensors and Actuators Reports,* 3:1-17.

Mckee, M. G.2014. Phospholipid Nonwoven Electrospun Membranes. *Science*, 311 (5759): 353-355.

Megelski, S., Stephens, J. S., Bruce Chase, D., Rabolt, J. F.2002. Micro- and

nanostructured surface morphology on electrospun polymer fibers. *Macromolecules*, 35(22): 8456–8466.

Merkoçi, A.2013. Nanoparticles Based Electroanalysis in Diagnostics Applications. *Electroanalysis*, 25(1): 15–27.

Mermilliod, N., Tanguy, J., Petiot, F.1986. A Study of Chemically Synthesized Polypyrrole as Electrode Material for Battery Applications. *Journal of The Electrochemical Society*, 133(6): 1073–1079.

Mirmohseni, A., Price, W. E., Wallace, G. G., Zhao, H.1993. Adaptive Membrane Systems Based on Conductive Electroactive Polymers. *Journal of Intelligent Material Systems and Structures*, 4(1): 43–49.

Mo, X. M., Xu, C. Y., Kotaki, M., Ramakrishna, S.2004. Electrospun P(LLA-CL) nanofiber: A biomimetic extracellular matrix for smooth muscle cell and endothelial cell proliferation. *Biomaterials*, 25(10): 1883–1890.

Moreno-Cortez, I. E., Romero-García, J., González-González, V., García-Gutierrez, D. I., Garza-Navarro, M. A., Cruz-Silva, R.2015. Encapsulation and immobilization of papain in electrospun nanofibrous membranes of PVA cross-linked with glutaraldehyde vapor. *Materials Science and Engineering C*, 52: 306–314.

Müller, D., Rambo, C. R., D.o.s.recouvreux, Porto, L. M., Barra, G. M. O.2011. Chemical in situ polymerization of polypyrrole on bacterial cellulose nanofibers. *Synthetic Metals,* 161(1–2): 106–111.

Mulyasuryani, A., Prasetyawan, S.2015. Organophosphate hydrolase in conductometric biosensor for the detection of organophosphate pesticides. *Analytical Chemistry Insights*, 10(1): 23–27.

Nagapudi, K., Brinkman, W. T., Leisen, J. E., Huang, L., Mcmillan, R. A., Apkarian, R. P., Conticello, V. P., Chaikof, E. L.2002. Photomediated Solid-State Cross-Linking of an Elastin - Mimetic Recombinant Protein Polymer. *Macromolcule*s, 35(5): 1730–1737.

Namsheer, K., Rout, C. S.2021. Conducting polymers: a comprehensive review on recent advances in synthesis, properties and applications. *RSC Advances*, 11(10): 5659–5697.

Negash, N., Alemu, H., Tessema, M.2015. Electrochemical Characterization and Determination of Phenol and Chlorophenols by Voltammetry at Single Wall Carbon Nanotube/Poly(3,4-ethylenedioxythiophene) Modified Screen Printed Carbon Electrode. *International Scholarly Research Notices*, 2015: 1–11.

Nguyen-Boisse, T. T., Saulnier, J., Jaffrezic-Renault, N., Lagarde, F.2014. Miniaturised enzymatic conductometric biosensor with Nafion membrane for the direct determination of formaldehyde in water samples. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 406(4): 1039–1048.

Njagi, J., Andreescu, S.2007. Stable enzyme biosensors based on chemically synthesized Au-polypyrrole nanocomposites. *Biosensors and Bioelectronics*, 23(2): 168–175.

Ocampo, C., Oliver, R., Armelin, E., Alemán, C., Estrany, F.2006. Electrochemical synthesis of poly(3,4-ethylenedioxythiophene) on steel electrodes: Properties and characterization. *Journal of Polymer Research*, 13(3): 193–200.

Ohtani, A., Shimidzu, T.1989. Effective Doping of Polymer Anion during Chemical Polymerization of Pyrrole Using $Fe(OH)_3$ Oxidant. *Bulletin of the Chemical Society of Japan*, 62(1): 234–238.

