



**POLİ(AZURE B) VE GRAFEN/AZURE B
İNCE FİLMLERİNİN HAZIRLANMASI VE
AMPEROMETRİK NADH SENSÖR
ÖZELLİKLERİNİN İNCELENMESİ**

Oğuz BAYINDIR

**Doktora Tezi
Kimya Anabilim Dalı
Analitik Kimya Bilim Dalı
Prof. Dr. Murat ALANYALIOĞLU
2017
Her hakkı saklıdır**

**ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

DOKTORA TEZİ

**POLİ(AZURE B) VE GRAFEN/AZURE B
İNCE FİLMLERİNİN HAZIRLANMASI VE
AMPEROMETRİK NADH SENSÖR ÖZELLİKLERİNİN
İNCELENMESİ**

Oğuz BAYINDIR

**KİMYA ANABİLİM DALI
Analitik Kimya Bilim Dalı**

**ERZURUM
2017**

Her Hakkı Saklıdır



T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



TEZ ONAY FORMU

**POLİ(AZURE B) VE GRAFEN/AZURE B
İNCE FİLMLERİNİN HAZIRLANMASI VE
AMPEROMETRİK NADH SENSÖR ÖZELLİKLERİNİN İNCELENMESİ**

Prof. Dr. Murat ALANYALIOĞLU danışmanlığında, Oğuz BAYINDIR tarafından hazırlanan bu çalışma 27/10/2017 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Kimya Anabilim Dalı – Analitik Kimya Bilim Dalı’nda Doktora tezi olarak oybirliği/oy çokluğu (.../...) ile kabul edilmiştir.

Başkan: Prof. Dr. Şakir AYDOĞAN

İmza:

Üye: Prof. Dr. Murat ALANYALIOĞLU

İmza:

Üye: Prof. Dr. İbrahim Yasin ERDOĞAN

İmza:

Üye: Prof. Dr. Duygu EKİNCİ

İmza:

Üye: Doç. Dr. Bülent ÇAĞLAR

İmza:

Yukarıdaki sonuç;

Enstitü Yönetim Kurulu 02.11.2017 tarih ve 43 / 31 nolu kararı ile onaylanmıştır.

Prof. Dr. Cavit KAZAZ
Enstitü Müdürü

Not: Bu tezde kullanılan özgün ve başka kaynaklardan yapılan alıntıların, çizelge, şekil ve fotoğrafların kaynak olarak kullanımı, 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunundaki hükümlere tabidir.

ÖZET

Doktora Tezi

POLİ(AZURE B) VE GRAFEN/AZURE B İNCE FİMLERİNİN HAZIRLANMASI VE AMPEROMETRİK NADH SENSÖR ÖZELLİKLERİNİN İNCELENMESİ

Oğuz BAYINDIR

Atatürk Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Kimya Anabilim Dalı
Analitik Kimya Bilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Murat ALANYALIOĞLU

Tez kapsamında, iki farklı çalışma yürütüldü. İlk çalışmada altın (Au) substratlar üzerinde Azure B'nin (AB) elektrokimyasal polimerizasyonu çalışıldı. Au üzerinde poli(AB)'nin oluşum mekanizmasına pH ve üst potansiyel etkileri incelendi. AB'nin elektropolimerizasyonu için akım yoğunluğu-zaman (j-t) eğrileri yardımıyla çekirdekleşme ve çekirdek gelişimi mekanizmaları teorik olarak belirlendi. Poli(AB) ince filmlerinin yapısal, morfolojik ve optik karakterizasyonları için farklı teknikler kullanıldı. AB'nin altın substratlar üzerinde en iyi elektrokimyasal polimerizasyonunun pH 7,0 fosfat tampon çözeltisi (PBS) ortamında 1000 mV'lık üst potansiyelden dönüş ile olduğu, j-t eğrilerinden polimerik filmin rasgele tip adsorpsiyon ile başladığı ve potansiyel artışıyla, zamanla düzenli çekirdekleşme ve çekirdek büyümesi ile tabaka tabaka devam ettiği belirlendi.

İkinci çalışmada ise elektrokimyasal (e-GO) ve kimyasal (k-GO) olarak üretilen grafen oksit ve bunların AB ile kompozitleri hazırlandı ve Au(111) yüzeyine damlatıp kurutma tekniği ile desteklenerek NADH'nın amperometrik tayininde kullanılmak üzere çeşitli elektrot materyalleri tasarlandı. Hazırlanan materyallerin karakterizasyonu, birçok gelişmiş tekniğin kullanımıyla yapıldı. NADH'nın tayininde en uygun materyal olarak e-GO/AB/Au(111) elektrodu belirlendi ve ayrıca, e-GO/AB/Au(111) biyosensörünün kararlılık, ardışık kullanım, gerçek numune analizi ve fabrikasyonun tekrarlanabilirliği bakımından elverişli olduğu belirlendi. Optimum şartlarda tayin aralığı 0,5-508 μM , duyarlılığı 0,51 $\mu\text{A}\mu\text{M}^{-1}\text{cm}^{-2}$ ve gözlenebilme sınırı 0,15 μM olarak tespit edildi.

2017, 157 sayfa

Anahtar Kelimeler: Grafen, azure B, elektropolimerizasyon, NADH, amperometrik sensör

ABSTRACT

Ph. D. Thesis

PREPARATION OF POLY(AZURE B) AND GRAPHENE/AZURE B THIN FILMS FOR INVESTIGATION OF NADH AMPEROMETRIC SENSOR PROPERTIES

Oğuz BAYINDIR

Atatürk University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Chemistry
Analytical Chemistry Division

Supervisor: Prof. Dr. Murat ALANYALIOĞLU

In this Ph. D. thesis, two different studies were carried out. In the first study, electrochemical polymerization of Azure B (AB) on gold (Au) substrates was studied. The effect of pH and upper potential on the mechanism of formation of poly(AB) at Au substrates were investigated. For the electropolymerization of AB, nucleation and growth mechanisms were theoretically determined by using current density-time (j-t) curves. Various techniques were performed for the structural, morphological and optical characterization of poly(AB) thin films. It was determined that the best electrochemical polymerization of AB on gold substrates occurred in the pH 7.0 phosphate buffer solution (PBS) at 1000 mV potential. The j-t curves showed that formation of polymeric film started with random-type adsorption and continued with a regular nucleation and growth mechanism.

In the second study, various electrode materials were designed by using drop-casting technique. For this purpose, Au(111) surface was immobilized with electrochemically (e-GO) and chemically (k-GO) fabricated graphene oxide and their composites of AB and these electrodes were performed for the amperometric determination of NADH. Many advanced techniques were used for the characterization of the prepared materials. e-GO/AB/Au(111) electrode was selected as the most suitable material for NADH determination. It was observed that the e-GO/AB/Au(111) electrode revealed linear range of 0.5-508 μM , sensitivity of 0.51 $\mu\text{A}\mu\text{M}^{-1}\text{cm}^{-2}$ and detection limit of 0.15 μM . It was determined that the e-GO/AB/Au(111) biosensor was suitable for stability, sequential usage, real sample analysis and reproducibility of fabrication.

2017, 157 pages

Keywords: Graphene, azure B, electropolymerization, NADH, amperometric sensor.

TEŞEKKÜR

Doktora tezi olarak sunduğum bu çalışma, Atatürk Üniversitesi Fen Fakültesi Kimya Bölümünde yapılmıştır.

Çalışmalarımın her safhasında her türlü desteği sağlayan çok değerli danışmanım Sayın Prof. Dr. Murat ALANYALIOĞLU'na derin minnet ve şükranlarımı sunarım.

İlgi ve yardımlarından dolayı başta Sayın Prof. Dr. Ümit DEMİR olmak üzere, Analitik Kimya Bilim dalındaki tüm hocalarıma ayrıca teşekkür ederim.

Tezimin hazırlanmasındaki yardımlarından dolayı Sayın Emrah KALYONCU'ya, Sayın İbrahim Hakkı KAPLAN'a, Sayın Ümit Çağrı ÜST'e, Sayın Arş. Gör. Dr. Kader Dağcı KIRANŞAN'a, Sayın Arş. Gör. Dr. Ezgi TOPÇU'ya, Sayın Elif ERÇARIKÇI'ya, Sayın Ayşe ÖZTÜRK'e, Sayın Tuğba ÖMÜR'e ve Sayın Zeriş AKSU'ya teşekkür ederim.

Maddi ve manevi her zaman yanımda olan Sayın Yrd. Doç. Dr. Mustafa YILMAZ'a, Sayın M. Fatih YILMAZ'a, Sayın Kenan ATEŞ'e, Sayın Alper YILDIRIM'a, Sayın Dr. Tuğba Özeken BERBER'e, Sayın Uğur DAŞTAN'a, Sayın Tolga YILDIRIM'a, Sayın Dr. Ali KESKİN'e ve tüm arkadaşlarıma teşekkür ederim.

113Z342 nolu proje ile sağladığı burs desteğinden dolayı TÜBİTAK'a teşekkür ederim.

Her zaman beni destekleyen, gösterdikleri sınırsız sevgi ve güvenlerinden dolayı sevgili annem Naime BAYINDIR'a ve değerli kardeşlerime sonsuz teşekkür ederim.

Oğuz BAYINDIR

Ekim, 2017

İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	i
ABSTRACT	ii
TEŞEKKÜR.....	iii
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ	vii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xii
TABLolar DİZİNİ	xix
1. GİRİŞ.....	1
1.1. Polimerler	3
1.1.1. Elektrokimyasal polimerizasyon	5
1.2. Azure B	7
1.3. Grafen.....	9
1.4. Dihidronikotinamid Adenin Dinükleotit (NADH)	13
1.5. Au(111)	14
1.6. Kompozit Malzemeler ve Özellikleri	17
1.7. Yüzey Modifikasyonu	19
1.8. Elektrokimyasal Sensörler.....	22
2. KAYNAK ÖZETLERİ.....	28
3. MATERYAL ve YÖNTEM	69
3.1. Elektrokimyasal Hücreler.....	69
3.1.1. Elektrotlar	70
3.1.2. Au ve Au(111) substratlarının hazırlanması	72
3.1.3. ITO elektrotlarının hazırlanması	74
3.1.4. Poli(AB) ince filmlerinin hazırlanması	75
3.1.5. Materyallerin hazırlanması.....	76
3.1.5.a. Elektrokimyasal GO (e-GO) sentezi	76
3.1.5.b. Kimyasal GO (k-GO) sentezi.....	77
3.1.5.c. Modifiye elektrotların hazırlanması.....	78
3.2. Elektroanalitik Teknikler.....	80
3.2.1. Voltametri.....	82

3.2.1.a. Randles-Sevcik eşitliği.....	84
3.2.2. Kronoamperometri	85
3.2.3. Elektrokristalizasyon (BFT modellemesi).....	87
3.3. Karakterizasyon Teknikleri	91
3.3.1. Yüzey karakterizasyon teknikleri	91
3.3.1.a. Taramalı uç mikroskobu (SPM)	91
3.3.1.b. Taramalı elektron mikroskobu (SEM)	93
3.3.2. Yapı karakterizasyon yöntemleri.....	95
3.3.2.a. Infrared (IR) spektroskopisi	95
3.3.2.b. Raman spektroskopisi	96
3.3.2.c. Morötesi ve görünür bölge spektroskopisi (UV-Vis).....	97
3.3.2.d. X-ışını kırınım (XRD) spektroskopisi.....	99
3.3.2.e. Enerji dağılımlı X-ışını spektroskopisi (EDS/EDX/EDAX).....	101
3.3.2.f. X-ışını fotoelektron spektroskopisi (XPS/ESCA).....	102
3.4. Kimyasallar, Cihazlar ve Deneysel Prosedür	103
3.4.1. Kimyasallar	103
3.4.2. Araçlar	104
3.4.3. Deneysel prosedür	105
4. ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA	106
4.1. AB'nin Elektrokimyasal Polimerizasyonu ve Karakterizasyonu	106
4.1.1. Optimum üst potansiyel ve pH belirlemesi	106
4.1.2. Poli(AB) oluşumunun tarama hızına bağlı elektrokimyasal davranışı.....	109
4.1.3. Poli(AB)'nin oluşum mekanizmasının belirlenmesi	110
4.1.4. AB ve poli(AB) ince filmlerinin karakterizasyonları	112
4.2. NADH'nın Amperometrik Belirlenmesinde Elektrot Materyali Geliştirme.....	119
4.2.1. e-GO ve k-GO'ya AB'nin maksimum adsorpsiyon miktarının tespiti.....	120
4.2.2. Materyaller ve modifiye elektrotların karakterizasyonları	123
4.2.2.a. XRD	123
4.2.2.b. UV-Vis	124
4.2.2.c. FT-IR.....	126
4.2.2.d. XPS	128
4.2.2.e. SEM.....	130

4.2.2.f. Raman	132
4.2.3. NADH'nın elektrokimyasal belirlenmesinde en iyi elektrodun seçimi	133
4.2.4. Yükleme miktarı optimizasyonu	136
4.2.5. pH optimizasyonu.....	137
4.2.6. e-GO/AB/Au(111) elektrodu ile NADH'nın amperometrik belirlenmesi	139
4.2.7. e-GO/AB/Au(111) elektrodu ile gerçek numune analizi	140
4.2.8. e-GO/AB/Au(111) elektrodunun zamana bağlı kararlılığı.....	141
4.2.9. e-GO/AB/Au(111) elektrodunun ardışık kullanılabilirliği.....	142
4.2.10. Amperometrik kararlılık çalışmaları	143
4.2.11. e-GO/AB/Au(111) elektrodu için fabrikasyonun tekrarlanabilirliği	145
4.2.12. e-GO/AB/Au(111) elektrodu ile girişim çalışması.....	145
4.2.13. e-GO/AB/Au(111) elektrodunun performans kıyaslaması.....	146
5. SONUÇLAR.....	148
KAYNAKLAR	150
ÖZGEÇMİŞ	158

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

%T	Yüzde geçirgenlik
$[M-M]^{•+2}$	Dimeriyon
Δ_{Ep}	Pik potansiyelleri arasındaki fark
A	Elektrot yüzey alanı
A	Absorbans
A	Kesit hedef alanı
Å	Angström
b	Elektromanyetik radyasyonun geçtiği yol
b	Işığın numune içinde aldığı yol uzunluğu
B	Spektrumda gözlenen pikin yarısının genişliği
C	Konsantrasyon
C_s	Spesifik kapasitans
D	Difüzyon katsayısı
d	Tabakalar arası mesafe
d	Tipin ucu ile numune arasındaki mesafe
e	Elektron yükü
E	Potansiyel
E^0	Standart elektrot potansiyeli
$E^{0'}$	Formal elektrot potansiyeli
$E_{1/2}$	Yarı pik potansiyeli
E_B	Bağlanma enerjisi
E_f	Son potansiyel
E_i	İlk potansiyel
E_k	Kinetik enerji
E_p	Pik potansiyeli
E_{pa}	Anodik pik potansiyeli
E_{pc}	Katodik pik potansiyeli
F	Faraday sabiti
h	Planck sabiti

I	Akım
I_0	Başlangıç akımı
I_d	Disk akımı
I_m	Maksimum akım
I_p	Pik akımı
I_r	Halka akımı
I_t	Tünelleme akımı
J	Akım yoğunluğu
K	Kristal yapıya bağlı bir sabit (AFM veya STM ile ölçülen pürüzlülük)
k	Hız sabiti
M	Monomer
m	Kalibrasyon doğru denklemindeki eğim, duyarlılık
$M^{\bullet+}$	Reaktif radikal katyon
$M^{\bullet+2}$	Dikasyon
M_2	Dimer
n	Alınan veya verilen elektron sayısı
n	Işının yansıdığı tabaka sayısı
P	Çıkan ışığın gücü
P_0	Gelen ışığın gücü
S_{bl}	Analit ilavesinden önceki sinyalin standart sapması
T	Geçirgenlik
t	Kristal kalınlığı (çapı)
t	Zaman
t_m	Maksimum akım durumundaki zaman
V	Tiple yüzey arasına uygulanan potansiyel
α	Transfer katsayısı
ϵ	Molar absorptivite katsayısı
θ	Işının geliş veya yansıma açısı
θ_B	Pikin gözleendiği açı
λ	Dalga boyu
v	Tarama hızı
v	Frekans

Kısaltmalar

0D	Sıfır boyutlu (boyutsuz)
1D	Bir boyutlu
2D	İki boyutlu
3D	Üç boyutlu
AA	Azure A
AB	Azure B
AFM	Atomik kuvvet mikroskobu
AgNPs	Gümüş nanopartiküller
AI	Azure I
AsA	Askorbik asit
AuNPs	Altın nanopartiküller
BFT	Bewick, Fleischmann ve Thirsk isimlerinin baş harfleri
BSE	Geri dönen elektronlar
CNT	Karbon nanotüp
CPE	Potansiyel kontrollü kronoamperometrik elektroliz
CV	Dönüşümlü voltametri
CVD	Kimyasal buhar depozisyonu
DA	Dopamin
DGNs	Dentrit benzeri altın nanoyapılar
DPV	Diferansiyel puls voltametri
EAOPs	Elektrokimyasal ileri oksidasyon prosesler
EDLCs	Elektrokimyasal çift tabaka kapasitörler
EDS	Elektron dağılım spektroskopisi
EESDs	Elektrokimyasal enerji depolama araçları
EGO	Sonikasyonla pul pul edilmiş grafen oksit
e-GO	Elektrokimyasal olarak üretilmiş grafen oksit
EQCM	Elektrokimyasal kuartz kristal mikrobals
ERGO	Elektrokimyasal olarak indirgenmiş grafen oksit
ESCA	Kimyasal analiz için elektron spektroskopisi

FCC	Yüzey merkezli kübik
FIA	Akış enjeksiyon analizi
FT-IR	Fourier dönüşümlü infrared (kızılötesi) spektrofotometresi
GC	Camsı karbon
GCE	Camsı karbon elektrot
GNs	Grafen nano tabakalar
GO	Grafen oksit
GONPs	Grafen oksit nanoplakalar
GOx	Glikoz oksidaz
Gr	Grafen
IR	Kızılötesi
ITO	İndiyum kalay oksit
k-GO	Kimyasal olarak Hummers yöntemiyle üretilmiş grafen oksit
LOD	Gözlenebilme sınırı
LOL	Üst tayin sınırı
LOQ	Kantitatif tayin sınırı
LOQ-LOL	Tayin aralığı
LSV	Doğrusal taramalı voltametri
MB	Metilen mavisi
NAD ⁺	Nikotinamid adenin dinükleotit
NADH	Dihidronikotinamid adenin dinükleotit
NADPH	Nikotinamid adenin dinükleotit fosfat
NBM	Yeni metilen mavisi
OLED	Organik ışık saçan diyet
OMC	Düzenli gözenekli karbon
PAH	Poli(allilamin hidroklorür)
PBS	Fosfat tampon çözeltisi
p-doping	Elektronca boşluklar oluşturan
PEDOT	Poli(3,4)etilendioksitiyofen
PVD	Fiziksel buhar biriktirme
rGO	İndirgenmiş grafen oksit
RRDE	Dönen halka-disk elektrot

SAM	Kendiliğinden düzenlenen tek tabaka
SCE	Doygun kalomel elektrot
SDS	Sodyum dodesil sülfat
SEM	Taramalı elektron mikroskobu
SHE	Standart hidrojen elektrot
SPCE	Ekran baskılı karbon elektrot
SPM	Taramalı uç mikroskobu
STM	Taramalı tünelleme veya tip mikroskobu
TEM	Geçirmeli elektron mikroskobu
Th	Tiyonin
UA	Ürik asit
UHV	Aşırı yüksek vakum
UV-Vis	UV-görünür bölge spektroskopisi
XPS	X-ışını fotoelektron spektroskopisi
XRD	X-ışını kırınımı

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1. Elektrokimyasal polimerizasyon	6
Şekil 1.2. Pirel monomerinin elektrokimyasal polimerizasyonu.....	6
Şekil 1.3. Fenotiyazinin bağ uzunlukları ve bağ açıları.....	7
Şekil 1.4. Azure B'nin molekül yapısı.....	8
Şekil 1.5. 5 mM AB içeren 0,3 M H ₂ SO ₄ elektrolitinde 20°C'de 0,0 ile 1,1 V arasında AB'nin elektrokimyasal polimerizasyonu esnasında birinci (1), ikinci (2), onuncu (3), yirminci (4) ve otuzuncu (5) çevrimler için elde edilen voltamogramlar.....	9
Şekil 1.6. Karbonun doğal ve sentetik bazı allotropları.....	10
Şekil 1.7. Grafen yapısı.....	11
Şekil 1.8. Katkılama ve ayrıştırma olarak iki aşamalı elektrokimyasal Gr sentezi	12
Şekil 1.9. NADH molekülünün yapısı.	14
Şekil 1.10. Kristal kafes sistemi ve yapıları.....	15
Şekil 1.11. Yüzey merkezli kübik yapı (A) ve (111) düzlem yönelimi (B).....	16
Şekil 1.12. Basit bir pH-metre düzeneği.....	24
Şekil 1.13. Clark'ın O ₂ sensör tasarımı.....	26
Şekil 2.1. AB'nin elektro-Fenton esnasında üretilen •OH ile tahmin edilen mineralizasyonu	30
Şekil 2.2. 2,5 mM AB, 0,5 M NaCl ve 0,2 M PBS pH 3,0 (A) ve pH 4,0 (B) çözeltisinde 1) birinci, 2) ikinci, 3) beşinci, 4) onuncu, 5) yirminci ve 6) otuzuncu taramalardaki I _d -E ve I _r -t eğrileri.....	32
Şekil 2.3. Poli(AB) filminin elektrokimyasal büyütülmesinde pH 2,0 ortamında (1) ilk, (4) yirminci, (5) otuzuncu (A), pH 4,0 ortamında (1) ilk, (2) ikinci, (3) onuncu, (4) yirminci ve (5) otuzuncu (B) ve pH 11,0 ortamında (1) ilk, (2) ikinci, (3) onuncu, (4) yirminci ve (5) otuzuncu çevrimler için elde edilen voltamogramlar	34
Şekil 2.4. AB'nin 5,0 mM AB içeren, 0,3 M H ₂ SO ₄ çözeltisinde elektrokimyasal polimerizasyonu esnasında 1. (1), 2. (2), 10. (3), 20. (4) ve 30. (5) çevrim voltamogramları (A) ve 20 çevrimlik bir polimerizasyon sonrası, 0,5 M	

Na ₂ SO ₄ çözeltisiyle pH 1,0 (1), pH 2,0 (2), pH 3,0 (3) ve pH 4,0 (4) olarak hazırlanmış çözeltilerden alınan dönüşümlü voltamogramlar (B)	35
Şekil 2.5. AB (1) ve poli(AB)'nin (2) UV-Vis spektrumları	36
Şekil 2.6. AB'nin SPCE üzerinde elektropolimerizasyonu.....	37
Şekil 2.7. Poli(AB) ile modifiye edilmiş SPCE'nin 5, 10, 20, 40, 60, 80, 100 mVs ⁻¹ tarama hızlarında alınmış dönüşümlü voltamogramları.....	38
Şekil 2.8. Poli(AB) N1s için XPS spektrumu	39
Şekil 2.9. Poli(AB) ile modifiye edilmiş SPCE (a, b) ve direk SPCE (c) ile NADH'nın yokluğunda (a) ve varlığında (b, c) alınan dönüşümlü voltamogramları	40
Şekil 2.10. Poli(AB) ile modifiye edilmiş SPCE'nin pH; 6,9 PBS taşıyıcısında 5x10 ⁻⁷ M'den 10 ⁻⁴ M'ye artan NADH konsantrasyonlarında 0,75 mLmin ⁻¹ akış hızıyla 0,2 V sabit potansiyelde Ag/AgCl referans elektroduna karşı akım cevabı	41
Şekil 2.11. OMC/GCE elektrodu üzerinde Ag/AgCl referansına karşı 0,5 mM AB içeren 0,1 M PBS (pH 7,0) elektrolitte AB'nin elektropolimerizasyonunun dönüşümlü voltamogramı (iç şekil sade GCE'de gözlenen dönüşümlü voltamogramı, tarama hızı = 50 mVs ⁻¹)	43
Şekil 2.12. %0,5 nafyon ile yüzey kaplandıktan sonra ve nafyon kaplaması olmaksızın (iç şekil) PAB/OMC/GCE elektrodunun 0,1 M PBS'de (pH 7,0) 0,02 mM UA, DA, AsA ve NADH ilavelerinde verdiği amperometrik cevaplar	45
Şekil 2.13. 30°C sabit sıcaklıkta, 50 mVs ⁻¹ tarama hızında, 0,1 mM AA içeren 0,1 M PBS (pH 6,2) elektrolitinde polikristal Au (a-d) ve ITO (e) elektrot yüzeylerinde AA'nın elektropolimerizasyon voltamogramları ve poli(AA)/Au elektrodu ile 0,1 M PBS (pH 6,2) elektrolitinde farklı tarama hızlarında alınmış voltamogramlardan (f) elde edilen pik akımı-tarama hızı grafiği	48
Şekil 2.14. 0,1 mM AA içeren 0,1 M PBS elektrolitinde polikristal Au elektrot üzerinde AA'nın elektropolimerizasyonunda farklı sabit potansiyeller ile zemin verisi çıkarıldıktan sonra elde edilen potansiyostatik j-t eğrileri (a) ve 950 mV sabit potansiyeldeki deneysel j-t eğrileri (b)	49

Şekil 2.15. Farklı çaplı AuNPs modifiye edilmiş GCE yüzeylerinde elde edilen GONP indirgenme pik alanlarını temsil eden histogramlar	52
Şekil 2.16. e-GO/MB kompoziti ile modifiye edilmiş Au(111) elektrodunun hazırlama prosedürüne ait şematik gösterimi.....	53
Şekil 2.17. NADH'nın elektrooksidasyonu için çeşitli pH değerlerinde (a) ve farklı miktarlarda e-GO/MB kompoziti damlatılarak (b) hazırlanan e-GO/MB/Au(111) çalışma elektrodunun sergilediği pik akım yoğunlukları	54
Şekil 2.18. Au(111) üzerinde e-GO (a, c) ve e-GO/MB (b, d) kompozitlerine ait sırasıyla SEM görüntüleri ve EDS verileri.....	55
Şekil 2.19. GO-Au hibrit elektrodu üzerine diazotize edilmiş AA'nın elektrokimyasal aşılması	56
Şekil 2.20. AA ile modifiye edilmiş Au (A) ve Au-GO (B) elektrotlar için 1 mM NADH'nın yokluğunda (a ve c) ve varlığında (b ve d) 0,1 M pH 7,0 PBS'de alınmış dönüşümlü voltamogramlar	57
Şekil 2.21. (a) AuNPs-GO/SPCE, (b) AuNPs-GO-PAH/SPCE, (c) AuNPs-ERGO/SPCE, (d) AuNPs-ERGO-PAH/SPCE, (e) SPCE, (f) AuNPs/SPCE ve (g) AuNPs-PAH/SPCE'nin 5 mM NADH'da alınan dönüşümlü voltamogramları (pH=6,0, $v=100 \text{ mVs}^{-1}$).....	59
Şekil 2.22. POA/Gr31-modifiye GCE ile 0,1 M PBS'de (pH 7,0), farklı konsantrasyonlardaki NADH çözeltilerinden alınan diferansiyel puls voltamogramları ve kalibrasyon eğrisi (iç şekil).....	60
Şekil 2.23. PEDOT'un elektrokimyasal polimerizasyon mekanizması.....	62
Şekil 2.24. 0,1 M PBS (pH 7,0) içerisinde 0.05 Vs^{-1} tarama hızında, NADH'nın yokluğunda GCE ile (a), 5,0 mM NADH'nın varlığında GCE (b) ve nanoporous-PEDOT/GCE (c) ile alınmış elektrokatalitik oksidasyonu	63
Şekil 2.25. Grafen/nafion/AzI/AuNPs/GCE elektrodunun amperometrik cevabı ve kalibrasyon eğrisi (iç şekil)	65
Şekil 2.26. GC-GNs, GC-GNs-Th, GC-GNs-Th-GOx ve GC-GNs-Th-DGNs elektrotları üretimi için şematik gösterim	66
Şekil 2.27. (A) (a) ITO/GO ve (b) ITO/GNs yüzeylerinden 745 nm lazer uyarmasıyla alınmış Raman spektrumları, ITO/GO için genel (B) ve C1s (C) için	

yüksek rezölüsyonlu XPS spektrumları, ITO/GNs-Th için genel (D), C1s (E) ve N1s (F) için yüksek rezölüsyonlu XPS spektrumları	67
Şekil 3.1. İki (a) ve üç (b) elektrotlu elektrokimyasal hücrelerin şematik gösterimi.....	70
Şekil 3.2. İdeal polarize olan (a) ve ideal polarize olmayan (b) elektrotlar için akım/potansiyel eğrisi	71
Şekil 3.3. Ag/AgCl referans elektrot	72
Şekil 3.4. Au ve Au(111) elektrotlarının hazırlama aşamaları	73
Şekil 3.5. Au(111) (a) ve Au levha (b) elektrotlarının XRD verileri.....	73
Şekil 3.6. Au(111) elektrodunun 0,1M H ₂ SO ₄ çözeltisindeki voltamogramı (referans elektrot: Ag/AgCl, $v=200 \text{ mVs}^{-1}$)	74
Şekil 3.7. AB'nin Pt üzerinde elektropolimerizasyon mekanizması	75
Şekil 3.8. e-GO üretim prosesinin şematik gösterimi	77
Şekil 3.9. k-GO üretim prosesinin şematik gösterimi.....	78
Şekil 3.10. Kompozit elektrot hazırlanması ve uygulamasının şematik gösterimi.....	79
Şekil 3.11. Elektroanalitik tekniklerin sınıflandırılması	81
Şekil 3.12. Üstlerinde potansiyel-zaman eğrileri ile birlikte LSV (a) ve CV (b) voltamogramları	82
Şekil 3.13. Tersinir (a), tersinmez (b) ve yarı tersinir (c) voltamogram tipleri	83
Şekil 3.14. A elektroaktif türü için zamana göre uygulanan potansiyeldeki değişim (a) ve A türü için kronoamperometrik eğri (b).....	86
Şekil 3.15. Karıştırılan kör çözelti içerisine, farklı derişimlerdeki analit çözeltisinin zamanla eklenmesiyle elde edilen amperometri verisi (a) ve kalibrasyon eğrisi (b)	86
Şekil 3.16. İki boyutlu elektrokristalizasyon süreci (a), bu modelin akım-zaman eğrisi (b), düzensiz (Langmuir) tip birikme süreci (c) ve akım-zaman eğrisi (d) ..	89
Şekil 3.17. BFT modeline göre meydana gelen iki mekanizma	91
Şekil 3.18. STM'nin tarama modları; (a) sabit akım modu, (b) sabit yükseklik modu...	93
Şekil 3.19. SEM çalışma prensibi	94
Şekil 3.20. Raman saçılmalarına ilişkin moleküler enerji diyagramı	97
Şekil 3.21. Elektromanyetik radyasyonun numune hücresinden geçerken absorpsiyonu, yansımaları ve saçılması	98
Şekil 3.22. X-ışınları kırınımı ve yapıcı girişimi	100

Şekil 3.23. Bir EDS spektrumu.....	101
Şekil 4.1. 0,1 mM AB içeren pH 7,0 PBS çözeltilerinde, 30 tarama ile (A) 800, 900, 1000, 1100 ve 1200 mV (a-e) üst potansiyellerden dönüşle ve 1000 mV üst potansiyelden yapılan dönüş ile (B) pH 3,0, 5,0, 6,0, 7,0, 8,0 ve 9,0 PBS çözeltilerinde (a-f) alınan voltamogramlar.....	107
Şekil 4.2. Optimum şartlarda 30 çevrim ile oluşturulmuş poli(AB) filmi için 0,1 M PBS elektrolitinde farklı tarama hızlarında alınan voltamogramlar (A), akım-tarama hızının karekökü (B) ve akım-tarama hızı (C) eğrileri	109
Şekil 4.3. 0,1 mM AB içeren 0,1 M PBS (pH 7,0) elektrolitinde Au elektrot üzerine farklı sabit potansiyeller kullanılarak elde edilen j-t eğrileri (Eğriler, background verileri çıkarılarak elde edilmiştir.).....	110
Şekil 4.4. 1050 mV potansiyel için j-t diyagramının Eşitlik 3.11'e göre fit edilmesi sonucu Langmuir tip adsorpsiyon verisi ile matematiksel farkı olan düzenli çekirdekleşme verisi (a) ve düzenli çekirdekleşme verisinin en uyumlu mekanizma olan progressive mekanizmasının ardından instantaneouse mekanizmaya göre fit edilmiş verisi (b).....	112
Şekil 4.5. AB'nin 0,02 mM ve 0,10 mM çözeltileri, ITO üzerinde AB ince filmi ve optimum şartlarda 100 çevrim ile hazırlanmış poli(AB) ince filminin normalize edilmiş UV-Vis absorpsiyon spektrumları.....	113
Şekil 4.6. ITO üzerinde poli(AB) ince filminin optimum şartlarda 10-100 arası farklı çevrim sayılarında CV uygulaması sonrası alınan UV-Vis absorpsiyon spektrumları	114
Şekil 4.7. Au(111) yüzeyine ait STM (a) ve SEM (b) görüntüleri	115
Şekil 4.8. 0,1 mM AB içeren 0,1 M PBS (pH 7,0) elektrolitinde Au(111) üzerinde CV tekniği kullanılarak 900 mV (a), 1000 mV (b), 1100 mV (c) ve 1200 mV (d) üst potansiyellerden 50 çevrimlik elektropolimerizasyonlardan elde edilen polimerik AB filmlerinin STM görüntüleri	116
Şekil 4.9. 0,1 mM AB içeren 0,1 M PBS pH 7,0 elektrolitinde Au(111) üzerinde CV tekniği kullanılarak 1100 mV üst potansiyelinden dönülerek 50 (a) ve 100 (b) çevrimlik elektropolimerizasyonlardan elde edilen polimerik AB ince filmlerinin SEM görüntüleri.....	117

Şekil 4.10. AB'nin nötral ortamda düşük potansiyeldeki elektrokimyasal dönüşümü (A) ve yüksek potansiyellerdeki muhtemel elektrokimyasal C-N bağlanması ile polimerizasyon mekanizmaları (C-D).....	118
Şekil 4.11. 0,001, 0,01, 0,02, 0,05 ve 0,1 mM AB standart çözeltilerinin UV-Vis absorpsiyon spektrumları (A) ve bu spektrumlardan elde edilen kalibrasyon eğrisi (B)	121
Şekil 4.12. Farklı elektrotların XRD difraktogramları.....	123
Şekil 4.13. AB, e-GO, e-GO/AB, k-GO ve k-GO/AB kompozitlerinin sulu dispersiyonlarına ait normalize edilmiş UV-Vis spektrumları.....	125
Şekil 4.14. AB, e-GO, e-GO/AB, k-GO ve k-GO/AB kompozitlerinin ITO üzerine damlatıp kurutulması ile alınan normalize edilmiş UV-Vis spektrumları .	126
Şekil 4.15. AB, k-GO ve k-GO/AB kompozitinin Au levha üzerinde hazırlanan ince filmleri için speküler yansıma ile alınan FT-IR spektrumları	127
Şekil 4.16. Altın levha üzerinde AB, e-GO, e-GO/AB, k-GO ve k-GO/AB materyallerin damlatıp kurutma ile hazırlanmış numunelerinin normalize edilmiş XPS spektrumları	129
Şekil 4.17. e-GO/AB'nin çözümlenmiş C _{1s} XPS spektrumu.....	130
Şekil 4.18. Au(111) yüzeyi (a), ve Au(111) yüzeyine materyallerin damlatıp kurutma ile hazırlanmış AB/Au(111) (b), k-GO/Au(111) (c), k-GO/AB/Au(111) (d), e-GO/Au(111) (e) ve e-GO/AB/Au(111) yapılarının SEM görüntüleri	131
Şekil 4.19. e-GO, e-GO/AB, k-GO ve k-GO/AB materyallerine ait normalize edilmiş Raman spektrumları.....	133
Şekil 4.20. Au(111) (A) ve 10 µL (0,1 mgmL ⁻¹) damlatıp kurutma ile hazırlanan elektrotlar (B-E) ile 10 mM NADH yokluğunda (noktalı çizgi) ve varlığında (düz çizgi) 0,1 M PBS pH 7,0 elektrolitinde alınan voltamogramlara ait potansiyel-akım yoğunluğu grafikleri ve tüm elektrotlar için 10 mM NADH varlığındaki voltamogramların toplu gösterimi (F)	134
Şekil 4.21. NADH'nın e-GO/AB/Au(111) elektrodu üzerinde elektrokimyasal oksidasyon mekanizması.....	135

Şekil 4.22. 10 mM NADH içeren 0,1 M PBS pH 7,0 elektrolitinde Au(111) yüzeyine e-GO/AB kompozitinden (0,1 mgmL ⁻¹) damlatma miktarına bağlı olarak alınan voltamogramlar (A) ve bu voltamogramlardan elde edilen pik akım yoğunluğu-yükleme miktarı grafiği (n=3)	137
Şekil 4.23. 10 mM NADH içeren 0,1 M PBS pH 7,0 elektrolitinde 50 µL (0,1mgmL ⁻¹) k-GO/AB kompozit yükleme miktarı ile hazırlanmış e-GO/AB/Au(111) çalışma elektrodu ile farklı pH'larda alınan voltamogramlar (A) ve bu voltamogramlardan elde edilen akım yoğunluğu-pH grafikleri (B) (n=3)	138
Şekil 4.24. e-GO/AB/Au(111) elektrodu ile çalışılmış NADH'nın 780 mV'de elektrooksidasyonu için elde edilen amperometri verisi (A) ve bu verilerden elde edilmiş kalibrasyon eğrisi (B) (n = 5, karıştırma hızı = 300 rpm).....	140
Şekil 4.25. e-GO/AB/Au(111) elektrodunun NADH'nın tayininde kullanılmadığı zaman dilimlerinde atmosfer şartlarına maruz bırakılarak 1., 2., 5., 10., 20., ve 30. günlerde 0-900 mV arasındaki CV tekniği ile elde edilen % akım yoğunlukları kazanımı (n=3).....	142
Şekil 4.26. Ardişik kullanıma bağılı olarak 10 mM NADH içeren 0,1 M PBS pH 7,0 elektrolitinde e-GO/AB/Au(111) elektrodunun akım yoğunluğu-potansiyel grafiği.....	143
Şekil 4.27. 0,5 mM NADH içeren 10 mL, 0,1 M PBS pH 7,0 elektrolitinde 780 mV uygulama potansiyeli ve 750 rpm karıştırma şartlarında e-GO/AB/Au (111), e-GO/Au(111) ve Au(111) elektrotlarının amperometrik cevabı....	144
Şekil 4.28. Aynı teknikle farklı zamanlarda hazırlanmış 5 farklı e-GO/AB/Au(111) elektrodunun NADH'nın tayinindeki akım yoğunluklarının % değişimi ..	145
Şekil 4.29. Optimum şartlarda 40 µM NADH, AsA, UA ve DA eklenmesiyle elde edilen amperometri verisi.....	146

TABLÖLER DİZİNİ

Tablo 1.1. Au(111) için miller indislerinin hesaplanması.....	16
Tablo 4.1. 1,0 mg e-GO için maksimum tutunan AB miktarının hesaplama verileri ..	122
Tablo 4.2. 1,0 mg k-GO için maksimum tutunan AB miktarının hesaplama verileri ..	122
Tablo 4.3. Altın levha üzerinde AB, e-GO, e-GO/AB, k-GO ve k-GO/AB için XPS spektrumlarındaki atomik yüzdeleri.....	129
Tablo 4.4. Gerçek numune olarak izotonik serum ve musluk suyunda NADH analiz verileri (n=3)	141
Tablo 4.5. NADH'ın amperometrik belirlenmesinde e-GO/AB/Au(111) elektrodunun literatürdeki diğer elektrotlar ile performans kıyaslaması ...	147

1. GİRİŞ

Bilgisayar devriminden nanoteknoloji devrimine geçişin olduğu bu yıllarda bilimsel gelişmeler, disiplinler arası çalışmanın önemli olduğunu vurgulamıştır. 2015 yılında aldığı Nobel ödülünün tıp dalında değil de kimya dalında olması, tıp fakültesinden mezun olup biyokimya alanında doktora yapan, hücrelerin hasar gören DNA'ları onarımı ve genetik bilginin korunduğu haritalamalar üzerine yaptığı çalışmalar ile ödül sahibi olan Aziz Sancar'ın kendisini bile şaşırtmıştır. Polimerlerin uzun yıllar sadece izolasyon malzemesi olarak kullanımının ardından bir metal kadar iletken olabileceklerinin keşfedilmesiyle ve bilimsel gelişmelerle birlikte güneş pilleri, ışık saçan diyotlar, iyon seçiciler, dijital veri depolama aygıtları, adli tıp, korozyon inhibitörleri, transistörler ve süper kapasitörler gibi çeşitli alanların yanı sıra sensör tasarımlarında da kullanımını mümkün kılmıştır. Kompozit materyaller alanındaki araştırmalar, en ince materyal olarak bilinen grafenin (Gr) keşfinden sonra çok iyi bir yüzey modifikasyon aracı olarak kullanılması açısından hız kazanmıştır. İletken polimerler arasında fenotiyazin türevi boyar maddelerin redoks arabulucusu olarak elektrokimyasal yöntemlerin avantajları ile birlikte kullanımı sensör tasarımlarında daha yeni olsa da umut verici sonuçlar ortaya koymaktadır.

Karbonun allotroplarından olan iki boyutlu Gr, mekanik, elektriksel, optiksel, termal ve kimyasal özelliklerinden ve eşsiz yapısından dolayı yüzey modifikasyonu için oldukça iyi bir adaydır. Bu materyalde π elektronları, sp^2 karbon atomları arasında eşit olarak dağıldığından hekzagonal yapıda delokalize olur. Günümüzde birçok uygulamada Gr'nin fonksiyonlaştırılması üzerine uygulamalar yapılmaktadır (Loh *et al.* 2010; Liu *et al.* 2011; Sun *et al.* 2011; Hong *et al.* 2012).

Fenoksazin ve fenotiyazinden türetilmiş boyar maddelerin çoğu pratik uygulamalar için geleneksel elektrotlarda elektropolimerize edilebilme özelliğine sahiptirler (Silber *et al.* 1996; Cai and Xue 1997; Zhou *et al.* 1998; Chen and Lin 2001). Azure B'nin (AB) de arasında bulunduğu metilen mavisi (MB), tiyonin (Th) ve azure A (AA) gibi fenotiyazin grubu boyar maddeler, analitik kimyada bir redoks indikatörü olarak veya inorganik ya

da organik anyonların belirlenmesi için spektrofotometride kullanılırlar (Sha *et al.* 2004). Boyar maddeler veya ince filmleriyle modifiye edilmiş substratlar, yüksek kataliz ve fotokimyasal özelliklerinden dolayı oldukça caziptirler. Bu tür boyar maddelerin güçlü elektrokatalitik etkilerinden dolayı literatürde birçok biyosensör üzerine Gr temelli kompozit çalışmaları mevcuttur. Özellikle fenotiyazin türevi boyar maddeler ile modifiye edilen elektrot yüzeyleri dihidronikotinamid adenin dinükleotit (NADH) oksidasyonundaki elektrokatalitik etkilerinden dolayı redoks arabulucusu olarak tercih edilmektedirler (Tanaka *et al.* 1993).

Flavin ve NADH, çeşitli metabolik redoks süreçlerini içeren koenzimler için önemlidir. Bunlar biyolojik reaksiyonlarda bir veya iki elektron transferi ile doğal redoks aracılığı olarak canlı hücrede oldukça geniş yer tutarlar (Muller 1983). 500 enzimden daha fazlası, NADH'ya dayalı dehidrogenazlar olarak belirlenmiştir. Altın (Au) ve camı karbon elektrot (GCE) gibi geleneksel elektrotlarda NADH'nın direkt oksidasyonu, çok yüksek aşırı potansiyel gerektiren tersinmez bir reaksiyon olduğundan NADH'nın dedeksiyonuna dayalı elektrokimyasal sensörlerin gelişimi, dikkate değer bir öneme sahiptir (Lorenzo *et al.* 1998).

Bu tez çalışmasının birinci aşamasında AB'nin Au elektrotlar üzerinde elektrokimyasal davranışı ve elektrokimyasal polimerleşme özellikleri detaylı olarak incelenmiştir. Tezin ikinci aşamasında ise, iki farklı yöntem kullanılarak grafen oksit (GO) yapıları sentezlenmiş ve her bir GO yapısının AB ile kompozit yapısı oluşturulmuştur. Bu kompozitlerin Au substratlar üzerinde oluşturulan ince filmleri NADH'nın amperometrik tayini için sensör olarak kullanılmıştır. Bu amaç doğrultusunda elektrokimyasal olarak grafen oksit (e-GO) ve kimyasal olarak Hummers yöntemiyle üretilen grafen oksit (k-GO) tabakaları sentezlenmiştir. Elde edilen e-GO ve k-GO tabakaları AB ile karıştırılarak e-GO/AB ve k-GO/AB kompozitleri hazırlanmış ve Au elektrotlar üzerine damlatıp kurutma yöntemiyle immobilizasyonları sağlanmıştır.

1.1. Polimerler

Yunancada “çok” anlamına gelen *poli* ve “parça” anlamına gelen *meros* kelimelerinin birleşimi olan polimer, monomer denilen tek parçalı küçük moleküllerin birbirlerine kovalent bağlanmaları ile oluşan ve yüksek molekül ağırlığına sahip bileşiklerdir. Aynı monomerlerin birleşmesiyle oluşan polimerlere homopolimer, içinde en az bir farklı monomerin olduğu birleşimler sonucu oluşan polimerlere ise kopolimer denilmektedir. Polimerler, polimeri oluşturan monomer sayısı bakımından sırası ile dimer, trimer, tetramer ve pentramer şeklinde isimlendirilmektedirler. Eğer monomer sayısı 20 ile 50 arası ise oligomer, çok daha fazla ise n-polimer olarak adlandırılmaktadır. Hafif, ucuz, kolay şekillenebilir ve dayanıklı olmalarının yanı sıra istenilen sertliğe ayarlanabilme ya da değiştirilebilen mekanik özelliklerinden dolayı polimerler başta endüstri, makine ve kimya olmak üzere tıp, tekstil ve teknolojik araçların üretimi gibi birçok alanda kullanılmaktadır.

Eski uygarlıklarda kauçuğun kullanımından 1970’lere kadar polimerlerin yalıtkan materyaller olduğu düşünülmüştür. İletken polimer arayışı 1950’li yıllara dayansa da sonraki 10 yıl içinde düşük iletkenliklerde bazı polimerler üretilebilmiştir. Yarıiletken polimerlerden gümüşe benzer metalik görünümüne rağmen düşük iletkenliğe sahip poliasetilenin halojen buharına maruz kalması sonucu dikkate değer bir derecede iletkenlik artışı göstermesi, Shirakawa ve arkadaşlarına, yaptıkları bu tür çalışmalardan dolayı 2000 yılı Nobel Kimya ödülünü kazandırmıştır (Chiang *et al.* 1977; Macdiarmid *et al.* 1977; Shirakawa *et al.* 1977).

Polimerlerde iletkenlik, elektron verici ve alıcıları sayesinde aynı polimer zinciri boyunca uzayan konjuge çift bağlardaki yüklerin π bağları vasıtasıyla delokalize olabilmesi ve birbirine yakın farklı zincirler arasındaki elektron aktarımı (hopping olayı) ile açıklanmaktadır. Bu şekildeki bir iletkenlik, yapı üzerine elektron sağlayan (n-doping) veya elektronca boşluklar oluşturan (p-doping) dopantların ilavesiyle 10^9 kata kadar artırılabilir.

Polimerlerin oluşumu için başlıca monomer ve bir başlatıcının olması gerekmektedir. Başlatıcı, ısı, elektromanyetik radyasyon, radyoaktif ışın, radikal oluşturun kimyasal madde veya monomerin kendisi olabileceği gibi elektrokimyasal olarak bir potansiyel uygulanması da olabilmektedir. Genelde polimerizasyon reaksiyonu iki ana grupta incelenmektedir.

- Katılma polimerizasyonu: Etilenin polimerizasyonundaki gibi yapısındaki ikili ya da üçlü bağların başlatıcı yardımıyla açılarak moleküllerin birbiriyle bağlanması sonucu oluşan polimerizasyondur. Bu tür polimerizasyonda yan ürün oluşmaz.
- Basamaklı polimerizasyon: Aminoasitlerden proteinlerin oluşumu gibi yapısında -OH, -COOH, -NH₂ benzeri fonksiyonel grup taşıyan aynı tip veya farklı tip monomerlerin tepkimesi sonrası oluşan polimerizasyondur. Bu tür polimerizasyonda H₂O, HCOOH, NH₃ gibi küçük molekül yan ürünler oluşur.