Olea, D., Viratelle, O., Faure, C.2008. Polypyrrole-glucose oxidase biosensor. Effect of enzyme encapsulation in multilamellar vesicles on analytical properties. *Biosensors and Bioelectronics*, 23(6): 788–794.

Ozoner, S. K., Yalvac, M., Erhan, E.2010. Flow injection determination of catechol based on polypyrrole-carbon nanotube-tyrosinase biocomposite detector. *Current Applied Physics*, 10(1): 323–328.

Palod, P. A., Singh, V.2015. Facile synthesis of high density polypyrrole nanofiber network with controllable diameters by one step template free electropolymerization for biosensing applications. *Sensors and Actuators, B: Chemical,* 209: 85–93.

Pawlowski, K. J., Barnes, C. P., Boland, E. D., Wnek, G. E., Bowlin, G. L.2004. Biomedical nanoscience: Electrospinning basic concepts, applications, and classroom demonstration. *Journal of Materials Research*, 827: 17–28.

Pinto, N. J., González, R., Jr, A. T. J., Macdiarmid, A. G., Pinto, N. J., González, R.2013. Electrospun hybrid organic / inorganic semiconductor Schottky nanodiode. *Applied Pyhsics Letter*, 89(3): 3–6.

Pinto, N. J., Rivera, D., Melendez, A., Ramos, I., Hsien, J., Johnson, A. T. C.2011. Sensors and Actuators B : Chemical Electrical response of electrospun PEDOT-PSSA nanofibers to organic and inorganic gases. *Sensors & Actuators: B. Chemical*, 156(2): 849–853.

Pisoschi, A. M.2016. Potentiometric Biosensors: Concept and Analytical Applications-An Editorial. *Biochemistry & Analytical Biochemistry*, 5(3): 19–20.

Poddar, A. K., Patel, S. S., Patel, H. D.2021. Synthesis, characterization and applications of conductive polymers: A brief review. *Polymers for Advanced Technologie*s, 32(12): 4616–4641.

Process, E., Doshi, J., Reneker, D. H.1995. Electrospinning Process and Applications of Electrospun Fibers. *Journal of Electrostatics*, 35: 151-160.

Qudsieh, H. Y. M., Yusof, S., Osman, A., Abdul Rahman, R.2002. Effect of maturity on chlorophyll, tannin, color, and polyphenol oxidase (PPO) activity of sugarcane juice (Saccharum officinarum var. yellow cane). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(6): 1615–1618.

Queiroz, C., Mendes Lopes, M. L., Fialho, E., Valente-Mesquita, V. L.2008. Polyphenol oxidase: Characteristics and mechanisms of browning control. *Food Reviews International*, 24(4): 361–375.

Raicopol, M., Prună, A., Damian, C., Pilan, L.2013. Functionalized single-walled carbon nanotubes/polypyrrole composites for amperometric glucose biosensors. *Nanoscale Research Letters*, 8(1): 1–8.

Rajesh, Takashima, W., Kaneto, K.2004. Amperometric tyrosinase based biosensor using an electropolymerized PTS-doped polypyrrole film as an entrapment support. *Reactive and Functional Polymers*, 59(2): 163–169.

Ramírez, A. M. R., Gacitúa, M. A., Ortega, E., Díaz, F. R., del Valle, M. A.2019. Electrochemical in situ synthesis of polypyrrole nanowires. *Electrochemistry Communications*, 102(4): 94–98.

Ramu, P., Vimal, S. P., Suresh, P., Saravanakumar, U., Sethuraman, V., Anandhavelu, S.2021. Electrochemically Deposited Porous Graphene−Polypyrrole−Polyphenol Oxidase for Dopamine Biosensor. *Electroanalysis*, 33(3): 774–780.

Robinson, P. K.2015. Enzymes: principles and biotechnological applications. *Essays in Biochemistry*, 59: 1–41.

Ronkainen, N. J., Halsall, H. B., Heineman, W. R.2010. Electrochemical biosensors. *Chemical Society Reviews*, 39(5): 1747–1763.

Rowley, N. M., Mortimer, R. J.2002. New Electrochromic Materials. *Science Progress*, 85(3): 243–262.

Sanjay, S. T., Fu, G., Dou, M., Xu, F., Liu, R., Qi, H., Li, X.2015. Biomarker detection for disease diagnosis using cost-effective microfluidic platforms. *Analyst*, 140(21): 7062–7081.

Santhosh, P., Manesh, K. M., Uthayakumar, S., Komathi, S., Gopalan, A. I., Lee, K. P.2009. Fabrication of enzymatic glucose biosensor based on palladium nanoparticles dispersed onto poly(3,4-ethylenedioxythiophene) nanofibers. *Bioelectrochemistry*, 75(1): 61–66.

Şenel, M.2015. Simple method for preparing glucose biosensor based on in-situ polypyrrole cross-linked chitosan/glucose oxidase/gold bionanocomposite film. *Materials Science and Engineering C*, 48: 287–293.

Serafín, V., Agüí, L., Yáñez-Sedeño, P., Pingarrón, J. M.2011. A novel hybrid platform for the preparation of disposable enzyme biosensors based on poly(3,4-ethylenedioxythiophene) electrodeposition in an ionic liquid medium onto gold nanoparticles-modified screen-printed electrodes. *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 656(1–2): 152–158.

Sethuraman, V., Muthuraja, P., Anandha Raj, J., Manisankar, P.2016. A highly sensitive electrochemical biosensor for catechol using conducting polymer reduced graphene oxide–metal oxide enzyme modified electrode. *Biosensors and Bioelectronics,* 84: 112–119.

Sharma, S., Byrne, H., O'Kennedy, R. J.2016. Antibodies and antibody-derived analytical biosensors. *Essays in Biochemistry*, 60(1): 9–18.

Shirakawa, H.2001. Nobel lecture: The discovery of polyacetylene film - The dawning of an era of conducting polymers. Reviews of Modern Physics, 73(3): 713–718.

Shrestha, B. K., Ahmad, R., Shrestha, S., Park, C. H., Kim, C. S.2017. Globular Shaped Polypyrrole Doped Well-Dispersed Functionalized Multiwall Carbon Nanotubes/Nafion Composite for Enzymatic Glucose Biosensor Application. *Scientific Reports*, 7(1): 1–13.

Shrivastava, A., Gupta, V., Article, R.2011. Methods for the determination of limit of detection and limit of quantitation of the analytical methods. *Chronicles of Young Scientists*, 2(1): 21–25.

Singh, M., Kathuroju, P. K., Jampana, N.2009. Polypyrrole based amperometric glucose biosensors. *Sensors and Actuators, B: Chemical*, 143(1): 430–443.

Skládal, P.2016. Piezoelectric biosensors. *TrAC - Trends in Analytical Chemistr*y, 79: 127–133.

Slinker, J. D., Defranco, J. A., Verbridge, S. S., Ilic, R., Flores-torres, S.2007. Electrospun Light-Emitting Nanofibers. *Nano Letters*, 7(2): 458–463.

Soldatkin, O. O., Kucherenko, I. S., Pyeshkova, V. M., Kukla, A. L., Jaffrezic-Renault, N., El'skaya, A. V., Dzyadevych, S. V., Soldatkin, A. P.2012. Novel conductometric biosensor based on three-enzyme system for selective determination of heavy metal ions. *Bioelectrochemistry*, 83(1): 25–30.

Spagna, G., Barbagallo, R. N., Chisari, M., Branca, F.2005. Characterization of a tomato polyphenol oxidase and its role in browning and lycopene content. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(6): 2032–2038.

Srivastava, Y., Loscertales, I., Marquez, M., Thorsen, T.2007. Electrospinning of hollow and core/sheath nanofibers using a microfluidic manifold. *Microfluid Nanofluid*, 4(3): 245–250.

Su, X., Wei, J., Ren, X., Li, L., Meng, X., Ren, J., Tang, F.2013. A new amperometric glucose biosensor based on one-step electrospun poly(vinyl alcohol)/chitosan nanofibers. *Journal of Biomedical Nanotechnology*, 9(10): 1776–1783.

Sukigara, S., Gandhi, M., Ayutsede, J., Micklus, M., Ko, F.2003. Regeneration of Bombyx mori silk by electrospinning — part 1 : processing parameters and geometric properties. *Polymer*, 44(19): 5721–5727.