İletken polimerlerde ise, monomerin uygun bir çözücünde çözülmesi ve kimyasal bir başlatıcı vasıtasıyla bir redoks tepkimesi sonucu polimerin oluştuğu “kimyasal polimerizasyon”, ısı yardımıyla heteroatomların uzaklaştırılarak uzun zincirli polimerlerin sentezlendiği “piroliz”, başlatıcı olarak katalizör gibi davranan küçük molekül monomerlerin varlığında genellikle büyük molekül ağırlıklı zincir büyümesi yönünde ilerleyen “katalitik polimerizasyon” ve elektrolit çözeltisindeki monomerlerin başlatıcı olarak potansiyel uygulanması sonucu radikal gruplara dönüşmesi vasıtasıyla polimerizasyonun oluştuğu “elektrokimyasal polimerizasyon” olarak başlıca dört sentez yönteminden söz edilebilir.

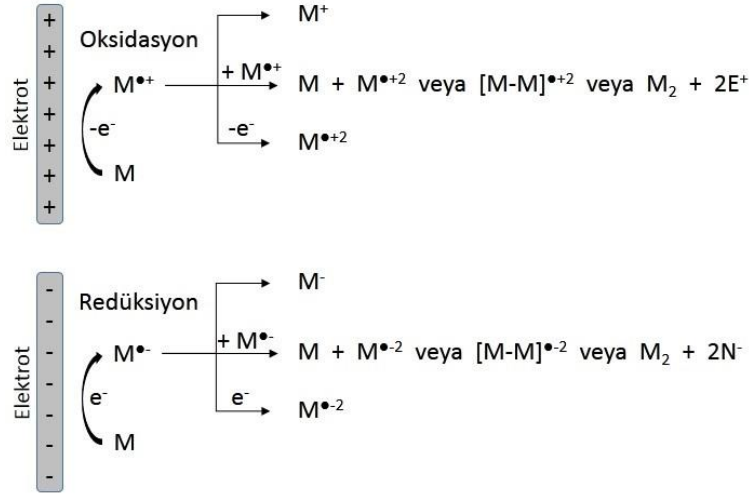
İstenilen sonuca göre sentetik prosedürü kolaylaştırması gibi birçok avantajı olan, özellikle kontrol edilebilir film kalınlığı nedeniyle polimerlerin sentezinde elektrokimyasal yöntem alternatif bir yoldur (Lacroix and Diaz 1986). Elektrokimyasal yöntem çok miktarda polimer üretmek için uygun olmasa da üretilen polimerin film kalınlığının kontrol edilebilir oluşu ve kararlılık göstermesi özellikle nanoteknolojik çalışmalarda önem kazanmıştır.

1.1.1. Elektrokimyasal polimerizasyon

İletken polimerlerin sentezinde, monomeri içeren elektrolit ile bir başlangıç adımına ihtiyaç duyulur. Polimerizasyon elektroaktif veya pasif materyallerle paralel reaksiyonlar veya karmaşık mekanizmalar ile hızlı bir şekilde gerçekleşir (Otero and Martinez 2016).

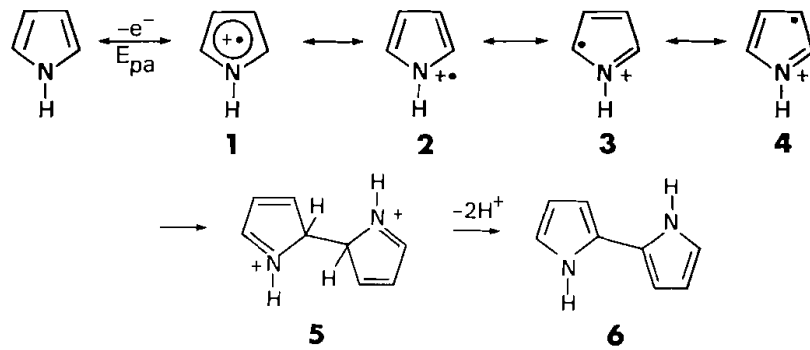
Elektrokimyasal polimerizasyon esnasında sıcaklık, elektrolit türü ve içeriği, uygulanan potansiyel, akım ve zaman, elektrokimyasal teknik ve çalışma elektrodu gibi parametrelerin değiştirilmesiyle amaca uygun olarak, özellikle nanoteknolojik açıdan önemli olan yüzey morfolojisi, film kalınlığı, biçimi ya da polimerleşme miktarı gibi birçok özellik ayarlanabilmektedir. Kimyasal başlatıcılar kullanılmadığı için polimerizasyon, diğer yöntemlere nazaran daha saftır ve kirlilik olmadan gerçekleştirilmektedir. Basit, seçici, kolay çözülmeyen ve kararlı polimerlerin oluşumu elektrokimyasal polimerizasyonun diğer avantajları arasındadır. Bu yöntemle çok miktarda polimer üretimi beklenmez ve uygun elektrokimyasal hücre ortamı kullanılmazsa monomerin yükseltgenme veya indirgenme potansiyellerinde oluşan reaktifin elektrolit içerisindeki türlerle istenmedik reaksiyonlar vermesi olası bir durumdur. Günümüzde elektrokimyasal polimerizasyon için dopantları ve monomerleri içeren, uygun elektrolite daldırılmış üç elektrotlu hücrelerde uygun sabit potansiyel ya da doğrusal taramalı veya dönüşümlü voltametri teknikleri kullanılmaktadır.

Genel olarak elektrokimyasal polimerizasyon süreci Şekil 1.1'deki gibi ilerlemektedir. Örneğin politiyofenin elektrokimyasal polimerizasyonunda olduğu gibi oksidatif yönde polimerleşmede, elektrot-sıvı faz arayüzeyindeki monomer (M), uygulanan potansiyel vasıtasıyla reaktif radikal katyona ($M^{\bullet+}$) dönüştürülür. Reaktif radikal, diğer reaktif radikale bağlanarak dimeriyon ($[M-M]^{\bullet+2}$) oluşturabilir ya da biri serbest monomere geri dönerken diğeri bir basamak daha yükseltgenerek dikatyona ($M^{\bullet+2}$) dönüşebilir. İki reaktif radikalın birleşmesiyle serbest bir dimer de (M_2) oluşabilir. Oluşan dimerler, potansiyel yardımıyla tekrar aktifleştirilerek oligomer veya polimerleri oluşturabilir. Polimerizasyon, elektrolit içindeki monomerler vasıtasıyla oluşabileceği gibi elektrot yüzeyindeki monomerlerle yüzey sınırlı da oluşabilir.



Şekil 1.1. Elektrokimyasal polimerizasyon

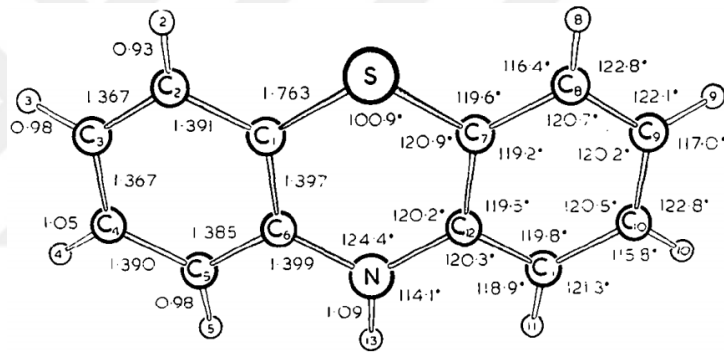
Şekil 1.2’de pirol monomerinin elektrokimyasal oksidasyonu sonucu polimerizasyonu resmedilmiştir. Pirol monomerinin elektrot yüzeyinde elektrooksidasyonu sonucu monomer radikal katyonu oluşturulmuştur (1). Radikal katyondaki elektron yoğunluğu ile rezonans formları meydana gelmektedir (2-4). İki monomerik pirol radikalinin dimer oluşturmasında, en muhtemel radikalik bağlanmanın α -pozisyonundan olması beklenmektedir (5). Daha sonra iki proton vererek nötr 2,2’ dimerler (6) oluşturulmuştur. Bu dimerlerin elektrooksidasyonu ile radikal dimeriyonun oluştuğu ve bu radikal dimeriyonların bağlanmasıyla da polimerizasyonun devam ettiği ileri sürülmüştür (Waltman and Bargon 1986).



Şekil 1.2. Pirol monomerinin elektrokimyasal polimerizasyonu (Waltman and Bargon 1986)

1.2. Azure B

Fenotiyazin, sakinleştirici diye bilinen ilaçların çok önemli bir grubunun atasıdır (McDowell 1976). Şekil 1.3'te resmedilen fenotiyazin molekülünün özellikle 3, 4, 9 ve 10 numaralı karbonlarına bağlı hidrojenlerin yerine farklı grupların bağlanmasıyla oluşan birçok fenotiyazin türevi boyar madde mevcuttur. Örneğin, 3 numaralı karbona bir primer amin, 9 numaralı karbona dimetilamin bağlanırsa AA boyar maddesi, her iki karbona da dimetilamin bağlanırsa MB boyar maddesi türetilir. 3 numaralı karbona sekonder metilamin ve 9 numaralı karbona dimetilamin bağlanması sonucu ise AB molekülü türetilmiş olur.

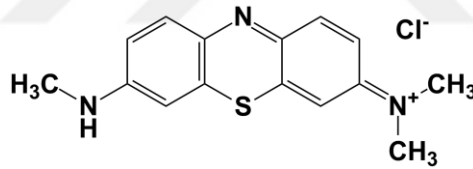


Şekil 1.3. Fenotiyazinin bağ uzunlukları ve bağ açıları (McDowell 1976)

Literatürde en çok çalışılan fenotiyazin türevi boyar maddelerden biri olan MB, 1891 yılında, Paul Guttman ve Paul Ehrlich tarafından sıtmanın tedavisinde kullanılmaya başlayan, tıpta tamamıyla sentetik olarak bilinen ilk ilaçtır. MB ile ilgili 2017'ye kadar bir biyomedikal kütüphanesi olan PubMed'de 16 binden fazla kayıt bulunmaktadır. Farelerde yapılan deneylerde, MB'nin beyin hücrelerinde biriktiği tespit edilmiştir. Yetişkinlerde, 7 mg/kg'lık bir MB dozu, mide-bağırsak hastalıklarına yol açmaktadır. MB, nikotinamid adenin dinükleotit fosfatın (NADPH) bir formu olan, antioksidan özelliğe sahip, glikoz-6-fosfat dehidrogenaz enzimini inhibe eder. Bu enzimin eksikliğinden dolayı 500 milyondan fazla kişi farklı şekillerde etkilenmiştir (Schirmer *et al.* 2011).

2011 yılında Schirmer ve arkadaşları MB ile AB'nin karşılaştırmasını yaptıklarında, AB'nin özellikle farmakolojik etkileri bakımından MB'nin yerini alabileceğini düşünmüşlerdir. Kıyaslama parametrelerine bakıldığında birçok açıdan AB'nin MB'den daha üstün olduğu görülmektedir. Örneğin, insan glutatyon redüktaz ve ilişkili enzimleri inhibe etmekte AB daha iyidir. Fareler üzerinde yapılan deneylerde AB'nin kandaki tümör miktarını azalttığı tespit edilmiştir (Schirmer *et al.* 2011).

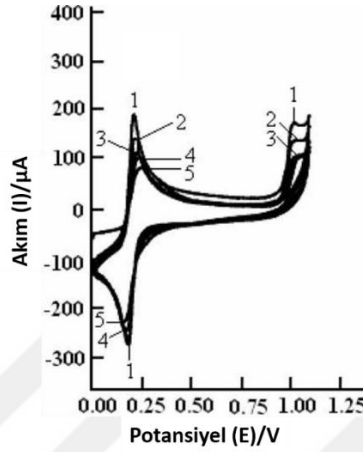
Şekil 1.4'te molekül yapısı gösterilen AB'nin pH'ya bağımlı olarak 2 tane absorpsiyon piki bulunmaktadır. Bunlardan AB^+ olan için λ_{max} absorpsiyon değeri 644 nm ve AB^{2+} için 730 nm olarak ölçülmüştür. Oldukça alkali bir ortamda ($pH > 11$) ise deprotonlanarak AB, 530 nm'de λ_{max} değerine ulaşır. Ayrıca agregasyondan (dimerleşme) dolayı 550-600 nm aralığında zayıf bir absorpsiyon piki görülür. Sodyum dodesil sülfat (SDS) varlığında absorbans şiddetinde bir azalma olurken, λ_{max} değerlerinde bir kayma gözlenmemiştir (Havelcova *et al.* 1999).



Şekil 1.4. Azure B'nin molekül yapısı

AB'nin literatürde, ekran baskılı karbon elektrot üzerine pH 6,9 fosfat tampon çözeltisi (PBS) ortamında (Sha *et al.* 2004), GCE üzerine sülfürik asit (H_2SO_4) çözeltisinde pH 3,0'de (Shen-Tu *et al.* 2013), platin folyo üzerine H_2SO_4 çözeltisinde $pH \leq 4,0$ 'te (Chen and Gao 2007), indiyum kalay oksit (ITO) üzerinde PBS'de pH 2-11 arasında (Shan and Mu 2001) olduğu gibi farklı substratlarda, farklı elektrolit ortamlarında ve farklı pH değerlerinde elektrokimyasal polimerizasyon çalışmaları bulunmaktadır. Örneğin, Chen ve Gao (2007) tarafından platin folyo üzerinde, 5,0 mM AB monomeri içeren 0,3 M H_2SO_4 çözeltisinde, 20°C sabit sıcaklıkta, 50 mVs⁻¹ tarama hızında, 0,0 ile 1,1 V arasında doygun kalomel elektroda (SCE) karşı AB'nin elektrokimyasal polimerizasyonu çalışılmıştır. Bu çalışmada, elektrokimyasal polimerizasyon esnasında alınan birinci (1),

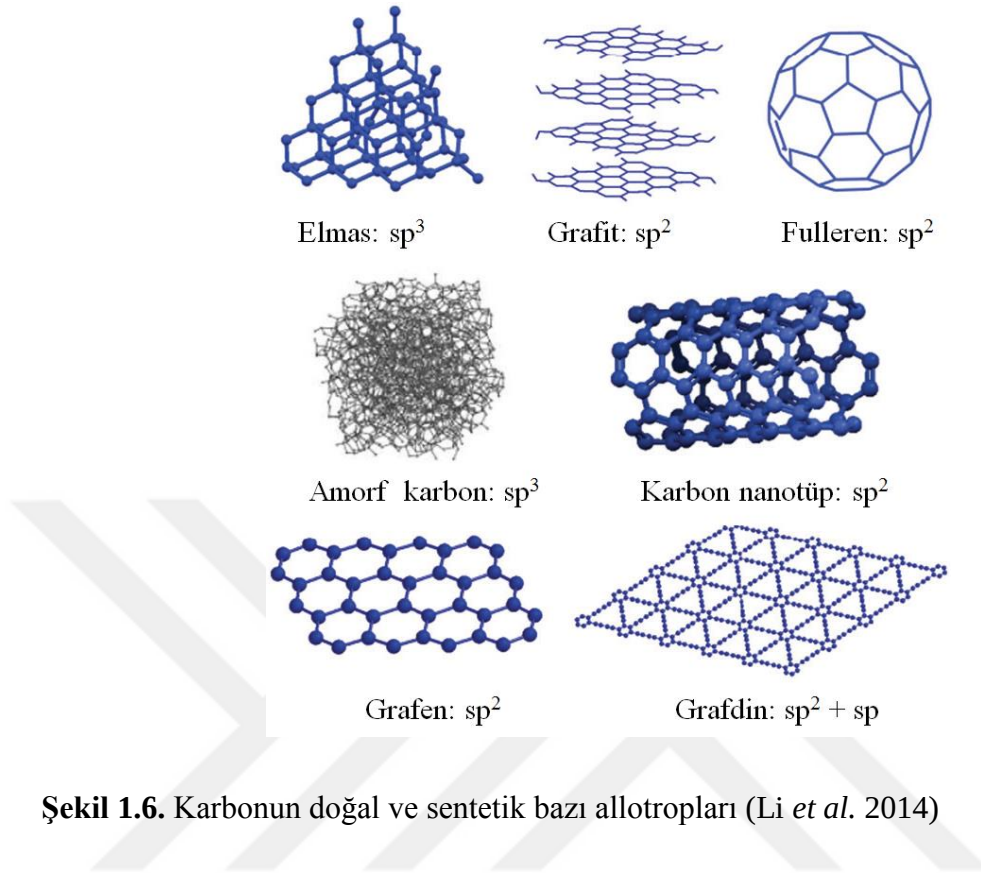
ikinci (2), onuncu (3), yirminci (4) ve otuzuncu (5) voltamogramlar Şekil 1.5'te gösterilmiştir.



Şekil 1.5. 5 mM AB içeren 0,3 M H₂SO₄ elektrolitinde 20°C'de 0,0 ile 1,1 V arasında AB'nin elektrokimyasal polimerizasyonu esnasında birinci (1), ikinci (2), onuncu (3), yirminci (4) ve otuzuncu (5) çevrimler için elde edilen voltamogramlar

1.3. Grafen

Doğada en çok bulunan elementler arasında dördüncü sırada olduğu bilinen karbon, kömür gibi değersiz bir maddeden elmas gibi çok değerli maddeye kadar Şekil 1.6'da görüldüğü gibi çeşitli allotropları olan bir elementtir. Karbonun grafit ve elmas olarak sırasıyla sp² ve sp³ hibritleşmesiyle oluşmuş sadece iki önemli allotropu doğada bulunur. Fulleren, nanotüp ve Gr'nin keşfi ile sırasıyla boyutsuz (0D), bir boyutlu (1D) ve iki boyutlu (2D) yapılarıyla karbonun bilinen sp² hibrit allotrop sayısı artmıştır (Li *et al.* 2014).

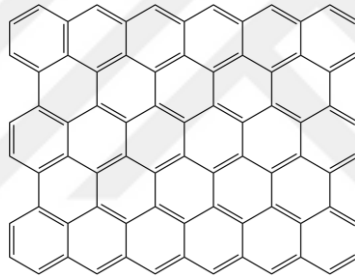


Şekil 1.6. Karbonun doğal ve sentetik bazı allotropları (Li *et al.* 2014)

Karbon atomlarının kendi aralarında yaptığı sp , sp^2 ve sp^3 şeklindeki hibrit bağlanmalarından ve bağlanma şekillerinden dolayı allotropları, dikkate değer ve birbirine oldukça zıt özellikler sergiler. Örneğin, karbonun sp^2 hibritleşmesiyle oluşmuş, bal peteği kristal yapısında, tabakaları arasındaki zayıf Van der Waals etkileşimleriyle birbirleri üzerinde rahatça kayabilen birçok tabakadan ibaret olan grafit allotropu oldukça yumuşak bir fiziksel özellikte, elektriği çok iyi ileten ama termal iletkenliği olmayan, mat bir maddedir. Oysa karbonun sp^3 hibritleşmesiyle her bir karbonun dört başka karbon atomuyla bağ yapması sonucu üç boyutlu büyüyen, karbonun elmas allotropu ise çok sert bir fiziksel özelliğe ve iyi bir termal iletkenliğe sahip olmasına rağmen çok düşük bir elektrik iletkenliği gösteren, şeffaf bir maddedir.

Karbonun alışlagelmiş üç boyutlu allotroplarının yanında son yıllarda keşfedilen birkaç yönde boyut sınırlaması olan allotropları da vardır. Smalley ve arkadaşları tarafından 1985'te keşfedilip 1996 yılında Nobel ödülüne layık görülen fullerenin ardından (Kroto *et al.* 1985), 1991 yılında NEC firmasından Iijima, grafitik karbonun sarmal mikro

tüplerini fullereninkine benzer bir metotla üretmiştir. Daha sonraları karbon nanotüp (CNT) adını alan bu yapının Iijima tarafından en küçük çapı 2,2 nm olarak ölçülmüştür (Iijima 1991). CNT, çok iyi ısı ve elektrik iletkenliğine sahip, oldukça geniş bir yüzey alanı bulunduran, çeliğin altıda biri yoğunluğunda olup yüz katı kadar daha güçlü olan, karbonun 1D allotropudur. 2004 yılında ise karbonun 2D başka bir allotropu olan, grafit, fulleren ve CNT'nin temelini oluşturan Gr keşfedilmiştir. Şekil 1.7'deki molekül şekline sahip Gr, Novoselov ve arkadaşları tarafından çok basit bir mikromekanik ayırma metodu ile grafit tabakalarından izole edilmesi başarılmıştır (Novoselov *et al.* 2004). Bu çalışmalarından dolayı Konstantin Novoselov ve Andre Geim 2008 yılında çok saygın bir ödül olan Avrupa Fizik (Europhysics) ödülüne, 2010 yılında ise yine fizik dalında Nobel ödülüne layık görülmüşlerdir.

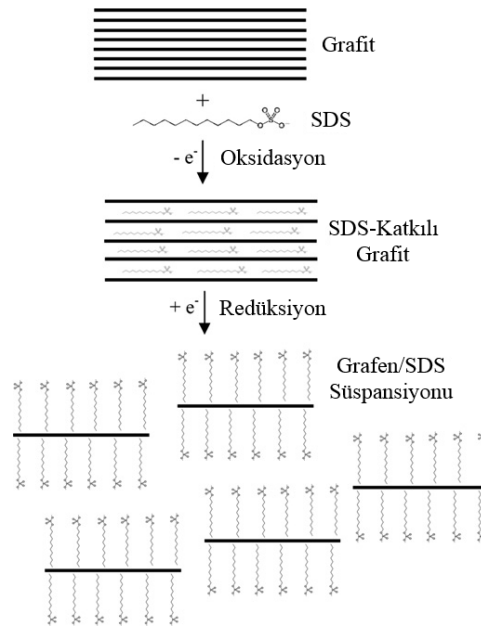


Şekil 1.7. Grafen yapısı

Daha sonraki yıllarda Gr, farklı yöntemlerle de sentezlenebilmiştir. Aşırı yüksek vakum (UHV) altında epitaksiyel büyütme sentez metotlarından birisidir (Berger *et al.* 2006). Epitaksiyel büyütme ile sentezlenen Gr, her ne kadar elektronik uygulamalarda kullanılabilir olsa da tekniğin maliyeti ve Gr yapılarının küçüklüğü bu metodun büyük dezavantajlarıdır. Hummers ve Offeman, kendi metotlarını geliştirerek grafiti kimyasallar ile GO'ya yükseltgeyerek sarı-kahverengi bir GO dispersiyonu elde etmişlerdir (Hummers and Offeman 1958). Bu metot ile grafitik yapılar GO'ya yükseltgenerek tabakalarına ayrıştırılır. Termal ya da kimyasal olarak indirgenmesiyle de kusurlu indirgenmiş Gr (rGO) elde edilir. Yükseltgenme sürecinde Gr tabakaları üzerinde başta karbonil (C=O) olmak üzere, hidroksil (-OH) ve epoksi (C-O-C) gruplarının varlığı, indirgenme sonrasında tabakaların bu bölgelerinde kusurların oluşmasına sebep olmaktadır. Bu kusurlar da rGO'nun optoelektronik verimini düşürmektedir. Kimyasal

buhar depozisyon (CVD) tekniği kullanılarak üretilen bir başka Gr üretim metodunda ise hidrokarbonlardan sağlanan karbonların bir metal veya silisyum üzerine belirli bir sıcaklıkta termal biriktirilmesiyle Gr elde edilmektedir. Yaklaşık $1,5 \text{ nm} \pm 0,5 \text{ nm}$ kalınlıktaki Gr sentezinde, ortamdan geçirilen hidrojen gazının katalizörlüğü eşliğinde hidrokarbon veya metan gibi başka bir karbon kaynağındaki karbonların metal yüzeyi ile etkileşimi sağlanır. Bu sayede yüksek kalitede ve büyüklükte, substrat yüzeyinde Gr sentezlenmiş olur (Obraztsov *et al.* 2007).

Düşük maliyet ve toksik çözücüler kullanmaya gerek olmadığından Gr sentezinde, elektrokimyasal yöntemler umut vericidir. Anot elektrodu grafit olan iki elektrotlu bir hücrede grafitin yükseltgenmesiyle GO elde edilebilmektedir (Liu *et al.* 2008). Gr'nin bir diğer elektrokimyasal sentez yöntemi ise bu tez çalışması esnasında Gr kaynağı olarak kullanılan, katkılama ve ayrıştırma olarak iki aşamalı elektrokimyasal metottur. Şekil 1.8'de gösterildiği gibi önce pozitif bir potansiyel uygulanarak grafit tabakaları arasına SDS gibi negatif yüklü moleküllerin katkılanması sağlanır. Daha sonra negatif bir potansiyel uygulanması ile Gr tabakaları pul pul dökülerek grafitten ayrılır (Alanyalıoğlu *et al.* 2012).



Şekil 1.8. Katkılama ve ayrıştırma olarak iki aşamalı elektrokimyasal Gr sentezi (Alanyalıoğlu *et al.* 2012)

Gr'nin keşfinden 2017 yılına kadar Web of Science veri tabanında 60.000'in üzerinde çalışma bulunmaktadır. Gr'nin araştırma laboratuvarlarında olduğu gibi üstün kalitede bir seri üretime geçildiği zaman Gr, endüstriyel uygulamalar açısından çok daha büyük ilgiye sahip olacaktır (Novoselov *et al.* 2012).

Gelişen teknolojiyle beraber Gr, elektrot materyali olarak başlıca aşağıdaki alanlarda kullanılmaktadır.

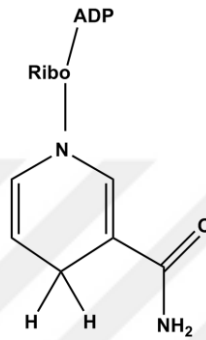
- Kapasitörler: Elektrokimyasal enerji depolama araçları (EESDs), elektrokimyasal kapasitörler (supercapacitors), elektrokimyasal çift tabaka kapasitörler (EDLCs), sözde kapasitörler (pseudocapacitors)
- Piller: Lityum-iyon pilleri (LIBs), sodyum-iyon pilleri (SIBs), lityum-hava pilleri (LABs), sodyum-hava pilleri (SABs)
- Yakıt hücreleri: Metanolün yükseltgenmesi, platinin katkılanması, elektrokatalitik etki vasıtasıyla asidik ortamda oksijenin indirgenmesi, mikrobiyal yakıt hücreleri
- Sensörler: Elektrokimyasal sensörler, biyosensörler, bakteri ve gıda kontrol sensörleri

Gr'nin elektrot materyali olarak ayrıca transistörlerde, dokunmatik ekranlarda, katalizör destek ve ısı transfer malzemelerinde, karbon nanotüp ve fulleren yapımında, organik ışık saçan diyotlarda (OLED), hidrojen depolamada ve güneş pillerinde kullanımı da görülmektedir. Gr'nin yüzey modifikasyon aracı olarak kullanımı, uygun yüzey yapısından dolayı NADH'nın da bulunduğu birçok biyolojik madde türü için sensör tasarımı açısından kullanımını cazip hale gelmiştir.

1.4. Dihidronikotinamid Adenin Dinükleotit (NADH)

NADH, Şekil 1.9'da gösterildiği gibi molekül yapısına sahip nikotinamid adenin dinükleotitin (NAD^+) indirgenmiş formudur. NAD^+ , hücrelerde niyasinin bir türevi olan nikotinamidden sentezlenir. Nikotinamid, riboz ve adenozin difosfat ile birleşerek NAD^+ 'yı meydana getirir. Hücrelerde elektron taşımakla görevli olan NADH'nın redoks tepkimesinde, NAD^+ bir çift proton ve bir elektron alarak NADH'ya indirgenirken bir

protonu dışarı verir. Hücrelerde enerji taşımakta yaygın olarak kullanılan ATP'nin üretilmesinde kullanılan NADH'nın tekrar NAD^{+} 'ya oksijensiz ortamda yükseltgenmesi, glikozun fermantasyonuyla gerçekleşmektedir. Enerji üretiminden ayrı olarak vücuttaki birçok kimyasal reaksiyonun başlamasında koenzim görevi üstlenir. Kırmızı ve beyaz ette bulunan NADH'nın dışardan desteklenmesi gerekmektedir.



Şekil 1.9. NADH molekülünün yapısı.

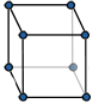
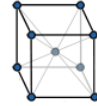
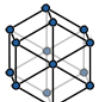
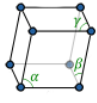
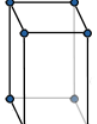
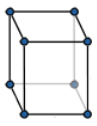
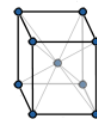
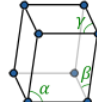
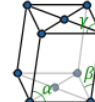
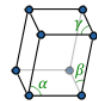
Düşük kütleli, nötral, Eşitlik 1.1'deki gibi $NAD^{+}/NADH$ redoks özelliğine sahip olan NADH, aerobik organizmalardaki bir arabulucu maddedir. Formal potansiyeli ($E^{0'}$) pH 7,0 ortamında SCE'ye karşı -560 mV'dir. Platin ve karbon elektrotlar üzerinde aşırı yüksek potansiyellerde NADH oksidasyonu gerçekleşirken GCE üzerinde standart hidrojen elektroda (SHE) karşı 620-720 mV potansiyelleri arasında dönüşümsüz olarak gerçekleşmektedir (Karyakin *et al.* 1999b).



1.5. Au(111)

Atomlar arasındaki bağ kuvvetlerinin çeşitliliğine göre düzensiz yapılar (amorf) ya da uzun mesafede düzenli yapılar (kristal) oluşmaktadır. Selüloz, kauçuk gibi doğal veya plastikler gibi yapay bileşikler ya da cam gibi bazı organik maddeler amorf yapıdadırlar. Kristal yapılarda atomlar, üç boyutta (3D) geometrik bir düzene göre dizilmektedir. Metaller, seramikler ve bazı polimerlerde kristal yapı gözlenmektedir. 3D düzlemde

birbirini tekrar eden düzenli yapılara “birim hücre” denilmektedir. Bir birim hücrenin bir köşesi başlangıç noktası olarak alınıp kenarlar arasındaki açılar ve kenarlara olan uzaklıklar ile “kafes parametreleri” oluşturulur. Şekil 1.10’da bu parametreler yardımıyla doğada bulunan 7 değişik kristal kafes sistemi ve 14 değişik kafes yapısı gösterilmiştir.

7 Kafes Sistemi	14 Bravis Kafes Yapı			
	Temel yapılar	Hacim merkezli yapılar	Yüzey merkezli yapılar	Taban merkezli yapılar
Kübik				
Hegzagonal (altıgen)				
Rombohedral				
Tetragonal				
Ortorombik				
Monoklinik				
Triklinik				

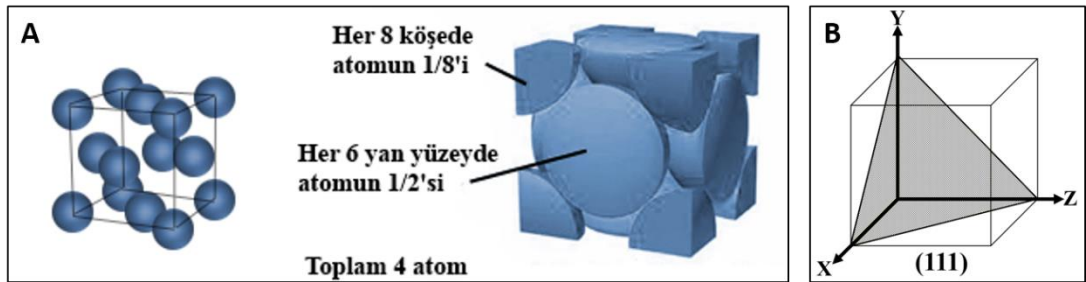
Şekil 1.10. Kristal kafes sistemi ve yapıları (Anonim 2017a)

Polikristal yüzeylerde, atomların veya moleküllerin birçok düzenleme şekli bulunmaktadır ve bunlar Şekil 1.10’da gösterilen yapılardan birine uymaktadır. Tek

kristal yüzeylerdeki düzenlemeler, tek bir yönde ve tekrarlanabilir niteliktedir. Tek kristal yapı, yüzey enerjisi düşük olduğu için özellikle ince tabaka çalışmalarında tercih edilir. Ayrıca polikristal yapıda, kristal yönelme sınırları arasına adsorplanan maddeler materyalin elektriksel verimini azaltmaktadır.

Au'nun da kristal yapısının olduğu yüzey merkezli kübik yapı (FCC; Face Centered Cubic) Şekil 1.11.A'da gösterilmiştir. FCC yapıda bir birim hücrede 8 köşede 8 farklı hücre tarafından paylaşılan birer atom ve 6 yüzeyde 2 farklı hücre tarafından paylaşılan birer atom ve dolayısıyla hücre başına toplam 4 atom bulunmaktadır.

Birim hücrelerde düzlem ve yön, "Miller indisleri" olarak bilinen koordinasyon sayıları (hkl) ile gösterilmektedir. Miller indisleri, birim hücrenin bir başlangıç köşesinin (orijin) düzlemlerle (x, y ve z koordinatları) kesiştiği mesafelerin tersi alınarak tamsayı cinsinden yazılmasıdır. Örneğin Au(111) için miller indisleri, Şekil 1.11.B'de gösterildiği gibi başlangıç noktasından x, y ve z yönlerinde 1'er birim ile düzlem yönelimi belirlenerek Tablo 1.1'de olduğu gibi hesaplanmıştır.



Şekil 1.11. Yüzey merkezli kübik yapı (Anonim 2017a) (A) ve (111) düzlem yönelimi (B)

Tablo 1.1. Au(111) için miller indislerinin hesaplanması

	X	Y	Z
Koordinatların aritmetik farkı	1	1	1
Bu farkların tersi	1/1	1/1	1/1
Tam sayı cinsinden yazılımı (Miller indisleri)	1	1	1

Au, (111) yüzey yapısındaki FCC yönelmesinden dolayı ve mükemmel tek kristal yapısı bakımından metaller arasında eşsiz bir yere sahiptir (Woll *et al.* 1989). Au atomlarının (111) yönelimi sonucu, bir altın atomu çapında, yaklaşık 0,3 nm yüksekliğe sahip, üçgensel tabakalar halinde kristalize yapı oluşur. Bu yüzeyler atomik seviyede düz olup, üçgensel biçimler hekzagonal altın yüzeyine has atomik basamaklardır ve bu basamakların kalınlığı yaklaşık bir altın atomunun çapı kadardır (Alanyalıoğlu 2006).

Yüzey özellikleri bilinen kristal yapılar, özellikle morfolojik araştırmalarda referans yüzey olarak kullanılırlar. Au(111), Au metalinin atmosfer ortamında inert olması, taramalı tünelleme mikroskopuyla (STM) iyi karakterize edilmiş olması, kolayca hazırlanabilir olması, bir kez hazırlandıktan sonra basit prosedürlerle temizlenerek tekrar kullanılabilir olması ve diğer kristal yapılarının hazırlanmasına göre daha basit olması gibi avantajlara sahiptir (Lee 2007). Ayrıca tek kristal bir yüzeyin elektroaktivitesi polikristalinkinden daha fazladır. Aynı elektrokimyasal şartlarda yükseltgenme ve indirgenme pik akımları tek kristallerde çok daha yüksektir ve pikleri daha keskindir. Bu özellik, hem rezölüsyonu hem de hassasiyeti artırır. Yüzey karakterizasyonunun iyi belirlenmesinden dolayı yüzeye modifiye edilmiş ince filmlerin topografik ve morfolojik özelliklerinin incelenmesinde Au(111) yüzeyi ideal bir substrat olarak kullanılmaktadır.

1.6. Kompozit Malzemeler ve Özellikleri

Makro boyutta birbiri içerisinde çözünmeyen farklı en az iki türün bir araya gelmesiyle elde edilen özellikli, çözücüsüz karışım türü malzemeye “kompozit malzeme” denir. Kompozitlerde, asıl etkinin gösterilmesi istenen matris ve bunun desteklenmesini sağlayan takviye malzemeler kullanılır. Birbirinden farklı fiziksel özellikteki bu maddelerin bir araya getirilmesi neticesinde hafiflik, sertlik ve esneklik gibi yeni özelliklere sahip materyaller elde edilir. Basit bir örnek olarak, kum ve çimento matrisi ve çelik çubukların takviyesiyle oluşturulan betonarme yapılar verilebilir (Anonim 2017b). Matris olarak genelde termoset, termoplastik ve elastomer çeşidi polimerler, alüminyum, titanyum ve magnezyum gibi metaller ve seramikler sıklıkla kullanılır. Takviye malzemesi olarak ise genelde cam, bor, kevlar ve karbon fiberler, elyaf, lif, pudra

ve yonga türü malzemeler kullanılır. Kullanımı, M.Ö. 1600'lü yıllara dayanan kompozitlerin geniş bir yelpazede üretimi gerçekleştiği için sınıflandırma yapmak zor olsa da ahşap kemik gibi doğal kompozitlerin yanı sıra basitçe matris bakımından metal, seramik ve polimer matrisler ile takviye malzemesi türü ve yapısı bakımından elyafli, parçacıklı, tabakalı ve karma (hibrit) kompozitler şeklinde sınıflandırma yapılmaktadır. Nanometre boyutundaki malzemeler (partiküller) kullanılarak kompozit üretimi durumunda ise “nanokompozitler” olarak sınıflandırılmaktadır.

Kompozitlerin özellikleri ve kullanım alanları bakımından genel olarak aşağıdaki gibi sıralanabilir.

- Kompozitler, çözücüsüz, iki veya daha fazla farklı maddenin kimyasal bir bağlanma olmadan bir araya gelmesiyle yeni özellikler sergileyen malzemelerdir.
- Mukavemet/yoğunluk oranı değiştirilebildiği için konstrüksiyonlarda kullanılan yüksek mekanik özellikte kompozit profiller üretilebilir.
- Yüksek yalıtkan kompozitler üretilerek trafo, kablo ve plaka gibi elektrik-elektronik aygıtlarda ve birçok makine parçasında kullanılabilirler.
- Kompozitlerin kullanımıyla özellikle seri üretme imkânı sağlanır ve bağlantı aygıtı olmaksızın birçok parça yerine tek parçadan oluşan malzemeler üretilebilir.
- Kompozit materyallere özel pigmentlerin katkılanmasıyla kendinden renkli ürünler elde edilebilir.
- Kırılmaz, şeffaf ve UV korumalı kompozitlerin üretilmesi ile güneş ışığı ihtiyacı olan sera ve güneş kolektörleri gibi alanların kurulmasında maliyet ve performans bakımından avantaj sağlar.
- Polyester matrisli kompozitlerin yüzey modifikasyonu ile beton, ahşap ve metal gibi yüzeylerde, ısı, nem, korozyon gibi olumsuz etkilerden korunma sağlanır.
- Matrise bağlı olarak yanmaya karşı direnç gösteren ve düşük ısı iletimi sergileyen kompozitlerin üretimi ile yalıtım malzemesi, yangınla mücadele donanımı ve giysiler üretilir.
- Oldukça dayanıklı olmasına rağmen çoğu kompozit materyal hasar görse bile kolayca tamir edilebilir.

- Birden fazla tabaka kullanılarak iki tabaka arasına farklı bir malzeme katılması veya takviye malzemesinin diziliş yönünün ayarlanabilir olmasıyla elde edilen sandviç benzeri kompozit veya hibrit kompozitlerin üretimi ile geliştirilebilir, yeni tip kompozitler meydana getirilebilir.

Isı, nem, kimyasal, basınç ve mekanik dayanıklılık, kırılmaz, yanmaz ve hafif olma, ayarlanabilir sertlik, gerilme kabiliyeti, korozyonu önleme, uzun ömürlü olma, ayarlanabilir akustik, ses, ısı ve elektriksel iletkenlik, rijitlik, ekonomiklik, termal özellik ve estetiklik gibi birçok özelliği ile kompozitler; otomotiv, havacılık, denizcilik ve savunma sanayinde, elektrik-elektronik teknolojisinde, askeri ve uzay araçlarında, biyomalzemelerde, inşaat, yapı, gıda ve tarım sektöründe, spor malzemelerinde ve birçok yüzey modifikasyonunda olduğu gibi birçok alanda kullanım yeri bulunmaktadır (Zor 2017).

Bu kadar çok özelliğinin yanında her zaman istenilen özellikte ve ideallikte kompozit üretilmemesi bir dezavantaj olarak görülmektedir. Birden çok tabaka barındıran kompozitlerde, tabakalar arası kayma meydana gelebilir. Onarımları dikkat gerektirmektedir ve uygun işlemlerle yapılmazsa onarım yerinden deforme olabilir.

Bu tez kapsamında, matris olarak AB ve takviye malzemesi (destek materyali) olarak GO yapıları ile oluşturulan kompozitler vasıtasıyla Au(111) yüzeyinin modifikasyonu sonucu NADH'nın elektrokimyasal belirlemesinde elektrokatalitik etki, kararlılık ve dayanıklılık gibi farklı özellikler incelenerek elektrot materyali geliştirilmiştir.

1.7. Yüzey Modifikasyonu

Elektrotların yüzey modifikasyonu ile elektroda istenilen özellikler kazandırılabilir. Elektrokimyasal süreç, elektrot-elektrolit ara yüzeyinde gerçekleştiği için yüzeyin değişmesiyle elektrodun elektrokimyasal davranışını da değiştirir. Basit bir örnek olarak korozyon verilebilir. Metal yüzeyini korumak veya dekoratif amaçla kimyasal ya da elektrokimyasal olarak ucuz metallerin yüzeyleri kaplanabilir. Bu açıdan en çok

kullanılan yöntemlerden birisi de metal yüzeyinin dış etkilere karşı daha kararlı olan bakır (Cu), altın (Au), gümüş (Ag), kalay (Sn), nikel (Ni), krom (Cr) gibi başka bir metal ile elektrokimyasal olarak kaplanmasıdır. Elektrot yüzeyi başka bir malzeme ile kaplanması neticesinde modifiye edilmiş bir yüzeyle yeni özelliklere sahip bir elektrot elde edilir. Modifikasyon neticesinde elektrot yüzeyindeki elektron aktarım hızı, elektrokatalitik etki, malzeme ömrü, yüzey enerjisi, aktif yüzey alanı, kararlılık, iletkenlik gibi birçok parametrede değişimler gözlemlenebilir.

Yüzey modifikasyonu, başka bir metal vasıtasıyla oluşabileceği gibi yine istenilen özelliğe göre elektroaktif bir türün elektrokimyasal olarak kaplanmasıyla, kuvvetli ve tersinmez bir türün adsorpsiyonuyla, organik veya inorganik bileşiklerin bağlanmasıyla da gerçekleştirilebilir. Genel olarak yüzey modifikasyon çeşitleri aşağıda sıralanmıştır.

- Elektrokimyasal yüzey modifikasyonu: Elektroaktif bir türün elektrokimyasal bir süreç ile yüzeye kaplanmasıyla oluşturulan yüzey modifikasyonudur. Modifikasyon, diazonyum tuzunun indirgenmesiyle oluşabileceği gibi amin, anilin, pirol, fenoksazin veya fenotiyazin türevi moleküllerin elektrokimyasal yükseltgenmesiyle de gerçekleştirilebilir. Çözeltide veya elektrot yüzeyine adsorplanmış çeşitli organik moleküllerin potansiyel uygulanmasıyla radikal veya fonksiyonel grup oluşturulması neticesinde elektrot yüzeyi modifiye edilebilir. Bunun yanında inorganik komplekslerin yükseltgenmesiyle de yüzey modifikasyonu gerçekleştirilebilir. Çözeltide katyon formunda bulunan Fe^{+2} , Fe^{+3} , Pb^{+2} ve Cu^{+2} gibi metal iyonlarının elektrokimyasal indirgenmesiyle elektrot yüzeyi kaplanarak yüzey modifikasyonu sağlanabilir.
- Kendiliğinden düzenlenen tek tabaka (SAM; self assembled monolayer): Bu yöntemde organik veya inorganik moleküllerin elektrot yüzeyine fiziksel tutunması ya da kimyasal bağlanması sonucu elektrot yüzeyi modifiye edilebilir. SAM tekniği ile Au, Ag ve ITO gibi birçok elektrot yüzeyinin modifikasyonu mümkündür. Özellikle Au yüzeyi ile yapısında tiyol (-SH) grubu bulunduran moleküller arasında kuvvetli bir kovalent bağlanma söz konusudur. Uygun çözücüde bulunan ve yüzeye modifiye edilecek türün kendi kendine birleşen tek tabaka halinde hava-sıvı faz arasında

yığılmasıyla (LB; Langmuir-Blodgett) veya çözelti içindeki türlerin istemli olarak yüzeye tutunması için elektrodun çözeltiye daldırılıp çıkarılmasıyla (deep coating) yüzey modifikasyonu gerçekleştirilebilir.

- Döndürerek kaplama (spin coating): Düz bir yüzeye sahip substratın yüzeyini ince, homojen bir filmle kaplamak için film kalınlığı ya da kaplama katman sayısı, çözelti miktarı, dönüş hızı, dönüş zamanı, tavlama sıcaklığı ve süresi gibi parametrelerin ayarlanmasıyla istenilen şekilde yüzeyde film oluşturarak yüzey modifikasyonu sağlanabilir. Bu yöntemde kaplanacak malzemenin çözeltisinden az bir miktar alınarak substratın merkezine aktarılır. Substratın çeşitli hızlarda döndürülmesiyle malzemeyi içeren çözeltinin substrat yüzeyinde yayılması sağlanır. Bu sayede düz ve homojen bir şekilde oluşturulmuş ince filmlerle yüzey modifikasyonu gerçekleştirilir.
- Fiziksel buhar biriktirme (PVD; physical vapor deposition): Bu yöntemde genelde katı haldeki bir metal kaynağın vakum altında ısıtılmasıyla aynı ortamda bulunan ve homojen bir kaplama için hareket halindeki substrat yüzeyine istenilen kalınlıkta filmlerin biriktirilmesi sonucu yüzey modifikasyonu gerçekleştirilir. PVD yöntemlerinde reaktif gaz ile yüksek hız ve enerjiye sahip metal plazması yardımıyla yüksek sertlikte ve yoğunlukta yüzey modifikasyonları mümkündür. Bu yöntemde, titanyum nitrür (TiN), niyobyum nitrür (NbN), krom nitrür (CrN) gibi metal nitrürlerin yanı sıra sertlik ve dayanıklılığı artırmak için titanyum-alüminyum nitrür (TiAlN) gibi değişik metal kompleksleri de kullanılmaktadır.
- Kimyasal buhar biriktirme (CVD; chemical vapor deposition): Yarı açık veya kapalı ve basıncı ayarlanmış bir kap içinde radikal bir gaz ile substrat yüzeyine adsorplanmış kimyasalın reaksiyonu sonucu aktifleşen kimyasal ile substrat arasındaki bağlanma ile oluşan katı kaplama, yüzey modifikasyonunda CVD yöntemi olarak bilinir. Isı, basınç, akış hızı, kimyasal, reaktif gaz ve süre gibi çeşitli parametrelerin ayarlanmasıyla kaplama materyali, kaplama şekli, yüzey morfolojisi, kaplama kalınlığı, yüzeyde kristalleşmenin yönü ve yapısı kontrol edilebilir. Bu sayede yüksek saflık ve kalitede yüzeyde çeşitli şekillerde tekdüze filmler kaplanabilir. PVD tekniğinde düşük basınçta, daha yüksek sıcaklıklarda, daha çok çeşit malzeme ile daha sağlam malzemeler elde edilebiliyorken, CVD'de yüksek sıcaklıklara dayanabilen pahalı malzemelere ihtiyaç duyulur.

- Damlatıp kurutma (drop casting): Temiz substrat yüzeyine homojen film çözeltisinin direk damlatarak tatbiki ve çözücünün buharlaşması için kurutulması aşamalarını içeren oldukça basit bir yöntemdir. Monomer, başlatıcı ve diğer katkı malzemelerinin eklenmesiyle damlatma miktarına bağlı olarak veya uygun bir kalıp kullanılarak düşük sıcaklıklarda polimerizasyonun tamamlanması ve çözücünün buharlaşması sonucu istenilen şekilde kaplama yapılabilir. Oldukça basit bir yöntem olmasına rağmen özellikle ince ve tekdüze film ile kaplama yapabilmek için düşük konsantrasyonlarda çözelti ve oldukça homojen süspansiyonlar kullanılmalıdır.

Bu tez kapsamında NADH'nın amperometrik belirlemesinde geliştirilen elektrotların üretiminde damlatıp kurutma tekniğinden faydalanılmıştır. Yeterli homojenliğin sağlanabilmesi için damlatıp kurutma öncesinde iyi bir dispersiyonun sağlanabilmesi için kompozit süspansiyonlar, bir saat ultrasonik su banyosunda bekletildikten sonra elektrot yüzeyine damlatılmıştır.