Sun, B. Z., Zussman, E., Yarin, A. L., Wendorff, J. H., Greiner, A.2003. Compound Core-Shell Polymer Nanofibers. *Advanced Materials*, (22): 1929–1932.

Talaie, A., Lee, J. Y., Lee, Y. K., Jang, J., Romagnoli, J. A., Taguchi, T., Maeder, E.2000. Dynamic sensing using intelligent composite: An investigation to development of new pH sensors and electrochromic devices. *Thin Solid Films*, 363(1): 163–166.

Taylor, G., A, P. R. S. L.1969. Electrically Driven Jets. *Proceedings of The Royal SocietyA*, 313(1515): 453–475.

Thompson, B. C., Schottland, P., Zong, K., Reynolds, J. R.2000. In Situ Colorimetric Analysis of Electrochromic Polymers and Devices. *Chemistry of Materials*, 12(6): 1563–1571.

Thota, R., Ganesh, V.2014. Chemically modified flexible strips as electrochemical biosensors. *The Analyst*, 139(18): 4661–4672.

Toshima, N., Hara, S.1995. Direct synthesis of conducting polymers from simple monomers. *Progress in Polymers Science*, 20(1): 155–183.

Trivedi, U. B., Lakshminarayana, D., Kothari, I. L., Patel, N. G., Kapse, H. N., Makhija, K. K., Patel, P. B., Panchal, C. J.2009. Potentiometric biosensor for urea determination in milk. *Sensors and Actuators, B: Chemical*, 140(1): 260–266.

Trivedi, U. B., Lakshminarayana, D., Kothari, I. L., Patel, P. B., Panchal, C. J.2009. Amperometric fructose biosensor based on fructose dehydrogenase enzyme. *Sensors and Actuators, B: Chemical*, 136(1): 45–51.

Trung, T., Trung, T. H., Ha, C. S.2005. Preparation and cyclic voltammetry studies on nickel-nanoclusters containing polyaniline composites having layer-by-layer structures. *Electrochimica Acta*, 51(5): 984–990.

Uang, Y. M., Chou, T. C.2002. Criteria for designing a polypyrrole glucose biosensor by galvanostatic electropolymerization. *Electroanalysis*, 14(22): 1564–1570.

Uang, Y. M., Chou, T. C.2003. Fabrication of glucose oxidase/polypyrrole biosensor by galvanostatic method in various pH aqueous solutions. *Biosensors and Bioelectronics*, 19(3): 141–147.

Vaddiraju, S., Tomazos, I., Burgess, D. J., Jain, F. C., Papadimitrakopoulos, F.2010. Emerging synergy between nanotechnology and implantable biosensors: A review. *Biosensors and Bioelectronics*, 25(7): 1553–1565.

Valentini, F., Fernàndez, L. G., Tamburri, E., Palleschi, G.2013. Single Walled Carbon Nanotubes/polypyrrole-GOx composite films to modify gold microelectrodes for glucose biosensors: Study of the extended linearity. *Biosensors and Bioelectronics*, 43(1): 75–78.

Vellaichamy, B., Ponniah, S. K., Prakash, P.2017. An in-situ synthesis of novel Au@NG-PPy nanocomposite for enhanced electrocatalytic activity toward selective and sensitive sensing of catechol in natural samples. *Sensors and Actuators*, B: Chemical, 253: 392–399.

Villarreal Gómez, L. J., Soria Mercado, I. E.2015. Detection of Molecular Markers of Cancer Through the Use of Biosensors. *Biology and Medicine*, 2: 1-7.

Wang, B., Takahashi, S., Du, X., Anzai, J. I.2014. Electrochemical biosensors based on ferroceneboronic acid and its derivatives: A review. *Biosensors*, 4(3): 243–256.

Wang, Jianjun, Myung, N. V., Yun, M., Monbouquette, H. G.2005. Glucose oxidase entrapped in polypyrrole on high-surface-area Pt electrodes: A model platform for sensitive electroenzymatic biosensors. *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 575(1): 139–146.

Wang, Joseph, Musameh, M.2005. Carbon-nanotubes doped polypyrrole glucose biosensor. *Analytica Chimica Acta*, 539(1–2): 209–213.

Wang, X., Shao, M., Shao, G., Fu, Y., Wang, S.2009. Reversible and efficient photocurrent switching of ultra-long polypyrrole nanowires. *Synthetic Metals*, 159(3-4): 273–276.

Wang, X., Shao, M., Shao, G., Wu, Z., Wang, S.2009. Journal of Colloid and Interface Science A facile route to ultra-long polyaniline nanowires and the fabrication of photoswitch. *Journal of Colloid and Interface Science*, 332(1): 74–77.

Wilson, R.1992. Review article Glucose oxidase : an ideal enzyme. *Biosensors and Bioelectronics*, 7(3): 165–185.

Wong, C. M., Wong, K. H., Chen, X. D.2008. Glucose oxidase: Natural occurrence, function, properties and industrial applications. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 78(6): 927–938.

Wu, G., Meyyappan, M., Wai, K., Lai, C.2016. Graphene Field - effect Transistors - based Biosensors for Escherichia coli Detection. 16th International Conference on

Nanotechnology (IEEE-NANO), ss 22-15, 22-25 Ağustos. Sendai, Japonya.

Wu, M., Wang, Q., Li, K., Wu, Y., Liu, H.2012. Optimization of stabilization conditions for electrospun polyacrylonitrile nanofibers. *Polymer Degradation and Stability,* 97(8): 1511–1519.

Xiao, X., Wang, M., Li, H., Si, P.2013. One-step fabrication of bio-functionalized nanoporous gold/poly(3,4- ethylenedioxythiophene) hybrid electrodes for amperometric glucose sensing. *Talanta*, 116: 1054–1059.

Xu, C. Y., Inai, R., Kotaki, M., Ramakrishna, S.2004. Aligned biodegradable nanofibrous structure: A potential scaffold for blood vessel engineering. *Biomaterials*, 25(5): 877–886.

Xue, K., Zhou, S., Shi, H., Feng, X., Xin, H., Song, W.2014. A novel amperometric glucose biosensor based on ternary gold nanoparticles/polypyrrole/reduced graphene oxide nanocomposite. *Sensors and Actuators, B: Chemical,* 203: 412–416.

Yagiuda, K., Hemmi, A., Ito, S., Asano, Y., Fushinuki, Y., Chen, C. Y., Karube, I.1996. Development of a conductivity-based immunosensor for sensitive detection of methamphetamine (stimulant drug) in human urine. *Biosensors and Bioelectronics*, 11(8): 703–707.

Yang, G., Kampstra, K. L., Abidian, M. R.2014. High-performance conducting polymer nanofiber biosensors for detection of biomolecules. *Advanced Materials*, 26(29): 4954–4960.

Yang, X., Li, L.2010. Polypyrrole nanofibers synthesized via reactive template approach and their NH_3 gas sensitivity. *Synthetic Metals*, 160(11–12): 1365–1367.

Yarns, N. N., Ko, B. F., Gogotsi, Y., Ali, A., Naguib, N., Ye, H., Yang, G., Li, C., Willis, P.2003. Electrospinning of Continuous Carbon Nanotubes-Filled Nanofiber Yarns. *Advanced Materials*, 1(14): 1161–1165.

Yeole, B., Sen, T., Hansora, D., Mishra, S.2017. Electrical and Gas Sensing Behaviour of Polypyrrole / silver Sulphide Nanocomposites. *American Journal of Sensor Techonology*, 4(1): 10–20.

Yoo, E. H., Lee, S. Y.2010. Glucose biosensors: An overview of use in clinical practice. *Sensors*, 10(5): 4558–4576.

Yördem, O. S., Papila, M., Menceloğlu, Y. Z.2008. Effects of electrospinning parameters on polyacrylonitrile nanofiber diameter: An investigation by response surface methodology. *Materials and Design*, 29(1): 34–44.

Yuan, X. Y., Zhang, Y. Y., Dong, C., Sheng, J.2004. Morphology of ultrafine polysulfone fibers prepared by electrospinning. *Polymer International*, 53(11): 1704–1710.