Yüzey modifikasyonunda istenilen özelliği kazandırabilmek için biyolojik moleküller, karbon nanotüpler, yarıiletken malzemeler, iletken polimerler, boyar maddeler, metaller, metal alaşımları, ya da dopant olarak metal iyonları, nanopartiküller, nanokompozitler gibi değişik materyaller kullanılmaktadır. Yüzeyin istenilen şekilde modifikasyonunun sağlanabilmesi çevre, gıda, tıp ve sanayi gibi çok çeşitli alanların yanı sıra son zamanlarda artan ilgiyle beraber başta biyolojik maddelerin belirlenmesi olmak üzere elektrokimyasal sensör tasarımlarında da ilgi odağı olmuştur.

1.8. Elektrokimyasal Sensörler

Kimyasal sensörler, bir sistemdeki kimyasal bileşenler hakkında bilgi veren küçük araçlardır. Biri reseptör, diğeri transdüser olarak en az iki parçadan oluşur. İlk önce belirleyici bir tabaka analitle etkileşime girer ve sonra analitik bilgi, bir elektrik sinyaline dönüşür (Lubert and Kalcher 2010). Elektrokimyasal sensörler ise, potansiyometrik ve amperometrik ölçümlere dayanır. Elektrokimyasal sensörlerin hız, yüksek hassasiyet, düşük fiyat ve yüksek seçicilik özellikleri ile modern üretim tekniklerinin ve

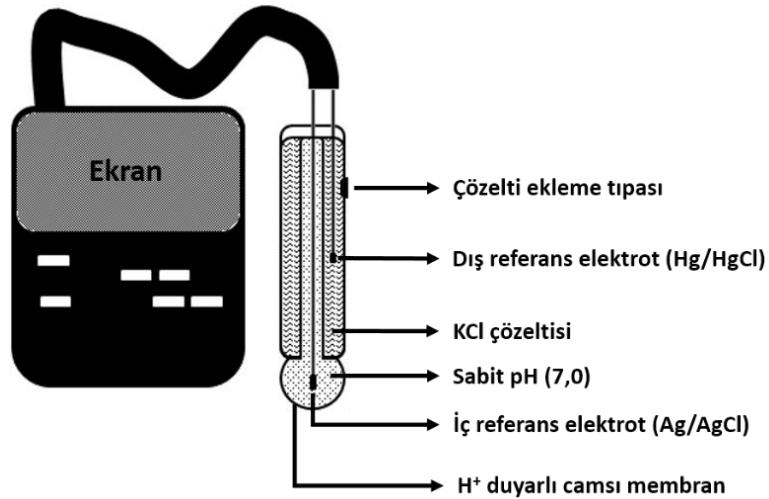
tekrarlanabilen üretim yöntemlerinin birleşimi, bu sensörlerin klinik, tanı, gıda ve su kalite kontrolü gibi alanlarda kullanımını artırmaktadır (Mahalanabis *et al.* 2009; Schotter *et al.* 2009). Bazı durumlarda spesifik uygulamalar için kullanılan kulometrik araçlar da bulunmaktadır. Bunlar arasında, kemirezistörler ve kapasitif sensörler gibi rezistans ve impedansa göre çalışan sensörler arasında az bir yer tutan, iyonların iletkenliğine dayalı, çok küçük boyutlu sensörler de vardır (Lubert and Kalcher 2010). Sensörler arasında, özellikle klinik uygulamalarda biyolojik analitlerin çeşitliliği, ucuz, hızlı ve küçültülmüş sensör gereksinimleri nedeniyle elektrokimyasal sensörler son zamanlarda yoğun ilgi görmüştür (Wang *et al.* 2001).

Sensörlerden genel olarak kısa cevaplama süresi, yüksek seçicilik, yüksek hassasiyet, düşük sapma, dinamik ve tekrarlanabilir olması gibi özellikler beklenmektedir. Piezoelektrikler gibi kütle sensörleri, termistörler gibi termal sensörler, iyonik, gaz ve elektrooptik gibi optik sensörlerin yanı sıra voltametrik ve amperometrik sensörler, kulometrik ve kondüktometrik sensörler ve potansiyometrik sensörler olmak üzere birbirleriyle benzer özellik gösterebilmelerine rağmen, kabaca üç bölüme ayırabileceğimiz elektrokimyasal sensör türleri de bulunmaktadır (Lubert and Kalcher 2010).

- Voltametrik ve amperometrik sensörler: Farklı potansiyel değerlerindeki amperometrik ölçümlere dayanır. Literatürde çok fazla olmasa da voltametrik sensörlere de rastlanılmaktadır. Voltametrizde potansiyel uyarma, zamana bağlı olarak çeşitlilik göstermesine rağmen genellikle en azından bir bileşene denk gelen difüzyon limit akımının uygulandığı amperometriden ibarettir. Bunun sonucu olarak amperometri, bir şekilde voltametriden gelişir (Lubert and Kalcher 2010). Voltametrik sensörlerde, analiti içeren çözeltide potansiyelin değişimine karşı akım değerleri kaydedilir. Analite ait potansiyel değerindeki akım, analit miktarıyla orantılı olarak artmaktadır. Amperometrik sensörler ise, numunedeki analite özgü ve voltametri ile belirlenen bir redoks potansiyelinde sabit tutulduğunda, analitin miktarına bağlı bir şekilde akımdaki değişikliğin ölçülmesi esasına dayanır. Eğer sensör, biyolojik bir analitin kendisi veya hidrojen peroksit (H_2O_2), nitrit (NO_2^-), NADH gibi bir biyolojik

reaktant veya ürün miktarına bağlı olarak akımdaki değişim ölçüyorsa, “amperometrik biyosensör” olarak isimlendirilir.

- Kulometrik ve kondüktometrik sensörler: Analitin tamamen ürüne dönüşmesi için gerekli olan yük miktarının ölçülmesine dayanan sensörlere “kulometrik sensörler”, analit, titrant veya ürün üçlüsünden en az birinin elektroaktif tür olduğu çözeltinin konsantrasyonu veya bir titrasyon işleminde dönüm noktası gibi bilgilere ulaşılmasına yardımcı olan, iletkenliği ölçmede kullanılan sensörlere ise “kondüktometrik sensörler” denir.
- Potansiyometrik sensörler: Ölçülmek istenen ortam ve referans ortam arasındaki gerilim farkına dayanan sensörlerdir. En bilindik örnek pH-metrelerdir. Şekil 1.12’de basit bir pH-metre düzeneği gösterilmektedir. Camsı membranın iç ve dış tarafındaki H_3O^+ iyon aktivitesi farkından dolayı elde edilen gerilimin ölçülmesi esasına dayanan bir sensördür. Camsı membranın iç tarafında sabit ve bilinen bir aktivitede H_3O^+ iyonları bulundurulursa, membranın dış tarafının temas ettiği, H_3O^+ iyonu içeren çözeltinin H_3O^+ iyon aktivitesi, bu aktivitenin değerinin logaritmasının -1 ile çarpılması sonucu da pH değeri hesaplanabilir.



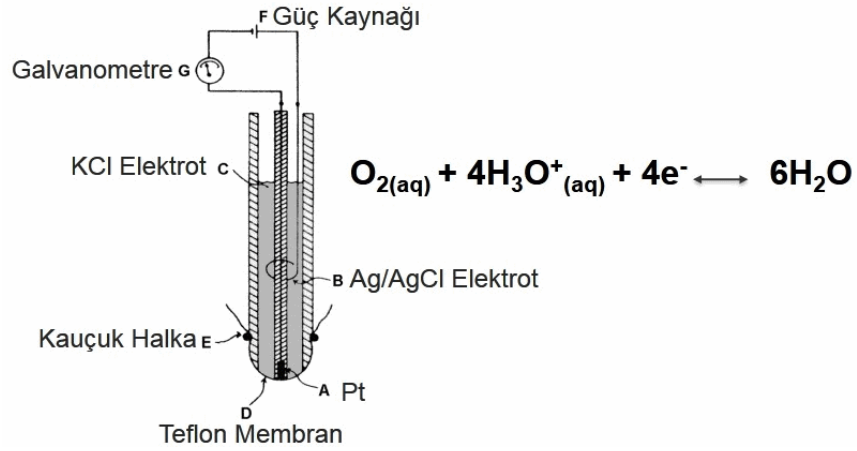
Şekil 1.12. Basit bir pH-metre düzeneği

Elektrokimyasal sensörlerin tarihi, 1906 yılında Cremer’in camsı elektrodu geliştirmesiyle başlamıştır. Haber ve öğrencisi Klemensiewicz, bu fikri 1909’da analitik

uygulamalarda kullanmaya başlamışlardır ve Cremer'in fikri olmasına rağmen Haber elektrodu olarak tanıtılması Cremer'in protestosuna sebep olmuştur. Tarihi süreç içerisinde 1960'larda birkaç iyonla karşı çok iyi duyarlı olan Erniç Pungor'un çalışmalarına ışık tutan gümüş halojenür disklerin 1937'de Kolthoff ve Sanders tarafından geliştirilmesi, gazları belirlemede kullanılan camsı elektrotlara dayalı gaz sensörlerini geliştirmede yeni polimerlerin üretilmesi, bir gaza nüfus eden polimerle camsı elektrot yüzeyini çevreleyerek ilk CO₂ sensörünün, fizyolog olan Stow ve Severinghaus tarafından yayınlanması gibi çalışmalar, potansiyometrik sensörlerin temelini oluşturmaktadır (Lubert and Kalcher 2010).

Amperometrik sensörlerin gelişimine bakıldığında 1896 ve 1897 yıllarında Solomon tarafından galvanometrik titrasyon, 1926'da "Dead-stop end point method" olarak bilinen biamperometrik titrasyon, 1929'da polarografik titrasyon, 1934'te depolarimetri, 1936'da polarimetrik titrasyon ve 1939-1941 yılları arasında amperometrik titrasyon geliştirilmiştir. Biyosensör olarak baktığımızda ise glikoz oksidaz enziminin glikoz üzerine etkisiyle oksijenin azalmasını belirlemek için Clark'ın 1962 yılında geliştirdiği oksijen sensörü ilk glikoz biyosensörüdür.

Elektrokimyasal sensörler, 1956 yılında L. C. Clark'ın O₂ sensörünü geliştirmesiyle başlamıştır. "biyosensör alanının babası" olarak bilinen Clark'ın oluşturduğu amperometrik sensör modeli ve reaksiyonu, Şekil 1.13'te gösterilmektedir. Sensör, bir yalıtkan silindir hücre içerisinde, KCl ile desteklenmiş AgCl çözeltisi içeren ikinci bir tüp içinde ortada çalışma elektrodu (katot) olarak Pt, bu elektrodun çevresinde karşıt elektrot (anot) olarak Ag çeperden ibarettir. Hücrenin ucunda bulunan ve oksijen geçişine müsaade eden teflon veya poliüretan bir membran vasıtasıyla ölçülmek istenen ortamdaki oksijenin geçişi sağlanır. 1,5 V'lık bir potansiyel uygulanmasıyla anotta Ag AgCl'ye yükseltgenirken katotta Pt elektrot yüzeyinde oksijen suya indirgenir ve elde edilen akım neticesinde ölçüm gerçekleşir.



Şekil 1.13. Clark'ın O₂ sensör tasarımı (Heineman and Jensen 2006)

Başta amperometrik sensörler olmak üzere tüm elektrokimyasal sensörler seçici olması, çevreye zarar vermemesi, çalışmak için az numune miktarı gereksinimi, ucuz olması, spesifik olması ve yapay ortamda (in-vivo) çalışmalara uygunluğu yanında tekrarlanabilirliği, basit kullanımı, ek kimyasal gerektirmemesi ve kısa sürede yanıt vermesi gibi avantajlara sahiptir. Elektrokimyasal sensörler için dezavantaj olarak analitin elektrokimyasal bir aktiviteye sahip olma zorunluluğu gösterilmektedir.

Bu tez çalışmasındaki amacımız NADH'nin amperometrik tayini için elektrot materyali geliştirmektir. Amaç doğrultusunda ilk olarak AB'nin Au ve Au(111) yüzeyinde elektrokimyasal polimerizasyonu incelenmiş ve karakterizasyonu gerçekleştirilmiştir. Belirli üstün yüzey özellikleri İyi karakterize edilmiş Au(111) yüzeyi substrat olarak kullanılmıştır. Yüzey modifikasyonu için ise poli(AB), Gr, GO, Gr-AB ve GO-AB yapıları kullanılmıştır. Damlatıp kurutma ve polimerizasyon yöntemleriyle hazırlanan modifiye elektrotlar ile NADH'nin tayinine yönelik pH, modifiye edilen kompozit türü ve miktarı, elektrokatalitik etki bakımından en optimum şartlar ve en uygun elektrot seçimi için çalışılmıştır. Seçilen elektrot ile NADH'nin amperometrik tayini incelenmiştir. Kararlılık, girişim, üretilebilirlik ve gerçek numune analizi çalışmaları yapılarak literatürdeki diğer çalışmalarla kıyaslanmıştır. Karakterizasyon için morötesi-görünür bölge spektroskopisi (UV-Vis), STM, taramalı elektron mikroskobu (SEM), X-ışınları kırınım (XRD) spektroskopisi, Raman spektroskopisi, fourier

dönüşümlü infrared (kızılötesi) spektrofotometresi (FT-IR), X-ışını fotoelektron spektroskopisi (XPS), dönüşümlü voltametri (CV), potansiyel kontrollü kronoamperometrik elektroliz (CPE) ve amperometri teknikleri kullanılmıştır.



2. KAYNAK ÖZETLERİ

İletken polimerler, hem kimyasal hem elektrokimyasal yöntemlerle sentezlenebilmektedir. Elektrokimyasal sentez yöntemi kullanılarak istenilen kalınlıkta, kolay bir şekilde polimerizasyon gerçekleştirilebilir. Ayrıca polimerizasyon ile eşzamanlı olarak monomerin veya başka iyon ya da moleküllerin yapıya katkılanması veya hapsedilebilmesi mümkündür. Elektrokimyasal yöntemlerle oluşturulan polimerlerin kararlı ve çözünürlüğünün çok düşük olması her ne kadar dezavantaj gibi görünse de özellikle sensör tasarımlarında istenen bir özelliktir.

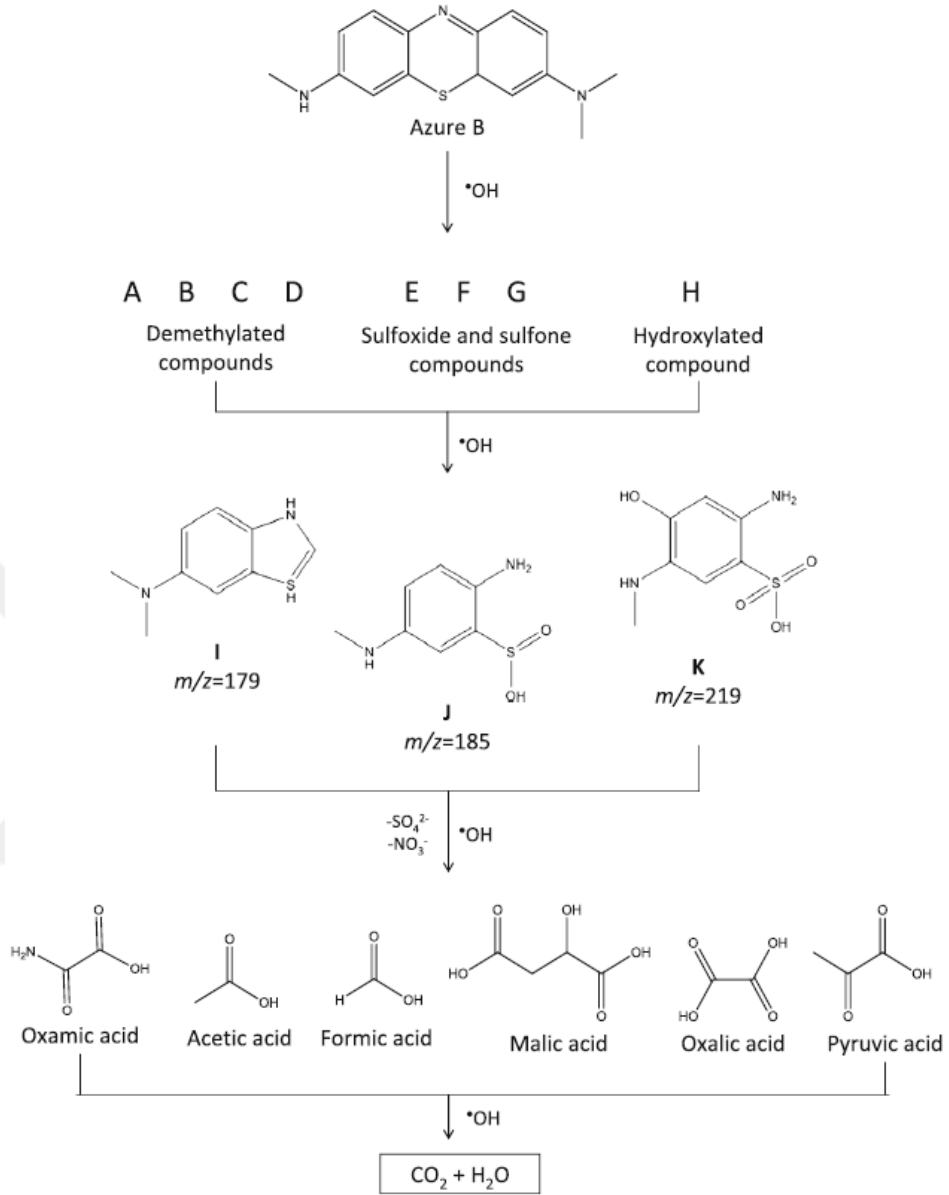
İletken polimerlerin elektrokimyasal polimerizasyonu konusunda Ito ve grubu (1974) tarafından asetilenin polimerizasyonunun gerçekleştirilmesi en önemli adımlardan biridir. Bir diğer önemli adım ise Diaz ve grubu (1979) tarafından pirolün elektrokimyasal yöntemle yükseltgenerek platin üzerine polimerizasyonunun gerçekleştirilmesidir. Diaz ve grubu, oldukça güçlü bir bağlanma ile dayanıklı polimer film, artırılmış iletkenlik ve iyi elektrot özelliklerine sahip polimer üretildiğini bildirmiştir. Polimerizasyon, 0,1 M tetraetil amonyum tetrafloroborat (Et_4NBF_4) ve 0,06 M pirol içeren (MeCN) elektrolitinde 2 elektrotlu bir elektrokimyasal hücrede yapılmıştır. 5-50 μm kalınlıktaki filmlerin dört probu teknik ile iletkenliği ölçüldüğünde kalınlığa bağlı olarak 10 ile 100 S.cm^{-1} arasında iletkenlik değerleri bulunmuştur (Diaz *et al.* 1979).

Polipirolün yanı sıra 1980'lerde aromatik heterosiklik bileşik tiyofen, pirol, indol, benzenoid, nonbenzenoid polisiklik hidrokarbonlar, azulen, floren ve pirenin gibi birçok bileşiğin elektrokimyasal oksidasyon ile polimerizasyonları gerçekleştirilmiştir. Sübstitüsyonun varlığı, bu filmlerin elektriksel iletkenliğini, elektroaktif özelliklerini ve polimerizasyonun oluşup oluşmayacağını veya çözünürlüğünü etkilemektedir. Bu davranışlar, oksidasyon sonrası oluşan ara radikal katyonun kararlılığına da bağlıdır (Waltman and Bargon 1986). Heterosiklik aromatik fenotiyazin türevi boyar maddelerden MB (Karyakin *et al.* 1993), azure I (AI) (Cai and Xue 1997), AA (Dong and Chu 1993), Th (Ohsaka *et al.* 1993) ve AB (Shan *et al.* 2001) için farklı substratlar üzerinde, farklı elektrokimyasal hücre ortamlarında ve farklı tekniklerle polimerizasyonu

gerçekleştirilmiştir. Aşağıda fenotiyazin grubu üyesi AB'nin oksidasyonu ve elektrokimyasal polimerizasyonuna dair bazı çalışmalar hakkında bilgiler bulunmaktadır.

Olvera-Vargas ve grubu (2014), AB'nin sulu çözeltilerinden elektrokimyasal ileri oksidasyon prosesleri (EAOPs), elektro-Fenton ve anodik oksidasyon prosesesi kullanarak elektrokimyasal bozulmasını çalışmıştır. AB'nin elektrokimyasal bozunumunun, CO₂ ve inorganik iyonlara (sülfat, nitrat ve amonyum) neredeyse mineralizasyondan önce alifatik karboksilik aside yükseltgenecek olan aromatik yan ürünlerin oluşumuna yol açtığı bulunmuştur. Elektrokimyasal uygulamada oksijen kaynağı olarak elektrolit hücresinden atmosferik hava geçirilmiştir. Elektrolit olarak 0,1 mM Fe²⁺ katalizörü ve 0,1 mM AB içeren pH 3,0'a tamponlanmış 0,05 M Na₂SO₄ çözeltisi kullanılmıştır. Oda sıcaklığında güçlü karıştırma ile beraber 50-500 mA arasında sabit akım ile elektrokimyasal bozunma sağlanmıştır.

AB'nin elektro-Fenton esnasında üretilen [•]OH ile tahmin edilen mineralizasyonu Şekil 2.1'de gösterilmiştir. Üretilen hidroksi radikallerinin ([•]OH) C-S⁺=C fonksiyonel gruplarına saldırmasıyla sülfoksitlerin (Şekil 2.1.E, F ve G) oluştuğu, [•]OH'ların bu sülfoksit gruplarıyla reaksiyonu sonucu ise sülfonların oluştuğu bildirilmiştir. AB'nin [•]OH ile oksidasyonunun ilk başlarında farklı dimetile edilmiş bileşiklerine (A, B, C ve D) parçalandığı ve merkezi halkanın oksidatif kırılması sonucu bazı sülfon içeren parçaları (J ve K) oluşturabileceği tahmin edilmiştir. Hidroksilasyon esnasında halka bölünmesi sonrasında kısa zincirli karboksilik asitler veren NH₄⁺ ve SO₄⁻² ile reaksiyona girdiği ve nihai mineralizasyon öncesi son ürün olarak bilinen alifatik asitlerin oluştuğu değerlendirilmiştir. (Olvera-Vargas *et al.* 2014).



Şekil 2.1. AB'nin elektro-Fenton esnasında üretilen $\cdot\text{OH}$ ile tahmin edilen mineralizasyonu (Olvera-Vargas *et al.* 2014)

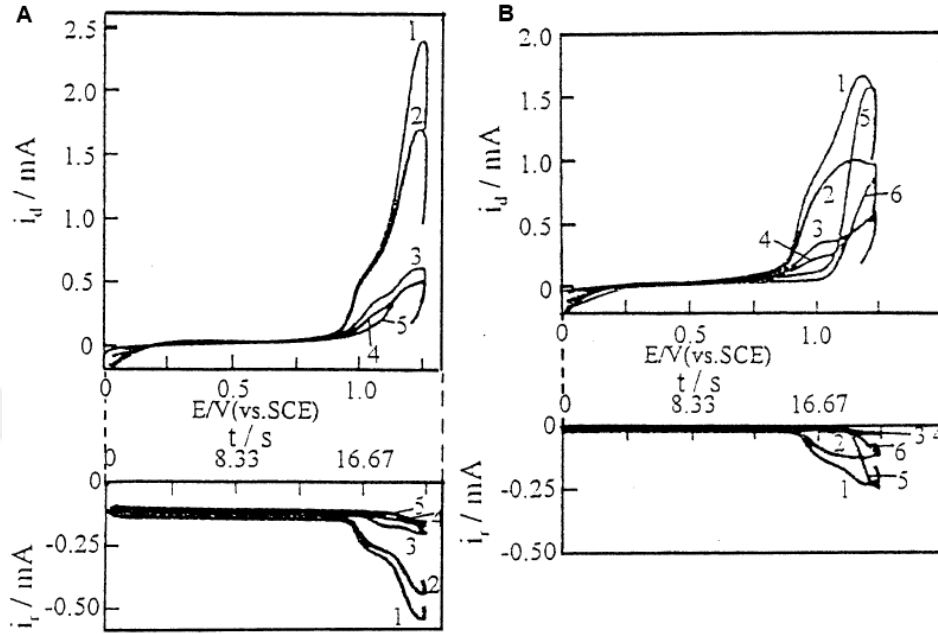
Shan ve grubu tarafından yapılan bir çalışmada, AB'nin elektrokimyasal polimerizasyonu dönen halka-disk elektrot (RRDE) ve elektrokimyasal kuartz kristal mikrobaleans (EQCM) ile gerçekleştirilmiştir. Elektrolit olarak 2,5 mM AB ve 0,5 M NaCl destek elektroliti içeren 0,2 M Na_2HPO_4 kullanılarak farklı pH değerlerinde PBS'ler kullanılmıştır. Dönüş hızının artırılması veya halka potansiyelinin azaltılması ile birikme etkisinin arttığı gözlenmiştir. EQCM ölçümlerinde polimerizasyon başlangıç potansiyeli

SCE'ye karşı 0,6 V olarak belirlenmiştir. AB'nin polimerizasyon hızının, ilk 15. dönüşüme kadar yavaş bir şekilde, daha sonraki dönüşümlerde ise daha hızlı bir şekilde arttığı bir polimerizasyon oranı görülmüştür. Poli(AB)'nin oksidasyon ve redüksiyon sürecinde maksimum frekans farkı pH 3,0 tamponunda $0,99 \mu\text{g.cm}^{-2}$ 'lik bir kütle değişimi ile 174,7 Hz olarak ölçülmüştür (Shan *et al.* 2001).

Polimerizasyona pH'nın etkisini incelemek için farklı pH'lara tamponlanmış PBS elektrolitinde 0,0 ile 1,25 V arasında ardışık taramalar yapılarak RRDE kullanılmıştır. Şekil 2.2'de pH 3,0 (A) ve pH 4,0 (B) için alınan ardışık taramalara ait disk akımı-potansiyel (I_d-E) ve halka akımı-zaman (I_r-t) eğrileri verilmiştir. Şekil incelendiğinde, pH 3,0 için ilk taramada (1) 0,93 V disk potansiyelinden sonra hızlı bir şekilde artan disk ve halka akımının, çözünebilir arabulucunun disk elektrodunda elektroliz esnasında üretildiğinden ileri geldiği bildirilmiştir. Daha sonraki taramalarda düşük iletkenlikte bir polimer filmin şekillenmesinden dolayı hem disk, hem halka akımında azalış gözlenmiştir. pH 4,0 için ise pH 3,0'a göre daha düşük bir potansiyel olan 0,87 V'de disk akımında ani bir artış görülmüştür. Benzer şekilde tarama sayısının artışıyla disk ve halka akımlarında düşüşler görülmesine rağmen 1,0 V potansiyelin üzerinde yirminci taramada dikkate değer bir akım artışı gözlenmiştir. Bu sonuç, sade Pt elektrottan daha yüksek potansiyelde olmakla beraber poli(AB) filminin kendi üzerinde arabulucunun üretildiğine dayandırılmıştır. pH 3,0 ve pH 4,0'daki potansiyel ve akımlar kıyaslandığı zaman ise hem disk potansiyelinin daha düşük, hem de yirminci ve sonraki taramalardaki disk akımlarının daha fazla gözlendiği pH 4,0'da AB'nin polimerizasyonunun daha kolay olduğu anlaşılmıştır. pH 2,0 ortamındaki disk akımları pH 3,0 ortamına, pH 5,0 ve 6,0 ortamlarındaki disk akımları ise pH 4,0 ortamındakine benzerlik göstermektedir. Bu sonuçlar ile, düşük asidik ortamda polimer filmin kendi kendine arabulucu ürettiği ve yüksek pH ortamında sentezlenen poli(AB)'nin daha iletken olduğu bildirilmiştir (Shan *et al.* 2001).

Polimerizasyona halka potansiyelinin ve dönüş hızının etkisi incelendiğinde, disk üzerinde oluşturulan arabulucunun halkaya doğru ayrılmasından ve stabil bir durum sergilememesinden dolayı, artan halka potansiyeli ile halka üzerinde biriken

arabulucunun birikme etkisinde azalma, artan dönüş hızıyla ise artma gözlenmiştir (Shan *et al.* 2001).

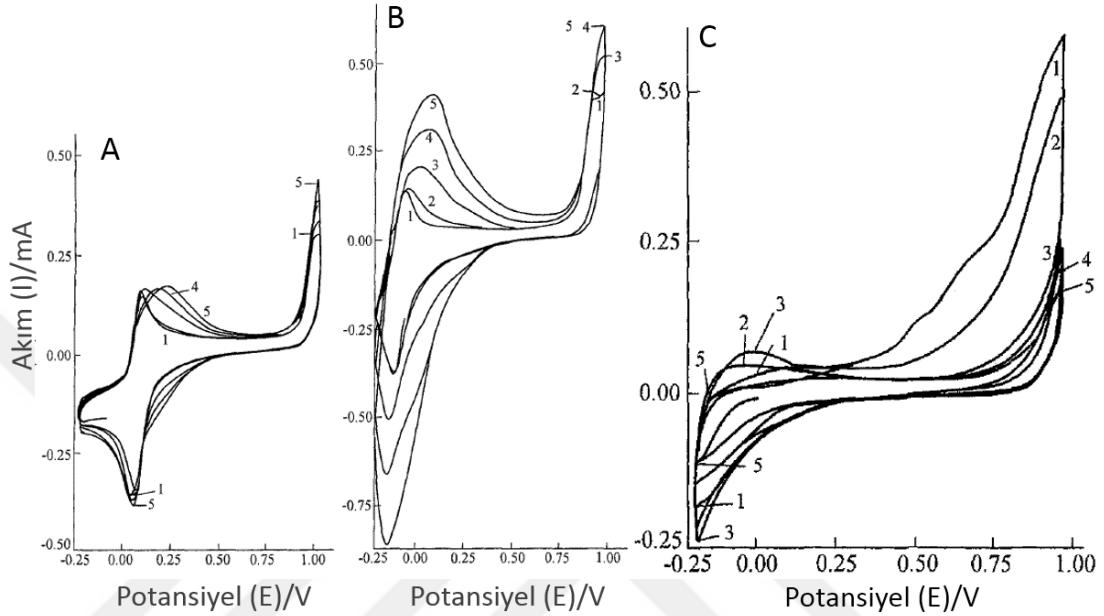


Şekil 2.2. 2,5 mM AB, 0,5 M NaCl ve 0,2 M PBS pH 3,0 (A) ve pH 4,0 (B) çözeltisinde 1) birinci, 2) ikinci, 3) beşinci, 4) onuncu, 5) yirminci ve 6) otuzuncu taramalardaki I_a -E ve I_r -t eğrileri (Shan *et al.* 2001)

Shen-Tu ve grubu tarafından AB'nin elektrokimyasal polimerizasyonu GCE ve Pt folyo üzerinde CV tekniği kullanılarak AB'nin sulu sülfürik asit (H_2SO_4) çözeltilerinde gerçekleştirilmiştir. 0,5 M Na_2SO_4 (pH 3,0) içinde iyi bir elektrokimyasal geri dönüşüm ve hızlı şarj transfer kabiliyeti sergilediği belirtilmiştir. Polimerizasyon sonrası GCE üzerinde poli(AB)'nin oluştuğunu gösteren koyu mavi bir film gözlenmiştir. Poli(AB)'nin 25 ile 600 mVs^{-1} arasındaki tarama hızının kareköküyle anodik ve katodik pik akımlarının doğrusal olması elektrot reaksiyon sürecinin difüzyon kontrollü olduğunu gösterdiği bildirilmiştir. Nano-gözenekli bir yapı sergilemesiyle biyosensörlerin oluşturulmasında bir potansiyele sahip olduğu düşünülen poli(AB)'nin polimerizasyon esnasında artan sıcaklıkla pik akımlarında artış olduğu gözlenmiştir. Sıcaklığa bağımlı olarak anodik ve katodik reaksiyonları için aktivasyon enerjileri sırasıyla $11,1 \text{ kJ mol}^{-1}$ ve $9,2 \text{ kJ mol}^{-1}$ olarak hesaplanmıştır (Shen-Tu *et al.* 2013).

Shan ve Mu tarafından, 2,5 mM AB ve 0,5 M NaCl içeren pH 2,0 ile 11,0 arasında farklı değerlerde tamponlanmış 0,2 M PBS elektrolitleri içerisinde SCE'ye karşı -0,25 ile 1,10 V arasında CV tekniği ile GCE üzerine AB'nin polimerizasyonu çalışılmıştır. AB'nin elektrolizi esnasında in-situ olarak UV-Vis spektrumları incelendiğinde tarama sayısı ile orantılı olarak 740 nm'de artan bir pik gözlenmiştir. Bu absorpsiyon pikinin AB'ninkinden 98 nm daha uzun dalga boyuna sahip olduğu görülmüştür. pH 3,0 çözeltisinde poli(AB)'nin anodik ve katodik pik potansiyelleri 25 mVs^{-1} 'den 600 mVs^{-1} 'e artan tarama hızından etkilenmemiştir. pH 2,0 ile 11,0 arasında poli(AB), iyi elektrokimyasal dönüşüm ve hızlı şarj transfer özelliği gösterdiği bildirilmiştir. Poli(AB) filminin büyütülmesinde pH 2,0 (A), pH 4,0 (B) ve pH 11,0 (C) ortamındaki ardışık bazı voltamogramlar Şekil 2.3'te verilmiştir. Hücre sıcaklığı 25°C 'de sabit tutulmuştur. pH 2,0 elektrolitindeki (Şekil 2.3.A) voltamogramlar incelendiğinde ilk taramada (1) 0,09 V'de bir anodik ve 0,05 V'de bir katodik pik görülmüştür. Tarama sayısının artmasıyla anodik pikin pozitif potansiyellere kaydığı, katodik pikin ise neredeyse tarama sayısından bağımsız olduğu gözlenmiştir. Hem anodik hem katodik pik akımlarında otuzuncu çevrime kadar çok az bir değişim izlenmiştir. Polimerizasyon sonrasında soluk renkte bir film çalışma elektrodu üzerinde şekillenmiştir. Şekil 2.3.B incelendiğinde pH 4,0 ortamında ise ilk taramada -0,10 V'de anodik pik, -0,15 V'de katodik pik görülmüştür. pH 2,0 çözeltisiyle kıyaslandığında piklerin daha negatif bölgede, anodik pik potansiyelindeki kaymanın ise pozitif yönde çok daha az olduğu belirlenmiştir. Anodik ve katodik pik akımları kıyaslandığında ise artan tarama sayısı ile pH 2,0'a kıyasla pH 4,0 ortamında daha çok arttığı belirlenmiştir. Elektroliz sonrasında çalışma elektrodu üzerinde koyu bir mavi film şekillendiği gözlenmiştir. Bu sonuçlar ile AB'nin polimerizasyon hızı pH 4,0 ortamında daha hızlı olduğu bildirilmiştir. pH 11,0 elektrolitinde alınan ardışık voltamogramlar (Şekil 2.3.C) incelendiğinde ise diğerlerinden farklı olduğu gözlenmiştir. Diğerlerinin aksine yaklaşık 1,0 V civarındaki anodik pik akımı artan tarama sayısı ile azaldığı ve yaklaşık -0,24 V civarındaki katodik pik akımının artan tarama sayısı ile ilk başta arttığı sonrasında ise azaldığı gözlenmiştir. Elektropolimerizasyon sonrasında ise çalışma elektrodu yüzeyinde mavi bir filmin oluştuğu gözlenmiştir. Bu sonuçlar değerlendirildiğinde AB'nin oldukça geniş bir pH aralığında elektrokimyasal olarak polimerizasyonunun olduğu bildirilmiştir.

Elektropolimerizasyona potansiyelin etkisi incelendiğinde ise, ancak 0,65 V potansiyelin üzerine çıkıldığında AB'nin polimerize olabileceği bildirilmiştir (Shan and Mu 2001).

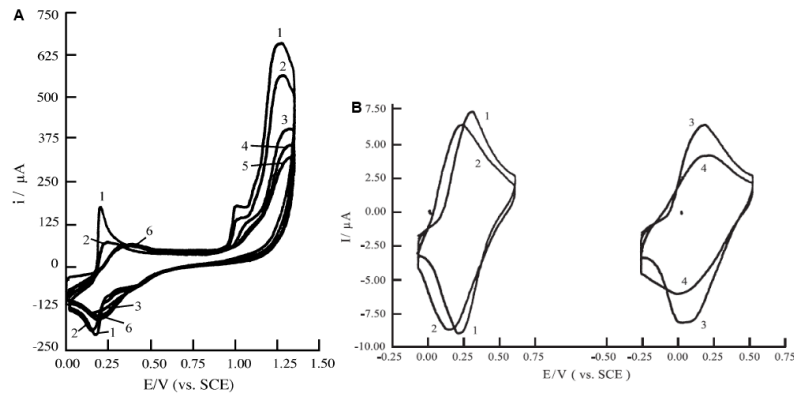


Şekil 2.3. Poli(AB) filminin elektrokimyasal büyütülmesinde pH 2,0 ortamında (1) ilk, (4) yirminci, (5) otuzuncu (A), pH 4,0 ortamında (1) ilk, (2) ikinci, (3) onuncu, (4) yirminci ve (5) otuzuncu (B) ve pH 11,0 ortamında (1) ilk, (2) ikinci, (3) onuncu, (4) yirminci ve (5) otuzuncu çevrimler için elde edilen voltamogramlar (Shan and Mu 2001)

Chen ve Gao tarafından, SCE'ye karşı 0 ile 1,4 V potansiyel aralığında CV tekniği kullanılarak platin folyo üzerine, 20°C'ye sabitlenmiş 5,0 mM AB ve 0,3 M H₂SO₄ elektroliti içeren bir hücrede AB'nin elektrokimyasal polimerizasyonu çalışılmıştır. Elde edilen mavi, poli(AB) filminin pH 4,0'ın altında, 0,5 M AB çözeltisinde, tersinir bir mekanizmayla stabil ve yüksek şarj transfer özelliğine sahip olduğu gözlenmiştir. UV spektrumları incelendiğinde poli(AB)'nin UV spektrumunun AB'ninkinden farklı olduğu görülmüştür. UV spektrumları, platin depozite edilmiş kuartz cam üzerine polimerize edilmiş AB materyalinden alınmıştır.

AB'nin polimerizasyonunun yürütüldüğü ardışık dönüşümlü voltamogramlar (A) ve polimerizasyon sonrası AB monomeri içermeyen Na₂SO₄ ile hazırlanmış farklı pH'ya sahip çözeltilerden alınmış voltamogramlar (B) Şekil 2.4'te gösterilmiştir. Şekil 2.4.A

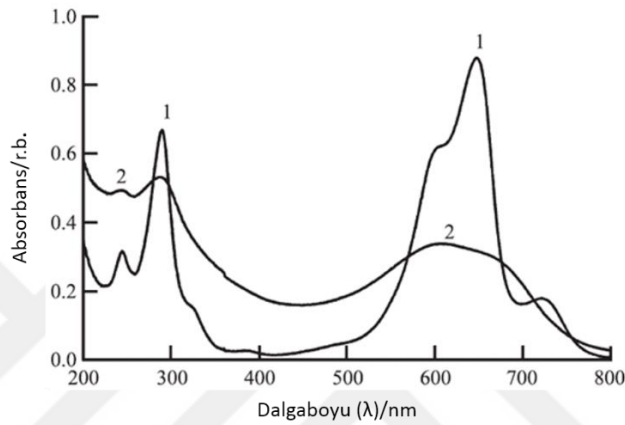
incelendiğinde ilk taramada (1) 0,2 V'de anodik ve 0,18 V'de katodik pik çiftinin yanında 0,88 V'de hızlı bir akım artışının başladığı ve 1,05 V'de bir omuz eşliğinde 1,30 V'de büyük bir anodik pikin olduğu görülmüştür. İkinci taramada (2) ise bu pik akımının oldukça azaldığı görülmüştür. Onuncu taramadan (3) sonra ise pik akımındaki azalma yavaşlamıştır. Bu durumun, düşük iletkenlikteki poli(AB)'nin zamanla oluşumundan ileri geldiği bildirilmiştir. 0,2 V civarındaki redoks pik akımları, artan tarama sayısı ile hızlı bir şekilde azalmıştır. Bu piklerin giderek kaybolmasıyla beraber artan tarama sayısı ile artan pik akımları eşliğinde, 0,15 V'de bir redüksiyon ve 0,38 V'de bir oksidasyon olarak yeni pik çifti ortaya çıkmıştır. Elektroliz sonrasında çalışma elektrodunun mavi bir filmle kaplandığı görülmüştür. Bu sonuçların, muhtemelen AB'nin güçlü asit ortamında elektrokimyasal olarak polimerizasyonundan ileri geldiği bildirilmiştir. 20 çevrim sonrası AB monomeri içermeyen 0,5 M Na₂SO₄ ile pH 1,0'a tamponlanmış çözeltiden alınan dönüşümlü voltamogram (Şekil 2.4.B.1) incelendiğinde 0,35 V'de bir anodik pik ve 0,18 V'de bir katodik pik gözlenmiştir. Poli(AB)'nin redoksunun artan proton konsantrasyonu ile ilişkili olduğuna dayandırılan ve artan pH değeriyle bu potansiyel pik çiftinin daha negatif bölgeye kaydığı görülmüştür. Diğer pH değerlerinde (2,0, 3,0 ve 4,0) pH değerinin artmasıyla çok az bir pik akımı düşüşü gözlenmiştir (Chen and Gao 2004).



Şekil 2.4. AB'nin 5,0 mM AB içeren, 0,3 M H₂SO₄ çözeltisinde elektrokimyasal polimerizasyonu esnasında 1. (1), 2. (2), 10. (3), 20. (4) ve 30. (5) çevrim voltamogramları (A) ve 20 çevrimlik bir polimerizasyon sonrası, 0,5 M Na₂SO₄ çözeltisiyle pH 1,0 (1), pH 2,0 (2), pH 3,0 (3) ve pH 4,0 (4) olarak hazırlanmış çözeltilerden alınan dönüşümlü voltamogramlar (B) (Chen and Gao 2004)

AB içeren 0,3 M H₂SO₄ çözeltisinin (1) ve Pt depozit edilmiş kuartz cam elektrot üzerine 0,9 V sabit potansiyelde oluşturulmuş poli(AB)'nin (2) UV-Vis spektrumları Şekil 2.5'te

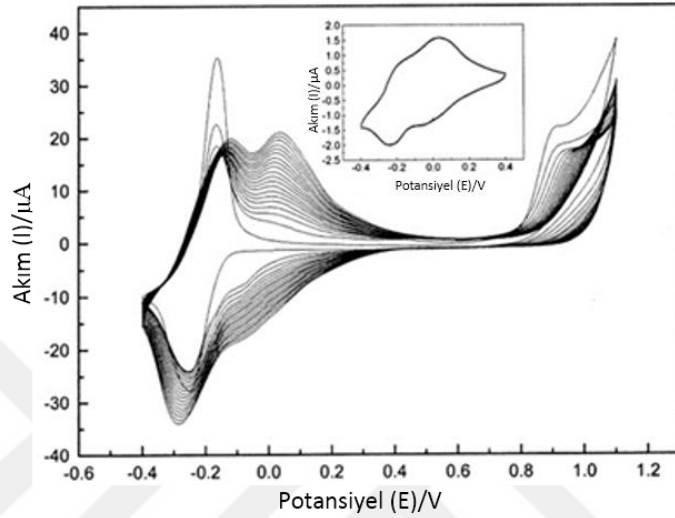
verilmiştir. AB içeren çözelti için 601,5 ve 721,0 nm’lerdeki omuz pikleri eşliğinde 244,5, 289,5 ve 647,0 nm dalgalıboylarında üç pik görülmüştür. Polimerizasyon sonrasında 289,5 nm’deki pikin azaldığı ve 605 nm’de yayvan bir pikin oluştuğı görülmüştür. Bu iki spektrumdaki farklılıkların AB’nin polimerleştikten ileri geldiğı bildirilmiştir (Chen and Gao 2004).



Şekil 2.5. AB (1) ve poli(AB)’nin (2) UV-Vis spektrumları (Chen and Gao 2004)

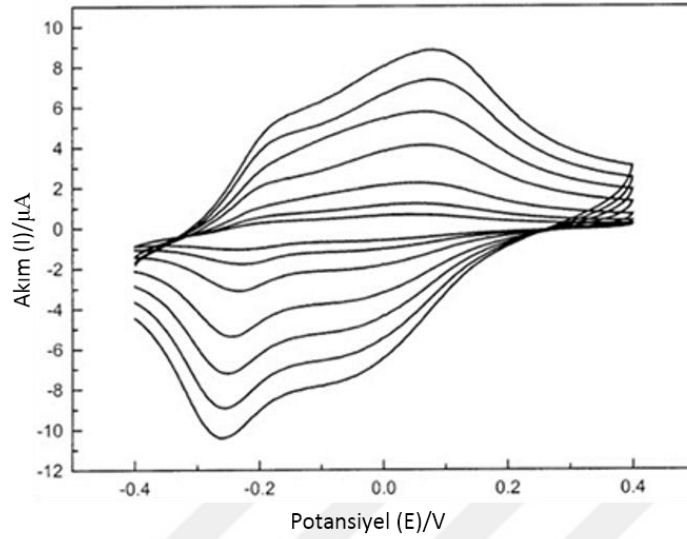
Sha ve grubu tarafından ekran baskılı karbon elektrot (SPCE) üzerine AB’nin polimerizasyonu ve akış enjeksiyon analiz (FIA; flow injection analysis) sisteminde NADH’nın belirlenmesi üzerine elektrokatalitik özelliğı incelenmiştir. 50 mVs⁻¹ tarama hızında, 0,5 mM AB monomeri içeren, pH 6,9’a tamponlanmış PBS’de, -0,4 ile 1,1 V aralığında, Ag/AgCl referans elektroduna karşı, potansiyel taramalı elektroliz ile AB’nin SPCE üzerine elektrokimyasal polimerizasyonu Şekil 2.6’da verilmiştir. Şekil incelendiğinde, 0,4 V’lik bir potansiyelden başlanarak katodik yöndeki ilk taramada -0,26 V’de katodik pik potansiyeli (E_{pc}) ve -0,4 V’den anodik yöne döndükten sonra, -0,20 V’de anodik pik potansiyeli (E_{pa}) olan iyi dönüşümlü keskin bir redoks çifti gözlenmiştir. Bu pik çiftinin SPCE üzerinde AB monomerinin sırasıyla redüksiyon ve oksidasyon pikleri olduğu belirtilmiştir. İlk taramada görülmeyen, artan tarama sayısı ile artan -0,07 V’de E_{pc} ve 0,04 V’de E_{pa} olarak yeni bir redoks piki görülmüştür. Bu durumun, elektroaktif türlerin miktarının arttığını ve polimer filmlerin SPCE üzerinde şekillendiğinden ileri geldiğı bildirilmiştir. Elektrot, işlem sonrasında hücreden çıkarılıp su ile yıkandığında ve AB içermeyen PBS’de tekrar voltamogramı alındığında ise (Şekil

2.6 iç şekil) -0,03 V'de E_{pc} ve 0,03 V'de E_{pa} olan bir çift redoks piki görülmüştür. Bu pikler arasındaki farkın yaklaşık 60 mV olması bu çözeltide poli(AB)'nin redoksunun 1 elektron reaksiyonunu gösterdiği belirtilmiştir (Sha *et al.* 2004).



Şekil 2.6. AB'nin SPCE üzerinde elektropolimerizasyonu (Sha *et al.* 2004)

Şekil 2.7'de poli(AB) ile modifiye edilmiş SPCE'nin çeşitli tarama hızlarında pH 6,9'a tamponlanmış PBS'de Ag/AgCl referansına karşı alınan voltamogramları gösterilmiştir. Hem katodik, hem de anodik pik potansiyellerinin bu tarama aralığında tarama hızından bağımsız olduğu görülmüştür ve poli(AB)'nin iyi elektrokimyasal dönüşümünün yanında hızlı şarj transfer özelliğine sahip olduğu belirtilmiştir. Pik akımları, 100 mVs^{-1} tarama hızına kadar doğrusal bir şekilde yüzey kontrollü redoks çiftinin davranışını sergilemiştir. 100 mVs^{-1} 'de bir saat boyunca ardı ardına alınan voltamogramlarda %5'den daha az bir akım düşüşü görülmüştür ve poli(AB)'nin iyi bir kararlılık ile elektrokimyasal dönüşüm gösterdiği belirtilmiştir (Sha *et al.* 2004).