Zampetti, E., Pantalei, S., Scalese, S., Bearzotti, A., Cesare, F. De, Spinella, C., Macagnano, A.2011. Biosensors and Bioelectronics Biomimetic sensing layer based on electrospun conductive polymer webs. *Biosensors and Bioelectronics*, 26(5): 2460–2465.

Zanardi, C., Terzi, F., Seeber, R.2013. Polythiophenes and polythiophene-based composites in amperometric sensing. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*,

405(2-3): 509–531.

Zhang, C., Yuan, X., Wu, L., Han, Y., Sheng, J.2005. Study on morphology of electrospun poly(vinyl alcohol) mats. *European Polymer Journal*, 41(3): 423–432.

Zhang, W. X., Wang, Y. Z., Sun, C. F.2007. Characterization on oxidative stabilization of polyacrylonitrile nanofibers prepared by electrospinning. *Journal of Polymer Research,* 14(6): 467–474.

Zhang, Xiang, Huang, Y., Liu, P.2016. Enhanced Electromagnetic Wave Absorption Properties of Poly(3,4-ethylenedioxythiophene) Nanofiber-Decorated Graphene Sheets by Non-covalent Interactions. *Nano-Micro Letters*, 8(2): 131–136.

Zhang, Xinyu, Goux, W. J., Manohar, S. K.2004. Synthesis of Polyaniline Nanofibers by " Nanofiber Seeding ". *Journal of The American Chemical Society*, 126(14): 4502–4503.

Zhao, Y., Xia, K., Zhang, Z., Zhu, Z., Guo, Y.2019. Facile Synthesis of Polypyrrole-Functionalized $CoFe_2O_4$@SiO_2 for Removal for Hg (II). *Nanomaterials,* 9(3): 455-475.

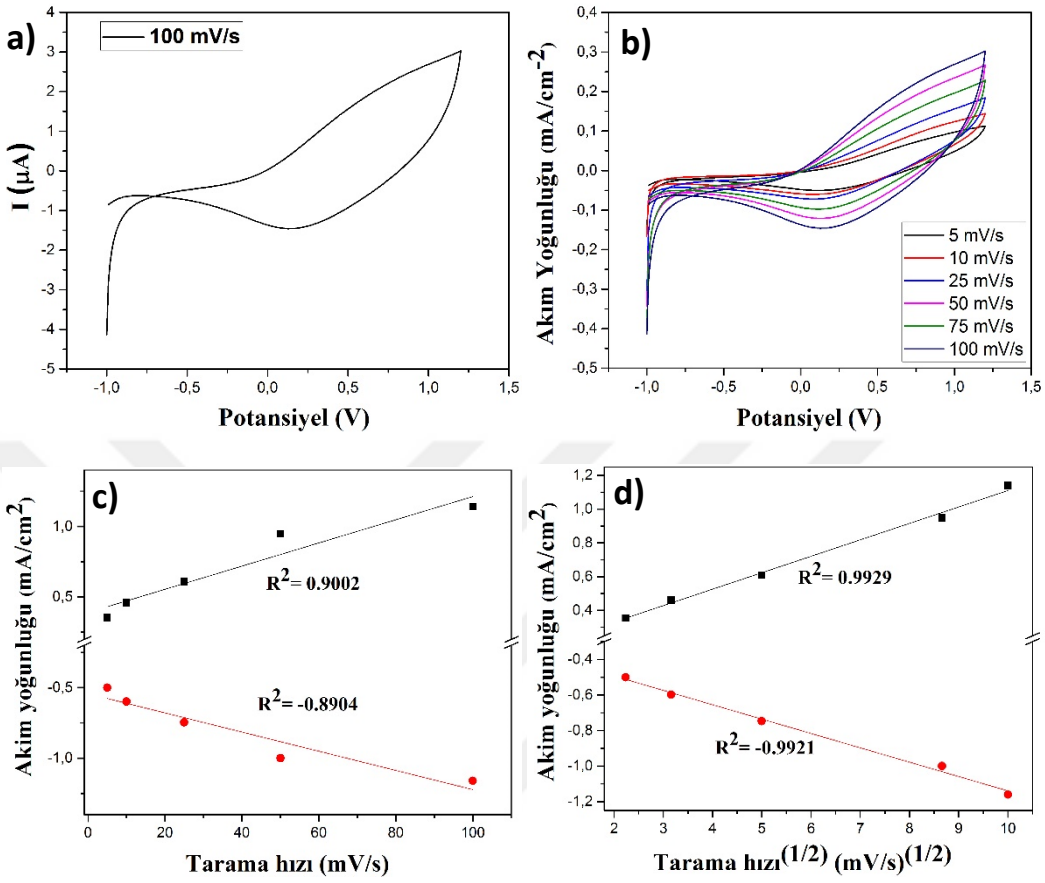
Zhou, P., Li, F., Dong, W., Huang, K., Chen, Y., Wei, C., Ling, B., Li, M.2018. Covalent immobilization of glucose oxidase onto electro-synthesized nanocomposite with PEDOT derivative for amperometric glucose biosensing. *International Journal of Electrochemical Science*, 13(6): 5294–5310.

Zhou, Z., Wu, X. F., Ding, Y., Yu, M., Zhao, Y., Jiang, L., Xuan, C., Sun, C.2014. Needleless emulsion electrospinning for scalable fabrication of core-shell nanofibers. *Journal of Applied Polymer Science*, 131(20): 1–9.

Ziyatdinova, G., Galandova, J., Labuda, J.2008. Impedimetric nanostructured disposable DNA-based biosensors for the detection of deep DNA damage and effect of antioxidants. *International Journal of Electrochemical Scienc*e, 3(3): 223–235.

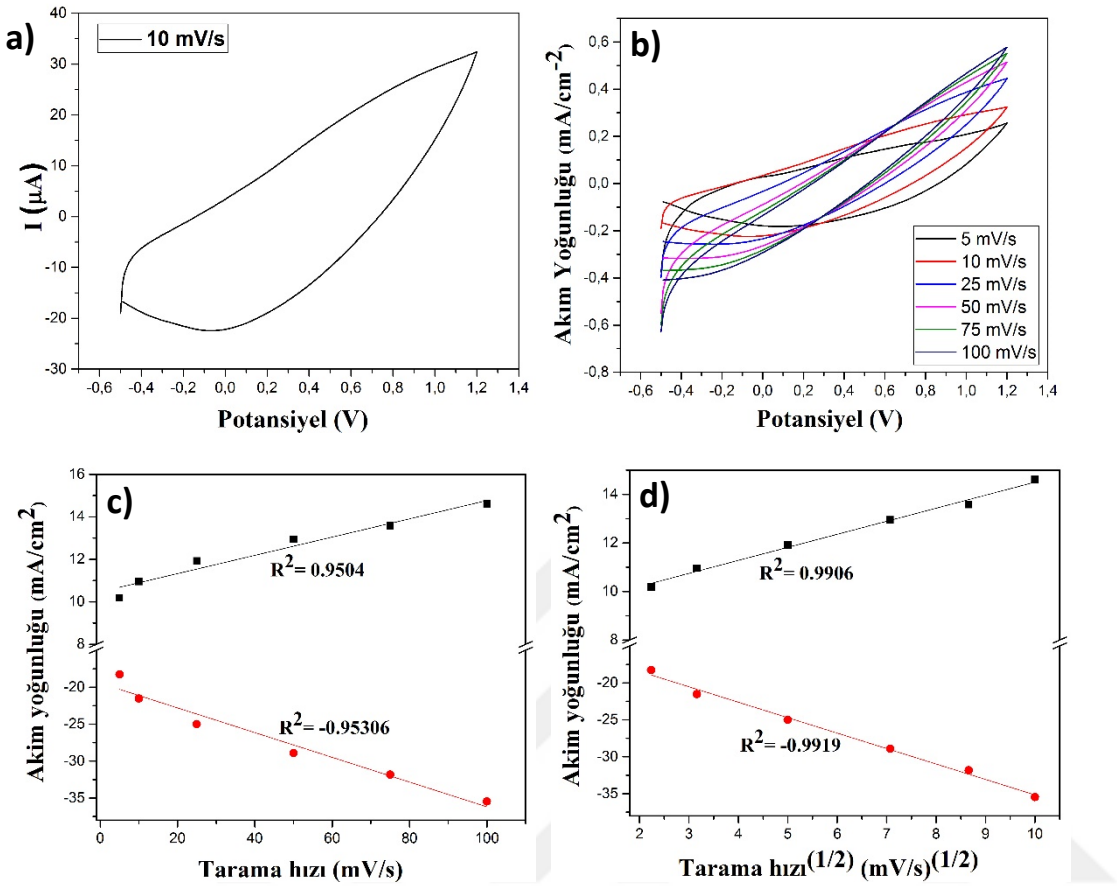
8. EKLER

EK-1



Şekil 8.1.. PEDOT-MWCNT nanoliflerinin **a)** döngüsel voltamogramı (100 mV/s) ve **b)** farklı tarama hızlarındaki döngüsel voltamogramları. Pik akım şiddetlerinin **c)** tarama hızı ve **d)** tarama hızının karekökü ile değişimi (0.1 M NBu_4PF_6/ACN)

EK-2



Şekil 8.2. PPy-MWCNT nanoliflerinin **a)** döngüsel voltamogramı (10 mV/s) ve **b)** farklı tarama hızlarındaki döngüsel voltamogramları. Pik akım şiddetlerinin **c)** tarama hızı ve **d)** tarama hızının karekökü ile değişimi (0.1 M NBu_4PF_6/ACN)

ÖZGEÇMİŞ

Merih Zeynep ÇETİN

ÖĞRENİM BİLGİLERİ

Doktora 2012-2022	Akdeniz Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Bölümü, Antalya
Yüksek Lisans 2010-2012	İstanbul Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Polimer Bilim ve Teknolojileri Bölümü, İstanbul
Lisans 2005-2009	Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Fen Fakültesi, Kimya Bölümü, Eskişehir

MESLEKİ VE İDARİ GÖREVLER

Kimyager 2019-Devam Ediyor	Antalya Büyükşehir Belediyesi Antalya