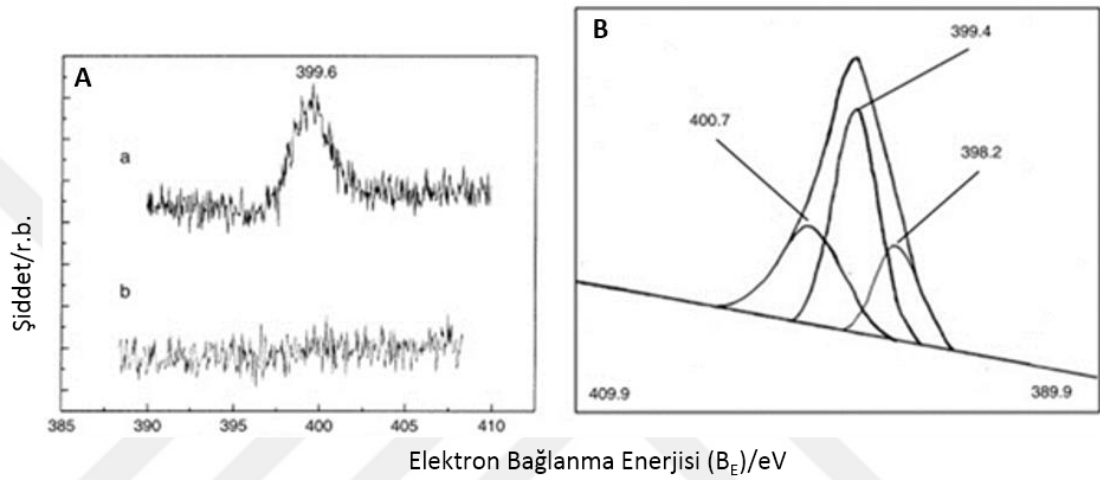


Şekil 2.7. Poli(AB) ile modifiye edilmiş SPCE'nin 5, 10, 20, 40, 60, 80, 100 mVs⁻¹ tarama hızlarında alınmış dönüşümlü voltamogramları (Sha *et al.* 2004)

Sha ve grubu tarafından ayrıca poli(AB) ile modifiye edilmiş SPCE'nin pH 6,0, 7,0 ve 8,0'a tamponlanmış PBS'lerdeki voltametrik cevapları incelenmiştir. Anodik ve katodik pik potansiyellerinin artan pH ile hafifçe negatif yönde yer değiştirdiği gözlenmiştir. Bu değişime göre, polimerin redoks prosesinin çözeltinin proton konsantrasyonu ile ilişkili olduğu belirtilmiştir. E^0 ' değerlerindeki pH 6,0'dan 7,0'a 55 mV ve pH 7,0'dan 8,0'a 32 mV negatif kaymanın, polimerin elektrot reaksiyonunda H^+ 'nın zorlaştırıcı etkisinden dolayı olduğu bildirilmiştir (Sha *et al.* 2004).

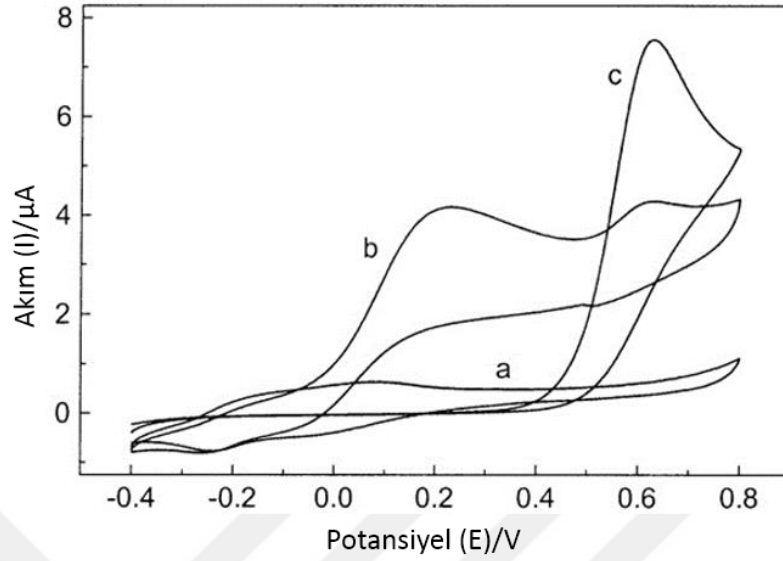
Poli(AB) ile modifiye edilmiş SPCE'nin morfolojisi 10,000 katlık büyütme ile SEM görüntüleri incelendiğinde poli(AB) ile çevrelenmiş karbon parçacığının özgül olmayan amorf yüzey özellikleri sergilediği gözlenmiştir. AB'nin N1s elektronu için yüksek rezölüsyonlu XPS spektrumu incelenmiştir. Şekil 2.8.A.a'da polimer filmi, Şekil 2.8.A.b'de ise AB içeren PBS'ye 1 saat daldırılmasıyla SPCE üzerine adsorplanmış AB molekülleri için N1s piklerinin XPS spektrumları verilmiştir. Poli(AB)'nin N1s XPS spektrumu için 3 farklı pike ayrılmış detaylı analizi ise Şekil 2.8.B'de verilmiştir. Bu pikler azot atomunun üç kimyasal durumunun da polimer filmde var olduğuna dayandırılmıştır. Bunlardan birinin üçüncül amino gruplarının azot atomlarına karşılık gelen, 400,7 eV'deki (%31) pik olduğu. 398,2 eV'deki ikinci pikin (%18,9) heterosiklik

azot atomlarına ait olduğu bildirilmiştir. 399,4 eV’de olan üçüncü pikin ise (%50,1) azot atomlarının yeni bir durumuna ait olduğu bildirilmiştir. Literatüre bakıldığında (Camalli *et al.* 1990; Kessel and Schultze 1990), azot atomunun bu türünün, AB molekülündeki bir amino azotunun diğer birindeki karbon atomu ile bağlanmasından ileri geldiği düşünülmüştür (Sha *et al.* 2004).



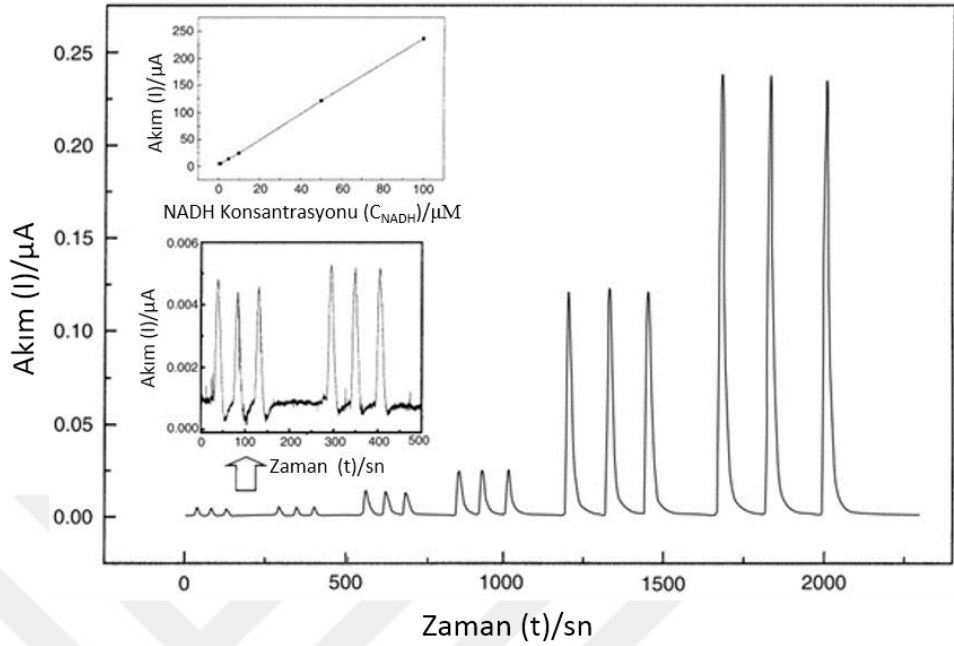
Şekil 2.8. Poli(AB) N1s için XPS spektrumu (Sha *et al.* 2004)

Poli(AB) filminin elektrokatalitik aktivitesini test etmek için CV tekniğinden faydalanılmıştır. NADH’nın varlığındaki ve yokluğundaki dönüşümlü voltamogramları Şekil 2.9’da gösterilmiştir. Poli(AB) filmin dönüşümlü redoks cevabı Ag/AgCl referans elektroduna karşı merkezi 0,06 V’de olan, -0,1 ile 0,1 V gibi oldukça geniş bir potansiyel aralığında gözlenmiştir (a). NADH’nın varlığında (b) çok daha yüksek bir oksidasyon akımı görülmüştür ve sade SPCE (c) ile kıyaslandığında yaklaşık 400 mV civarlarında anodik pik potansiyelinde negatif bir değişim gözlenmiştir. Bu sonuçlar ile poli(AB) filminin NADH’nın oksidasyonunda elektrokatalitik bir etkiye sahip olduğu belirtilmiştir (Sha *et al.* 2004).



Şekil 2.9. Poli(AB) ile modifiye edilmiş SPCE (a, b) ve direk SPCE (c) ile NADH'nın yokluğunda (a) ve varlığında (b, c) alınan dönüşümlü voltamogramları (Sha *et al.* 2004)

NADH'nın amperometrik belirlenmesinde poli(AB) ile modifiye edilmiş SPCE çalışma, paslanmaz çelik karşıt, Ag/AgCl ise referans elektrot olarak kullanılmıştır. Amperometri 0,2 M PBS elektrolitinde 0,2 V sabit potansiyelde, 0,75 mLmin⁻¹ akış hızında farklı konsantrasyonlarda NADH çözeltisi damlatılarak uygulanmıştır. Saatte yaklaşık 30 örnek boyunca örnekleme ve yıkamayı içeren 2 dakikalık uygulamalarla amperometrik oksidasyon sinyalleri kaydedilmiştir. 0,5 µM'den 100 µM'ye artan konsantrasyonlarda NADH çözeltisi için poli(AB) ile modifiye edilmiş SPCE'nin akış enjeksiyonu Şekil 2.10'da gösterilmiştir. İyi karakterize edilmiş ve sert keskin pikler Ag/AgCl'ye karşı 0,2 V'lık bir dedeksiyon potansiyelinde gözlenmiştir. Akış enjeksiyon pik akımlarının NADH konsantrasyonlarıyla orantılı olduğu görülmüştür. Modifiye edilmiş elektrot için elde edilen 0,9999 belirleme katsayısı ile kalibrasyon eğrisinde eğim 23,4 µAmL⁻¹ olarak bulunmuştur. Dedeksiyon limiti ise 2,0x10⁻⁷ M olarak belirlenmiştir. Her durumda cevabın hızlı ve tekrarlanabilir olduğu görülmüştür. İlk taramada bir kayıp olmasına rağmen akış enjeksiyonun saatlerce sürdürülmesi esnasında bile istikrarlı bir cevap sergilendiği belirtilmiştir (Sha *et al.* 2004).



Şekil 2.10. Poli(AB) ile modifiye edilmiş SPCE'nin pH; 6,9 PBS taşıyıcısında 5×10^{-7} M'den 10^{-4} M'ye artan NADH konsantrasyonlarında $0,75 \text{ mLmin}^{-1}$ akış hızıyla 0,2 V sabit potansiyelde Ag/AgCl referans elektroduna karşı akım cevabı (Sha *et al.* 2004)

Fang ve grubu tarafından, GCE üzerine düzenli gözenekli karbon (OMC) ve AB'nin elektropolimerizasyonu sonucu bir modifiye elektrot (PAB/OMC/GCE) üretilmiştir. Nanokompozit elektrodunun NADH'ya karşı güçlü elektrokatalitik etki gösterdiği belirtilmiştir. NADH'nın etkin bir şekilde modifiye elektrot üzerinde biriktiği ve pH 7,0 PBS'de, Ag/AgCl'ye karşı 0,045 V'de anodik bir akım ürettiği görülmüştür. Belirlenen şartlar altında $0,1 \text{ μM}$ gözlenebilirlik sınırı ile $3,0\text{-}1000 \text{ μM}$ 'lik bir tayin aralığı belirlenmiştir. Ayrıca diğer redoks aktif türleri olan ürik asit (UA), dopamin (DA) ve askorbik asit (AsA) elimine edilmiştir. Benzer yollarla üretilen OMC/GCE ve PAB/GCE elektrotları ile kıyaslandığında kompozit modifiye edilmiş elektrodun katalitik etki, seçicilik ve tayin aralığı bakımından daha iyi olduğu gözlenmiştir (Fang *et al.* 2010).

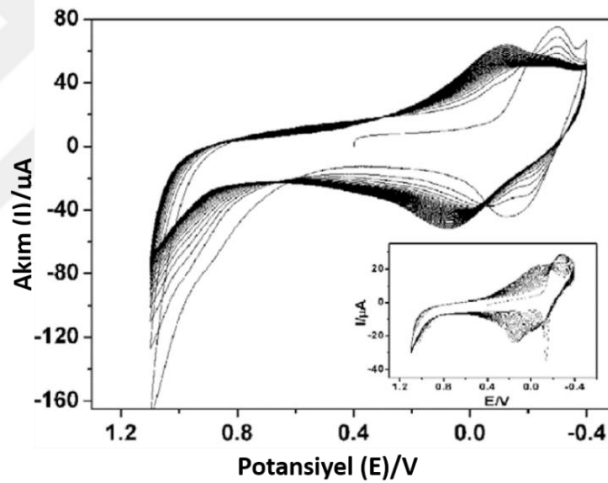
OMC'nin hazırlanması için, N,N-dimetilformamit içerisinde SBA-15 gözenekli silika şablon materyalinden 1 g, karbon kaynağı olarak sükrozdan 0,6 g alınarak seyreltik H_2SO_4 (5 g su, 0,14 g H_2SO_4) ile karıştırılıp 373 K'de 6 saat bekletilmiştir. Daha sonra üzerine 0,08 g sükroz, 0,09 g H_2SO_4 ve 5 g su eklenerek 433 K'de 6 saat, sonrasında ise N_2 akışında 1173 K'de 6 saat bekletilmiştir. 0,1 M NaOH çözeltisinde şablon materyali

uzaklaştırıldıktan sonra birkaç kez oda sıcaklığında etanolde yıkanıp 333 K'de kür uygulanmıştır. Sonuç olarak düzenli gözenekli karbon yapısı elde edilmiştir (Hou *et al.* 2008).

Modifiye elektrodun hazırlanmasından önce parlatılmış ve temizlenmiş GCE üzerine OMC çözeltisinden 5 μL ($0,5 \text{ mgmL}^{-1}$) damlatılarak havada kurutulmuştur. Daha sonra 0,5 mM AB içeren pH 7,0'a tamponlanmış 0,1 M PBS çözeltisinde 0,4 V başlangıç potansiyeliyle -0,4 ile 1,1 V arasında, 50 mVs^{-1} tarama hızında, 30 çevrim ile CV tekniği kullanılarak AB'nin elektropolimerizasyonu gerçekleştirilmiştir. Polimerizasyon sonrası saf su ile yıkanıp havada kurutularak PAB/OMC/GCE elektrodu hazırlanmıştır. Elektrokatalitik aktivitesini incelemek için NADH'yı içeren ve içermeyen PBS çözeltisi hem elektrokimyasal süreç öncesinde 10 dakika hem de elektrokimyasal süreç esnasında yüksek saflıkta N_2 gazı geçirilerek yapılmıştır. Elektrokimyasal polimerizasyon, belirli bir miktar monomer elektrot yüzeyine adsorplandıktan sonra çok yüksek potansiyellerde bir katyonik radikal yüzeyi oluştuğunda başladığı için AB'nin elektrokimyasal polimerizasyonu -0,4 ile 1,1 V potansiyelleri arasında sınırlandırılmıştır. Ardışık potansiyel taramalarla AB'nin elektropolimerizasyon sürecinin gözlemlendiği dönüşümlü voltamogramları Şekil 2.11'de verilmiştir. Voltamogramlar incelendiğinde, 0,4 V'lik başlangıç potansiyeli ile ilk taramada monomere ait -0,25 V civarında keskin bir tersinir redoks pik çifti görülmüştür. Tarama sayısı arttıkça bu piklerin akımı azalırken 0,0 V civarında ilk kez meydana gelen pik çiftinin akımı artmıştır. Bu değişimin, AB'nin elektrokimyasal olarak polimerize olduğundan ve yüzeyde şekillenmesinden dolayı olduğu düşünülmüştür. Artan tarama sayısı ile kademeli bir şekilde bu pik çifti de artmıştır. Bu sonuçlar değerlendirilerek, polimer filmin zamana bağlı olarak büyüdüğü belirtilmiştir. Sade GCE üzerindeki polimerizasyonla (iç şekil) kıyaslandığında OMC/GCE'de akımın daha fazla olduğu görülmüştür. Elektrokimyasal polimerizasyon sonrasında sadece 0,1 M PBS'de (pH 7,0) -0,4 ile 0,8 V potansiyel aralığında tarama yapıldığında ise -0,1 ile 0,1 V arasında ve -0,2 civarında iki farklı redoks çifti gözlenmiştir. Bu çiftler PAB/OMC/GCE'de PAB/GCE'nin 4 katı kadar iken OMC/GCE'de gözlenmemiştir. Bu çiftlerden daha negatif bölgedeki, PAB üzerinde AB'nin monomer-tip konjugasyon yapısından ileri gelen redoks reaksiyonu olduğu ve

pozitif bölgedeki pik çiftinin ise poli(AB)'nin redoks reaksiyonundan ileri geldiği belirtilmiştir. Bu bulgular 4 farklı sebeple açıklanmıştır;

- OMC daha büyük bir hidrofobik yüzey alanına sahip olduğu için ve AB ile güçlü etkileşim gösterdiği için daha çok AB adsorplanmıştır.
- Poli(AB) davranışıyla etkilenen PAB/OMC'nin elektronik ve iyonik taşıma kapasitesi geliştirilmiş olabilir.
- OMC ile AB arasında sinerjistik bir etki vardır.
- OMC'nin yüksek yüzey/hacim oranına sahip olan altıgen düzlemlı gözenekli düzenli nano-yapısı etkili olabilir (Fang *et al.* 2010).

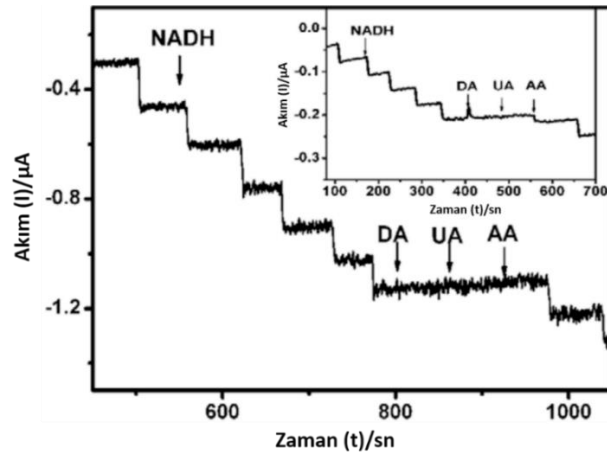


Şekil 2.11. OMC/GCE elektrodu üzerinde Ag/AgCl referansına karşı 0,5 mM AB içeren 0,1 M PBS (pH 7,0) elektrolitte AB'nin elektropolimerizasyonunun dönüşümlü voltamogramı (iç şekil sade GCE'de gözlenen dönüşümlü voltamogramı, tarama hızı = 50 mVs⁻¹) (Fang *et al.* 2010)

Anodik ve katodik pik akımları için çeşitli tarama hızlarında alınan voltamogramlar incelendiğinde, pik akımı ile tarama hızı arasında gözlenen doğrusallık ile yüzey sınırlı redoks çifti olduğu belirtilmiştir. Ek olarak 20 mVs⁻¹'de ölçülen redoks pik potansiyeller arasındaki fark (ΔE_p) AB monomeri için 56 mV, poli(AB) için 87 mV iken, bu değerler 100 mVs⁻¹'de sırasıyla 98 mV ve 125 mV'ye arttığı belirlenmiştir. Bu sonuçlar ile her iki redoks çifti için yarı pik potansiyellerinin ($E_{1/2}$) neredeyse tarama hızından bağımsız olmasına rağmen PAB/OMC/GCE'nin redoks pik potansiyellerinin tarama hızına bağlı

olduğu bildirilmiştir. PAB/OMC/GCE'nin kararlılığı 0,1 M PBS'de (pH 7,0) ardışık 100 tarama ile incelendiğinde 100. tarama sonrasında pik akımında %5'in altında bir azalma gözlenmiştir. Bir hafta PBS içinde bekletildiğinde ise, redoks aktivitesinde bir düşüş gözlenmemiştir. PAB/OMC/GCE için çeşitli pH değerlerindeki PBS'lerden alınan voltamogramlar incelendiğinde pH 7,0'ın altında monomer ve polimere ait formal potansiyellerde her bir pH için sırasıyla 69 mV ve 50 mV'lik negatif yönde değişimler, pH 7,0'ın üzerinde ise sırasıyla 33 mV ve 23 mV'lik değişimler gözlenmiştir. Bu veriler önceki çalışmalara göre açıklandığında AB'nin redoks davranışının asidik ortamda 2 elektron transferiyle, bazik ortamda ise 1 elektron transferiyle gerçekleştiği bildirilmiştir. Bu sonuçlara bakılarak poli(AB)'nin PAB/OMC kompozitinde pH değişirken kararlılık gösterdiği belirtilmiştir. OMC matriksinin poli(AB)'nin kararlılığını artırmasının yanı sıra yüzey boyutunu artırdığı da görülmüştür. Ayrıca OMC matriksinin gözenekli büyük yüzey alanı poli(AB) taneciklerinin elektropolimerizasyonu için gelişmiş bir yükleme kapasitesi sağladığı bildirilmiştir (Fang *et al.* 2010).

NADH'nın amperometrik belirlenmesi için en yüksek elektrokatalitik aktivite sergileyen PAB/OMC/GCE elektrodu ile 0,045 V sabit potansiyelde yapılan çalışmalarda, biyolojik örneklerde tipik olarak bulunan AsA ilavesinde NADH'ya göre %30'un altında çok az bir akım değişimiyle girişim gözlenirken UA ve DA ilavesinde herhangi bir girişim gözlenmemiştir (Şekil 2.12 iç şekil). PAB/OMC filmi etkilemeyen %0,5'lik nafyon çözeltisinden yüzeye 6 µL damlattıktan sonra yapılan çalışmada ise AsA ile olan girişimin önlenmediği görülmüştür (Şekil 2.12). Sonuç olarak AsA, DA ve UA ile girişim olmaksızın dikkat çekici bir seçicilikle düşük potansiyelde NADH'nın belirlenmesinde elektrot materyali geliştirilmiş olsa da, NADH için elektrokimyasal dedektör olarak PAB/OMC/GCE'nin kullanımı öncesinde AsA'nın ön oksidasyonu veya ön ayırma işlemi gerektiği bildirilmiştir (Fang *et al.* 2010).



Şekil 2.12. %0,5 nafyon ile yüzey kaplandıktan sonra ve nafyon kaplaması olmaksızın (iç şekil) PAB/OMC/GCE elektrodunun 0,1 M PBS’de (pH 7,0) 0,02 mM UA, DA, AsA ve NADH ilavelerinde verdiği amperometrik cevaplar (Fang *et al.* 2010)

Paul ve grubu tarafından MB, yeni metilen mavisi (NMB), AA ve AB’yi içeren fenotiyazin türevi boyar maddelerin taşıyıcı ribonükleik asit (tRNA) ile etkileşimi spektroskopik, termodinamik, moleküler model yaklaşımı yanında voltametrik olarak da araştırılmıştır. Voltametrik çalışmalarda referans olarak Ag/AgCl, karşıt olarak Pt folyo ve çalışma elektrodu olarak GCE’ler kullanılmıştır. Elektrolitteki serbest oksijeni gidermek için N_2 gazı geçirilmiştir. tRNA ile elektroaktif boyar maddeler arasındaki etkileşimin incelenmesinde pik potansiyelleri ve pik akımlarındaki değişimin bağlanma enerjisi (E_B) ile ilişkili olduğu belirtilmiş ve iyi belirlenmiş redoks pikleri kullanılarak farklı tarama hızlarında dönüşümlü voltamogramları incelenmiştir. tRNA’nın olmadığı çözeltilerde alınan voltamogramlarla tRNA’nın varlığında alınan voltamogramlar incelendiğinde, tarama hızının $0,02 \text{ Vs}^{-1}$ ’den $0,1 \text{ Vs}^{-1}$ ’e artışıyla boyar maddelere ait anodik pik potansiyellerinde çok az bir azalma, katodik pik potansiyellerinde ise daha fazla bir negatif azalma gözlenmiştir. Boyar maddelerin artan tarama hızıyla elektrodun tersinir prosesten sapmasından dolayı ΔE_p değerlerinde artış gözlenmiştir. Tarama hızı kareköküne karşı katodik pik akımlarının grafiği çizildiğinde, oldukça düz bir lineerlik görülmüştür. Bu doğrusal davranış, elektrot yüzeyinde bir adsorpsiyonun olmadığı, yüzey kontrollü bir redoks sistemi ve difüzyon kontrolü bir redoks prosesi olduğu belirtilmiştir. tRNA’nın elektrokimyasal olarak inaktif bir potansiyel aralığında tRNA’nın varlığında ve yokluğunda yapılan dönüşümlü voltametride ise boyar maddelerin akımlarında ve potansiyellerinde dikkat çekici bir oranda değişimler gözlenmiştir. Pik akımlarındaki bu

önemli azalış, boyar maddeler ile tRNA arasındaki güçlü etkileşimden ileri geldiği belirtilmiştir. Büyük yapısından dolayı elektron mobilitesi az olduğundan dolayı NMB dışında MB ve AB için tRNA varlığında anodik pik potansiyellerine nazaran katodik pik potansiyellerindeki daha fazla azalış, okside olmuş türlerin tRNA ile daha güçlü bağlandığı için boyar maddelerin daha kolay okside olduğuna dayandırılmıştır. AA'da ise pik potansiyel oranları hemen hemen aynı kaldığı gözlenmiştir (Paul *et al.* 2017).

Kong ve grubu hidrokinonun (HQ) redüksiyon ve oksidasyonu üzerine elektron transfer arabulucusu olarak GCE üzerindeki poli(AB)'nin katalitik etkisini ve optimum koşullarda HQ'nün belirlenmesini incelemiştir. Sade GCE ile kıyaslandığında, poli(AB) ile modifiye edilmiş GCE'nin dikkate değer bir oranda HQ'nün oksidasyon pik potansiyelinde azalma ve pik akımında artışın olduğu gözlenmiştir. HQ'nün belirlenmesinde gözlenebilme sınırı olarak 4,8 μM , tayin aralığı olarak 8-4000 μM değerleri belirlenmiştir. GCE üzerine AB'nin polimerizasyonu 3,0 mM AB içeren, 0,5 M H_2SO_4 elektrolitinde Pt telin karşıt elektrot olarak kullanıldığı, 0 ile 1,6 V arasında, 50 mVs^{-1} tarama hızında SCE'ye karşı 20 çevrim ile gerçekleştirilmiştir. Polimerin oluşumundan sonra GCE üzerinde koyu mavi bir film gözlenmiştir (Kong *et al.* 2014).

Huang ve grubu GCE'yi elektrokimyasal yöntem ile poli(AB)/Cu nanokompozit filmi modifiye ederek poli(AB)/Cu/GCE elektrodunu hazırlayarak glikozun elektrokimyasal davranışını incelemiştir. Potansiyelin, Cu içerik miktarının ve NaOH konsantrasyonunun etkisi araştırılmıştır. Modifiye edilmiş elektrottaki Cu nanopartiküllerinin varlığı glikozun elektroaktivitesini artırdığı bildirilmiştir. Glikoz konsantrasyonu ile poli(AB)/Cu/GCE elektrodunun akım cevabı arasında, Cu nanopartikülleri katkılanmaksızın üretilen poli(AB)/GCE elektrodundan daha hassas olarak 5 μM gözlenebilme sınırı ile 10 μM -10 mM tayin aralığı belirlenmiştir (Huang Yugai *et al.* 2006).

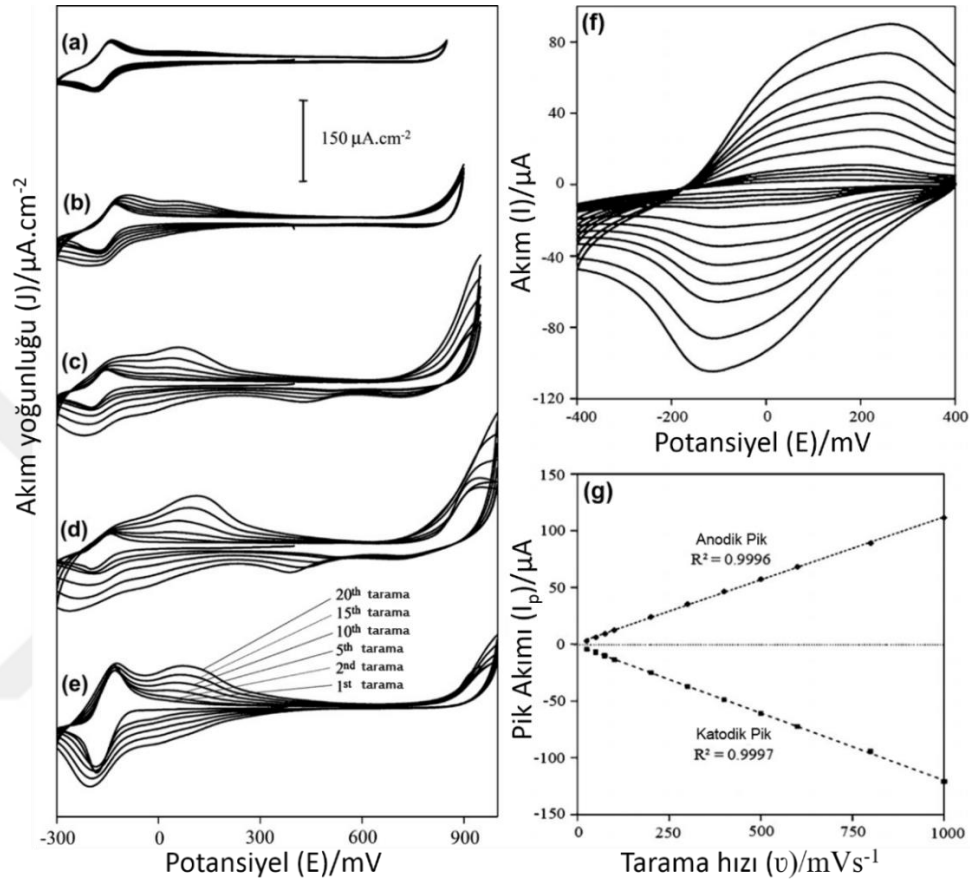
Kalyoncu ve Alanyalıoğlu tarafından CV ve CPE teknikleri kullanılarak AA'nın elektropolimerizasyonu başarılmış ve oluşturulan poli(AA) ince filmlerinin çekirdekleşme ve çekirdek büyüme mekanizmaları incelenmiştir. Çekirdekleşme ve

büyüme mekanizmaları için potansiyostatik akım yoğunluğu-zaman (j-t) eğrileri kullanılarak STM ve atomik kuvvet mikroskobu (AFM) verileri desteği ile teorik çekirdekleşme modeli açıklanmıştır. Potansiyostatik j-t eğrileri ve morfoloji verileri, poli(AA) filmin çekirdekleşme ve büyüme mekanizmalarının, rasgele adsorpsiyon ve ardışık iki anlık 3-D mekanizması izlemesiyle iki farklı yapıda olduğu belirtilmiştir (Kalyoncu and Alanyalioglu 2011).

CV tekniği kullanılarak AA'nın polikristal Au elektrot (a-d) ve ITO elektrot (e) üzerine 0,1 mM AA içeren 0,1 M PBS (pH 6,2) elektrolitinde 30°C sabit sıcaklıkta oluşturulan elektropolimerizasyonuna ait voltamogramlar, polimerizasyon sonrası AA içermeyen PBS'de farklı tarama hızlarında alınmış voltamogramlar (f) ve bu voltamogramlardan elde edilen pik akımı-tarama hızı grafiği (g) Şekil 2.13'te verilmiştir. Başlangıç potansiyeli +400 mV olarak elektropolimerizasyon, -300 mV ile farklı pozitif üst potansiyeller arasında ardışık taramalarla gerçekleştirilmiştir. Şekil incelendiğinde Au çalışma elektrodunun potansiyeli ilk negatif yönde tarandığında -185 mV'de, pozitif yönde tarandığında ise -150 mV'de bir redoks pik çifti gözlenmiştir. Bu pik çiftinin elektrolitte bulunan AA monomer türlerinin sırasıyla redüksiyon ve oksidasyon pikleri olduğu bildirilmiştir. Elektrot potansiyeli daha pozitif bölgelere doğru tarandığında yaklaşık +750 mV'den itibaren AA'nın okside olduğunu gösteren ve yaklaşık +50 mV civarında ve tarama sayısı ile orantılı olarak artan yeni bir anodik pik akımı ortaya çıktığı görülmüştür. Uygulama potansiyelinin polimerizasyona olan etkisini belirlemek için +850 mV'den 1000 mV potansiyeline doğru üst sınır artırıldıkça poli(AA)'ya ait pik akımlarında artışın olduğu gözlenmiştir.

Polimerizasyon sonrası poli(AA)/Au elektrodu ile farklı tarama hızlarında alınan voltamogramlar incelendiğinde tüm tarama hızlarında bulunan iki redoks pik çifti gözlenmiştir. Bunlardan daha negatif bölgede olan elektropolimerizasyon esnasında polimer yüzeyinde adsorplanan AA'nın monomer-tip, daha pozitif bölgede olan ise polimer-tip redoks reaksiyonlarından ileri geldiği bildirilmiştir. Bu pik çiftlerinden elde edilen pik akımı-tarama hızı grafiği incelendiğinde ise yaklaşık -100 mV'deki katodik pikin ve yaklaşık +250 mV'deki anodik pikin tarama hızıyla orantılı olduğu görülmüştür.

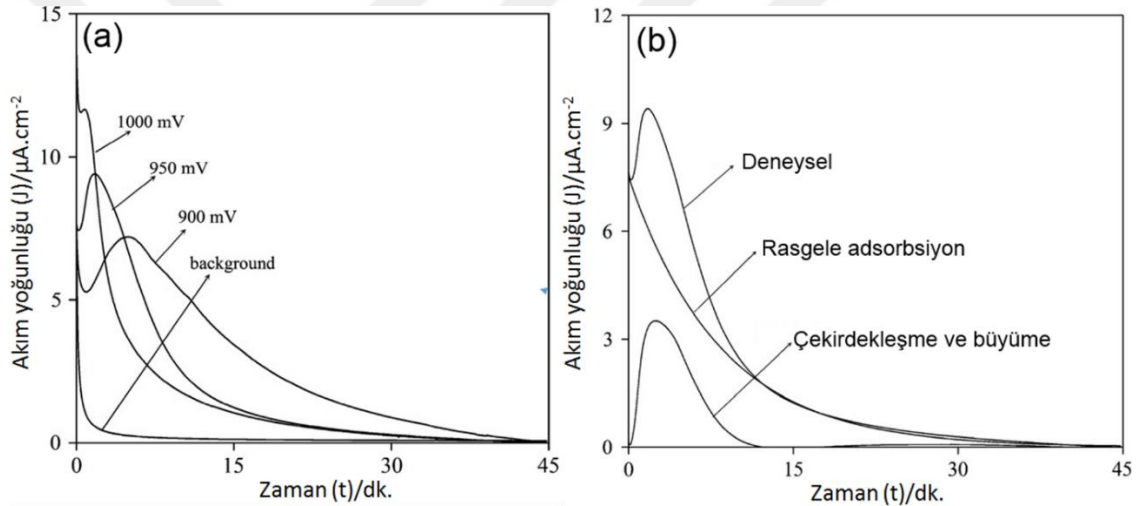
Bu sonuca dayanarak AA'nın elektropolimerizasyonunun adsorpsiyon kontrollü yüzey prosesi olduğu bildirilmiştir (Kalyoncu and Alanyalioglu 2011).



Şekil 2.13. 30°C sabit sıcaklıkta, 50 mVs^{-1} tarama hızında, 0,1 mM AA içeren 0,1 M PBS (pH 6,2) elektrolitinde polikristal Au (a-d) ve ITO (e) elektrot yüzeylerinde AA'nın elektropolimerizasyon voltamogramları ve poli(AA)/Au elektrodu ile 0,1 M PBS (pH 6,2) elektrolitinde farklı tarama hızlarında alınmış voltamogramlardan (f) elde edilen pik akımı-tarama hızı grafiği (Kalyoncu and Alanyalioglu 2011)

0,1 mM AA içeren ve doğrudan 0,1 M PBS (pH 6,2) çözeltilerinde 900, 950 ve 1 000 mV'lık sabit oksidasyon potansiyel değerlerinde AA'nın elektropolimerizasyonu ile potansiyostatik j-t eğrileri Şekil 2.14.a'da gösterilmiştir. Oksidasyon potansiyeli 900 mV'den 1000 mV'ye artırıldıkça pikin maksimumu 4,5 dakika ile 12 saniye arasında azalarak değiştiği görülmüştür ve bunun da poli(AA) zincirlerinin elektrot üzerinde çekirdekleşme ve büyümenin başlayabilmesi için uzun bir zaman dilimine ihtiyaç duyulduğuna işaret ettiği belirtilmiştir. Poli(AA) filmin istenilen miktarda oluşturulması

için kısa elektroliz süresinde daha yüksek potansiyel, uzun elektroliz süresinde ise daha düşük potansiyel uygulanması gerektiği belirtilmiştir. Tüm eğrilerde akım yoğunluğu maksimum bir değerden başlayarak üstel bir azalışla ilerlemiştir. Bu davranış boş altın substrat üzerinde poli(AA)'nın rasgele adsorpsiyon sergilediğine atfedilmiştir. Belli bir miktar üstel düşüş sonrasında poli(AA)'nın çekirdekleşme ve büyümesi neticesinde akım yoğunluğunun tekrar arttığı ve daha sonrasında polimer filmin birikmesiyle beraber yavaş yavaş azaldığı gözlenmiştir. Bu veriler ile poli(AB)'nin oluşumu yüzeyde rasgele adsorpsiyon ile polimerin çekirdekleşmesi ve büyümesi ile ilerlediği belirtilmiştir (Şekil 2.14.b).



Şekil 2.14. 0,1 mM AA içeren 0,1 M PBS elektrolitinde polikristal Au elektrot üzerinde AA'nın elektropolimerizasyonunda farklı sabit potansiyeller ile zaman verisi çıkarıldıktan sonra elde edilen potansiyostatik j - t eğrileri (a) ve 950 mV sabit potansiyeldeki deneysel j - t eğrileri (b) (Kalyoncu and Alanyalioglu 2011)

Sonuç olarak, poli(AA) filmin oluşumu sürecinde depozisyonun ilk aşamalarında rasgele adsorbe olduğu, sonrasında ise zamanla ardışık iki ani çekirdekleşme mekanizmasının çekirdekleşme ve büyümesiyle bir poli(AA) film oluştuğu tahmin edilmiştir (Kalyoncu and Alanyalioglu 2011).

Song ve grubu tarafından pH 6,68'e tamponlanmış 0,1 M potasyum nitrat (KNO_3) elektrolitinde, 20 mVs^{-1} 'lik tarama hızıyla 1,9 V'de her bir çevrimde 6 saniye

bekleyerek -0,5 V ile 1,9 V potansiyelleri arasında 10 çevrimlik dönüşümlü voltametri yöntemiyle grafitin (GF) kısmi pul pul dökülmesi sonucu yapılar (Ex-GF) elde edilmiştir. Ex-GF'nin çalışma elektrodu olduğu, elektrolit olarak 0,05 M 2-naftalinsülfonat (NMS) veya 1,5-naftalindisülfonat (NDS) içeren 0,2 M pirol çözeltisinde, 50 mVs⁻¹ tarama hızında 0,0 ile 0,8 V aralığında 10 çevrimlik bir elektrokimyasal süreç sonrasında çeşitli elektrotlar üretmişlerdir. Ex-GF üzerine tek bir adımda hem pirolün polimerizasyonu (PPy) hem de NDS'nin katkılanmasıyla oluşturulan Ex-GF/PPy-NDS modifiye elektrodun 1 A.g⁻¹ akım yoğunluğu ve 351 F.g⁻¹ spesifik kapasitans (C_s) değerleri ile 0,8 ile 0,5 V potansiyel penceresinde mükemmel bir sözde kapasitans sergilediği belirtilmiştir (Song *et al.* 2014).

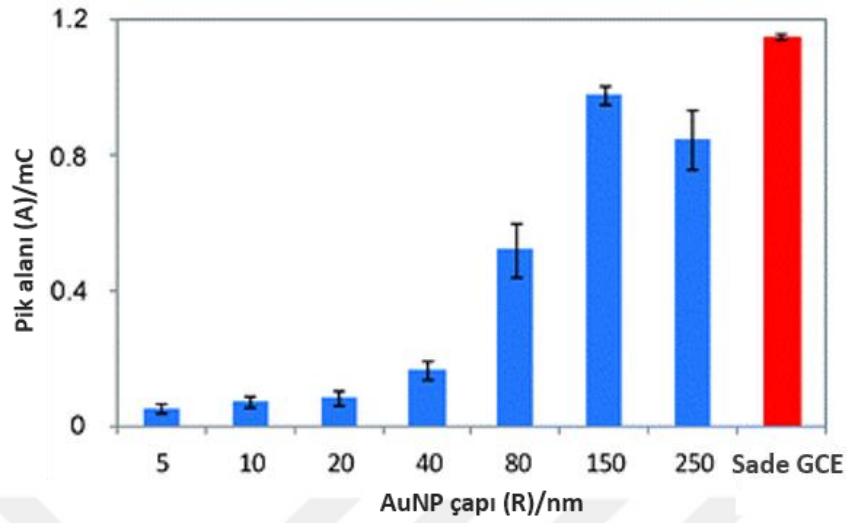
H₂O₂, NADH, NO₂, glikoz gibi birçok biyolojik maddeyi belirlemek için titrimetri, floresans, spektrofotometri, kolorimetri, kromatografi, florometri ve kemilüminesans gibi çeşitli tekniklerin yanı sıra özellikle son yıllarda geliştirilen elektrokimyasal teknikler de kullanılmaktadır. Elektrokimyasal sensörlerin diğerlerine göre birçok özelliğinin yanında daha az maliyet ve zaman aldığı bilinmektedir (Zhang *et al.* 2013). Saf elektrot yüzeyinde NADH'nin oksidasyonu aşırı potansiyellerde gerçekleşmektedir. NADH'nin elektrooksidasyon oranını artırabilen, potansiyeli düşürüp oksidasyon kinetiğini hızlandıran etkili yollardan biri modifiye edilmiş elektrotlardır. NADH'nin oksidasyonu için çeşitli modifiye edilmiş elektrotların hazırlamasında elektrokimyasal yöntemler sıklıkla kullanılmaktadır (Sha *et al.* 2004).

Gr'nin sp² hibrit karbonlarının 2D yapıda olmasından dolayı yüksek iletkenlik ve mükemmel mekanik özellik yanında büyük spesifik yüzey alanı ve mükemmel gözenekli yapı sergilemektedir. Dezavantaj olarak tek başına düşük spesifik kapasite göstermektedir. Gr kompozit materyaller genellikle Gr süspansiyonunda in-situ olarak sentezlenir (Song *et al.* 2014). Karbon temelli materyallerden özellikle GO, çok sayıda elektrokimyasal çalışmalarda ve uygulamalarda çok ilgi çekici bir materyal olarak gösterilir. Gr veya üzerindeki çeşitli oksijen içeren fonksiyonel gruplar ile GO yüzeyi, hem yüzeyin fonksiyonlaştırılmasında, hem de direkt olarak elektrokimyasal indirgenme

sayesinde bu grupların miktarlarının belirlenmesi için kullanılabilir (Bonanni and Pumera 2012).

Karbon temelli materyaller kullanılarak, et türlerinde domuz etinin teşhisi (Roy *et al.* 2016), ağır metal iyonları ve boyar maddelerin etkili bir şekilde sudan temizlenmesi (Hu *et al.* 2016), kandaki glikoz tayini (He *et al.* 2016), nitrit tayini (Dagci and Alanyalioglu 2016) ve oranj II maddesinin tayini (Yun *et al.* 2015) gibi birçok değişik maddenin yanı sıra NADH'nin elektrokimyasal belirlenmesi amacıyla çeşitli materyallerin katkılanmasıyla farklı özelliklere sahip elektrotlar geliştirilmiştir. Aşağıda bu tür geliştirilmiş elektrotların hazırlanması, karakterizasyonu ve performansları hakkında bazı literatür örnekleri verilmiştir.

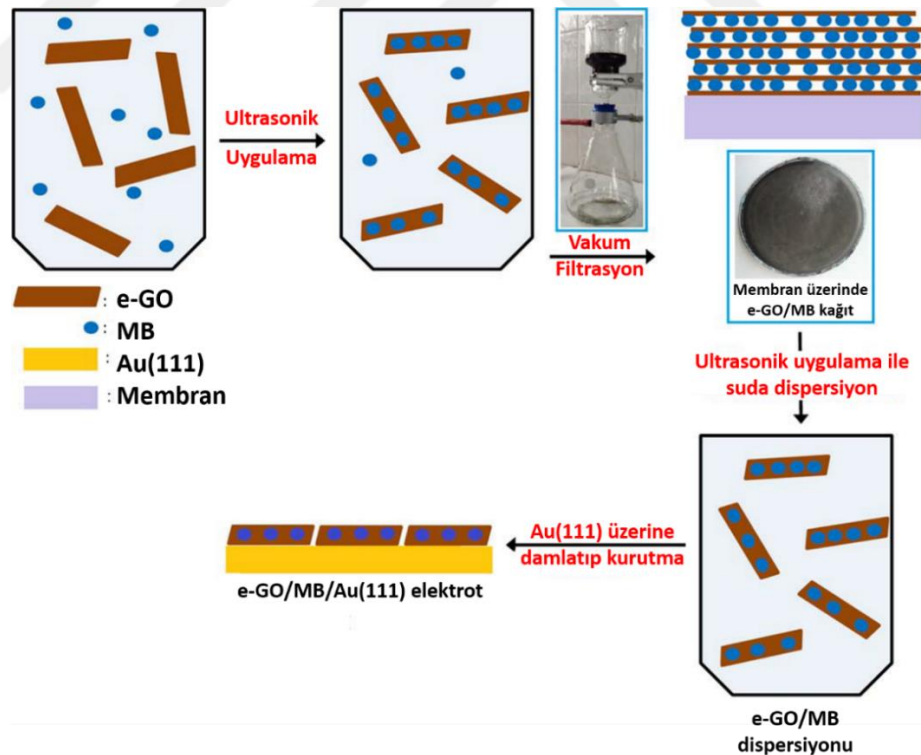
Bonanni ve Pumera tarafından altın, platin ve karbon elektrot yüzeylerinde GO'nun elektrokimyasal indirgenmesi incelenmiştir. Çalışmalarda, altın nanopartikülleri (AuNPs) kullanılıp camsı karbon yüzeyi modifiye edilerek AuNPs'nin karakteristik indirgenme piklerinin maskelendiği görülmüştür. Çeşitli elektrotlar üzerinde GO nanoplakaların (GONPs) indirgenmesi XPS ile karakterize edilmiştir. Elektrot modifikasyonu için 5 ile 250 nm arasında farklı çaplara sahip, 1 μ L AuNPs dispersiyonunun bir GCE yüzeyine damlatıp oda sıcaklığında kurutulduktan sonra üzerine 1 mg/mg GONPs-su süspansiyonundan 1 μ L damlatılarak aynı şekilde modifiye elektrotlar hazırlanmıştır. Bu sayede AuNPs çapı bakımından GONP indirgenme pikleri üzerine etkisi incelenmiştir. 5-250 nm arasında AuNPs ile modifiye edilmiş GCE için GONP indirgenme pik alanlarının değişimi Şekil 2.15'te verilmiştir. Şekilde daha düşük pik alanı bölgeleri incelendiğinde, daha küçük çaplı AuNPs ile daha güçlü maskeleme yapıldığı bildirilmiştir. Kütlesel olarak aynı miktarda Au içeren dispersiyonlar kıyaslandığında daha büyük çaplı AuNPs içeren dispersiyonda daha az AuNPs olduğu ve daha küçük çapta ve daha çok sayıda AuNPs'nin daha büyük AuNPs'ye kıyasla GCE yüzeyleri üzerinde daha etkili bir kapsama etkisi ürettiği bildirilmiştir (Bonanni and Pumera 2012).