Kimyager 2016-2019	Gümrük ve Ticaret Bakanlığı, Mersin Laboratuvar Müdürlüğü Mersin

ESERLER

Uluslararası hakemli dergilerde yayımlanan makaleler

1. Çetin, M. Z., Camurlu, P. (2018). An amperometric glucose biosensor based on PEDOT nanofibers, RSC. Adv. 8, 19724-19731. Doi: 10.1039/C8RA01385C

2. Çetin, M. Z., Camurlu, P. (2017).Utilization of Polypyrrole Nanofibers in Glucose Detection,Journal of The Electrochemical Society, 164(12), 585-590. Doi:10.1149/2.1841712jes

3. Akcoren, D., Balkan, T., Guler, Z., Avcı, M. Z., Sarac, A.S.(2017). Fabrication and characterization of poly(butyl acrylateco-methyl methacrylate)-polypyrrole nanofibers, Polymer Bulletin 75 (4), 1607-1617. Doi:10.1007/s00289-017-2110-3

4. Avcı, M. Z., Sarac, A.S.(2013). Transparent Poly(methyl methacrylate-co-butyl acrylate) Nanofibers, Journal of Applied Polymer Science, 4263-4272.Doi:10.1002/app.39705

5. Cengiz U., Avcı, M. Z., Erbil, H. Y., and Sarac, A.S.(2012). Superhydrophobic Terpolymer Nanofibers Containing Perfluoroethyl Alkyl Methacrylate by Electrospinning, Applied Surface Science, 258 (15), 5815-5821. Doi:10.1016/j.apsusc.2012.02.107

Ulusal bilimsel toplantılarda sunulan ve bildiri kitaplarında basılan bildiriler

1. Avcı, M. Z., Sarac, A.S. **(**2011). Bütil Akrilat-Metil Metakrilat Kopolimerlerinden elektro lif çekim yöntemi ile nanolif eldesi. 1. Ar-Ge Proje Pazarı (Poster sunumu)

2. Avcı, M. Z., Sarac, A.S. **(**2011). Electrospun parameters of nanofibers of Poly(Butyl Acrylate-co-Methyl Methacrylate). POLYCHAR 20 World Forum on Advanced Materials (Poster sunumu)