Şekil 2.15. Farklı çaplı AuNPs modifiye edilmiş GCE yüzeylerinde elde edilen GONP indirgenme pik alanlarını temsil eden histogramlar (Bonanni and Pumera 2012)

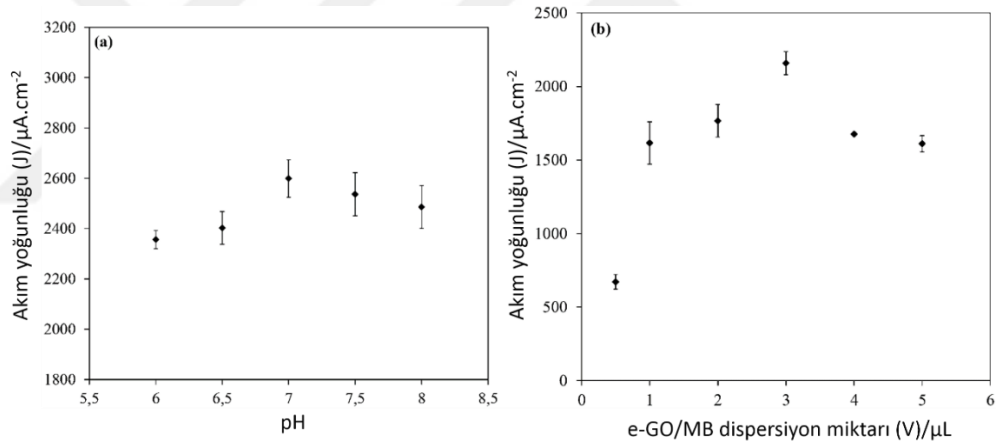
Heli ve grubu tarafından yapılan bir çalışmada, modifiye Hummers metodu ile sentezlenen GO'nun 2 saat sonikasyon ile dispersiyonu sağlandıktan sonra 3 mgmL^{-1} aseton çözeltisi hazırlanmıştır. Bu çözeltinin $10 \mu\text{L}$ 'si $0,071 \text{ cm}^2$ yüzey alanına sahip GCE üzerine damlatıp oda sıcaklığında kurutulduktan sonra potasyum ferrosiyanür ($\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]$) çözeltisinde gerçek yüzey alanı hesaplandığında 2,6 kat daha büyük bir alan olduğu görülmüştür. GO ile modifiye edilmiş elektrot ile şizofreni gibi çeşitli psikiyatrik hastalıkların tedavisinde kullanılan perfenazin ilacının elektrokimyasal tayini araştırılmıştır. Amperometri ve diferansiyel puls voltametri (DPV) teknikleri kullanarak ilaç tableti, kan, idrar ve göğüs sütü gerçek numunelerindeki davranışı incelenmiştir. Numuneler, ilacı kullanmayan bireylerden alınan örnekler ile PBS'de çözündürülerek hazırlanıp $+4^\circ\text{C}$ 'de saklanan perfenazin çözeltisi, farklı oranlarda karıştırılarak istenilen konsantrasyon ayarlaması, NaOH ve HCl ile de pH ayarlaması yapılarak hazırlanmıştır. Perfenazinin 8 mM konsantrasyonundaki varlığında ve yokluğunda PBS çözeltilerinden alınan sadece GCE ve GO ile modifiye edilen GCE için voltamogramlar alınmıştır. Perfenazinin varlığında akım yoğunluk pikleri sırasıyla 670 ve 640 mV potansiyellerinde görülmüştür. Bunun yanında anodik pik akım yoğunluklarında pek bir değişim gözlenmemiştir (Heli *et al.* 2015).

Erçarıkçı ve grubu tarafından SDS'nin katkılanması ve SDS katkılı grafitin pul pul dökülmesini içeren elektrokimyasal olarak iki aşama ile üretilmiş e-GO ve MB'nin kompoziti kullanılarak modifiye Au(111) elektrodu hazırlanmış ve bu elektrot ile NADH'nın amperometrik dedeksiyonu çalışılmıştır. Modifiye elektrodun üretimi şematik olarak Şekil 2.16'da verilmiştir. MB ile kompozitinin hazırlanması için önce süspansiyondan SDS uzaklaştırılmıştır. SDS'den arındırılmış e-GO süspansiyonuna belirli bir miktar MB çözeltisi ilave edildikten sonra e-GO/MB'nin dispersiyonunu sağlamak için sonikasyon işlemi uygulanmıştır. Vakum filtrasyondan geçirildikten sonra saf suda kompozit dispersiyonu sağlanarak Au(111) yüzeyine belirli bir miktar damlatıp kurutma ile e-GO/MB/Au(111) modifiye edilmiş elektrotları hazırlanmıştır. Optimum şartlarda e-GO/MB/Au(111) elektrodunun NADH'nın amperometrik belirlemesinde $0,3 \mu\text{M}$ gözlenebilme sınırı, $1,0\text{-}264 \mu\text{M}$ tayin aralığı ve $0,316 \mu\text{A}\mu\text{M}^{-1}\text{cm}^{-2}$ duyarlılık belirlenmiştir (Erçarıkçı *et al.* 2017).



Şekil 2.16. e-GO/MB kompoziti ile modifiye edilmiş Au(111) elektrodunun hazırlama prosedürüne ait şematik gösterim (Erçarıkçı *et al.* 2017)

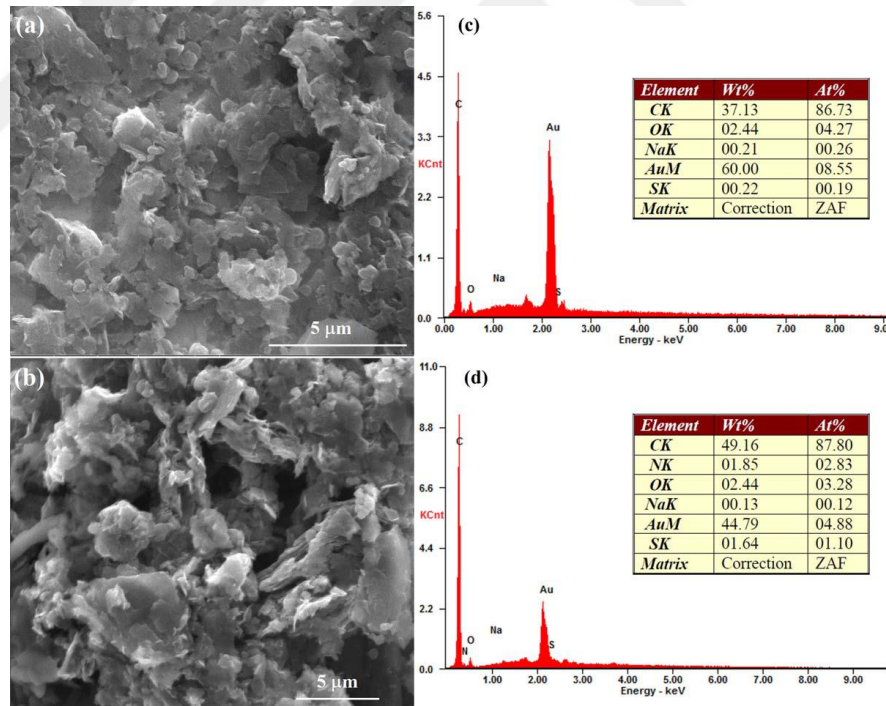
Kompozitin hazırlanması için e-GO süspansiyonu ile MB çözeltisi karıştırılıp 1 saat sonikasyon uygulandıktan sonra etkileşime girmeyen MB'lerden arındırmak için vakum filtrasyon tekniği kullanılmıştır. Filtrasyon sonrası membran üzerinde şekillenen e-GO/MB kompozitin ultrasonik etki ile suda dispersiyonu sağlanmıştır. e-GO/MB kompozit dispersiyonundan bilinen miktarda Au(111) yüzeyine damlatıp oda sıcaklığında kurutularak e-GO/MB/Au(111) modifiye elektrotları hazırlanmıştır. Çeşitli pH değerlerine tamponlanmış 0,1 M PBS elektrolitleri (a) ve farklı kompozit miktarı damlatılarak hazırlanmış (b) e-GO/MB/Au(111) elektrotlarının NADH'nin varlığında akım yoğunluğu grafikleri Şekil 2.17'de verilmiştir. CV tekniği ile elde edilen en yüksek akım yoğunluğu ile en iyi performansın 3 μ L kompozit hacmiyle hazırlanan modifiye elektrodun pH 7,0 elektrolit ortamında gözlemlendiği belirlenmiştir (Erçarıkçı *et al.* 2017).



Şekil 2.17. NADH'nin elektrooksidasyonu için çeşitli pH değerlerinde (a) ve farklı miktarlarda e-GO/MB kompoziti damlatılarak (b) hazırlanan e-GO/MB/Au(111) çalışma elektrodunun sergilediği pik akım yoğunlukları (Erçarıkçı *et al.* 2017)

Au(111) yüzeyine damlatıp kurutma ile hazırlanan e-GO dispersiyonuna (a, c) ve e-GO/MB kompozitine (b, d) ait sırasıyla SEM görüntüleri ve elektron dağılım spektroskopisi (EDS) verileri Şekil 2.18'de gösterilmiştir. 0,5 ile 5 μ m boyutları arasında Gr benzeri pulların olduğu görülmüştür. e-GO tabakaları düzenli bir yönlendirme ile neredeyse pürüzsüz bir yüzeyin ortaya çıktığı bildirilmiştir (a). MB'nin katkılanmasından sonra ise (b) e-GO parçalarıyla etkileştiğinden dolayı yüzey topografisi daha yumuşak bir görünüm ile tamamıyla değiştiği bildirilmiştir. MB moleküllerinin e-GO tabakalarına

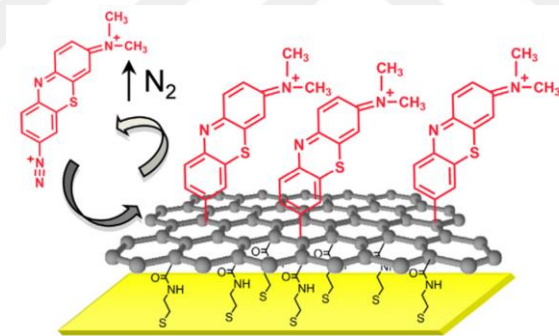
adsorbe olması e-GO'nunkinden farklı olarak e-GO tabakalarının dikey hizalanmasına sebep olduğu ve bu dikey yönlenmenin pozitif yüklü MB moleküllerinin adsorpsiyon sonrası tabakalar arasında itme kuvvetinden ileri geldiği bildirilmiştir. e-GO/MB kompozit ince filmlerin daha pürüzlü yüzeyinin, NADH'nın amperometrik belirlenmesi için uygun bir platform olan daha fazla elektroaktif yüzey alanı sağladığı düşünülmüştür. EDS verileri incelendiğinde ise her iki veride de Au(111) substratından kaynaklanan Au atomuna ait pikler görülmüştür. Spektrumda az da olsa Na ve S atomlarına ait piklerin e-GO üretiminde kullanılan SDS'den kaynaklı olduğu bildirilmiştir. e-GO/Au(111) ve e-GO/MB/Au(111) örnekleri kıyaslandığında MB'nin katkılanmasından sonra S atom pikinde artma ve N atomuna ait bir pikin belirdiği görülmüştür. Bu sonuç, MB'nin fenotiyazin halkasında bulunan S ve N atomlarından ileri geldiği bildirilmiştir (Erçarıkçı *et al.* 2017).



Şekil 2.18. Au(111) üzerinde e-GO (a, c) ve e-GO/MB (b, d) kompozitlerine ait sırasıyla SEM görüntüleri ve EDS verileri (Erçarıkçı *et al.* 2017)

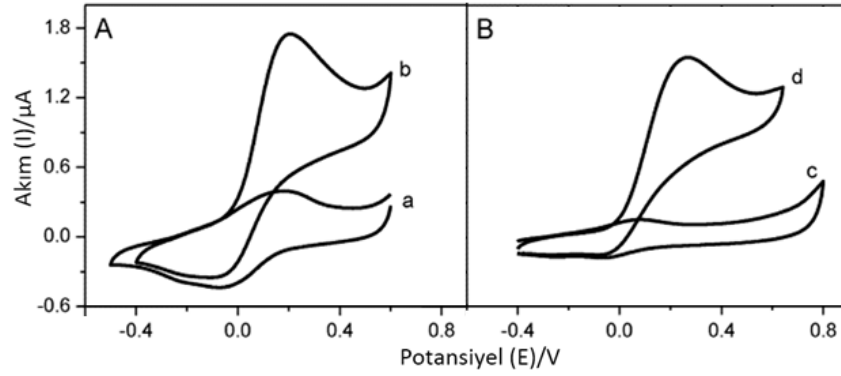
Gómez-Anquela ve grubu, SPCE yüzeyini AA'nın diazonyumu ile (Revenga-Parra *et al.* 2012) ve daha sonra Au substratı yüzeyini sistamin, Gr ve AA kullanarak modifiye edip

NADH'nın oksidasyonundaki elektrokatalitik etkisini incelemiştir. Bunun için önce 2 mm çapında bir yüzeye sahip polikristal Au elektrot, cilalanıp bir dizi temizleme prosedürü sonrası aktive edilmiş ve modifiye edilmeye hazır hale getirilmiştir. Yüzeyin modifikasyonu için elektrot 1 mM sistamin etanol çözeltisi içinde 24 saat bekletildikten sonra etanol ve su ile yıkanmıştır. Daha sonra 1 mM 1-etil-3-(3-Dimetillaminopropil) karbodiimmit (EDC), 1 mM N-Hidroksisuksinimit (NHS) ve 0,10 mgmL⁻¹ GO içeren çözeltide, nemli bir odada 3 saat tutularak modifiye edilmiştir. Son olarak Saf su ile yıkandıktan sonra 10 mM AA içeren soğutulmuş 6 mL HCl (0,2 M) ve NaNO₂ (10 mM) elektrolitin içine daldırılarak +0,5 ile -0,25 V potansiyelleri arasında CV tekniği kullanılarak diazotizasyon ile AA'nın elektrokimyasal aşılması sağlanmıştır. Nihai modifiye edilmiş elektrot şematik olarak Şekil 2.19'da gösterilmiştir. Zayıf adsorbe olanlardan arındırmak için ise pH 7,0 PBS'de -0,4 ile +0,6 V potansiyelleri arasında 10 dakika tarama yapılmıştır (Gómez-Anquela *et al.* 2014).



Şekil 2.19. GO-Au hibrit elektrodu üzerine diazotize edilmiş AA'nın elektrokimyasal aşılması (Gómez-Anquela *et al.* 2014)

Elde edilen elektrotların NADH'nın elektrokatalitik oksidasyonundaki aktivitesi test edilmiştir. Bu amaçla 1,0 mM NADH içeren ve içermeyen 0,1 M PBS (pH 7,0) çözeltisinde CV cevapları incelenmiştir (Şekil 2.20).

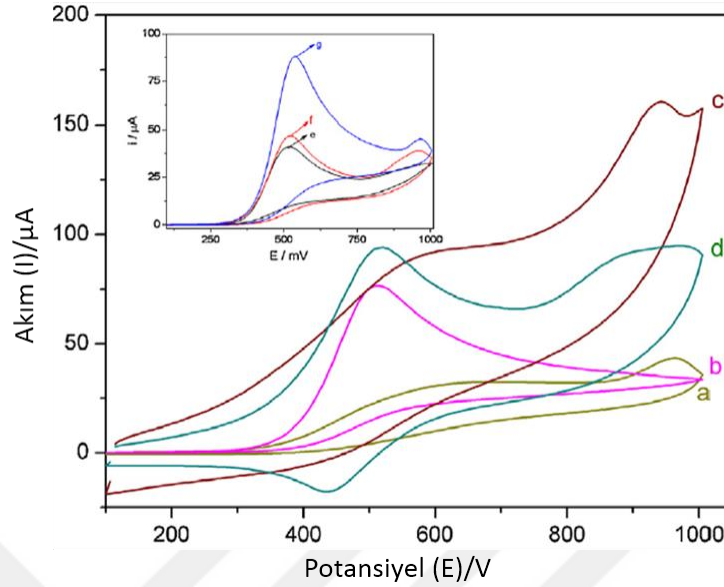


Şekil 2.20. AA ile modifiye edilmiş Au (A) ve Au-GO (B) elektrotlar için 1 mM NADH'nin yokluğunda (a ve c) ve varlığında (b ve d) 0,1 M pH 7,0 PBS'de alınmış dönüşümlü voltamogramlar (Gómez-Anquela *et al.* 2014)

NADH'nin yokluğundaki akım cevabı hem Au elektrot (Şekil 2.20.a) için, hem de Au-GO elektrot için (Şekil 2.20.c) 0,05 V ve 0,01 V'de az da olsa gözlemlenmiştir. 1,0 mM NADH eklemesiyle anodik akımda artış görülmüştür. Saf altın ve Au-GO hibrit elektrotlarda sırasıyla 1,0 ve yaklaşık 0,6 V'de oluşan pik potansiyellerine göre çok daha düşük potansiyellerde NADH'nin oksidasyonunun olduğu gözlenmiştir (Gómez-Anquela *et al.* 2014).

Istrate ve grubu tarafından, SPCE yüzeyi AuNPs, elektrokimyasal olarak indirgenmiş grafen oksit (ERGO) ve poli(allilamin hidroklorür) (PAH)'dan oluşan nanokompozit bir malzeme kullanılarak modifikasyonu çalışılmıştır. AuNPs-GO kompozitine PAH eklenmesini, elektrot yüzeyinde AuNPs'nin kararlılığını sağlaması ve elektrot yüzeyi ile NADH arasındaki elektrostatik etkileşimi artırması olarak iki önemli işlev gösterdiği bildirilmiştir. AuNPs-ERGO-PAH/SPCE elektrodu için, AuNPs-GO'nun hazırlanması, AuNPs-GO-PAH'nin hazırlanması ve elektrot üzerine deposisyonu, GO'nun elektrokimyasal indirgenmesi olarak 3 adımlı bir hazırlama süreci gerçekleştirilmiştir. 1 mL AuNPs süspansiyonu ile 25 μ L GO süspansiyonu (1mgmL^{-1}) bir saat sonikasyon işleminden sonra 30 dakika santrifüj edilmiştir. Süpernatantın ayrılmasıyla elde edilen AuNPs-GO'nun 80 μg 'ı ile 40 μ L PAH çözeltisi ($0,1\text{mgmL}^{-1}$) karıştırılarak 15 dakika sonikasyonu sonrası stabil AuNPs-GO-PAH süspansiyonu hazırlanmıştır. SPCE üzerine bu süspansiyondan 5 μ L damlatıp oda sıcaklığında 24 saat kurutulduktan sonra oksijeni giderilmiş 0,1 M KCl elektrolitinde -1,0 ile 0,5 V potansiyel aralığında, 10 mVs^{-1} tarama

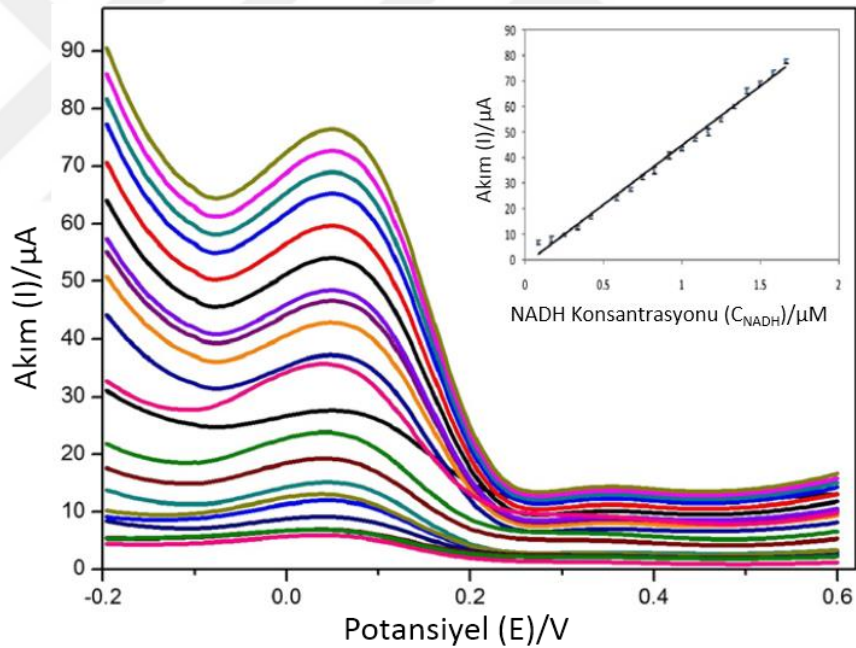
hızında ve 10 çevrimlik bir CV ile GO'nun indirgenmesi sonucu AuNPs-ERGO-PAH modifiye elektrodu üretilmiştir. Oluşturulan elektrodun NADH'nın oksidasyonundaki elektrokatalitik etkisini değerlendirmek için PAH'nın ilave edilmeden ve ilave sonrası üretilen çeşitli elektrotlar ile SPCE'nin (e) referans alındığı 5 mM NADH'nın varlığındaki dönüşümlü voltamogramlar Şekil 2.21'de verilmiştir. Şekil incelendiğinde, yüzey sadece AuNPs ile modifiye edildiğinde hazırlanan AuNPs/SPCE için (f) akım ve potansiyelde bir artmanın olduğu, PAH ilavesiyle hazırlanan AuNPs-PAH/SPCE için (g) pik potansiyelinde bir değişim olmazken, pik akımında bir artışın olduğu gözlenmiştir. AuNPs-GO/SPCE için (a) 590 mV'de hafif bir akım gözlenmiştir. GO'nun indirgenmesiyle oluşturulan AuNPs-ERGO/SPCE elektrodu (c) için ise, iyi belirlenemeyen 549 mV'de azalmış bir akım piki oluşmuştur. GO ile birlikte PAH ile modifiye edilmiş AuNPs-GO-PAH/SPCE elektrodu (b) için 510 mV'de yüksek bir oksidasyon pik akımı görülmüştür. Bu modifiye elektrodun elektrokimyasal indirgenmesiyle hazırlanan AuNPs-ERGO-PAH/SPCE elektrodunun voltamogramı (d) incelendiğinde ise NADH'nın oksidasyonuna ait 510 mV'de daha keskin ve en yüksek pik akımı sergilediği bildirilmiştir. Diğer elektrotlarla kıyaslandığında AuNPs-ERGO-PAH/SPCE modifiye elektrodunun NADH'nın oksidasyonunda en yüksek elektrokatalitik aktiviteye sahip olduğu söylenmiştir. AuNPs-ERGO-PAH/SPCE elektrodu ile pH 6,0 tamponunda farklı tarama hızlarında alınan voltamogramlarından yararlanılarak akım-tarama hızı karekökü ($i - v^{1/2}$) ve logaritmalarının ($\log i - \log v$) grafikleri çizilmiştir. Sırasıyla 0,9447 ve 0,9749 belirleme katsayılarıyla izlenen doğrusallık ve $\log i - \log v$ grafiğindeki eğiminin 0,5'den küçük olmasından dolayı (0,28), NADH'nın oksidasyonunun difüzyon kontrollü bir proses gösterdiği bildirilmiştir (Istrate *et al.* 2016).



Şekil 2.21. (a) AuNPs-GO/SPCE, (b) AuNPs-GO-PAH/SPCE, (c) AuNPs-ERGO/SPCE, (d) AuNPs-ERGO-PAH/SPCE, (e) SPCE, (f) AuNPs/SPCE ve (g) AuNPs-PAH/SPCE'nin 5 mM NADH'da alınan dönüşümlü voltamogramları (pH=6,0, $v=100 \text{ mVs}^{-1}$) (Istrate *et al.* 2016)

Sangamithirai ve grubu, GCE üzerini poli(o-anisidin) (POA) ve Gr'yi farklı oranlarda kullanıp kimyasal oksidatif polimerizasyon ile modifiye ederek NADH'nın elektrokimyasal belirlenmesini incelemiştir. Oluşturulan elektrotların 0,045 V'lık düşük bir potansiyelde iyi bir elektrokatalitik etki gösterdiği bildirilmiştir. POA/Gr oranının 3:1 olduğu POA/Gr31 elektrodu $47,1 \mu\text{A}\mu\text{M}^{-1}$ 'lik daha iyi bir duyarlılık değeri ile tekrar üretilebilirlik, kararlılık ve seçicilik bakımından iyi olduğu ileri sürülmüştür. POA/Gr nanokompoziti ile hazırlanan elektrodun AsA'nın varlığında bile NADH'nın belirlenmesi için uygun olduğu gözlenmiştir. Materyallerin sentezi için Gr eldesinde önce grafitin kimyasal oksidasyonu ile GO, daha sonra hidrazin sülfat ile indirgenmesi sonucu Gr elde edilmiştir. Ağırlıkça 1:1, 2:1 ve 3:1 oranında Gr ve o-anisidin $(\text{NH}_4)_2\text{S}_2\text{O}_8$ (APS) ile kimyasal oksidasyonu sağlanmıştır. Daha sonra üzerine, buz banyosunda $+4^\circ\text{C}$ 'ye soğutulmuş 150 ml 0,1 M β -naftalin sülfonik asit (β -NSA) çözeltisinin 50 mL'si damla damla ilave edilmiştir. 12 saatlik bir reaksiyon sonrası kabın dibinde oluşan koyu yeşil çökelek, organik kirliliklerden arındırmak için filtre edilip saf su, metanol ve aseton ile yıkanmıştır.

Sonuç olarak POA/Gr11, POA/Gr21 ve POA/Gr31 nanokompozitleri oluşturulmuştur. DPV tekniği kullanılarak POA/Gr31 ile modifiye edilmiş GCE için NADH'nın belirlenmesinde farklı derişimlerde NADH içeren 0,1 M PBS (pH 7,0) çözeltisinde alınan diferansiyel puls voltamogramları ve kalibrasyon eğrisi (iç şekil) Şekil 2.22'de gösterilmiştir. Kalibrasyon eğrisi incelendiğinde 0,166 ile 1,772 μM arasında akımda bir doğrusallık gözlenmiştir. Ayrıca 0,045 V sabit potansiyelde amperometrik olarak NADH'nın belirlenmesi de çalışılmıştır. 1 mM NADH için 10 farklı elektrotla yapılan amperometrik çalışmada tekrar üretilebilirlik bakımından %3,53'lük bir standart sapma hesaplanmıştır. 0,1 M PBS (pH 7,0) ortamında bekletilen POA/Gr31 elektrodunun 15. gün sonunda bile POA'nın güçlü katkılanmasından dolayı akım cevabını %92,7 oranında koruduğu belirlenmiştir (Sangamithirai *et al.* 2015).

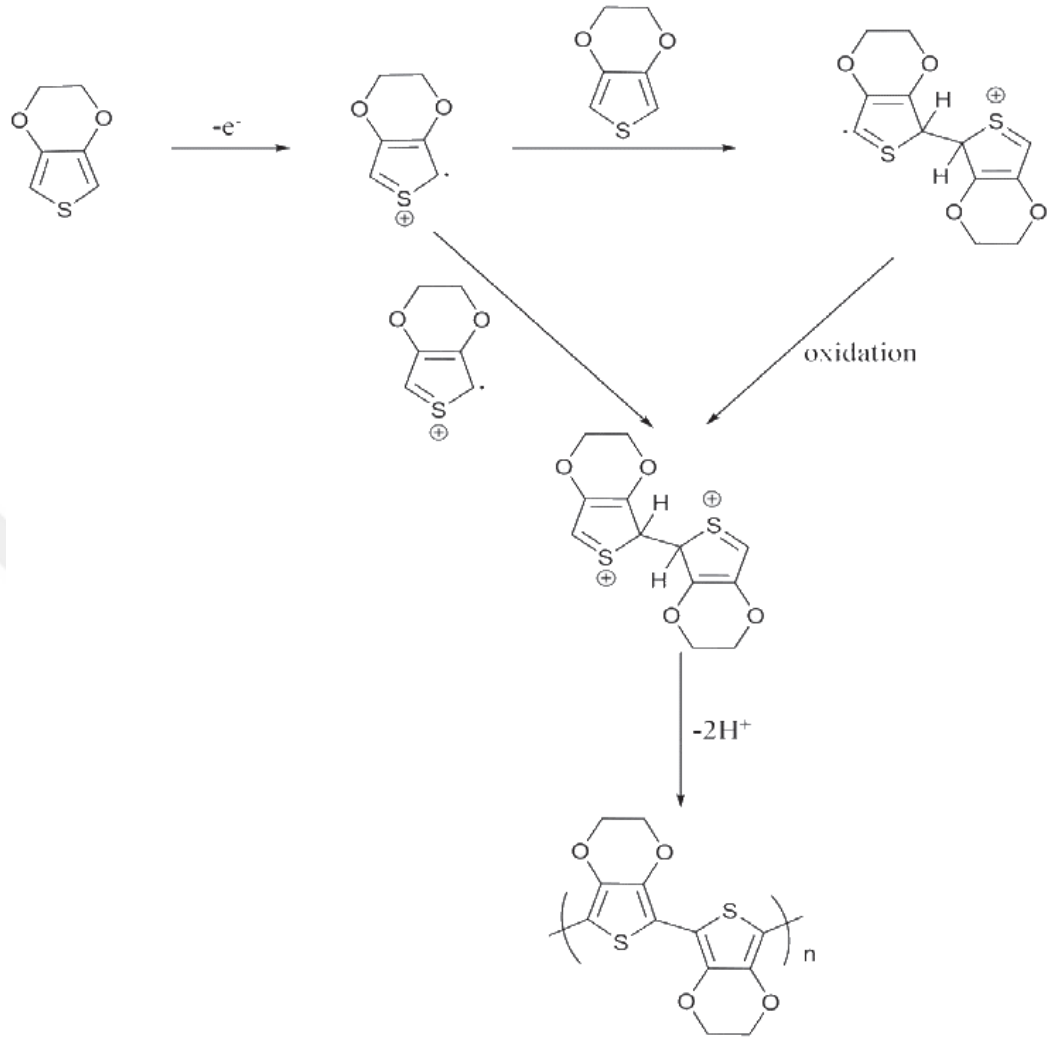


Şekil 2.22. POA/Gr31-modifiye GCE ile 0,1 M PBS'de (pH 7,0), farklı konsantrasyonlardaki NADH çözeltilerinden alınan diferansiyel puls voltamogramları ve kalibrasyon eğrisi (iç şekil) (Sangamithirai *et al.* 2015)

AsA'nın girişimi için 0,045 V potansiyelde amperometrik ölçümler yapılmıştır. Ardışık NADH ilavesinden (0,166, 0,249 ve 0,332 μM) sonra 5 ve 10 μM 'lik AsA ilave edilmiştir. Daha sonra yine 0.499, 0.582 μM NADH ilavesinden sonra 15 ve 20 μM AsA ilave

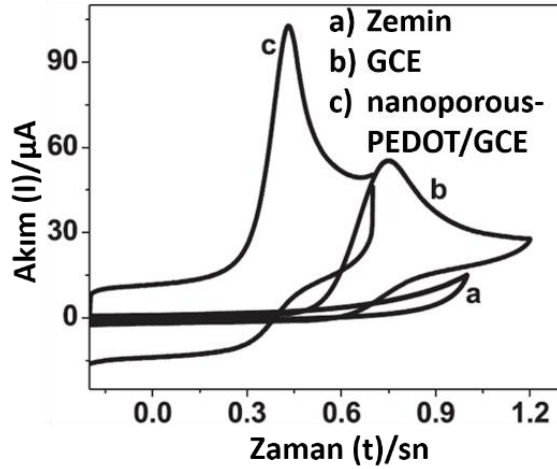
edilmiştir. Amperometrik cevaplar incelendiğinde ilave edilen her bir NADH için akımda bir artış gözlenirken AsA ilavelerinde akımda değişim gözlenmemiştir. Bu sonuç, AsA'nın bir girişimi olmadan POA/Gr31-modifiye GCE ile +0,045 V'de NADH'nın amperometrik belirlenmesinin başarılı olduğu bildirilmiştir (Sangamithirai *et al.* 2015).

Rajaram ve grubu tarafından poli(3,4)etilendioksitiyofen (PEDOT) ile nanogözenekli (nanoporous) modifiye edilmiş GCE ile yaklaşık 0,318 V'lık bir potansiyel düşüşüyle NADH'nın oksidasyonu gerçekleştirilmiştir. Nanoporous-PEDOT/GCE ile 5 mM NADH içeren 0,1 M PBS ortamında elektrokatalitik etkisi CV ile incelenmiştir. Ayrıca koronoamperometrik ölçümlerle nanoporous-PEDOT/GCE'nin elektron transfer kinetiği üzerine yapılan çalışmalarda ortalama difüzyon katsayısı (D) $1,56 \times 10^{-6} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$, hız sabiti (k) ise $1,09 \times 10^2 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ olarak hesaplanmıştır. 0,5 V'de amperometrik ölçümler ile 3,8 μM gözlenebilirlik sınırı ve 0,026 $\mu\text{A} \mu\text{M}^{-1}$ duyarlılık değerleri yanında 5-45 μM tayin aralığı belirlenmiştir. AsA ile NADH'nın varlığında alınan voltamogramlarda 0,370 V'den daha fazla bir farkla ayırım olduğu gözlenmiştir. nanoporous-PEDOT/GCE modifiye elektrodun hazırlanması için GCE, bir dizi temizleme işleminden sonra polimerizasyon öncesi -0,9 ile 1,5 V arasında $0,05 \text{ Vs}^{-1}$ hızında 0,1 M tetrabütil amonyum perklorat (TBAPC) içeren asetonitril çözeltisinde 10 dakika boyunca işlem uygulanmıştır. Daha sonra 0,01 M (3,4)etilendioksitiyofen (EDOT) ve 0,1 M TBAPC'yi içeren asetonitril çözeltisinde 1,5 V sabit potansiyelde Ag tel referans elektroduna karşı elektrokimyasal polimerizasyon ile nanoporous-PEDOT/GCE modifiye elektrodu hazırlanmıştır. PEDOT'un elektrokimyasal oluşum mekanizması Şekil 2.23'te gösterilmiştir. PEDOT'un elektrokimyasal depozisyon sürecinin 2D'de ani çekirdekleşme ve 3D mekanizmalarının olduğu daha önce rapor edilmiştir (Randriamahazaka *et al.* 1999). Polimerizasyon 1,5V'de sabit tutulduğunda çözeltideki EDOT monomerlerinin oksidasyonu sonucu oligomer oluşturup elektrot-sıvı faz arayüzeyine doğru difüzyonu haricinde difüzyon kontrolü görülmeden polimerleşmenin kontrol edilerek nanoporous-PEDOT'un oluşturulduğu bildirilmiştir. Arayüzey oligomerler ile doyurulduktan sonra depozisyonun elektrot yüzeyinde çekirdek büyümesi mekanizması ile gerçekleşmesi sonucu PEDOT filmi birbirini takip eden 2D ve 3D ani mekanizmalar ile oluşturulduğu bildirilmiştir (Rajaram *et al.* 2015)



Şekil 2.23. PEDOT'un elektrokimyasal polimerizasyon mekanizması (Rajaram *et al.* 2015)

Şekil 2.24, 0,1 M PBS içerisinde NADH'nin yokluğunda (a) ve 5,0 mM varlığında (b ve c) GCE ve nanoporous-PEDOT/GCE elektrotlarının Ag/AgCl referans elektroduna karşı voltametrik cevaplarını göstermektedir. GCE ile NADH'nin varlığında 0,750 V'de yayvan bir oksidasyon piki görülmüştür. nanoporous-PEDOT ile modifiye edilen GCE'de ise 0,2 V'de başlayan ve 0,318 V'lık bir azalmayla 0,432 V'de keskin bir pikle ve akım sinyalinin hemen hemen iki katına çıkmasıyla oksidasyon sürecinin ilerlediği görülmüştür. Hem pik potansiyelindeki azalış, hem de akım sinyalindeki artış materyalin elektron transfer arabuluculuğu vasıtasıyla elektrokatalitik etkisinden kaynaklandığı ileri sürülmüştür (Rajaram *et al.* 2015).



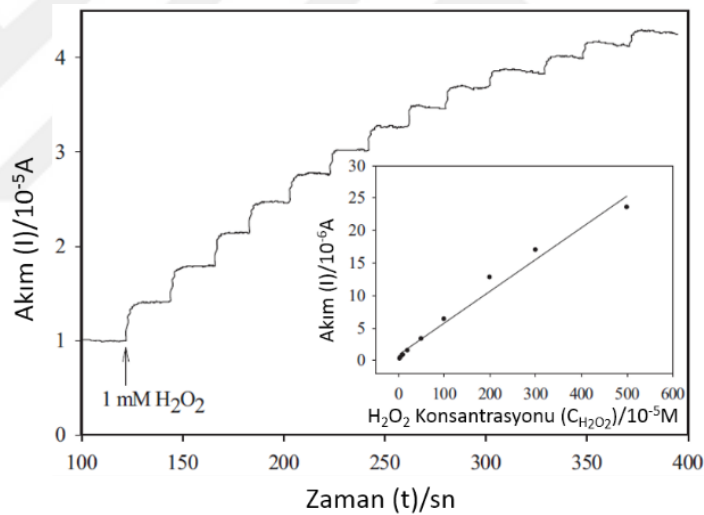
Şekil 2.24. 0,1 M PBS (pH 7,0) içerisinde 0.05 Vs^{-1} tarama hızında, NADH'nin yokluğunda GCE ile (a), 5,0 mM NADH'nin varlığında GCE (b) ve nanoporous-PEDOT/GCE (c) ile alınmış elektrokatalitik oksidasyonu (Rajaram *et al.* 2015)

Ensafi ve grubu tarafından yapılan çalışmada sonikasyonla pul pul edilmiş GO (EGO) ve kobalt ferrit nanohibrit ile ($\text{CoFe}_2\text{O}_4/\text{EGO}$) GCE üzeri modifiye edilmiştir. Bu elektrotla H_2O_2 ve NADH'nin elektrokimyasal yöntemlerle ölçülmesi çalışılmıştır. $\text{CoFe}_2\text{O}_4/\text{EGO}$ -GCE nanohibrit modifiye elektrodunun H_2O_2 'nin indirgenmesi ve NADH'nin oksidasyonuna karşı sinerjik etkisi voltametrik ölçümlerle gösterilmiştir. H_2O_2 ve NADH'nin kantitatif analizi için döner disk elektrodu ve kronoamperometri tekniği kullanılmıştır. Deneysel parametrelerin optimizasyonu yapıldıktan sonra gerçek numunelerde H_2O_2 ve NADH tayini için kullanılmıştır. H_2O_2 'nin gerçek numune analizi için, selüloz asetat filtresinden geçirilmiş yağmur suyu, NADH'nin gerçek numune analizi içinse *nicotiana plumbaginifolia* bitkisinin çekirdeklerinden üretilen NADH'dan faydalanılmıştır. Döner disk voltametri ile $1,0 \text{ mmolL}^{-1} \text{H}_2\text{O}_2$ ve $0,10 \text{ mmolL}^{-1} \text{NADH}$ için 25 mVs^{-1} tarama hızıyla 0-3000 rpm arasında farklı dönüş hızlarında çalışılmıştır. Akımın dönüş hızlarının kareköküne karşı grafiği çizildiğinde yüksek hızlarda lineerliğin bozulduğu görülmüştür. Bu sapmaların NADH'nin oksidasyonu ve H_2O_2 'nin indirgenmesi üzerine kimyasal reaksiyonunun kinetik sınırlamasından ileri geldiği bildirilmiştir (Ensafi *et al.* 2016).

Zhang ve grubu, kendi kendine birikme (self-assembly) ve bir redoks tepkimesi yardımıyla yeni bir nonenzimatik hidrojen peroksit (H_2O_2) sensörünü, grafen/nafion/AzureI/AuNPs nanoparçacıkları ile GCE'yi modifiye ederek hazırlamıştır. Oluşturulan sensörün H_2O_2 'ye karşı elektrokatalitik indirgenme açısından mükemmel bir performansa sahip olduğu bildirilmiştir. Sensörün pH 4,0 ve -0,2 V şartlarında H_2O_2 'nin eklenmesiyle 3 saniyeden daha az bir sürede stabil duruma erişip hızlı cevap verme yeteneğinin yanında yüksek duyarlılığa sahip olduğu bildirilmiştir. S/N=3 olduğu durumda gözlenebilme sınırı 10 μM olarak ve 30 μM -5mM tayin aralığı belirlenmiştir. Sensör, tekrarlanabilirlik ve uzun zaman kararlılığı açısından iyi olduğu bildirilmiştir (Zhang *et al.* 2013).

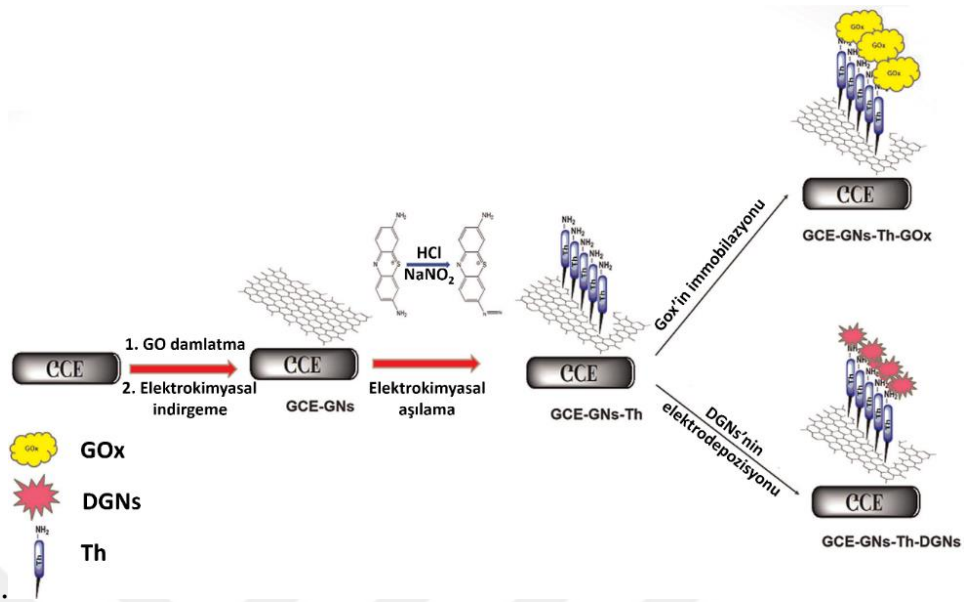
Sensörün hazırlanması öncesinde, 3 mm çapındaki GCE bir dizi temizlik prosesinden geçirilmiştir. Hummers metodu ile hazırlanmış 150 mg GO, 100 mL H_2O_2 'de çözdürülüp sonikasyonla dispersiyonu sağlandıktan sonra 3 mL hidrazin çözeltisiyle kimyasal olarak indirgenmiştir. Elde edilen siyah çözelti 95°C'ye yavaşça ısıtılıp 24 saat reflüks işlemi uygulanmıştır. Daha sonra deiyonize su ve metil alkol ile yıkanıp kurutularak indirgenmiş Gr elde edilmiştir. AuNPs'yi hazırlamak için ise %0,01'lik 250 mL $HAuCl_4$ 'ün sulu çözeltisi kaynayanaya kadar ısıtıldıktan sonra, %1'lik 4,4 mL sodyum sitrat çözeltisi ilave edilmiştir. Sıcaklık 100°C'ye artırıldıktan sonra rengi şarap kırmızısına dönünceye kadar 20 dakika bekletilen karışım, kontrollü bir şekilde yavaşça soğutulup ışık geçirmeyen bir şişede +4°C'de saklanmıştır. Daha önce temizlenmiş GCE üzerine sonikasyon yardımıyla suda 1 $mg mL^{-1}$ konsantrasyonu olacak şekilde dispers edilmiş grafen/su süspansiyonundan 15 μL damlatılıp kızılötesi lamba altında kurutulmuştur. Üzerine %1'lik etanolde çözdürülmüş nafyondan 15 μL damlatılarak oda şartlarında kurutulmuştur. Hazırlanan grafen/nafion/GCE elektrot, 1 mM'lik azure I çözeltisine daldırılıp 80 dakika bekletildikten sonra saf su ile yıkanarak grafen/nafion/AzI/GCE hazırlanmıştır. Daha sonra AuNPs çözeltisine daldırarak 4 saat bekletilip saf su ile yıkanmasıyla nihai elektrot olan grafen/nafion/AzI/AuNPs/GCE sensörü hazırlanmıştır (Zhang *et al.* 2013). Grafen/nafion/AzI/AuNPs/GCE sensörünün H_2O_2 için pH etkisini incelemek amacıyla 1 mM H_2O_2 içeren asetik asitin 0,1 M'lik farklı pH değerine sahip tamponlarında (3,0-8,0) dönüşümlü voltametri kullanılmıştır. En yüksek redoks akımının

pH 3,0 ve pH 4,0 ortamında olmasına ek olarak artan pH ile azalan bir redoks akımı gözlemlenmiştir. H_2O_2 'nin redoks prosesini belirlemek için ise 1 mM H_2O_2 içeren pH 4,0 tamponunda 25 ile 250 mVs^{-1} arasında farklı tarama hızlarında CV tekniği kullanılmıştır ve tarama hızı ve pik akımları arasında doğrusal ilişki gözlenmiştir. H_2O_2 için redoks prosesinin dönüşümlü ve adsorpsiyon kontrollü olduğu bildirilmiştir. Grafen/nafion/AzI/AuNPs/GCE elektrodu ile H_2O_2 'nin amperometrik tayin için, -0,2 V sabit potansiyelde, 0,1 M pH 4,0 asetik asit tamponunda, 1 mM'lik H_2O_2 'nin ardışık ilavesiyle elde edilen akım-zaman verisi ve bu veriden üretilmiş kalibrasyon eğrisi Şekil 2.25'te gösterilmiştir. Amperometrik verilere bakıldığında hibrit filmle modifiye edilmiş elektrodun H_2O_2 ilave edildikten sonra maksimum akım değerinin %95'ine 3 saniye içinde ulaşarak hızlı yanıt verdiği görülmüştür (Zhang *et al.* 2013).



Şekil 2.25. Grafen/nafion/AzI/AuNPs/GCE elektrodunun amperometrik cevabı ve kalibrasyon eğrisi (iç şekil) (Zhang *et al.* 2013)

Shervedabi ve grubu tarafından glikoz ve nitritin belirlenmesinde kullanılmak üzere GCE üzerinde elektrokimyasal olarak GO'nun indirgenmesi ve Th'nın diazonyum oluşumu, glikoz oksidaz (GOx) ve dentrit benzeri altın nanoyapıların (DGNs) depozisyonu sonucu bir dizi modifiye elektrot üretilmiştir. Bu elektrotların üretim prosesi Şekil 2.26'da resmedilmiştir.

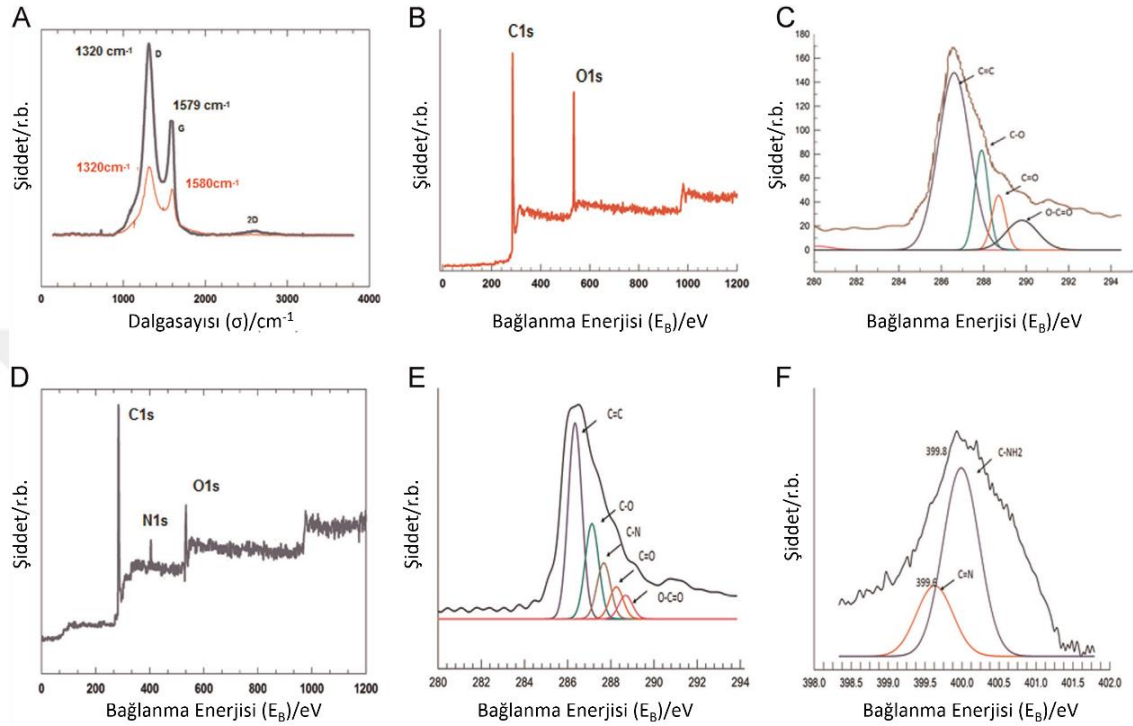


Şekil 2.26. GC-GNs, GC-GNs-Th, GC-GNs-Th-GOx ve GC-GNs-Th-DGNs elektrotları üretimi için şematik gösterim (Shervedani *et al.* 2016)

Modifiye Hummers metodu ile sentezlenen GO'nun 0,1 M KCl elektrolitinde, 20 mVs^{-1} tarama hızında 0,0 ile -1,3 V arasında, oda sıcaklığında, Ag/AgCl referans elektroduna karşı 7 dönüşüm üzerinde tarama ile grafen nano tabakaları (GNs) hazırlanmıştır. Th'nın GCE üzerine kovalent bağlanması sonucu GCE-GNs-Th elektrodu, GOx ve DGNs'nin elektrokimyasal olarak depozisyonu ile de daha farklı modifiye elektrotlar üretilmiştir. Glikozun tayini için GC-GNs-Th-GOx biyosensörü ile $9,6 \text{ } \mu\text{M}$ gözlenebilme sınırı, $43,2 \text{ } \mu\text{Acm}^{-2}\text{mM}^{-1}$ duyarlılık ve 0,5-6,0 mM tayin aralığı değerleri hesaplanmıştır. NO^{-2} iyonu için GC-GNs-Th-DGNs sensörü ile $263,2 \text{ } \mu\text{Acm}^{-2}\text{mM}^{-1}$ 'lik bir duyarlılık, $0,01 \text{ } \mu\text{M}$ gözlenebilme sınırı ve 0,05-1,0 μM ile $30,0 \text{ } \mu\text{M}$ -1,0 mM olarak iki lineer tayin aralığı belirlenmiştir. Glikoz için insan serumunda, nitrit için maden suyu ve nehir suyunda gerçek numune analizi yapılmıştır (Shervedani *et al.* 2016).

ITO üzerine GO'nun damlatılıp kurutulması ile ITO/GO ve elektrokimyasal indirgenme ile ITO/GNs elektrotlarının Raman ve XPS spektrumları Şekil 2.27'de gösterilmiştir. GO'ya ait karakteristik, 1320 cm^{-1} 'de D, 1590 cm^{-1} 'de G bandı sırasıyla sp^3 ve sp^2 hibridizasyonu temsil ettiği belirtilmiştir (Şekil 2.27.A). GO'nun GNs'ye elektrokimyasal indirgenmesi sonrası D bandının şiddetinde artma ve G bandının konumunda daha düşük

frekansa (1579 cm^{-1}) kayma gözlenmiştir. D ve G bantlarındaki bu değişimler ile indirgenmenin gerçekleştiği belirtilmiştir.



Şekil 2.27. (A) (a) ITO/GO ve (b) ITO/GNs yüzeylerinden 745 nm lazer uyarmasıyla alınmış Raman spektrumları, ITO/GO için genel (B) ve C1s (C) için yüksek rezölüsyonlu XPS spektrumları, ITO/GNs-Th için genel (D), C1s (E) ve N1s (F) için yüksek rezölüsyonlu XPS spektrumları (Shervedani *et al.* 2016)

Elektrokimyasal indirgenmenin başka bir dayanağı olarak Şekil 2.27.B ve D’de XPS spektrumları verilmiştir. Şekil 2.27.B’de GO için 285,4 eV’de sp² karbon atomlarının C1s, 531 eV’de ise oksijenli fonksiyonel gruplardaki O1s bağlanma enerjilerine ait piklerdir. Elektrokimyasal redüksiyon süreci sonrasında C/O oranının 1,61’den 4,82’ye artmasıyla ITO üzerinde GO’nun GNs’ye indirgendiği belirtilmiştir (Şekil 2.27.D). ITO-GO için oksijen içeren fonksiyonel grupların farklı bileşenli yüksek rezölüsyonlu XPS spektrumu (Şekil 2.27.C) incelendiğinde, 286,6 eV’de oksijenize olmamış karbon (C=C), 288,7 eV’de karbonil grupları (C=O) ve 288,8 eV’de epoksi grupları (O-C=O) için pikler görülmüştür. ITO/GNs-Th incelendiğinde ise, C-O etkileşiminden daha yüksek enerji ile 287,7 eV’de C-N bağlanma enerjisine ait pik görülmüştür (Şekil 2.27.E). Bu sonuç, Th’nın GNs üzerine başarılı bir şekilde immobilizasyonunu gösterdiği

belirtilmiştir. Ek olarak ITO-GNs-Th için yüksek rezölüsyonda N1s'in bağlanma enerjisine ait XPS spektrumu incelediğinde ise, 399,8 ve 399,6 eV'de sırasıyla C-NH₂ ve C=N bağları için iki farklı azot bağlanma tipi olduğu gözlenmiştir (Şekil 2.27.F). Bu sonuç ise Th'nın elektrokimyasal indirgenme prosesi ile GC-GNs elektrodu üzerine aşılandığı belirtilmiştir (Shervedani *et al.* 2016).

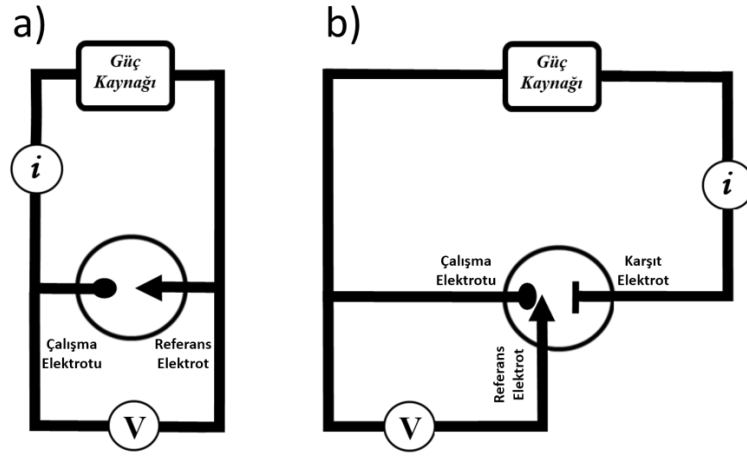
Bu tez kapsamında, ilk bölümde, AB içeren farklı pH'lara ayarlanmış PBS elektrolitinde farklı üst potansiyellerinden dönülerek AB'nin Au substrat yüzeyinde elektrokimyasal polimerizasyonu gerçekleştirilmiş ve çeşitli tekniklerle karakterizasyonu yapılmıştır. İkinci bölümde ise, iyi bir yüzey modifikasyon aracı olan e-GO ve k-GO ile yüksek elektrokatalitik etki gösteren fenotiyazin türevi AB boyar maddesinin maksimum etkileşimi sağlanarak elde edilen kompozitlerin düşük yüzey enerjili ve bir kez oluşturulduktan sonra defalarca kullanılabilen Au(111) yüzeyine desteklenmesiyle NADH'nın amperometrik belirlenmesi için enzimatik olmayan çeşitli elektrot materyalleri geliştirilmiştir. NADH'nın belirlenmesi için en iyi elektrot belirlendikten sonra kompozit yükleme miktarı ve pH optimizasyonu yapılmıştır. Optimum şartlarda seçili elektrodun kararlılık, tekrarlanabilirlik ve gerçek numune analizi gibi çeşitli çalışmalar ile performansı incelenmiş, SEM, XRD, UV-Vis, FT-IR, Raman, XPS gibi çeşitli tekniklerle karakterizasyonu yapılmıştır.

3. MATERYAL ve YÖNTEM

3.1. Elektrokimyasal Hücreler

Elektrokimya, maddelerin elektrik enerjisi ile etkileşmesiyle kimyasal ve fiziksel değişimlerini veya enerjinin kimyasal bir dönüşüm ile elektrik enerjisine çevrilmesini inceleyen bir bilim dalıdır. Kimyasal enerjinin elektrik enerjisine dönüşümü, bazı metallerin saf olarak elde edilmesi veya yüzeylerinin başka bir metalle kaplanması, korozyonun incelenmesi, birçok redoks tepkimesinin gerçekleştirilmesi ve incelenmesi gibi birçok olay elektrokimyanın konusu olmuştur.

Bir elektrokimyasal süreç, günlük hayatımızda kullandığımız kuru pillerdeki gibi iki katı madde arasında gerçekleşebiliyor olsa da, genelde katı bir elektrot ile sıvı bir elektrolit arasında (katı-sıvı ara yüzeyinde) gerçekleşen elektron alış verişini olarak akla gelmektedir. Bu tür bir düzeneğe elektrokimyasal hücre denilmektedir. Elektrokimyasal hücreler, redoks tepkimelerinin istemli veya istemsiz olmasına göre galvanik veya elektrolitik hücre, termodinamik açıdan indirgenme ve yükseltgenme olaylarının geri dönüşümlü olup olmadığına göre tersinir veya tersinmez hücre şeklinde sınıflandırılmasının yanı sıra elektrot sayısına bağlı olarak iki veya üç elektrotlu hücreler şeklinde de sınıflandırılabilir. Şekil 3.1’de gösterildiği gibi elektrokimyasal hücre, iletken anot ve katot elektrot ve içerisinde iletkenliği sağlayan anyon ve katyonları içeren elektrolit çözeltisi ile iki elektrotlu olabileceği gibi (a), üzerinden akım geçmeyen ve çalışma elektrodunun potansiyelini belirleyen bir üçüncü elektrot olarak referans elektrodu içeren üç elektrotlu da olabilir (b). İki elektrotlu hücrelerdeki karşıt elektrot, üzerinden akım geçmesine rağmen aynı zamanda referans görevini de üstlenir. Üç elektrotlu hücrelerde ise referans elektroda uygulanan potansiyel, çalışma elektroduna da uygulanmasına rağmen referans elektrot üzerinden bir akım geçmediği için bu elektrot üzerinde herhangi bir redoks tepkimesi gerçekleşmemektedir veya az bir akım geçse dahi potansiyelini korumaktadır. Bu sayede çalışma elektroduna uygulanan potansiyel veya devreden geçen akım ayarlanabilmektedir. Tez kapsamında yapılan çalışmalarda da bu tür üç elektrotlu elektrokimyasal hücreler kullanılmıştır.

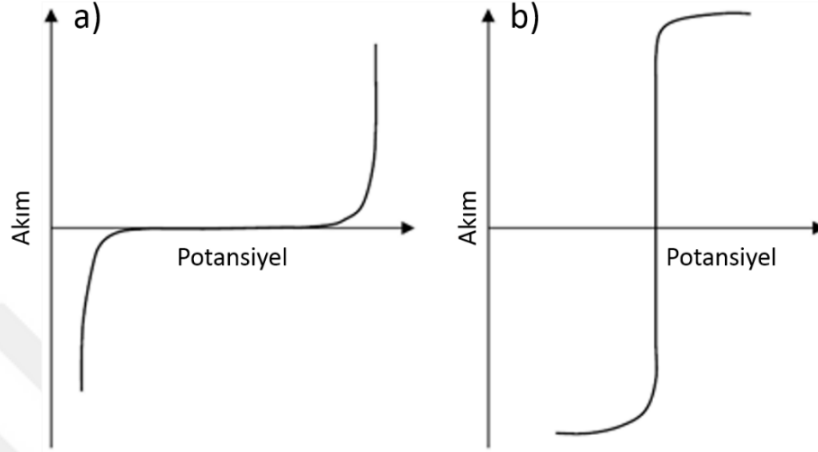


Şekil 3.1. İki (a) ve üç (b) elektrotlu elektrokimyasal hücrelerin şematik gösterimi

3.1.1. Elektrotlar

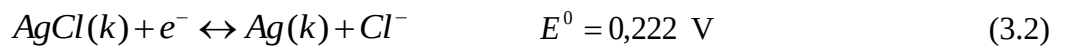
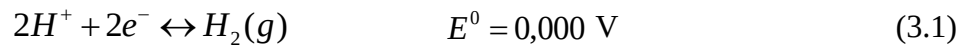
Üç elektrotlu elektrokimyasal hücrelerde elektrokimyasal sürecin incelendiği çalışma elektrodu, elektrokimyasal olarak bir tepkimeye girmeyen, görevi sadece devreyi tamamlamak olan karşıt elektrot ve çalışma elektroduna uygulanacak potansiyeli belirlemede elektrolitteki iyonlarla tepkime göstermeyip bağımsız olan ve üzerinden akım geçmeyen, ideal polarize olmayan bir referans elektrot bulunmaktadır. Elektrokimyasal hücrelerde yaygın olarak SHE, SCE ve Ag/AgCl referans elektrodu kullanılmaktadır. SHE’de H_2 gazının basıncının ve H^+ iyon konsantrasyonunun sabit tutulmasındaki zorluklar nedeniyle, SCE’de ise kullanılan cıvanın zararlı olması ve yüksek sıcaklıklarda ($>60^\circ C$) çalışmaya müsait olmaması nedeniyle daha çok Ag/AgCl referans elektrot tercih edilmektedir. Şekil 3.2.b’de gösterildiği gibi iyi bir referans elektrot sıcaklık ve pH gibi dış etkenlere karşı dirençli olmasının yanında üzerinden akım geçse bile potansiyeli sabit kalan SHE, SCE ve Ag/AgCl gibi ideal polarize olmayan elektrotlardan seçilmelidir. Elektrokimyasal hücrelerde karşıt elektrot olarak genelde Au, Pt gibi inert metaller veya metal oksitler kullanılmaktadır. Çalışma elektrodu, kullanılan teknik, çalışılacak potansiyel aralık, hassasiyet, sonuç materyali gibi birçok parametreye bağlı olarak damlayan cıva (polarografi) olabileceği gibi, yüzeyi indiyum kalay oksit (ITO) ile modifiye edilmiş cam veya kuartz elektrot, GCE, grafit elektrot gibi karbon

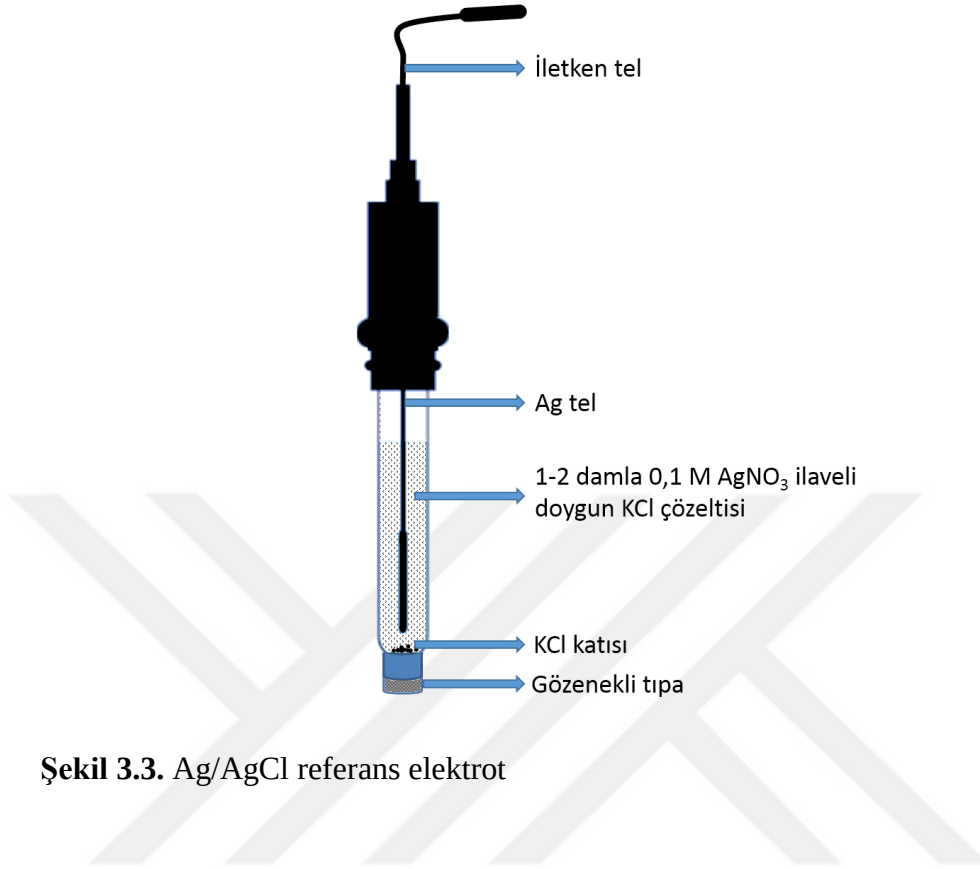
temelli elektrotlar, Au, Pt gibi inert metaller ve bunların modifiye edilmiş türleri de olabilmektedir.



Şekil 3.2. İdeal polarize olan (a) ve ideal polarize olmayan (b) elektrotlar için akım/potansiyel eğrisi

Redoks tepkimelerinde bir maddenin indirgenme potansiyeli, hidrojenin yükseltgenme potansiyelinin 0,0 V olarak varsayılması ve SHE'nin anot olarak kullanılmasıyla belirlenir. Eşitlik 3.1'de hidrojenin geri dönüşümlü indirgenme ve yükseltgenme potansiyeli 0,0 V olarak kabul edilmiştir. Bu elektrodun anot, Şekil 3.3'te gösterildiği gibi Ag/AgCl elektrodun da katot olarak kullanılmasıyla Ag/AgCl referans elektrodunun sabit olan indirgenme potansiyeli belirlenir. Bu değer, 25°C'de, 1 atm H₂(g) basıncında ve H⁺ iyon aktivitesinin 1 olduğu anda ölçülür ise, Ag/AgCl referans elektrodunun standart indirgenme potansiyeli (E⁰) olarak isimlendirilir ve 0,222 V olarak ölçülür (Eşitlik 3.2).





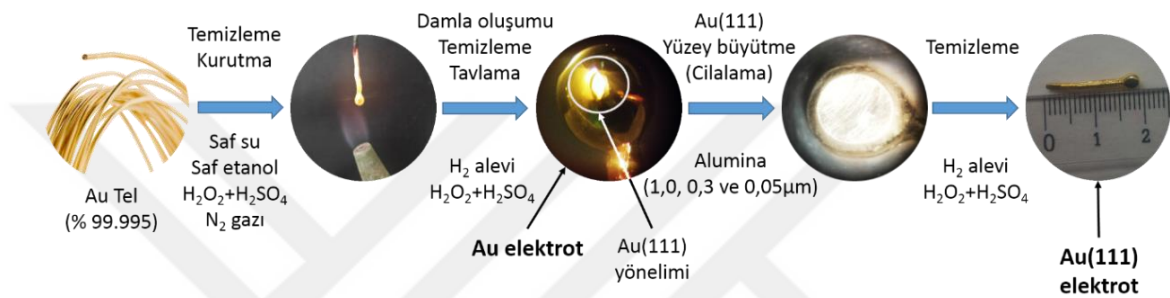
Şekil 3.3. Ag/AgCl referans elektrot

3.1.2. Au ve Au(111) substratlarının hazırlanması

Au ve Au(111) elektrotlarının üretim aşamaları Şekil 3.4'te verilmiştir. Yaklaşık 1 mm çapındaki Au tel, sırasıyla, saf su, saf etanol, pirana çözeltisi (1:3 v/v; %30 H_2O_2 , 18 M H_2SO_4), saf su ve son olarak saf etanolle temizlendikten sonra azot gazı akışında kurutulmuştur. Temiz Au tel ucunda 3,0-5,0 mm çapında bir damla oluşacak şekilde H_2 alevinde eritilmiştir. Daha sonra, damlacık etrafında çok sayıda düzgün Au(111) yüzeyi oluşana kadar H_2 alevinde tavlannmıştır. Temizleme ve tavlama prosedürü esnasında Au(111) kristal yapılarının yaklaşık bir mm^2 kadar, gözle görülebilecek boyutlara büyüdüğü gözlenmiştir (Hamelin 1996). Bu şekilde hazırlanan Au elektrotları, AB'nin elektrokimyasal polimerizasyon çalışmalarında kullanılmıştır.

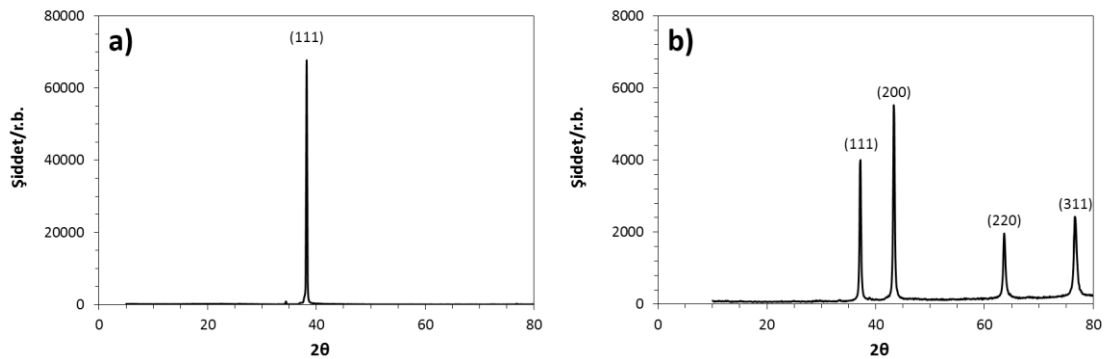
Yukarıda tarif edilen şekilde hazırlanan Au substratının boyutu çok küçük olmasından dolayı Au(111) yüzeylerini el ile izole etmek zor bir işlemdir. Ayrıca bir mm^2 gibi küçük bir yüzeyi izole ederken aktif yüzey alanındaki değişiklikler, ihmal edilemeyecek kadar büyüktür. Bu sebeplerden dolayı daha büyük Au(111) yüzeyi hazırlamak için en uygun

kristal yüzeyi sırayla büyük, orta ve küçük çaplı (1,0, 0,3 ve 0,05 μm) alümina çözeltileriyle yüzey paralelinde aşındırılarak daha büyük yüzey alanına sahip ($\sim 3 \text{ mm}^2$) alt tabakalara ulaşılmıştır (Clavilier *et al.* 1980). Yüzeyin genişletilmesinden sonra pirana çözeltisi yardımıyla H_2 alevinde eritmeden temizleme işlemi yapıp azot gazında kurutulmasıyla NADH'nin amperometrik belirlenmesinde kullanıma hazır ve genişletilmiş yüzeye sahip Au(111) elektrotları hazırlanmıştır.



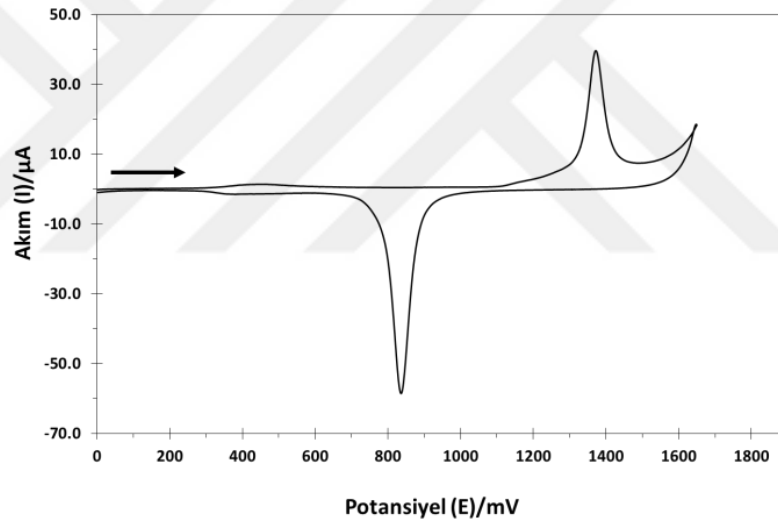
Şekil 3.4. Au ve Au(111) elektrotlarının hazırlama aşamaları

Hazırlanan Au(111) elektrodunun XRD difraktogramı Şekil 3.5.a'da verilmiştir. Spektrum incelendiğinde sadece (111) kristal yönelimine sahip, $2\theta=38,2^\circ$ 'de bir pik gözlenmiştir (JCPDS kart no: 04-0784). Polikristal bir Au levhanın XRD difraktogramı incelendiğinde ise (111), (200), (220) ve (311) yönelimlerine sahip pikler görülmektedir (Şekil 3.5.b). Bu durum Au(111) elektrodunun hazırlanmasında yüzeyinin büyütülmesi için uygulanan aşındırma işleminin doğru bir açıyla ve iyi bir şekilde yapıldığını, yüzeyin sadece (111) doğrultusunda büyütüldüğünü göstermektedir.



Şekil 3.5. Au(111) (a) ve Au levha (b) elektrotlarının XRD verileri

Tek kristal yüzeylerin yüzey enerjileri düşük olduğu için özellikle ince tabaka çalışmalarında tercih edilir. Ayrıca polikristal yapılarda, kristal yönelme sınırları arasına adsorplanan maddeler, materyalin elektriksel verimini azaltmaktadır (Woll *et al.* 1989). Buna bağlı olarak voltamogramlarda tek kristal yapıların pik akımları daha yüksek ve keskindir. Şekil 3.6'da Au(111) elektrodunun 0,1 M H₂SO₄ elektrolitinde 200 mVs⁻¹ tarama hızında 0,0 ile 1650 mV arasında dönüşümlü voltamogramı verilmiştir. Yaklaşık 1370 mV'de bir oksidasyon ve 840 mV'de bir redüksiyon için oldukça keskin ve yüksek pik akımlarında redoks çifti görülmüştür. Bu sonuç, Au(111) elektrot yüzeyinin tek kristal bir yapıda olduğunu işaret etmektedir (Kondo *et al.* 2007). Polikristal Au'da ise, bu pikler daha yayvan olarak meydana gelmektedir.



Şekil 3.6. Au(111) elektrodunun 0,1M H₂SO₄ çözeltisindeki voltamogramı (referans elektrot: Ag/AgCl, $v=200$ mVs⁻¹)

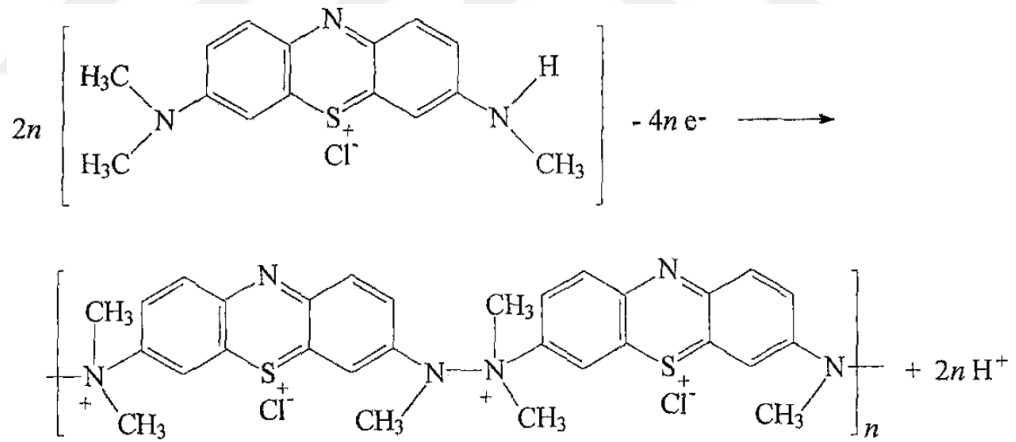
3.1.3. ITO elektrotlarının hazırlanması

Elektrokimyasal olarak geniş bir çalışma aralığına sahip olan ITO elektrotlar, iletken olmalarının yanı sıra optiksel geçirgenliğe de sahiptirler. Bu özelliklerinden dolayı ITO elektrotları, elektrokimyasal uygulamalarda optiksel incelemeler için yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. Tek kullanımlık ITO elektrotları çalışma öncesinde bazı temizleme işlemlerinden geçirilerek hazırlanmıştır. Bunun için öncelikle ITO, deterjan çözeltisinde

5 dakika sonike edilerek ve sonrasında saf su ile iyice durulanarak temizlenmiştir. Ardından 5 dakika etanol çözeltisinde sonike edildikten sonra iyice temizlenmiş ITO elektrodu argon (veya azot) gazı akışında kurutulularak kullanıma hazır hale getirilmiştir.

3.1.4. Poli(AB) ince filmlerinin hazırlanması

AB'nin polimerizasyonu daha önce Pt elektrot üzerinde, 0,5 M sodyum klorür destekli 2,5 mM AB elektrolitinde, pH 2,0 ile 11,0 arasında, 60 mV s⁻¹ tarama hızıyla -0,25 ile +1,10 V arasında çalışılmıştır. 0,65 V üzerindeki potansiyellerde her pH aralığında AB'nin polimerleştiği gözlenmiştir. Fenotiyazinle aynı şartlarda CV uygulandığında ise polimerizasyon gözlenmemiş ve IR spektrumu yorumları desteği ile AB için Şekil 3.7'deki gibi bir polimerizasyon mekanizması gerçekleştirildiği düşünülmüştür (Shan and Mu 2001).



Şekil 3.7. AB'nin Pt üzerinde elektropolimerizasyon mekanizması (Shan and Mu 2001)

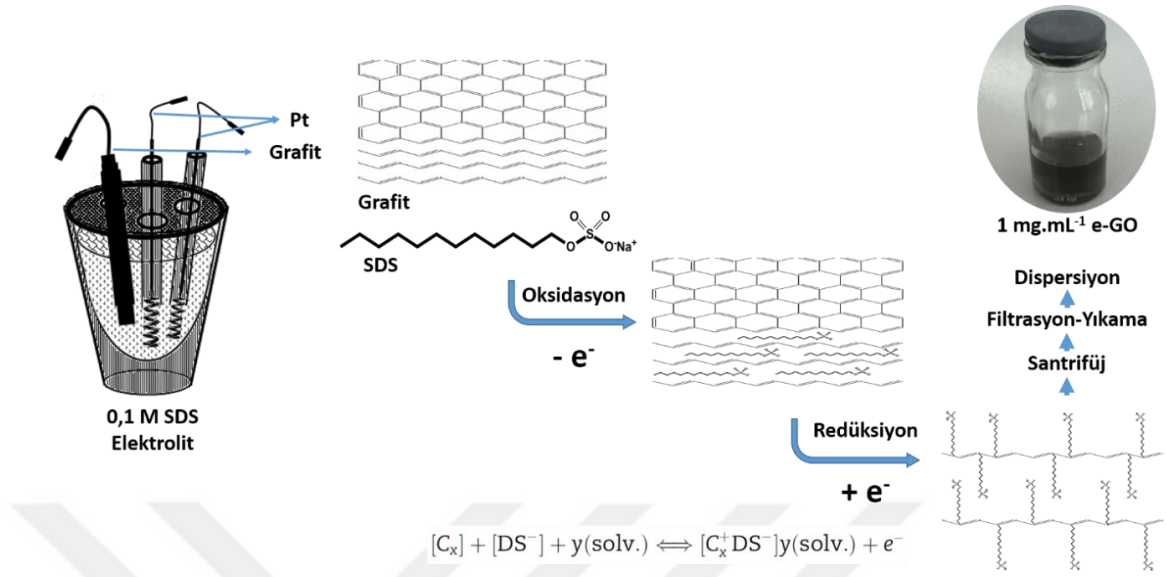
Bu tez çalışmasında AB'nin polimerizasyonu için çalışma elektrodu amaca bağlı olarak polikristal Au, Au(111) veya ITO elektrotlar, karşıt elektrot olarak Pt tel ve referans elektrot olarak Ag/AgCl elektrodu kullanılmıştır. Elektrolit olarak 0,1 mM AB içeren 0,1 M'lik, sodyum dihidrojen fosfat (NaH₂PO₄) ve disodyum hidrojen fosfat (Na₂HPO₄) kullanılarak seyreltik hidroklorik asit (HCl) ve seyreltik sodyum hidroksit (NaOH) yardımıyla farklı pH değerlerine ayarlanmış PBS'ler kullanılmıştır. Elektrokimyasal

polimerizasyonda belirli bir başlangıç potansiyeliyle beraber farklı üst potansiyellerden dönülerek CV tekniğinin kullanımı yanında farklı sabit potansiyellerde CPE tekniği de kullanılmıştır. Genel çalışmalarda polikristal Au, morfolojik karakterizasyonlarda Au(111) yüzeyi, optik karakterizasyonlarda ise ITO elektrodu veya Au levha elektrotları kullanılmıştır. Elektrokimyasal süreç öncesinde çözünmüş oksijenin elektrolitten uzaklaştırılması için çözeltiden 10 dakika N₂ gazı geçirilmiştir. Polimerizasyon süresince hücre sıcaklığı 30°C’de sabit tutulmuştur.

3.1.5. Materyallerin hazırlanması

3.1.5.a. Elektrokimyasal GO (e-GO) sentezi

Tez çalışmalarında kullanılmak üzere e-GO sentezinde, referans ve karşıt elektrot olarak Pt tel, çalışma elektrodu olarak ise grafit çubuğun bulunduğu üç elektrotlu hücre kullanılmıştır. Elektrokimyasal süreç sonunda ayrılan e-GO tabakalarının tekrar bir araya gelerek agregasyonunu önlemek için katkılama maddesi olarak yüzey aktif bir madde olan SDS’nin 0,1 M, 12,5 mL sulu elektroliti tercih edilmiştir. SDS’nin katkılama prosesi için, 12 saat süreyle +2,0 V’lik sabit potansiyel, e-GO/SDS yapılarının pul pul dökülerek grafit elektrottan ayrıştırma prosesi içinse 2 saat süreyle, -1,0 V’lik sabit potansiyel uygulanmıştır. Katkılama ve ayrıştırma süreci sonunda elde edilen 12,5 mL’lik e-GO/SDS süspansiyonu ağzı kapalı bir kaba alınarak tekrarlanan çalışmalarla 100 mL olana kadar biriktirilmiştir. Katkılama sürecinde, Gr’nin oksidasyon potansiyeli olduğu düşünülen +1,6 V’nin üzerinde bir potansiyel uygulandığından elde edilecek e-GO/SDS süspansiyonunda okside olmuş Gr yapılarının da olması beklenmektedir (Alanyalıoğlu *et al.* 2012). Şekil 3.8’de bu prosesin aşamaları gösterilmiştir.



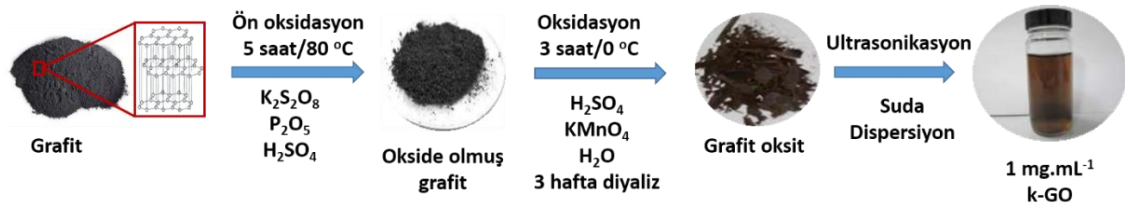
Şekil 3.8. e-GO üretim prosesinin şematik gösterimi

e-GO/SDS süspansiyonu 100 mL'ye ulaştığında oluşan çok katmanlı büyük grafitik parçalardan arındırmak için 5 dakika süreyle 500 rpm'de santrifüj yapıp sonrasında dekante edilmiştir. Dekantasyon işleminden sonra 200 nm por çapına sahip polikarbonat membran kullanılarak vakum filtrasyonu uygulanmıştır. Bu işlemle e-GO/SDS süspansiyonu hem çok küçük boyutlu Gr benzeri yapılardan hem de mümkün olduğu kadar SDS'den arındırılmıştır. Birkaç kez su ile yıkama yapıldıktan sonra üzerinde temiz e-GO'nun şekillendiği membran filtrasyon düzeneğinden çıkartılarak etüvde 60°C'de kurutulmuştur. Gravimetrik analizle miktarı belirlenip 1,0 mgmL⁻¹ konsantrasyona sahip, sulu e-GO süspansiyonu hazırlanmıştır. Bu süspansiyon, 2 saat sonike edilerek iyi bir şekilde dispersiyonu sağlanmış ve çalışmalarda kullanılmak üzere e-GO stok süspansiyonu olarak saklanmıştır.

3.1.5.b. Kimyasal GO (k-GO) sentezi

k-GO'nun modifiye Hummers metodu kullanılarak iki aşamalı bir oksidasyon süreci sonunda sentezleme prosedürü Şekil 3.9'da gösterilmiştir (Hummers and Offeman 1958). 3,0 g grafit tozu daha önce 80°C'ye ısıtılmış 12,5 mL derişik H₂SO₄, 2,5 g K₂S₂O₈ ve 2,5 g P₂O₅ karışımı üzerine yavaş yavaş ilave edilmiş ve sonra beş saat aynı sıcaklıkta,

soğutulduktan sonra ise üzerine 500 mL saf su eklenerek oda sıcaklığında bir gece bekletilmiştir. Bu ön oksidasyon işleminden sonra süzgeç kâğıdından süzülüp saf su ile birkaç defa yıkanan çökelek, buz banyosunda bekletilen 115 mL derişik H_2SO_4 çözeltisine karıştırılmıştır. Üzerine güçlü bir oksitleyici olan $KMnO_4$ 'ten 15 g alınarak sıcaklığı $10^\circ C$ 'nin altında kalacak şekilde kontrollü olarak yavaş yavaş ilave edilmiştir. Daha sonra $35^\circ C$ 'de iki saat bekletilen karışım tekrar buz banyosuna alınarak yine sıcaklık kontrol edilerek üzerine 250 mL saf su eklenmiştir. Karıştırılarak $50^\circ C$ 'de iki saat bekletildikten sonra, 750 mL saf su ve 12,5 mL H_2O_2 (%30'luk) ilavesiyle sarı-kahverengi bir renk gözlenmiştir. Bir gün oda sıcaklığında bekletildikten sonra süzgeç kâğıdında süzölmüştür. Okside olmuş çökelek defalarca seyreltik HCl ve sonrasında saf su ile yıkanmasından sonra 3-4 hafta diyalizde bekletilmiştir. Diyaliz sonrası süzme ve saf su ile yıkama işlemlerinin ardından elde edilen koyu kahverengi grafit oksit çökeleği kurutulmuştur. Kurutulmuş grafit oksitten belirli bir miktar alınarak 1 saatlik bir sonikasyon sonrasında $1,0 \text{ mg mL}^{-1}$ 'lik stok k-GO çözeltileri hazırlanmıştır. Yapısında bol miktarda bulunan oksijenli fonksiyonel gruplardan ötürü hidrofilik olması nedeniyle stok çözeltinin 6 aydan daha fazla bir süre homojenliğini koruduğu gözlenmiştir.



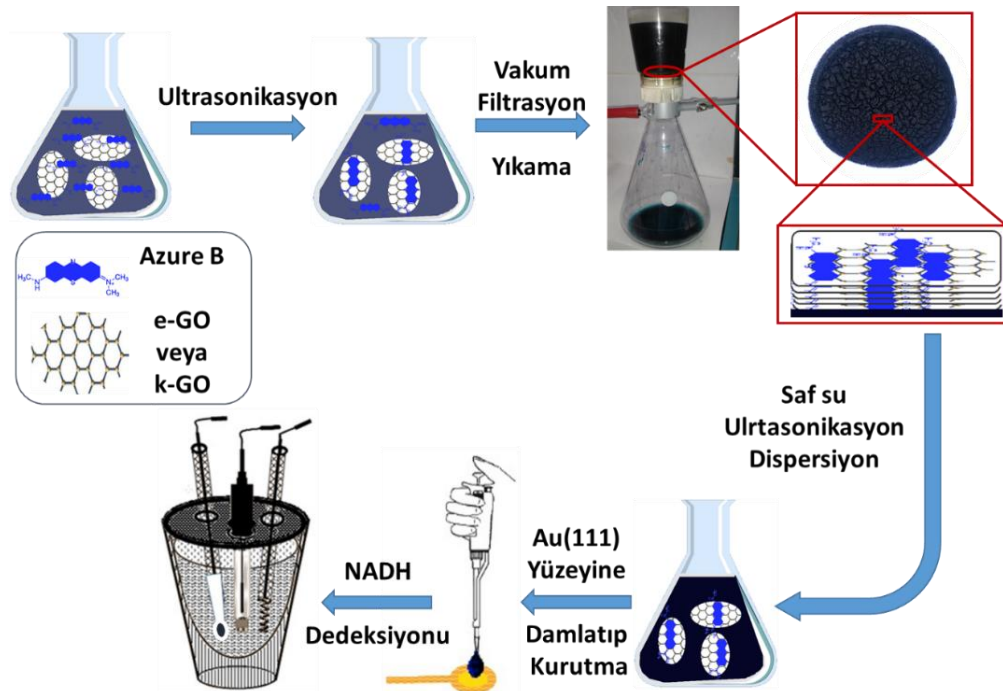
Şekil 3.9. k-GO üretim prosesinin şematik gösterimi

3.1.5.c. Modifiye elektrotların hazırlanması

AB ile e-GO ve k-GO tabakaları arasındaki etkileşme ve yüzey modifikasyonlu Au(111) elektrotların üretimi şematik olarak Şekil 3.10'da gösterilmiştir. e-GO ve k-GO stok çözeltilerinden alınarak $0,1 \text{ mg mL}^{-1}$ 'lik 100 mL çözeltileri hazırlanmıştır. Ayrıca iki farklı beherde $0,1 \text{ mM}$ 'lik 100 mL AB çözeltileri hazırlanmıştır. e-GO ve k-GO dispersiyonunu sağlamak ve AB agregasyonunu önlemek için karıştırma öncesi

çözeltiler, bir saat ultrasonik su banyosunda bekletilmiştir. Daha sonra AB ihtiva eden çözeltilerden biri 500 rpm'lik hızla karıştırılan e-GO süspansiyonu üzerine yavaş yavaş ilave edilmiştir. Aynı şartlarda diğer AB çözeltisi ise k-GO çözeltisi üzerine ilave edilmiştir. İlaveler sonrası, AB molekülleri ile e-GO ve k-GO tabakaları arasında en iyi etkileşimi sağlamak için karışımlar bir saat daha sonikasyonda bekletilmiştir. Sonikasyon sonrası çözeltideki serbest AB moleküllerinin ayrılması için 200 nm por çapına sahip polikarbonat membran kullanılarak vakum filtrasyon ile süzme işlemi ve 10'ar mL saf su ile 10 kez yıkama işlemi yapılmıştır. Parlak görünümlü e-GO/AB ve k-GO/AB kompozit tabakaları membran üzerinde şekillendiği görülmüştür. Gravimetrik olarak membran üzerindeki kompozitlerin miktarı belirlendikten sonra birkaç dakikalık bir sonikasyon yardımıyla saf suya alınarak $1,0 \text{ mgmL}^{-1}$ 'lik e-GO/AB ve k-GO/AB stok kompozit dispersiyonları hazırlanmıştır.

Süzüntü ise spektrofotometrik yöntemle AB'nin maksimum tutunma miktarını belirlemek için değerlendirilmiştir. Her çalışma öncesinde iyi bir dispersiyonun sağlanması için süspansiyonlar birer saat sonike edilmiştir.

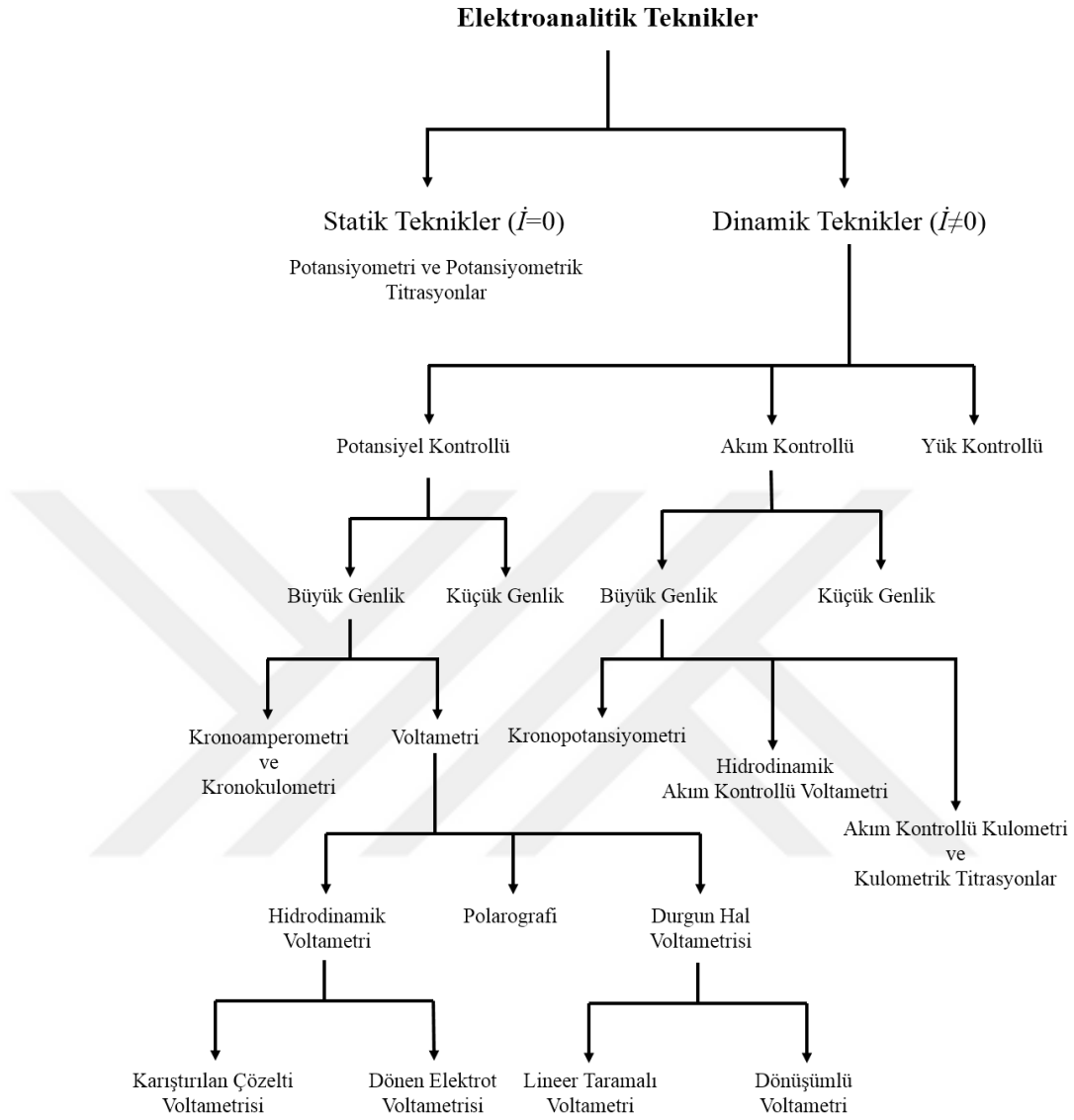


Şekil 3.10. Kompozit elektrot hazırlanması ve uygulamasının şematik gösterimi

Büyütölmüş Au(111) yüzeyine sahip elektrot, hidrojen alevinde, pirana çözeltisi yardımıyla temizlendikten sonra saf su ile yıkanıp azot gazı akışında kurutulmuştur. Elektrokimyasal sürecin sadece Au(111) yüzeyinde gerçekleşmesi için, harici bölgeleri elektrokimyasal olarak aktif olmayan epoksi ile izole edilmiştir. 0,1 mgmL⁻¹ sulu dispersiyonlarına sahip e-GO, k-GO ve AB katkılanarak hazırlanmış k-GO/AB ve e-GO/AB kompozitlerinden gerekli hacimde Au(111) yüzeyine damlatılarak 60°C'deki etüvde kurutulmuştur. Bu sayede, Au(111) elektrodu yanında e-GO/Au(111), e-GO/AB/Au(111), k-GO/Au(111) ve k-GO/AB/Au(111) modifiye elektrotları hazırlanmıştır.

3.2. Elektroanalitik Teknikler

Jaroslav Heyrovsky tarafından çalışılan ve 1959'da Nobel Kimya ödölünü kazandıran polarografik metotların keşfedilmesi ve geliştirilmesi, Haber ve Klemensiewicz'in camsı elektrot üzerine olan çalışmaları ve Sörensen tarafından pH'nın tanımlanması gibi olaylar bundan yaklaşık 100 yıl önceki olaylardır. Bu çalışmalara ek olarak, Ralph Adams'ın 50 yıl öncesinde elektrot yüzeyini modifiye etmesi, elektrokimyanın bugünkü cazibesinin temelini oluşturan önemli araştırmalardandır (Lubert and Kalcher 2010). Elektrogravimetri, kulometri, kondüktometri, potensiyometri, polarografi, amperometri ve voltametri gibi yaygın kullanılan metotların yanı sıra günümüzde kullanılan daha birçok çeşit elektroanalitik metot bulunmaktadır (Şekil 3.11).

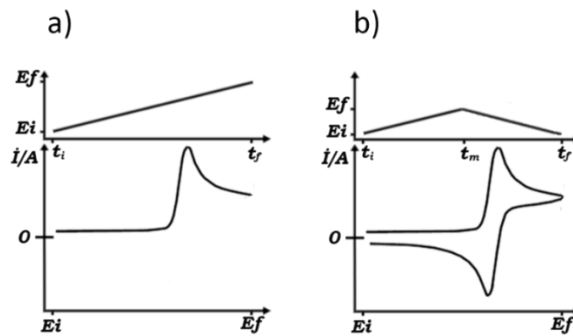


Şekil 3.11. Elektroanalitik tekniklerin sınıflandırılması (Lubert and Kalcher 2010)

Metotların sınıflandırılması için öncelikle devreden bir akımın geçip geçmediğine bakılır. Devreden bir akımın geçmediği statik teknikler, potansiyometri ve potansiyometrik titrasyon teknikleridir. Elektron alış-verişi neticesinde devreden bir akımın geçmesine dayalı dinamik tekniklerde ise, üç elektrotlu hücreler vasıtasıyla akım, potansiyel ve zamanın programlanmasının mümkün olmasından dolayı bunlara bağlı olarak farklı özelliklere sahip çeşitli teknikler türetilabilmektedir. Literatürde dinamik teknikler içinde en çok potansiyel kontrollü tekniklere rastlanılmaktadır. Çalışmalarımızda bu tekniklerden CV ve CPE teknikleri kullanılmıştır.

3.2.1. Voltametri

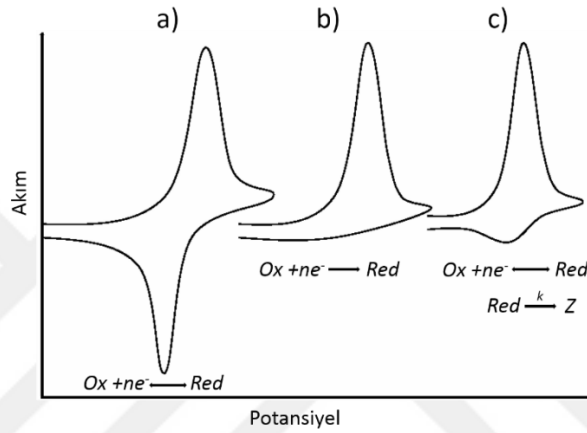
Voltametri, zamanla doğrusal bir şekilde potansiyel değişimi sonucu elektrokimyasal hücredeki elektroaktif türlerin tepkisini voltamogram diye adlandırılan akım-potansiyel eğrisiyle inceleyen bir tekniktir. Zamana bağlı olarak potansiyeldeki doğrusal değişim, Şekil 3.12.a'da görüldüğü gibi t_i zamanında bir ilk potansiyelden (E_i), t_f zamanındaki son potansiyele (E_f) doğru tek bir yönde, belirli bir doğrusal hızda potansiyelin ilerlemesiyle Doğrusal Taramalı Voltametri (LSV) metodu olarak isimlendirilen teknik türetilmiştir. Başlangıçta t_i anında E_i potansiyeli ile t_m anında E_f potansiyeline doğrusal bir hızla ulaştıktan sonra potansiyeldeki bir geri dönüş ile yine aynı hızda t_f anında, E_i veya farklı bir potansiyele erişildiği zaman ise CV metodu olarak bilinen teknik türetilmiştir (Şekil 3.12.b). Tarama hızları ve yönleri (anodik veya katodik) farklı olabilir. Özellikle CV metodu oldukça yaygın olarak kullanılmakta ve elektroaktif analit hakkında daha fazla bilgi sunmaktadır. Çözeltinin karıştırılması veya elektrodun çevrilmesiyle hareketli bir elektrolit ortamı sağlandığında ise hidrodinamik metotlar türetilir. Çalışma elektrodu olarak, kapiler bir borudan damlayan cıva kullanılırsa tekniğin adı polarografi, akım/potansiyel eğrisinin adı ise polarogram olur.



Şekil 3.12. Üstlerinde potansiyel-zaman eğrileri ile birlikte LSV (a) ve CV (b) voltamogramları

CV'de elektroaktif türün indirgenme ve yükseltgenme aktiflikleri veya tepkime mekanizmaları bakımından genel olarak üç çeşit voltamogram gözlenmektedir. Şekil 3.13'te bir elektroaktif türün indirgenme ve yükseltgenme kinetik hızlarının birbirine eşit olduğu tersinir (a), tepkimenin tersinmez olduğu (b) veya ileri hız sabitinin geri yöndeki

hız sabitinden büyük olduğu ya da ürünün kimyasal bir etkileşimle farklı bir ürüne dönüştüğü yarı tersinir (c) sistemler için voltamogram tipleri verilmiştir. “Dönüşümlü” kelimesinin, teknik ve tepkime bakımından voltamogramlarda anlamlarının karıştırılmaması için tepkimelerde tersinir, tersinmez ve yarı tersinir, tekniklerde ise potansiyel taramaya göre dönüşümlü, dönüşümsüz (veya lineer) şeklinde kullanıldığı görülmektedir.



Şekil 3.13. Tersinir (a), tersinmez (b) ve yarı tersinir (c) voltamogram tipleri

Voltamogramlarda yarı pik potansiyeli ($E_{1/2}$), formal potansiyele ($E^{0'}$) ve bunlar da anodik pik potansiyeli (E_{pa}) ile katodik pik potansiyelinin (E_{pc}) toplamının yarısına eşittir (Eşitlik 3.3).

$$E_{1/2} = E^{0'} = \frac{E_{pc} + E_{pa}}{2} \quad (3.3)$$

Tersinir bir redoks tepkimesinin voltamogramı alındığında anodik ve katodik pik potansiyelleri arasındaki ilişkiler, Eşitlik 3.4’te verilmiştir. Eşitlikteki 58 değeri, literatürde 57-59 arasında değişmekle beraber, çözelti direnci ve matematiksel düzenlemelerden dolayı pratikte 90’a kadar artabilmektedir. Tersinir sistemlerdeki voltamogramlarda anodik ve katodik pik akımları birbirine eşit veya çok yakın olmaktadır (Eşitlik 3.5).

$$\Delta E_p = |E_{pc} - E_{pa}| = 2,218 \frac{RT}{nF} \quad \text{veya} \quad \Delta E_p = \frac{58}{n} mV \quad (25^\circ\text{C'de}) \quad (3.4)$$

$$\frac{|i_{pc}|}{|i_{pa}|} \cong 1 \quad (3.5)$$

Elektrokimyasal bir süreçte elektrot prosesini belirlemek için farklı tarama hızlarında dönüşümlü voltamogramlar alınarak pik akımının tarama hızının kareköküne karşı grafiği çizilir. Grafikte doğrusallık var ise elektrot prosesi difüzyon kontrollü, doğrusallık yok ise adsorpsiyon kontrollü olduğu ileri sürülür. Adsorpsiyon kontrollü olduğunu teyit etmek için ayrıca pik akımının tarama hızına karşı grafiği çizilerek lineerlik gözlenmesi beklenir (Bard and Faulkner 2011).

3.2.1.a. Randles-Sevcik eşitliği

Elektrokimyasal bir hücrede bulunan türler, çok yoğun olduğu bölgeden az yoğun olduğu bölgeye hareketleri olan difüzyon, çözeltinin karıştırılmasıyla türlerin hareket ettirilmesi olan konveksiyon ve anyon ve katyonların anot, katot ve birbirleri arasındaki itme-çekme kuvvetlerinden kaynaklanan migrasyon olarak üç değişik hareket şekline sahiptirler. Elektrokimyada kullanılan eşitlikler bu hareket türlerine göre değişiklik gösterir. Karıştırılmayan bir çözeltide, tersinir bir elektroaktif türün indirgenme veya yükseltgenmesinde alınan veya verilen elektron sayısı (n) ve konsantrasyon (C , molcm^{-3}) biliniyorsa belirli bir elektrot yüzey alanı (A , cm^2) üzerinde belirlenen bir tarama hızında (v , Vs^{-1}) çözeltinin dönüşümlü voltamogramı alındığında elde edilen anodik veya katodik pik akımı (I_p , A), Eşitlik 3.6'da yerine konularak difüzyon katsayısı (D , cm^2s^{-1}) hesaplanabilir. Daha doğru bir hesaplama yapmak için farklı tarama hızlarında ölçülen pik akımları ve karşılık gelen tarama hızlarının karekökleri ile bir $I_p - v^{1/2}$ doğru grafiği çizilir. Bu eğrinin doğru denklemi Eşitlik 3.7'de verilmiştir. Aynı eşitlik ile D biliniyorsa, elektrodun elektroaktif yüzey alanı (A) da hesaplanabilir. Tersinmez bir elektrokimyasal sistemde, Randles-Sevcik eşitliğinin farklı bir türevi olan, Eşitlik 3.8 kullanılır. Eşitlikte, transfer katsayısı (α) azaldıkça sistem, tersinirden tersinmeze doğru değişir. Hem Eşitlik

3.6'da hem de Eşitlik 3.8'de görüldüğü gibi pik akımları tarama hızının karekökü ile doğru orantılıdır. Yalnız tersinir sistemdeki eğim tersinmeze göre daha büyüktür. Yarı tersinir sistemlerde ise belirli bir tarama hızına kadar eğim tersinire benzese de, belirli bir tarama hızından sonra azalarak tersinmeze benzer. Tersinir sistemlerde tarama hızının değişmesi pik potansiyellerini etkilememekle beraber yarı tersinir ve tersinmez sistemlerde tarama hızına bağlı olarak pik potansiyellerinde kaymalar gözlenir.

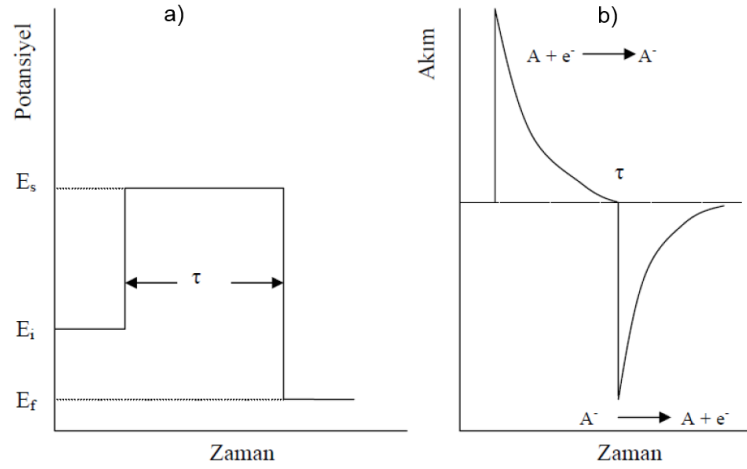
$$I_p = 2,687 \times 10^5 n^{3/2} AC_0^* D^{1/2} v^{1/2} \quad (3.6)$$

$$\lg \theta = 2,687 \times 10^5 n^{3/2} AC_0^* D^{1/2} \quad (3.7)$$

$$I_p = 0,4463 n F A D^{1/2} v^{1/2} C^* \left(\frac{\alpha n F}{RT} \right)^{1/2} \quad (3.8)$$

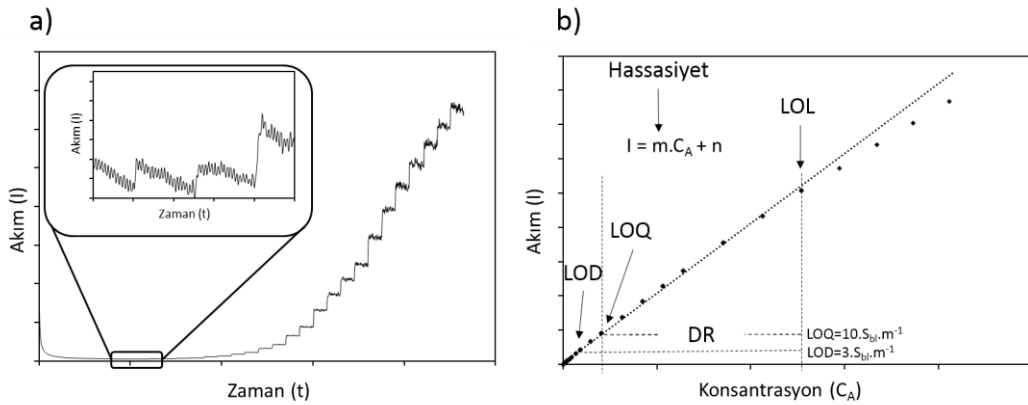
3.2.2. Krontamperometri

Karıştırılmayan bir çözeltide, çalışma elektroduna uygulanan potansiyelin, elektroaktif türün redoks tepkimesinin olmadığı bir potansiyelden tepkimenin olduğu bir potansiyele aniden değiştirilmesi sonucu elde edilen akımın zamana karşı grafiği çizilerek yorumlanan tekniğe “krontamperometri” denilmektedir. Şekil 3.14'te A elektroaktif maddesinin zamana karşı potansiyeldeki değişimi (uygulanan sinyal) (a) ve krontamperometrik eğrisi (b) verilmiştir. E_i potansiyeli A maddesini indirgemek için yeterli küçüklükte değildir. Potansiyel, A maddesinin indirgenme tepkimesi verebileceği daha düşük bir E_s potansiyeline aniden düşürülüp τ süresi kadar sabit tutulduğunda, A maddesi indirgenirken devreden geçen elektronlar vasıtasıyla zamana karşı, maksimum bir değerden başlayıp eksponansiyel olarak azalan bir akım eğrisi gözlenir. Eğer tepkime tersinir ise potansiyel, geri dönüşümün sağlandığı bir E_f potansiyeline aniden artırıldığında biraz önce indirgenen A^- türünün tekrar A' 'ya yükseltgenmesiyle, bir önceki gözlenen akım eğrisinin tam tersi olan bir eğri elde edilir.



Şekil 3.14. A elektroaktif türü için zamana göre uygulanan potansiyeldeki değişim (a) ve A türü için kronoamperometrik eğri (b)

Amperometri uygulamalarında kullanılan sabit potansiyeli belirlemek için öncelikle analitin elektrokimyasal davranışı incelenir. Bunun için voltamogram veya polarogram verileri değerlendirilir. Amperometri uygulamasında kullanılacak olan sabit potansiyel, akım-potansiyel eğrililerindeki yükseltgenme veya indirgenmenin olduğu pikin plato bölgesinden seçilir. Seçim, düşük potansiyel ve duyarlılık kriterleri gözetilerek yapılır.



Şekil 3.15. Karıştırılan kör çözelti içerisinde, farklı derişimlerdeki analit çözeltisinin zamanla eklenmesiyle elde edilen amperometri verisi (a) ve kalibrasyon eğrisi (b)

Amperometrik ölçümlerde uygulanacak potansiyelde analit harici türlerin redoks tepkimesi vermediği belirli bir hacimde elektrolitler seçilir ve çözelti karıştırılır.

Elektrodun sıfıra yakın, stabil bir durum sergilemesine kadar belirli bir zaman geçtikten sonra hacmi bilinen miktarda farklı konsantrasyonlardaki analit çözeltilerinden aralıklarla ilave edilerek akımdaki değişimler kaydedilir. Bu şekilde elde edilen amperometrik veri (a) ve bu veriden faydalanılarak bir akım-konsantrasyon veya akım yoğunluğu-konsantrasyon grafiği (kalibrasyon eğrisi) (b) oluşturulur (Şekil 3.15). Kalibrasyon eğrisinden elde edilen doğru denkleminin eğimi duyarlılığı verir. Eşitlik 3.9 ile analitin tayin edilebilecek en düşük sınırı olan gözlenebilme sınırı (LOD; Limit of Detection), Eşitlik 3.10 ile kantitatif tayin sınırı (LOQ; Limit of Quantification) ve kalibrasyon eğrisinde gözlenen doğrusallık üst değeri ile üst tayin sınırı (LOL; Limit of Linearity) belirlenir ve LOQ-LOL aralığına tayin aralığı (DR; Detection Range, Dynamic Range veya LR; Linear Range) denilir. Eşitliklerde S_{bl} ; analit ilavesinden önceki sinyalin standart sapmasını, m ; kalibrasyon doğru denklemindeki eğimi (duyarlılığı) ifade etmektedir.

$$LOD = \frac{3 \times S_{bl}}{m} \quad (3.9)$$

$$LOQ = \frac{10 \times S_{bl}}{m} \quad (3.10)$$

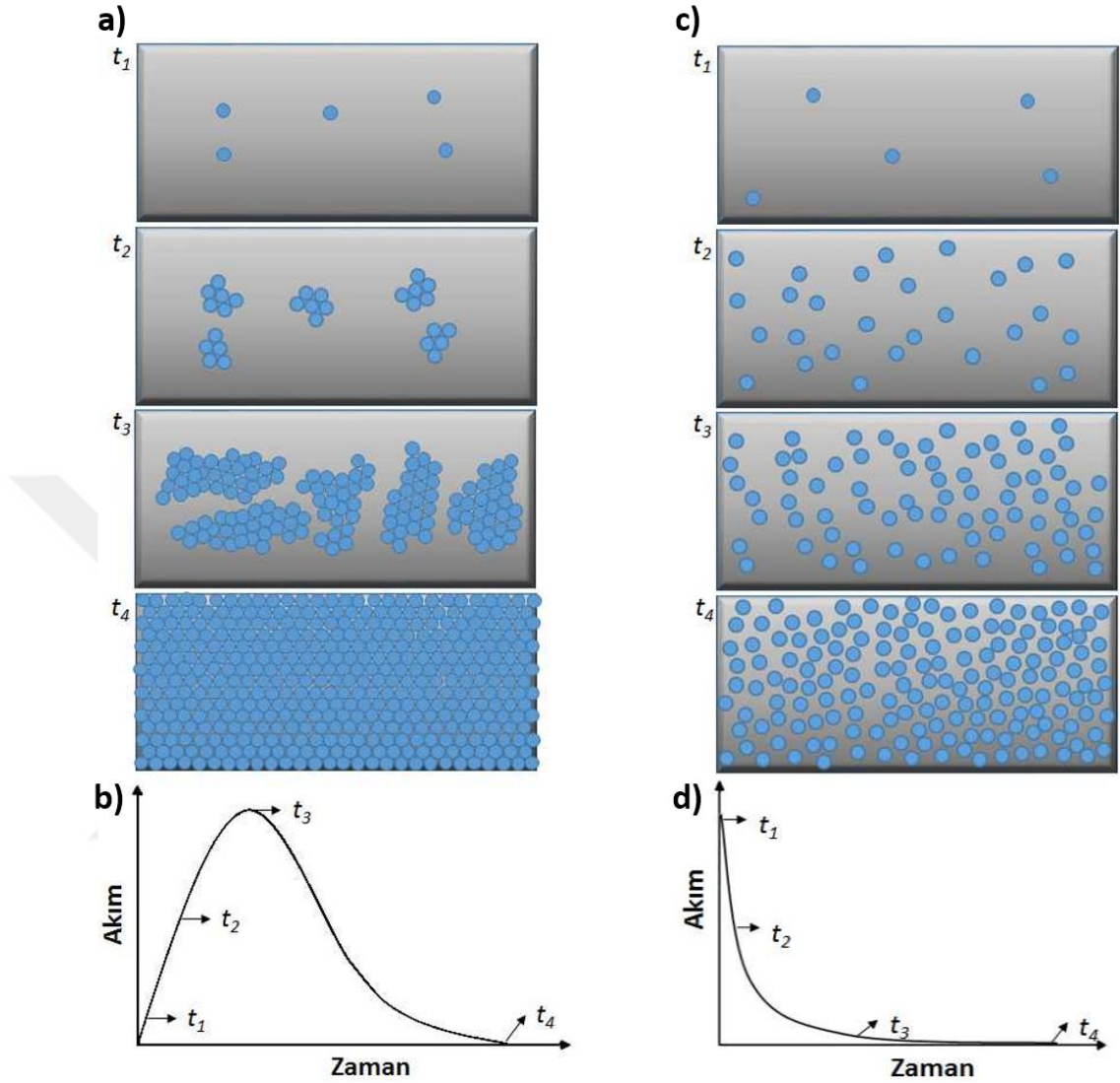
3.2.3. Elektrokristalizasyon (BFT modellemesi)

Kronoamperometri tekniği kullanılarak çalışma elektrodu yüzeyine elektroaktif türün biriktirilme miktarı kontrol edilebilir, birikmenin çekirdek oluşumu ve çekirdek büyümesi yani elektrokristalizasyon mekanizmaları ve reaksiyon kinetiği hakkında yorum yapılabilir. Elektrokristalizasyonda substratın yüzey niteliği yanında morfolojisi de önemlidir. Elektroaktif türün substrattaki polikristal yönelim sınırlarında birikmesi, elektriksel verimde bir azalmaya sebep olacağından genelde böyle bir yönelme sınırı olmayan tek kristal yapılı yüzeyler substrat olarak tercih edilmektedir. Elektroaktif türün daha önce adsorplanmış kendi türüne veya direk yüzeye olan ilgisi çekirdekleşme mekanizmasını etkilemektedir. Eğer elektroaktif tür yüzeye daha çok ilgiliyse, çekirdek oluşumu yönünde, kendi türüne daha çok ilgiliyse çekirdek büyümesi yönünde

çekirdekleşme eğilimi görünür. Bu yarışmalı iki mekanizma, kronoamperometri verilerinden faydalanılarak açıklanabilir. Birkaç teorik model içerisinde bu tür çekirdek oluşumu ve çekirdek büyümesi BFT (Bewick, Fleischmann, Thirsk) modeli ile açıklanabilmektedir. Bewick ve grubu, kalomelin ince filmlerini cıva damlası üzerine farklı asidik ortamlardaki birikmesi esnasında elde ettikleri kronoamperogramlardan faydalanarak çekirdekleşme sürecini açıklamışlardır (Bewick *et al.* 1962).

Şekil 3.16'da bu modele göre 2D oluşuma ait şematik gösterim (a) ve akım-zaman eğrisi (b) verilmiştir. Adsorpsiyonun başlangıcında substrat yüzeyi boş olacağından akım da sıfır olur (t_1). Çekirdekleşme esnasında adsorplanan türün adsorbe olduğu yüzeyi haricindeki kenar yüzeyleri elektrot yüzey alanına katkı sağlar. Artan yüzey alanıyla akım da doğru orantılı olarak artmaktadır (t_2). Yüzey alanının maksimum olduğu gelişen çekirdekleşmelerin birbirine temas noktasında akım da maksimum olur (t_3). Daha sonraki adsorbe olan türler kalan boşlukları dolduracağından yüzey alanında azalma, buna bağlı olarak akımda da azalma meydana gelir. Yüzey tamamen kaplandığında ise akım sıfıra gider (t_4).

2D film oluşumu her zaman düzenli bir şekilde meydana gelmemektedir. Düzensiz 2D film oluşumu Langmuir tip mekanizma ile açıklanabilir. Şekil 3.16'da Langmuir tip adsorpsiyonun şematik gösterimi (c) ve akım-zaman eğrisi (d) verilmiştir. Bu tip adsorpsiyonda atom-substrat etkileşim kuvvetleri çok daha büyük ise atomlar yüzeye bir anda rasgele olarak adsorplanırlar ve bu yüzden akım bir maksimumdan başlar (t_1). Atomların yüzeyi zamanla doldurmasıyla (t_2 - t_3) akım, üstel azalmayla sıfıra doğru gider. Eşitlik 3.11, bu tip adsorpsiyondaki zamana bağlı akım değerindeki değişimi göstermektedir. Eşitlikte I ; t anındaki akımı, I_0 ; başlangıç akımını, k ; reaksiyon hız sabitini ve t ; geçen zamanı ifade etmektedir.



Şekil 3.16. İki boyutlu elektrokristalizasyon süreci (a), bu modelin akım-zaman eğrisi (b), düzensiz (Langmuir) tip birikme süreci (c) ve akım-zaman eğrisi (d)

$$I = I_0 \exp (-kt) \quad (3.11)$$

BFT modellemesinde düzenli film oluşumu söz konusudur. Ani (instantaneous) ve gelişen (progressive) olarak ön görülen iki tip süreç bulunmaktadır. Elektrokristalizasyonda; çekirdek oluşumu daha hızlı ise Eşitlik 3.12 ile instantaneous tip, çekirdek büyümesi daha hızlı ise Eşitlik 3.13 ile progressive tip adsorpsiyon muhtemeldir. Bu iki eşitlikteki I_m maksimum akımı ve t_m ise maksimum akım durumundaki zamanı

vermektedir. Eşitlik 3.12 ve 3.13'ün düzenlenmesiyle akım yoğunlukları (j) olarak instantaneous için Eşitlik 3.14 ve progressive için Eşitlik 3.15 türetilir. Eşitlik 3.14'te a ve b , Eşitlik 3.15'te ise c ve d sabit değerlerdir.

$$\frac{I}{I_m} = \frac{t}{t_m} \exp \left[-\frac{(t^2 - t_m^2)}{2t_m^2} \right] \quad (3.12)$$

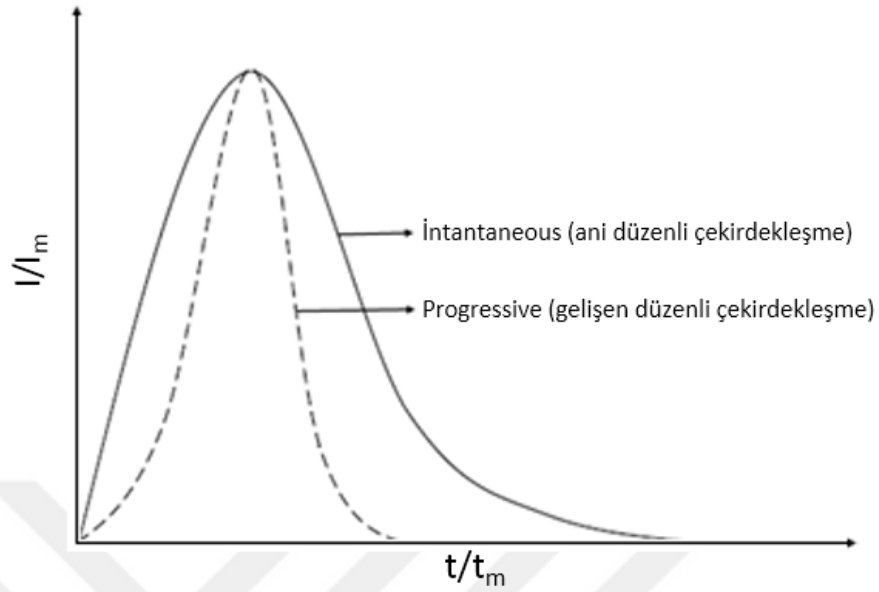
$$\frac{I}{I_m} = \frac{t^2}{t_m^2} \exp \left[-\frac{2(t^3 - t_m^3)}{3t_m^3} \right] \quad (3.13)$$

$$J_{ins} = at \exp(-bt)^2 \quad (3.14)$$

$$J_{prog} = ct^2 \exp(-dt)^3 \quad (3.15)$$

Eşitlik 3.12 ve 3.13'te $\frac{I}{I_m}$ 'nin $\frac{t}{t_m}$ 'ye karşı grafiği çizildiğinde çekirdekleşmenin tipi hakkında yorum yapılabilir. Muhtemel grafik Şekil 3.17'de verilmiştir.

Gelişen çekirdekleşme sürecinde eski çekirdeklerin büyümesi yanında yeni çekirdek oluşumu da söz konusudur. Ani çekirdekleşme sürecinde ise yeni çekirdek oluşumu olmadan elektrot yüzeyindeki eski çekirdek üzerinde büyüme gerçekleşir. Ani çekirdekleşmede çekirdek sayısının aynı kalması ve büyümenin eski çekirdekler üzerinden devam etmesinin bir sonucu olarak gelişen çekirdekleşmeye göre yüzey çok daha fazla pürüzlüdür. Bu iki farklı süreçte elde edilen I/I_m 'nin t/t_m 'ye karşı grafiklerinde, Şekil 3.17'de görüldüğü gibi farklılıklar gözlenir.



Şekil 3.17. BFT modeline göre meydana gelen iki mekanizma

3.3. Karakterizasyon Teknikleri

3.3.1. Yüzey karakterizasyon teknikleri

Elektrokimyasal süreç elektrot-elektrolit arayüzeyinde gerçekleştiği için elektrot yüzeyinin pürüzlülüğü, fonksiyonu, iletkenliği gibi birçok etken, elektrokimyasal süreçlerde oldukça önemli rol oynar. Bu yüzden yüzey karakterizasyonu elektrokimyasal çalışmalarda oldukça önemlidir. Yüzey karakterizasyonu için, rezölüsyonu oldukça yüksek olan hatta atomik boyutta bilgi verebilen taramalı uç mikroskopları (SPM) ve SEM oldukça yaygın olarak kullanılmaktadır. Çalışmalarımızda bu tekniklerden faydalanılmıştır.

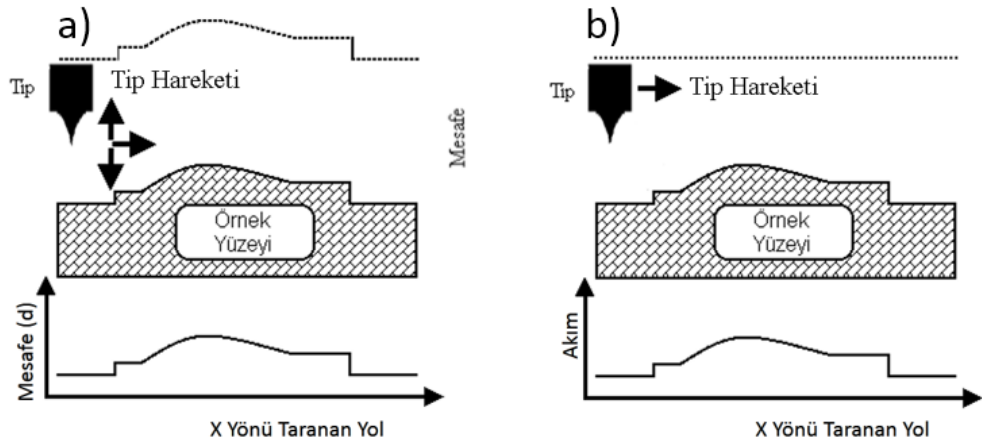
3.3.1.a. Taramalı uç mikroskobu (SPM)

SPM, oldukça sivri bir uç (tip) kullanılarak yüzeyin raster düzleminde taranmasıyla tip ile yüzey arasındaki etkileşimlerin incelendiği tekniktir. Başta STM ve AFM olmakla beraber tipin özelliklerine göre yanal tarama, manyetik veya elektriksel kuvvet, yüzey

potansiyeli, termal tarama ve faz görüntüleme özelliklerine sahip çeşitli SPM türleri bulunmaktadır. Optik ve elektronik mikroskoplarla x ve y eksenini boyunca büyütme yapılarak iki boyutlu görüntü alınırken SPM’de derinlik olarak tabir edilen üçüncü bir z boyutu hakkında da bilgi alınabilir. Bu bilgi, yüzeye oldukça yakın veya temas eden bir ucun yüzeyi taramasıyla elde edilir. Ayrıca SPM teknikleri 0,1 Å gibi çok yüksek rezölüsyona sahip olabilmektedirler. STM ve AFM uç mikroskopları içinde en önemli iki tekniktir.

Gerd Binnig ve Heinrich Rohrer tarafından 1981 yılında geliştirilen STM tekniği, 1986 yılında Fizik dalında Nobel Ödülüne layık görülmüştür. Tip ile yüzey arasındaki kuantum mekaniği ile açıklanabilen akımın tünellenmesi esasına dayanır. Tip olarak, genelde platin-iridyum (Pt-Ir) veya tungsten metali kullanılır. Tünellenen akım Eşitlik 3.16’ya göre mesafe ile eksponansiyel olarak değişmektedir ve bu ilişki STM’in en yüksek rezölüsyona sahip teknik olmasını sağlamaktadır. Bundan dolayı da tip, yüzeye nanometre mertebesinde yaklaştırılır. Eşitlikte I ; tünellenen akımı, V ; tip ile yüzey arasına uygulanan potansiyeli, c ; bir sabiti ve d ; tip ile yüzey arasındaki mesafeyi gösterir. STM tekniği ile görüntülemenin yanı sıra yüzeydeki atom veya moleküller manipüle edilebilir. Yüzeyin yalıtkan olmama şartı bu teknik için bir dezavantajdır. Yüzey aşırı yükseklikte pürüzlü olmamalıdır. Bu teknikte iki mod kullanılır. Sabit akım modunda, akımı sabit tutmak için piezo sürücüyü uygulanan değişken potansiyel ile yüzeye mesafesini korumak için girinti ve çıkıntılarda hareket etmesi sağlanır. Bu teknikle daha yüksek rezölüsyonlara çıkılabilir, fakat sürücünün yüzeye yaklaşıp uzaklaşmasından dolayı tarama hızı düşüktür. Sabit yükseklik olarak bilinen diğer modda ise tip yüzeye belli bir mesafede tutulur ve yüzeye dik doğrultuda hareket ettirilmez. Yükseklik sabit olduğu için girinti ve çıkıntılarda mesafe değişiminden dolayı tünellenen akımdaki değişim bu modun prensibidir. Sabit yükseklik modunda tarama hızlı yapılabilir, fakat rezölüsyon sabit akım moduna göre daha düşüktür. Şekil 3.18, bu iki modun çalışma prensiplerini göstermektedir.

$$I = Ve^{(-cd)} \quad (3.16)$$



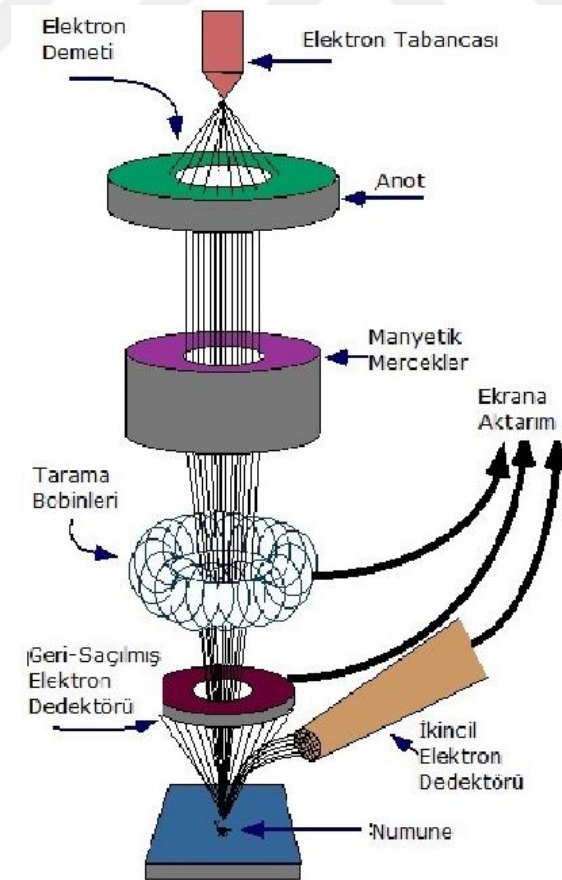
Şekil 3.18. STM'nin tarama modları; (a) sabit akım modu, (b) sabit yükseklik modu

3.3.1.b. Taramalı elektron mikroskobu (SEM)

SEM, bir elektron demetinin yüzeyle etkileşmesi sonucu geri saçılan veya ikincil elektronların detektöre ulaşmasıyla yüzey hakkında bilgi toplandığı tekniktir. Bu teknikte 300.000 kattan daha fazla büyütme yapılarak görüntüler alınabilir. İkincil elektronlar, yüzeye gönderilen elektronlar ile yüzeydeki atomlara ait iletkenlik bandında bulunan elektronların etkileşmesi sonucu oluşur. Ortalama, 2-10 eV enerjiye sahip bu ikincil elektronlar, SEM’de kullanılan temel sinyali oluşturur. Numuneye gönderilen elektronlardan numune yüzeyindeki atomların çekirdeği etrafında elektromanyetik alan etkisiyle elastik olarak etkileşip 180°’lik açıyla geri dönen elektronlar (BSE) SEM tekniğinde kullanılabilir. Bu elektronlar esnek çarpışmaya uğradıkları için enerjileri kaybolmaz. SEM’de kullanılan elektronların sadece numune ile etkileşmesinde, gerek elektron tabancası gerekse dedektörün özelliğine göre vakum ayarlanmalıdır. Termal ve kimyasal kararlılık için de bu gereklidir. Vakum, alan emisyon kullanıldığında yaklaşık 10^{-10} Torr’a kadar artırılmalıdır. Şekil 3.19’da SEM için örnek bir çalışma prensibi resmedilmiştir.

Basitçe bir SEM cihazı elektron kaynağı, toplayıcı lens, tarama bobini, hedef lens, numune ve dedektör ikilisiyle birlikte 5 parçadan oluşur. Elektron kaynağından çıkan elektronlar yüksek akım yoğunluğuna ve küçük yarıçapa sahip olmaları gerekmektedir.

Toplayıcı lensler elektron kaynağından gelen elektronları toplar, bir araya sıkıştırır ve akımı kontrol ederek elektron demetinin kalınlığında, akımda ve yüksek açılı elektronların elimine edilmesinde önemli rol oynar. Toplayıcı lenslerden apertür (çıkış aralığı) yardımıyla daha dar hale gelen elektron demeti, bir tarama bobin setinin elektriksel bir alan oluşturması sayesinde numune yüzeyinde gezdirilmesi sağlanır. Lensler yardımıyla elektron demetinin odaklanması sağlanır. Numuneden gelen elektronlar yön ve özellikleri bakımından farklı oldukları için, ikincil elektronlarda Everhart-Thornley tipi dedektörler, BSE için ise katı hal dedektörleri kullanılır. SEM’de sadece iki boyutlu analiz yapılabilir ve vakum zorunludur. Eğer elektronlar geri saçılmayıp, çok ince bir numuneden geçer ise Geçirmeli Elektron Mikroskobu (TEM) olarak isimlendirilir. TEM tekniğinde topografi haricinde yapısal bilgilere de erişilebilir ve analiz aynı anda tüm yüzeye birden yapılır. TEM’de numunenin oldukça ince olması tercih edilir ve daha yüksek vakum gerektirir.



Şekil 3.19. SEM çalışma prensibi (Anonim 2017c)

3.3.2. Yapı karakterizasyon yöntemleri

3.3.2.a. Infrared (IR) spektroskopisi

Infrared (IR) Spektroskopisi, görünür bölge ile mikrodalga bölgeleri arasında kalan, kızıl ötesi olarak bilinen bölgedeki elektromanyetik radyasyonun moleküldeki kimyasal gruplar tarafından titreşimsel enerji olarak soğurulmasını inceleyen bir spektroskopi tekniğidir. Bu teknik vasıtasıyla özellikle kalitatif açıdan yapı tayini yapılabilir ve kimyasal çevre hakkında bilgi edinilebilir. IR bölgesi, hem görünür bölgenin bir kısmını hem de mikrodalga bölgesinin bir kısmını kapsar. Molekülün veya grubun elektromanyetik özelliklerine göre değişen bir sınıflandırma olmasına rağmen genelde aşağıdaki gibi üç farklı dalga boyu aralığında sınıflandırma yapılmaktadır.

- Yakın IR (Near-IR); Daha yüksek enerjili olan, overton ve harmonik titreşimlerin olduğu, 0,8 μm ile 2,5 μm arası dalga boyu.
- Orta IR (Mid-IR); temel titreşimler ve rotasyonel titreşimlerin olduğu, 2,5 μm ile 25 μm arası dalga boyu.
- Uzak IR (Far-IR); daha az enerjili olan, rotasyonel spektroskopide kullanılan, 25 ile 1000 μm arası dalga boyu.

IR bölgesindeki teori, absorplanan radyasyonun molekül ya da gruplardaki bağların titreşimi ile rezonans yapması esasına dayanır. Belli bir frekansta titreşen bağa, rezonans yapacağı enerjide bir elektromanyetik radyasyon gönderilirse, bağ bu enerjiyi absorplayarak rezonansa girer ve bu enerjideki elektromanyetik radyasyonu geçirmez ya da şiddetini düşürür.

Moleküllerin birçok şekilde titreşimleri mümkündür. Moleküllerin titreşimleri esnasında eğer dipol momentlerinde değişim oluyorsa IR aktif olarak tanımlanır. Molekülün yapısına bağlı olarak N, moleküldeki atom sayısını ifade etmek üzere, lineer bir yapıda ise, N atomlu bir molekülde $3N-5$, lineer değilse $3N-6$ titreşim modu bulunur. Bu modlar başlıca, asimetrik gerilme, simetrik gerilme, makaslama, sallanma, salınma ve burkulma

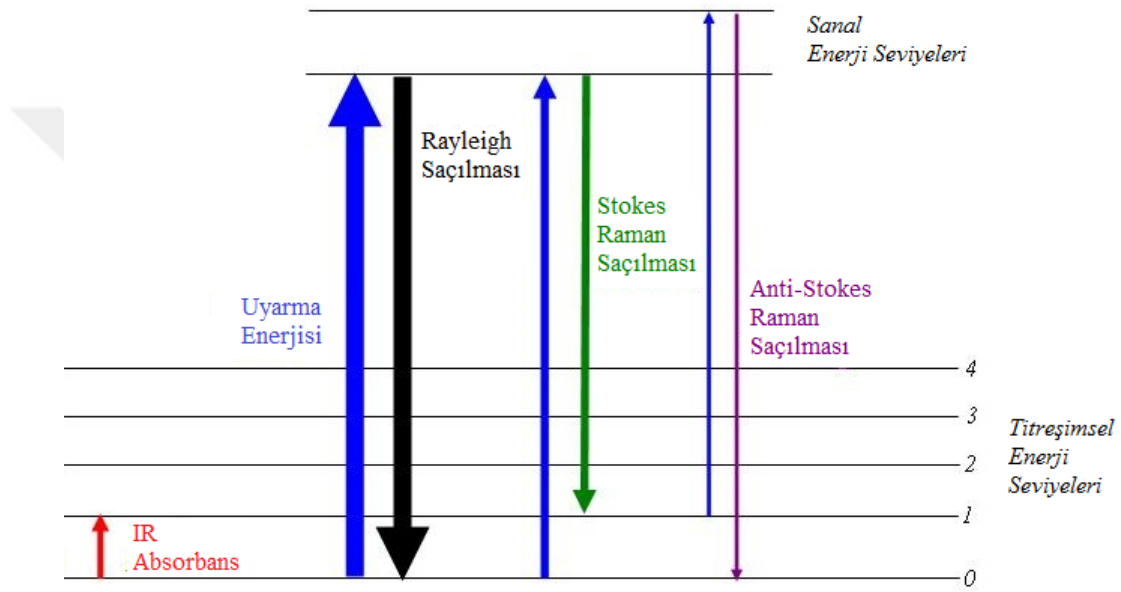
olarak 6 şekilde görülebilir. Diatomik moleküller, sadece bir titreşim moduna sahiptirler. Eğer diatomik molekül N_2 , O_2 gibi aynı cins atomdan oluşuyor ve simetrik bir geometriye sahipse, IR spektrumunda bir band gözlenmez. CO gibi asimetrik bir yapıya sahip olan diatomik bileşiklerde ise IR spektrumunda bir pik gözlenir. Molekül yapısı büyüdükçe bağ sayısı artar. Buna bağlı olarak titreşim sayısı ve IR spektrumundaki band sayısı artar. Bu yüzden molekül büyüdükçe IR yorumlaması güçleşir. IR, aslında yüzde geçirgenlik (%T) olarak absorpsiyon esasına dayanan bir teknik olsa da, cihaza takılan bazı aparatlarla yansıma spektrumları da alınabilir.

3.3.2.b. Raman spektroskopisi

Hintli bir bilim adamı olan C.V. Raman tarafından 1928 yılında keşfedilip 1931 yılında Nobel Fizik ödülünü aldırın Raman Spektroskopisi, absorpsiyondan ziyade saçılan elektromanyetik radyasyondaki değişimleri inceleyen bir tekniktir. Saçılan ışınların büyük bir kısmı enerjilerinde değişiklik olmadan gelen ışınla aynı enerjideki Rayleigh saçılması olarak adlandırılan saçılmalar. Bu tür elastik saçılmanın yanı sıra yaklaşık 10^{-5} katı kadar çok az bir şiddette numune ile etkileşerek enerjisinde değişiklik olan (elastik olmayan), Raman spektroskopisinin ilgilendiği saçılmalar da vardır. Bu yüzden ışın kaynağının gücü oldukça önemlidir ve lazer teknolojisinin gelişmesine kadar Raman spektroskopisi pek fazla kullanılamamıştır.

Raman spektroskopisinin incelediği elastik olmayan saçılmalar, analitteki elektronların titreşim enerji düzeyleri arasındaki fark kadardır ve her türe özgü değişiklik gösterir. Enerjinin absorplanıp emisyon yapmaması için uyarma, elektronik geçişin olmayacağı bir seviyeye yapılır. Saçılmalar gönderilen ışığın enerjisinden daha az ise Stokes kayması, daha yüksek ise anti-Stokes kayması olarak isimlendirilir. Raman saçılmalarına ilişkin molekül enerji diyagramı Şekil 3.20’de verilmiştir. Stokes kaymasına göre daha az şiddet ve daha yüksek enerjiye sahip olan anti-Stokes saçılmaların Stokes saçılmalarında bir karşılığı bulunmaktadır. Floresans özelliğe sahip moleküllerin floresans ışımları, Raman saçılmasına göre daha şiddetlidir ve Raman saçılmasıyla örtüşmektedir. Bu yüzden floresans özellik gösteren maddelerin Raman ölçümlerinde şiddeti düşük olsa da floresans

ışmasıyla örtüşmediği için anti-Stokes Raman saçılmaları dikkate alınır. Raman spektroskopisi kızıl ötesi moleküler absorpsiyon tekniği olan IR'nin bir tamamlayıcısı olarak gösterilmektedir. Titreşimler sonucu yapıda dipol moment değişimi olur ise IR aktif, polarizlenmesinde bir değişim olur ise Raman aktif denir. Raman'ın IR'ye karşı en büyük avantajlarından biri suyun Raman saçılmasının IR absorpsiyonuna göre çok düşük olmasıdır. Bu durum, sulu ortamlarda Raman ile çalışmaya imkân verir.



Şekil 3.20. Raman saçılmalarına ilişkin moleküler enerji diyagramı

3.3.2.c. Morötesi ve görünür bölge spektroskopisi (UV-Vis)

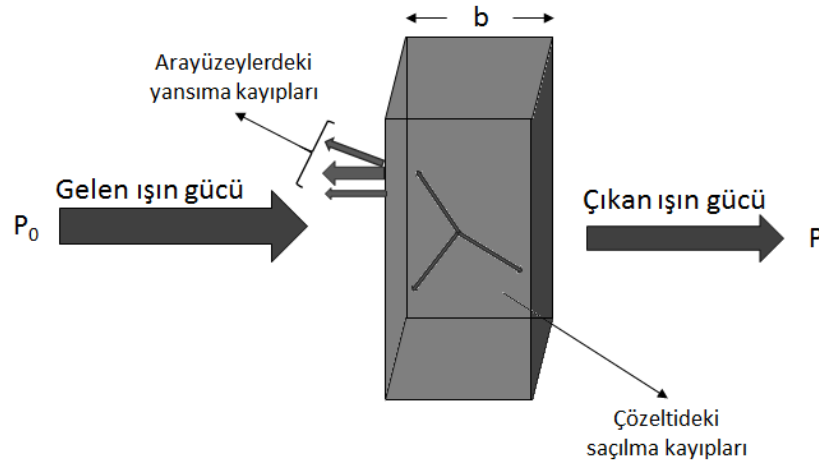
Elektromanyetik radyasyon katı, sıvı veya bir gaz ortamından geçerken ortamdaki maddenin türüne göre ortam, belli frekanstakileri soğurur. Absorpsiyon denilen bu olayda tutulma miktarı, maddenin konsantrasyonu ve elektromanyetik radyasyonun geçtiği yol ile doğru orantılıdır ve türlere göre artar veya azalır. Tutulmanın olacağı frekanslar ise ortamdaki türlere göre değişir. Bu olay, Eşitlik 3.17'de verilen Lambert-Beer kanunu ile açıklanmaktadır. Kanunda bulunan A ; absorbans miktarını (birimsiz), ϵ ; türe özgü molar absorptivite katsayısını ($\text{Lmol}^{-1}\text{cm}^{-1}$), b ; elektromanyetik radyasyonun geçtiği yolu (cm) ve c ; türün konsantrasyonunu (molL^{-1}) vermektedir. Yalnız çok düşük konsantrasyonlarda hava-küvet, küvet-çözelti faz değişimlerindeki saçılan ışınlar, çok

yüksek konsantrasyonlarda ise çözeltideki moleküller tarafından saçılan ışınların absorplanmış gibi dedektöre ulaşmadığından, çok düşük ve çok yüksek konsantrasyonlarda Lambert-Beer kanunundan sapmalar gözlenir. Elektromanyetik radyasyonun absorplandığı miktar yerine geçen miktarı da hesaplanabilmektedir. Absorbansın tersi niteliğini taşıyan geçirgenlik ile absorbans arasında Eşitlik 3.18'deki gibi bir ilişki vardır. Burada T ; geçirgenlik, P_0 ; gelen ışının gücü ve P ; çıkan ışının gücü olarak temsil edilir.

$$A = \epsilon bc \quad (3.17)$$

$$A = -\log T = \log \frac{P_0}{P} = \epsilon bc \quad (3.18)$$

Hem kalitatif hem de kantitatif analizin mümkün olduğu moleküler absorpsiyon tekniklerinden biri olan UV-Vis, özellikle kantitatif analiz için kullanılmaktadır. Moleküllerdeki bağ elektronlarının uyarılması için gereken enerji ortalama 160-780 nm arasındaki dalga boyuna sahip elektromanyetik radyasyonlardır. UV-Vis moleküler absorbans cihazlarında radyasyonun numune ile etkileşimi temsili olarak Şekil 3.21'de gösterilmiştir.



Şekil 3.21. Elektromanyetik radyasyonun numune hücreinden geçerken absorpsiyonu, yansımaları ve saçılması

3.3.2.d. X-ışını kırınım (XRD) spektroskopisi

Sabit bir dalga boyuna sahip (monokromatik) X-ışını kristal bir katı üzerine belirli bir açı ile gönderildiğinde, ışınların bir kısmı saçılırken, bir kısmı da kristal tabakalarından aynı açı ile yansır. Aynı kristal tabakadan yansıyan ışınların dalga fonksiyonları, belirli bir açıda birbiri ile yapıcı girişim gösterirse dedektöre o açıda şiddetli X-ışınları ulaşır. Bu da bize kristal yapı hakkında bazı bilgiler vermesini sağlar. XRD olarak bilinen bu teknikte, Eşitlik 3.19’da verilen Bragg eşitliği vasıtasıyla kristal tabakaları arasındaki mesafeler hesaplanabilir. Eşitlikte d ; tabakalar arası mesafe, θ ; ışının geliş (veya yansıma) açısı n ; ışının yansıdığı tabaka sayısı ve λ ; ışının sahip olduğu dalga boyunu temsil etmektedir. Işının dalga boyu ışın kaynağına göre değişir ve sabittir. θ açısı ise, katı yüzeye gelen X-ışınının yüzeyle yapmış olduğu açıdır. Bu açı değiştirilerek kristal yapının tabakalarından yansıyan X-ışınlarının girişim yapması sağlanır. Girişimin olduğu açı belirlenerek Bragg eşitliğinden tabakalar arası mesafe (d) hesaplanabilir. Kristal yapılarda birçok yönelme olabileceğinden yapıcı girişim farklı açılarda birden fazla gözlenebilir. Bu veriyle de kristal yapıda hangi tür yönelmelerin olduğu belirlenebilir.

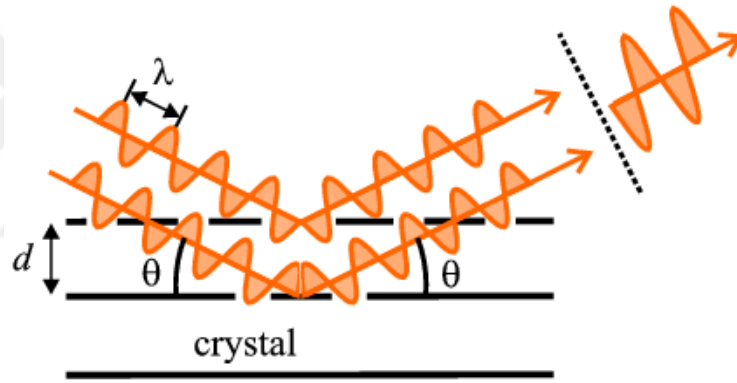
$$2d \sin \theta = n\lambda \quad (3.19)$$

X-ışınları kırınımı vasıtasıyla ayrıca kristal boyutu hakkında da bilgi alınabilir. Bunun için Scherrer denklemi olarak bilinen, Eşitlik 3.20’deki denklem kullanılır. Denklemde t ; kristal kalınlığı (çapı), K ; kristal yapıya bağlı bir sabit (AFM veya STM ile ölçülen pürüzlülük), λ ; X-ışını dalga boyu, B ; spektrumda gözlenen pikin yarısının genişliği ve θ_B ; bu pikin gözlemlendiği açıyı temsil eder.

$$t = \frac{K\lambda}{B \cos \theta_B} \quad (3.20)$$

X-ışınları, UV ışınlarından kısa, Gama ışınlarından uzun, yaklaşık 10 ile 10^{-5} nm aralığında dalga boyuna sahip oldukça yüksek enerjili ışınlardır. XRD tekniğinden faydalanabilmek için X-ışını dalga boyu, tabakalar arası mesafenin en fazla iki katı

olabilir. Bu da görünür bölge ışınları ile Bragg yasasının kullanılamayacağı ve daha yüksek enerjili ışınlar ihtiyacı olduğu anlamına gelmektedir. Çok yüksek enerjili X-ışınları numunenin iyice derinliklerindeki tabakalardan yansıyabileceği için ince filmler için alınmış XRD difraktogramlarında, ince filmlerden çok filmin kaplandığı substrata ait pikler gözlenir. Powder (toz) XRD olarak bilinen XRD cihazlarında X-ışını kaynağı olarak ortalama kristal tabakaları aralığına denk gelen birkaç Å'lük dalga boyuna sahip X-ışınları kullanılır. Bu sayede gelen ışının enerjisi düşük olduğu için yansıma sadece birkaç tabaka derinlikten geleceği için ince film araştırmalarında kullanılabilir. Şekil 3.22, bir kristale gönderilen X-ışınlarının kırınımını ve girişimini göstermektedir.

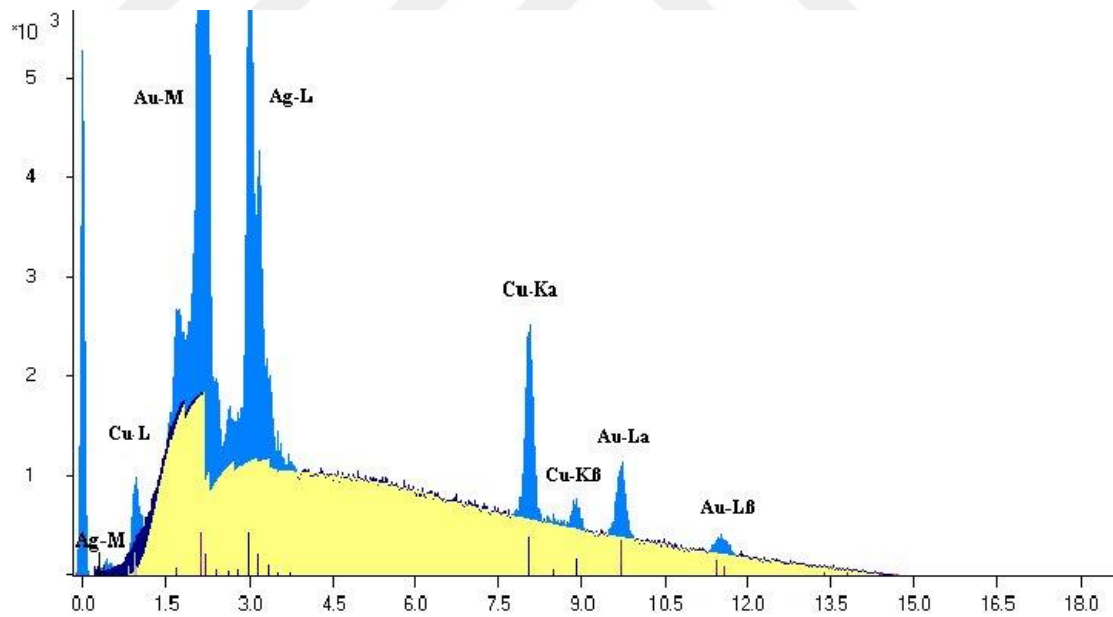


Şekil 3.22. X-ışınları kırınımı ve yapıcı girişimi (Anonymous 2017a)

X-ışını kaynakları sürekli ışına yapan kaynaklardır. Bir filaman telin (genellikle tungsten) 2000°C 'nin üzerinde ısıtılması sonucu oluşan elektronlar katot tarafından hızlandırılarak anottaki metal yüzeyine çarptırılırlar. Metalin K kabuğundan bir elektron koparılması sonucu karakteristik X-ışını elde edilmiş olur. Bu ışın anot materyaline özgü monokromatik bir X-ışınıdır. XRD'de de bu ışınlar kullanılmaktadır. Toz XRD cihazlarında genelde anot olarak Cu metali kullanılır ve $1,5405 \text{ Å}$ dalga boyuna sahip Cu K^{α} X-ışınları üretilir. Tez çalışmalarında XRD karakterizasyonları için bu tip X-ışını kaynağına sahip cihaz kullanılmıştır.

3.3.2.e. Enerji dağılımlı X-ışını spektroskopisi (EDS/EDX/EDAX)

Bir SEM cihazı içerisine yerleştirilen farklı bir dedektör vasıtasıyla yüzeyin topografisinden ziyade morfolojisi hakkında bilgi alınabilir. Karakteristik X-ışınları ile Bremsstrahlung (beyaz ışıma) olarak bilinen ve elektronun frenlenmesi sonucu oluşan X-ışınları birleşik halde dedektöre gider. Dedektörün türüne göre EDS, EDX veya EDAX şeklinde isimlendirilir. Gönderilen elektronlar, küçük atom numaralı elementlerde daha çok Auger elektronları oluşumuna, büyük atom numaralı elementlerde ise X-ışını oluşumuna sebep olur. Hem kalitatif, hem kantitatif analiz mümkündür. Kantitatif analiz için pik alanı hesaplanacağı için background alan olarak bilinen, yüzeye gönderilen elektronların yüzeydeki atomlara ait elektronlarca frenlenmesi sonucu oluşan X-ışınları yani Bremsstrahlung ışınları çıkarılmalıdır. Şekil 3.23'te karakteristik X-ışınlarından ve background ışınlarından kaynaklı alanlar işaretlenmiştir.



Şekil 3.23. Bir EDS spektrumu (Anonymous 2017b)

Bremsstrahlung emisyonunun iyi çıkarılamaması, piklerin çakışması, karakteristik X-ışınlarının absorplanması veya düşük atom numaralı elementlerin floresansının pikleri

etkilemesi gibi kantitatif açıdan belirsizlikler mevcuttur. Ayrıca atom numarası 10'dan küçük olan elementler için analizin zor olması başka bir dezavantajdır.

3.3.2.f. X-ışını fotoelektron spektroskopisi (XPS/ESCA)

Katı bir numune, düşük enerjili X-ışınlarıyla bombardıman edildiğinde değişik tiplerde çok sayıda elektronlar oluşur. Gerçek bir analiz için bu elektronların tipleri ve kaynağı bilinmelidir. 1500 eV'lik bir enerjiye sahip X-ışınları numuneye gönderildiği zaman bu ışınlar 3µm kadar numuneye nüfuz edebilir. Etkileşme sonrasında numuneden çeşitli tiplerdeki elektronlar üretilir. Bu elektronlar dedektöre gelene kadar diğer atomlarla da etkileşebilir. XPS'de üretilen bu elektronların başka atomlarla etkileşmeden dedektöre ulaşmaları dikkate alınır. Kimyasal analiz için elektron spektroskopisi (ESCA) olarak da bilinen XPS, yükleme probleminin iletken olmayan malzemelerle kontrol edilebilmesi, kimyasal çevreye oldukça duyarlı olması, lityumdan uranyuma kadar geniş bir element analizinin yapılabilmesi, kantitatif analiz için bir standart ihtiyacı duyulmaması ve 10-100 Å derinliğine kadar hassas ölçüm yapabilmesi ile bu 5 özelliği aynı anda gösteren yegâne bir tekniktir. Eşitlik 3.21'de A atomu $h\nu$ enerjisi alarak uyarılmış halde bir elektronunu kaybettiği reaksiyon gösterilmektedir. Gönderilen X-ışını enerjisi ($h\nu$) bilindiğine göre atomdan ayrılan elektronun enerjisi (E_k) ölçülerek, elektronun A atomundan ayrılmadan önceki bağlanma enerjisi (E_B) hesaplanabilir. Bu hesaplama için Eşitlik 3.22'den yararlanılır.

$$A + h\nu \rightarrow A^{+*} + e^{-} \quad (3.21)$$

$$E_B = h\nu - E_k \quad (3.22)$$

Karbon temelli çalışmalarda, XPS önemli bir karakterizasyon tekniğidir. Karbon piki detayı incelendiği zaman farklı fonksiyonel gruplara bağlı karbonlar için ayrı ayrı bağlanma enerjilerinde pikler görünür. Bu piklerdeki kaymalar, karbona bağlı fonksiyonel grubun niteliğini, pikin şiddeti ise o karbonun niceliğini verir.

3.4. Kimyasallar, Cihazlar ve DeneySEL Prosedür

3.4.1. Kimyasallar

Çalışmalarda aşağıdaki kimyasallar kullanılmıştır.

Kimyasal Adı	Formülü	Markası	Kullanım Yeri
Azure B	$C_{15}H_{16}N_3S.Cl$	Sigma-Aldrich	Elektropolimerizasyon
Sülfürik asit	H_2SO_4	Sigma-Aldrich	k-GO sentezi, Au temizleme
Nitrik asit	HNO_3	Merck	Au temizleme
Hidroklorik asit	HCl	Riedel-de Haën	k-GO sentezi, Au temizleme, PBS pH ayarlama
Sodyum hidroksit	$NaOH$	Merck	PBS pH ayarlama
Hidrojen peroksit	H_2O_2	Riedel-de Haën	k-GO sentezi, Au temizleme
Disodyum fosfat	Na_2HPO_4	Riedel-de Haën	PBS hazırlama
Monosodyum fosfat	NaH_2PO_4	Riedel-de Haën	PBS hazırlama
Etil alkol	C_2H_5OH	Riedel-de Haën	Elektrot temizleme
Sodyum dodesil sülfat	$CH_3(CH_2)_{11}SO_4Na$	Sigma-Aldrich	e-GO üretimi
Azot gazı	N_2	HABAŞ	Kurutma, elektrolitten çözünmüş oksijen giderme
Grafit tozu	> %99,999 C	Alfa Aesar	k-GO üretimi
Grafit çubuk elektrot	10.0 mm çap %99,997	Goodfellow	e-GO üretimi
Ag/AgCl elektrot	RE-5B	BASi	Referans elektrot
Potasyum persülfat	$K_2S_2O_8$	Sigma-Aldrich	k-GO üretimi
Fosfor pentaoksit	P_2O_5	Sigma-Aldrich	k-GO üretimi
Potasyum permanganat	$KMnO_4$	Sigma-Aldrich	k-GO üretimi
Potasyum ferrisiyanür	$K_3Fe(CN)_6$	Merck	Elektrot yüzey alanı hesaplaması
Potasyum nitrat	KNO_3	Merck	Elektrot yüzey alanı hesaplaması
Potasyum klorür	KCl	Riedel-de Haën	Elektrot yüzey alanı hesaplaması
Nikotinamid adenin dinükleotit	$C_{21}H_{27}N_7O_{14}P_2$	Amresco	Belirlenecek biyomolekül
L-Askorbik asit	$C_6H_8O_6$	Sigma-Aldrich	Girişim çalışması
Ürik asit	$C_5H_4N_4O_3$	Sigma-Aldrich	Girişim çalışması

Dopamin hidrojen klorür	C ₈ H ₁₁ NO ₂ .HCl	Sigma-Aldrich	Girişim çalışması
İzotonik kan serumu	%0,9 NaCl	Polifarma	Gerçek numune analizi
Altın Tel	Au (%99,999)	Alfa Aesar	Elektrot üretimi
İndiyum kalay oksit	ITO (10Ω.cm ⁻²)	Delta	Çalışma elektrodu
Platin-İridyum tel	Pt-Ir (80:20, 0,2 mm)	Alfa Aesar	STM görüntüleme tipi
Membran	200 nm nylon66	Millipor	Vakum filtrasyon, temizleme

3.4.2. Araçlar

Çalışmalarda aşağıdaki cihaz ve aletler kullanılmıştır.

Marka	Model	Kullanım Yeri
Molecular Imaging	PicoScan	STM görüntüleme
PerkinElmer	Spectrum One FT-IR	IR spektrumları
Shimadzu	UV-3101PC UV-Vis-NIR	Spektrofotometrik ölçümler
OriginLab Corp.	OriginPro 9.0 (32-bit)	Potansiyostatik j-t eğrileri ve UV-Vis spektrumlarını fit etme
Mettler Toledo	Seven Compact	pH ölçümleri
Gamry	Reference 600 Interface 1000	CV ve CPE tekniklerinin kullanımı
BASi	BAS 100B	CV ve CPE tekniklerinin kullanımı
BASi	Epsilon	CV ve CPE tekniklerinin kullanımı
Millipor	Direct-Q 3 UV (İletkenlik ≤ 5,36 µSm ⁻¹)	Çözelti hazırlama, temizleme
Bandelin	Sonorex Digitec (160/640 W)	Ultrasonik banyo
FEI	Inspect S50 (SE R580)	SEM görüntüleme
AMATEK	EDAX	Enerji dağılım spektrumları
ZEISS	Sigma 300 QUANTA 400F	FE-SEM görüntüleme, Enerji dağılım spektrumları
SPECS	EA 300 Flex Mode	XPS spektrumları
WITech	alpha300 R	Raman spektrumları
AND	GR-200	Hassas kütle ölçümleri
Rigaku	Miniflex	XRD difraktogramları

3.4.3. Deneysel prosedür

Tüm elektrokimyasal çalışmalar, aksi belirtilmedikçe oda koşullarında, üç elektrotlu hücrelerde yapılmıştır. Çalışma elektrodu olarak amaca göre grafit çubuk, polikristal Au, Au levha, Au(111), ITO ve üretilen çeşitli modifiye elektrotlar kullanılmıştır. Karşıt elektrot olarak platin tel ve referans elektrot olarak Ag/AgCl elektrot kullanılmıştır. Elektrolit olarak 50 mL'lik konik bir cam hücre içerisinde, e-GO üretiminde 12,5 mL, 0,1 mM SDS çözeltisi diğer durumlarda ise 10 mL, 0,1 M PBS temel alınarak hazırlanan çözeltiler kullanılmıştır. 10 mM'lik NADH çözeltisi +4°C'ye soğutulmuş 0,1 M PBS ile direk NADH disodyum tuzu vasıtasıyla günlük olarak hazırlanmış ve +4°C'de saklanmıştır. Elektrokimyasal çalışma öncesinde çözünmüş oksijenin hücreden uzaklaştırılması için 10 dakika saf azot gazı geçirilmiştir.

Karakterizasyon amaçlı numuneler, tekniğe uygun olacak şekilde materyallerin sulu çözeltilerinden, ITO ve Au levha üzerine damlatılıp 50°C'de kurutulması veya elektropolimerizasyonu ile hazırlanmıştır.

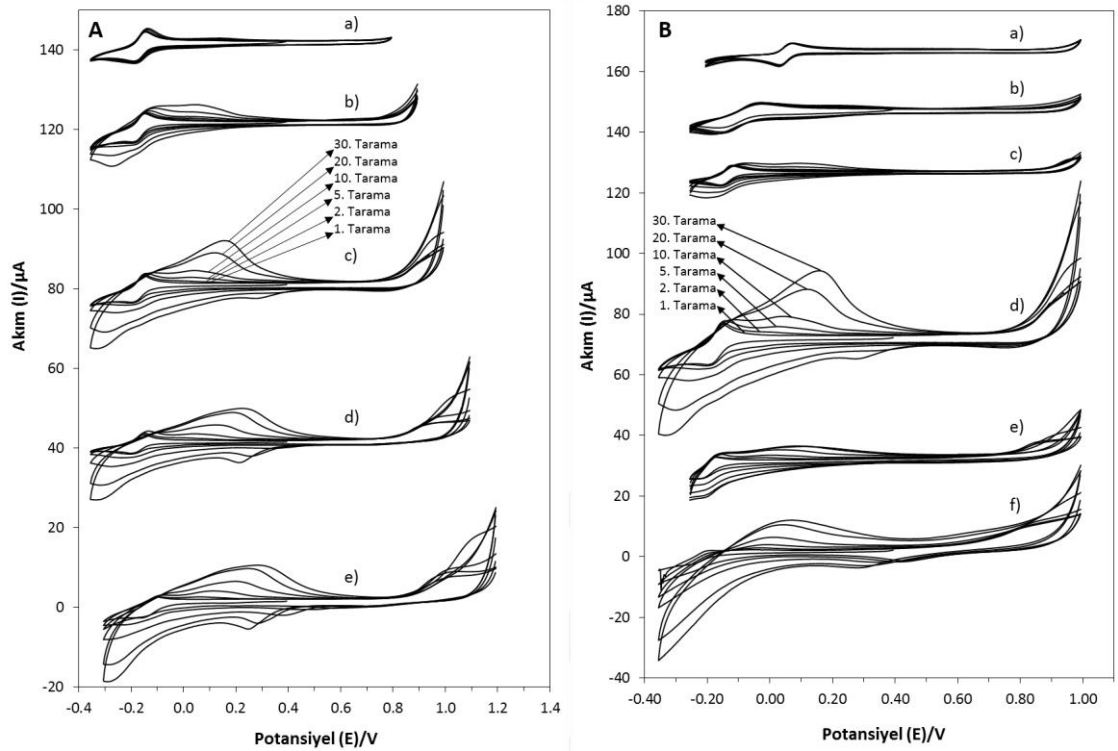
4. ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA

Bu tez kapsamında, AB'nin elektrokimyasal polimerizasyonu ve AB katkılanmış e-GO veya k-GO kompozitleri ile NADH'nin elektrokimyasal belirlenmesi olarak iki farklı çalışma yürütülmüştür. İlk bölümde Au substratlar üzerinde CV ve CPE teknikleri kullanılarak AB'nin polimerizasyonunda pH ve aşırı üst potansiyellerin etkisi incelenmiş, j-t diyagramları vasıtasıyla çekirdeklenme mekanizması teorik olarak belirlenmiş ve çeşitli karakterizasyonları yapılmıştır. İkinci bölümde ise e-GO ve k-GO materyallerinin AB ile maksimum etkileşimi sağlanmış ve oluşturulan kompozitlerin Au(111) üzerine damlatıp kurutma tekniği ile modifikasyonu sonucu NADH'nin elektrokimyasal belirlenmesinde kullanılmak üzere çeşitli elektrot materyalleri üretilmiştir. Oluşturulan poli(AB) ince filmlerinin ve modifiye elektrotların yapısal, morfolojik ve topografik karakterizasyonları için CV, CPE, STM, SEM, UV-Vis, FT-IR, Raman, XRD, XPS gibi çeşitli teknikler kullanılmıştır.

4.1. AB'nin Elektrokimyasal Polimerizasyonu ve Karakterizasyonu

4.1.1. Optimum üst potansiyel ve pH belirlenmesi

Çoğu boyar maddenin elektrokimyasal davranışı uygulanan potansiyel aralığından ve pH değerinden etkilenmektedir (Torstensson and Gorton 1981; Kalyoncu and Alanyalioglu 2011). AB'nin en iyi elektrokimyasal polimerizasyonunun gerçekleştiği potansiyel aralığı ve pH değerini belirlemek için, 0,1 mM AB içeren, 0,1 M PBS elektrolitinde 800 mV ile 1200 mV arasında çeşitli üst potansiyellerden ve pH 3,0 ile 9,0 arasında çeşitli pH değerlerinde 1000 mV'lık üst potansiyelden dönülerek 30 çevrim için voltamogramlar alınmıştır (Şekil 4.1). pH değeri arttıkça AB ve poli(AB)'nin redoks çiftleri daha negatif bölgeye doğru kaydığı için katodik alt potansiyel değeri, -200 mV ile -350 mV arasında duruma göre değiştirilmiştir.



Şekil 4.1. 0,1 mM AB içeren pH 7,0 PBS çözeltilerinde, 30 tarama ile (A) 800, 900, 1000, 1100 ve 1200 mV (a-e) üst potansiyellerden dönüşle ve 1000 mV üst potansiyelden yapılan dönüş ile (B) pH 3,0, 5,0, 6,0, 7,0, 8,0 ve 9,0 PBS çözeltilerinde (a-f) alınan voltamogramlar

Şekil 4.1.A incelendiğinde, tüm üst potansiyellerden dönüşlerde, ilk taramada 400 mV'den başlayıp -350 mV'ye doğru gidildiğinde -180 mV'de katodik bir pik, pozitif yöne dönüldüğünde ise -150 mV'de anodik bir pik gözlenmektedir. Bu pik çifti AB monomerinin sırasıyla indirgenme ve yükseltgenmesine karşılık gelen tersinir bir redoks çiftidir. Tarama, pozitif yönde devam ettiğinde 800 mV'den itibaren hızlıca yükselen bir anodik pik gözlenmektedir. Bu pik, AB monomerinin oksidasyonu sonucu radikalik bir karbokasyon oluşumunu göstermektedir. Tarama sayısının artışıyla birlikte, bu radikallerin birbirleriyle birleşerek poli(AB)'yi oluşturduğu düşünülmektedir (Karyakin *et al.* 1999a). Ayrıca yüksek potansiyellerde Au'nun etrafını çevreleyen su molekülleri ile Au'nun oksidasyonu da gerçekleşmiş olabilir (Kondo *et al.* 2007). İlk çevrimde görülmeyip, ikinci çevrimden itibaren monomer pikini de kapsayan, iki pikin çakışmasıyla oluşan yayvan bir pikin gözlemlendiği, çevrim sayısının artışıyla bu pikin akımının arttığı ve pik potansiyelinin -350 mV'ye doğru negatif bölgeye kaydığı belirlenmiştir. Benzer şekilde ilk taramada gözlenmeyen ve tarama sayısı artan ve 0,0

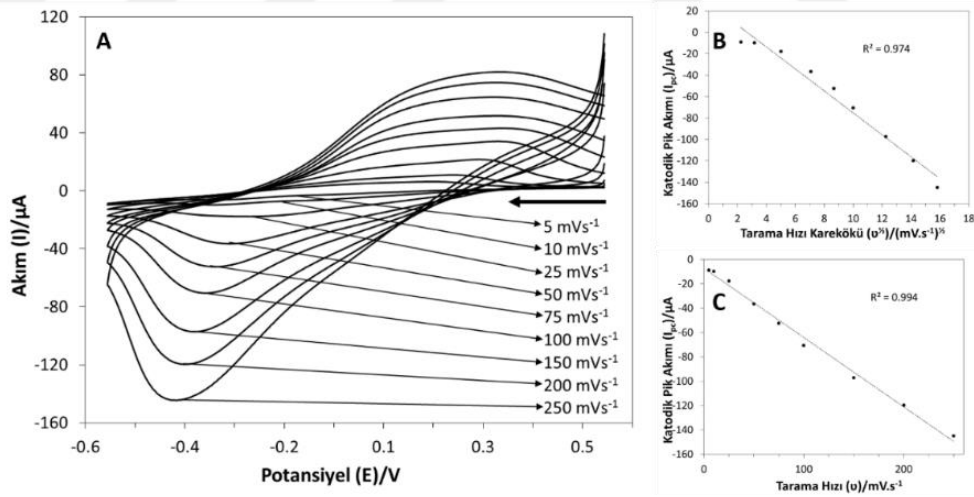
mV'den 170 mV'ye kadar kayan iki anodik pik de görülmüştür. Oluşan bu pik çifti Au yüzeyinde şekillenen poli(AB) filminin redoks davranışına karşılık geldiği rapor edilmiştir (Fang *et al.* 2010). Bu piklerin poli(AB)'nin iki aşamalı redoksundan kaynaklandığına atfedilebilir. Ayrıca, çevrim sayısı arttıkça elektrot yüzeyinin parlak mavi bir filmle kaplandığı, elektropolimerizasyon sonrasında gözle görülebilmektedir. En iyi elektrokimyasal polimerizasyonun poli(AB) redoks çiftinin en yüksek akıma sahip olduğu 1000 mV potansiyel üst sınırı ile alınan CV'lerde görülmektedir (Şekil 4.1.A.c).

Dönüşümlü voltametrde 900 mV'den (Şekil 4.1.A.b) daha düşük üst potansiyel (800 mV) uygulandığında, poli(AB) oluşumuna ait pik neredeyse hiç gözlenmemektedir (Şekil 4.1.A.a). Potansiyel artışı ile radikalın oluşumu hızlanmaktadır fakat 1000 mV'den sonra polimerin film yapısı bozulmaktadır (Şekil 4.1.A.d-e). Poli(AB) nin yüksek potansiyellerde aşırı oksidasyonu (over-oxidation) yanında, Au substratının okside olması ile polimerik filmin yapısının bozulabileceği düşünülmektedir. 1000 mV ve üzeri anodik limitlerden dönülen voltamogramlara bakıldığında, yaklaşık 300 mV'de ilave bir indirgenme pikinin oluştuğu ve bu pikin Au'nun yüksek potansiyellerde oksidasyonu sonucu oluşan oksit tabakasının indirgenmesine karşılık geldiği tahmin edilmektedir. Benzer bir çalışmada ITO üzerinde poli(AA) oluşumunda böyle bir pik gözlenmemiştir (Kalyoncu and Alanyalioglu 2011).

AB'nin en iyi elektropolimerizasyonu için belirlenen 1000 mV'lik üst potansiyellerden dönüşlerle 0,1 mM AB içeren, 0,1 M PBS elektrolitinin pH 3,0, 5,0, 6,0, 7,0, 8,0 ve 9,0 değerlerinde alınmış voltamogramlar sırasıyla Şekil 4.1.B.a-f'de gösterilmiştir. Şekil 4.1.B incelendiğinde, nötral ortamdan asidik veya bazik ortama doğru gidildikçe protonlanma etkisinden kaynaklı AB'nin polimerleşmesine karşılık gelen redoks çiftinin pik akımlarının azaldığı görülmektedir. Yukarıdaki sonuçlar doğrultusunda AB'nin elektropolimerizasyonu için en uygun üst potansiyelin 1000 mV ve en uygun pH'nın 7,0 olduğu belirlenmiştir.

4.1.2. Poli(AB) oluşumunun tarama hızına bağlı elektrokimyasal davranışı

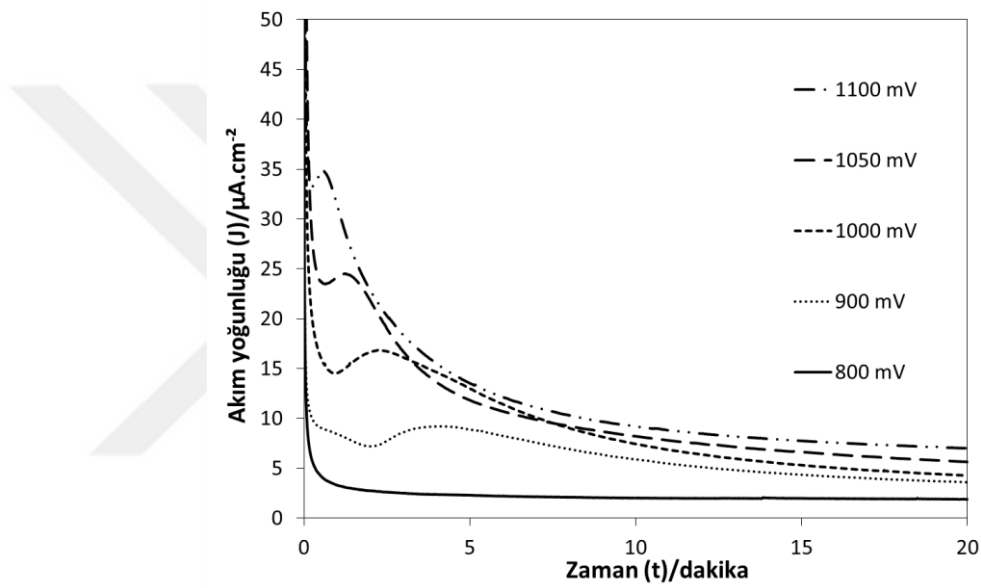
Elektrokimyasal bir süreçte elektrot prosesinin belirlenmesinde farklı tarama hızlarında dönüşümlü voltamogramlar alınarak pik akımının tarama hızının kareköküne karşı grafiği çizilir. Grafikte doğrusallık var ise elektrot prosesi difüzyon kontrollü, doğrusallık yok ise adsorpsiyon kontrollü olduğu ileri sürülür. Adsorpsiyon kontrollü olduğunu teyit etmek için ayrıca pik akımının tarama hızına karşı grafiği çizilerek doğrusallık gözlenmesi beklenir (Bard and Faulkner 2011). Yukarıda belirlenen optimum şartlarda 30 çevrim ile oluşturulmuş polimer film için 0,1 M PBS elektrolitinde 550 ile -550 mV arasında farklı tarama hızlarındaki ($5\text{--}250\text{ mVs}^{-1}$) voltamogramlar (A), bu voltamogramlardan elde edilen $I_{pc}\text{--}v^{1/2}$ grafiği (B) ve $I_{pc}\text{--}v$ grafiği (C) Şekil 4.2’de verilmiştir. $I_{pc}\text{--}v^{1/2}$ grafiğinin 0,974 belirleme katsayısı (R^2) değeri ile düşük doğrusallık, $I_{pc}\text{--}v$ grafiğinin ise 0,994 R^2 değeri ile yüksek doğrusallık gösterdiği tespit edilmiştir. Bu sonuçlar ile elektrot prosesinin adsorpsiyon kontrollü olduğu belirlenmiştir.



Şekil 4.2. Optimum şartlarda 30 çevrim ile oluşturulmuş poli(AB) filmi için 0,1 M PBS elektrolitinde farklı tarama hızlarında alınan voltamogramlar (A), akım-tarama hızının karekökü (B) ve akım-tarama hızı (C) eğrileri

4.1.3. Poli(AB)'nin oluşum mekanizmasının belirlenmesi

Elektrokimyasal polimerizasyon, CV tekniği yanında monomerlerin radikalik katyonlara dönüşebileceği yeterli bir sabit üst potansiyelde belirli bir süre bekletilerek de yapılabilir. Bu sayede akım-zaman eğrileri (kronoamperogram) elde edilir ve bu verilerden faydalanılarak elektrokristalizasyon tipi hakkında yorum yapılabilir.



Şekil 4.3. 0,1 mM AB içeren 0,1 M PBS (pH 7,0) elektrolitinde Au elektrot üzerine farklı sabit potansiyeller kullanılarak elde edilen j-t eğrileri (Eğriler, background verileri çıkarılarak elde edilmiştir.)

Au elektrotlar üzerinde 800 ile 1100 mV arasında çeşitli sabit oksidasyon potansiyellerinde 20 dakika süreyle 0,1 M PBS pH 7,0 elektrolitinde 0,1 mM AB'nin varlığında ve yokluğundaki potansiyostatik uygulamalardan elde edilen verilerin matematiksel farkıyla oluşturulmuş j-t diyagramları Şekil 4.3'te verilmiştir. j-t diyagramları incelendiğinde, akım değerlerinin tüm diyagramlarda bir maksimumdan başlayarak bir omuz eşliğinde zamanla eksponansiyel bir azalma sergilediği göze çarpmaktadır. Bu durum, Eşitlik 3.11'e göre Langmuir tip adsorpsiyonu işaret etmektedir. Langmuir tip adsorpsiyonda film oluşumu düzensiz bir şekilde meydana gelmektedir. Bu nedenle poli(AB) oluşumunun tüm potansiyellerde düzensiz bir polimerik film adsorpsiyonu ile başladığı öne sürülebilir. 800 mV'lık üst potansiyelde kayda değer bir

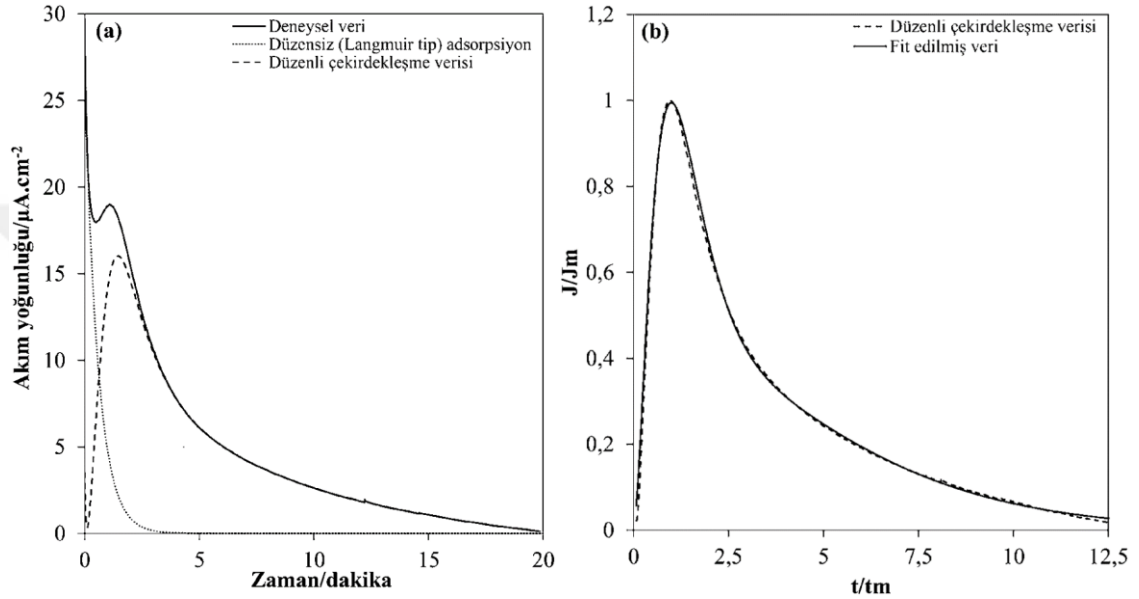
film oluşumu olmadığı anlaşılmaktadır. 900, 1000, 1050 ve 1100 mV'lik üst potansiyellerde yapılan işlemlerde ise Langmuir tip adsorpsiyondan sonra akımda bir artış, maksimuma erişim ve devamında bir azalma görülmektedir ki, bu durum düzenli çekirdekleşme ve çekirdek gelişimini işaret etmektedir (Bewick *et al.* 1962). Elde edilen bu pik yapılarında maksimum değerlerin 900, 1000, 1050 ve 1100 mV için sırasıyla 4,4, 2,4, 1,3 ve 0,6 dakikada meydana geldiği tespit edilmiştir. Bu durum, uzun süre gerektiren poli(AB) oluşumunun artan potansiyel ile daha kısa zamanda tamamlandığını, oluşan polimer zincirin öncelikle yüzeye rasgele bir şekilde adsorplandığını ve belirli bir uzunluğa ulaşmasından sonra çekirdekleşme ve çekirdek oluşumunun baskınlığıyla devam ettiğini göstermektedir (Bewick *et al.* 1962).

Poli(AB) film oluşumunun Langmuir tip adsorpsiyon ile başlayıp devamında hangi mekanizmayla düzenli bir yapı oluşturduğunu anlamak amacıyla, örnek olarak 1050 mV üst potansiyelde elde edilen veri ele alınarak detaylı analizi ve gerekli fit işlemleri uygulanmıştır. Şekil 4.4.a'da, 1050 mV'de elde edilen veri ile birlikte, bu verinin kısa sürelerinin Eşitlik 3.11 kullanılarak Langmuir tip adsorpsiyona göre fit edilmiş verisi ve ayrıca deneysel veriden fit edilen Langmuir tip adsorpsiyon verisinin (fit edilen) çıkarılması ile elde edilen düzenli çekirdekleşmeyi veren veri sunulmuştur. Çekirdekleşme ve çekirdek oluşumu tipini belirlemek için Şekil 4.4a'da elde edilen düzenli çekirdekleşme verisi instantaneous (Eşitlik 3.14) ve progressive (Eşitlik 3.15) için fit edilmiş ve uygun fit verilerine ulaşılamamıştır. 900 mV üst potansiyel kullanılarak elde edilen deneysel veriye dikkatli bakıldığında, Langmuir tip adsorpsiyonun ardından iki adet maksimum oluştuğu ve 1000 mV'de ise maksimum yanında ayrıca küçük bir omuz yapısı olduğu göze çarpmaktadır. Bu durum, Langmuir tip adsorpsiyonun ardından peş peşe iki tip düzenli çekirdekleşmenin olabileceği ihtimalini doğurmaktadır. Bu durumu değerlendirmek için muhtemel peş peşe olabilecek 4 farklı mekanizma kullanılarak fit işlemleri uygulanmıştır.

- Instantaneous mekanizmanın ardından progressive mekanizma
- Progressive mekanizmanın ardından instantaneous mekanizma
- Progressive mekanizmanın ardından progressive mekanizma

- Instantaneous mekanizmanın ardından instantaneous mekanizma

Yapılan fit işlemlerinde 0,988 R^2 ile en uyumlu veri Şekil 4.4.b’de görüldüğü gibi progressive tip mekanizmanın ardından instantaneous tip mekanizma için elde edilmiştir.

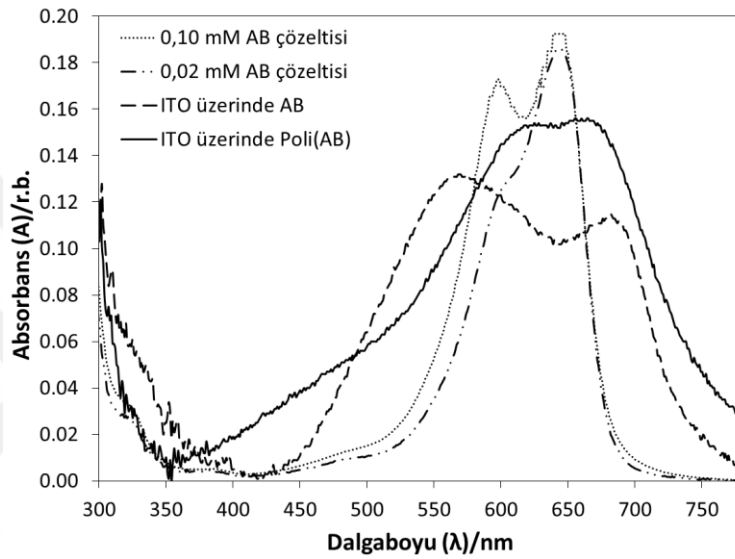


Şekil 4.4. 1050 mV potansiyel için j-t diyagramının Eşitlik 3.11’e göre fit edilmesi sonucu Langmuir tip adsorpsiyon verisi ile matematiksel farkı olan düzenli çekirdekleşme verisi (a) ve düzenli çekirdekleşme verisinin en uyumlu mekanizma olan progressive mekanizmasının ardından instantaneous mekanizmaya göre fit edilmiş verisi (b)

4.1.4. AB ve poli(AB) ince filmlerinin karakterizasyonları

Şekil 4.5’te AB’nin farklı konsantrasyonlarda hazırlanmış sulu çözeltileri, ITO üzerinde damlatıp kurutma tekniği ile oluşturulan AB ince filmi ve optimum şartlarda 100 çevrim ile hazırlanan poli(AB) filmi için alınan ve normalize edilmiş UV-Vis spektrumları verilmiştir. Spektrumlar incelendiğinde sulu AB çözeltilerinde konsantrasyon artışıyla 600 nm dalgaboyunda belirginleşen bir omuz eşliğinde yaklaşık 644 nm dalgaboyunda maksimum bir absorbans gözlenmiştir. Shan ve grubu (2001), AB’nin $6,25 \times 10^{-3}$ mM gibi oldukça seyreltik çözeltisi ile 0,2 mM’lik çözeltilerinin UV-Vis spektrumlarını karşılaştırdığında benzer şekilde seyreltik AB çözeltisinde, daha mavi bölgedeki pikin (omuz piki) yüksek konsantrasyonda daha belirgin olduğunu gözlemlemişlerdir. Sulu

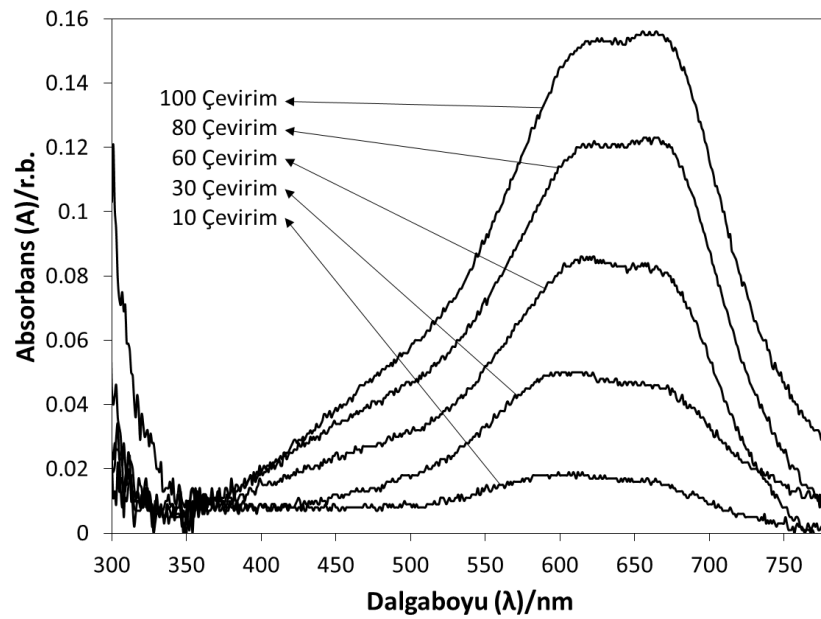
çözeltide gözlenen 644 nm dalgaboyundaki ana pik AB'nin karakteristik pikidir. 600 nm dalgaboyundaki pik ise konsantrasyon artışıyla dimer oluşumunun artışına atfedilebilir (Shan and Mu 2001). ITO üzerinde AB'nin damlatıp kurutulmasıyla alınan spektrum incelendiğinde 570 nm ve 685 nm dalgaboylarında bantlar ortaya çıkmaktadır. Bu bantlar sulu ortamda alınan numune ile kıyaslandığında oldukça yayvan oldukları görülmektedir.



Şekil 4.5. AB'nin 0,02 mM ve 0,10 mM çözeltileri, ITO üzerinde AB ince filmi ve optimum şartlarda 100 çevrim ile hazırlanmış poli(AB) ince filminin normalize edilmiş UV-Vis absorpsiyon spektrumları

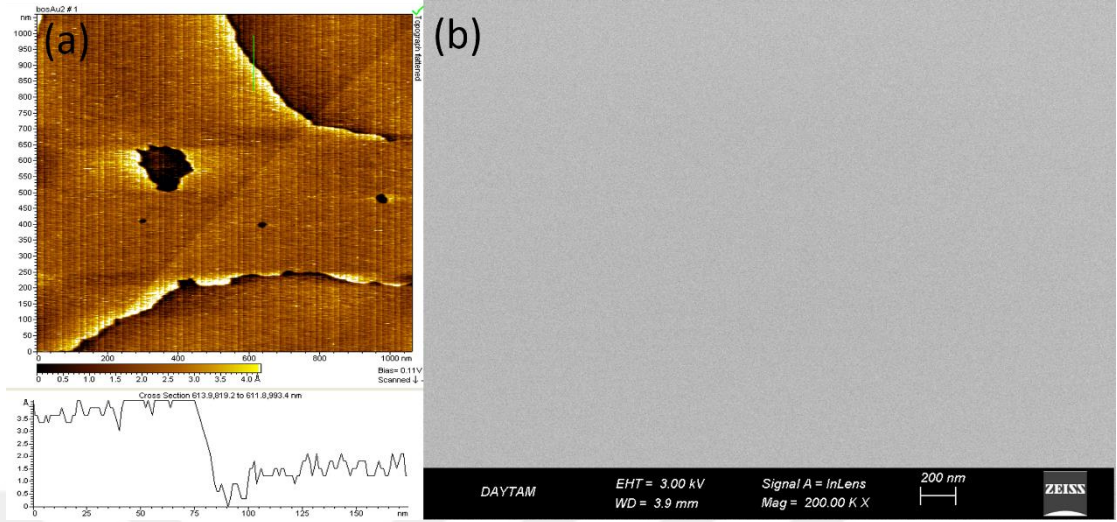
ITO üzerinde poli(AB)'nin spektrumu incelendiğinde ise ana bantların yine yayvan bir şekilde 620 nm ve 665 nm dalgaboylarında olduğu görülmektedir. ITO üzerinde gerek AB, gerekse poli(AB) piklerinin yayvan olarak ortaya çıkması yüzey modifikasyonunu teyit etmektedir (Chen and Gao 2007; Kalyoncu and Alanyalioglu 2011). Poli(AB) filminin UV-Vis spektrumunda ayrıca yaklaşık 450 nm dalga boyunda bir omuz yapısı olduğu görülmektedir. Mavi bölgede ortaya çıkan bu omuz yapısı, poli(AB) türlerine atfedilebilir. Schlereth ve grubu (1995) fenotiyazin türevlerinin elektropolimerizasyonu üzerine yaptıkları optik incelemelerde benzer durumla karşılaşmışlardır ve bu durumu polimerleşmeye atfetmişlerdir.

Optimum şartlarda farklı çevrim sayıları ile ITO üzerinde oluşturulmuş poli(AB) ince filmleri için alınmış UV-Vis spektrumları Şekil 4.6'da verilmiştir. Şekil incelendiğinde, çevrim sayısının artışıyla birlikte poli(AB) filminin kalınlığının artışı teyit eden şekilde ITO üzerinde ana bantların ve mavi bölgedeki omuz yapısının absorbands değerlerinin arttığı açık şekilde görülmektedir. Bu durum, çevrim sayısının ayarlanması ile ITO üzerinde istenilen kalınlıkta poli(AB) ince filminin kontrollü şekilde oluşturulabileceğini göstermektedir.



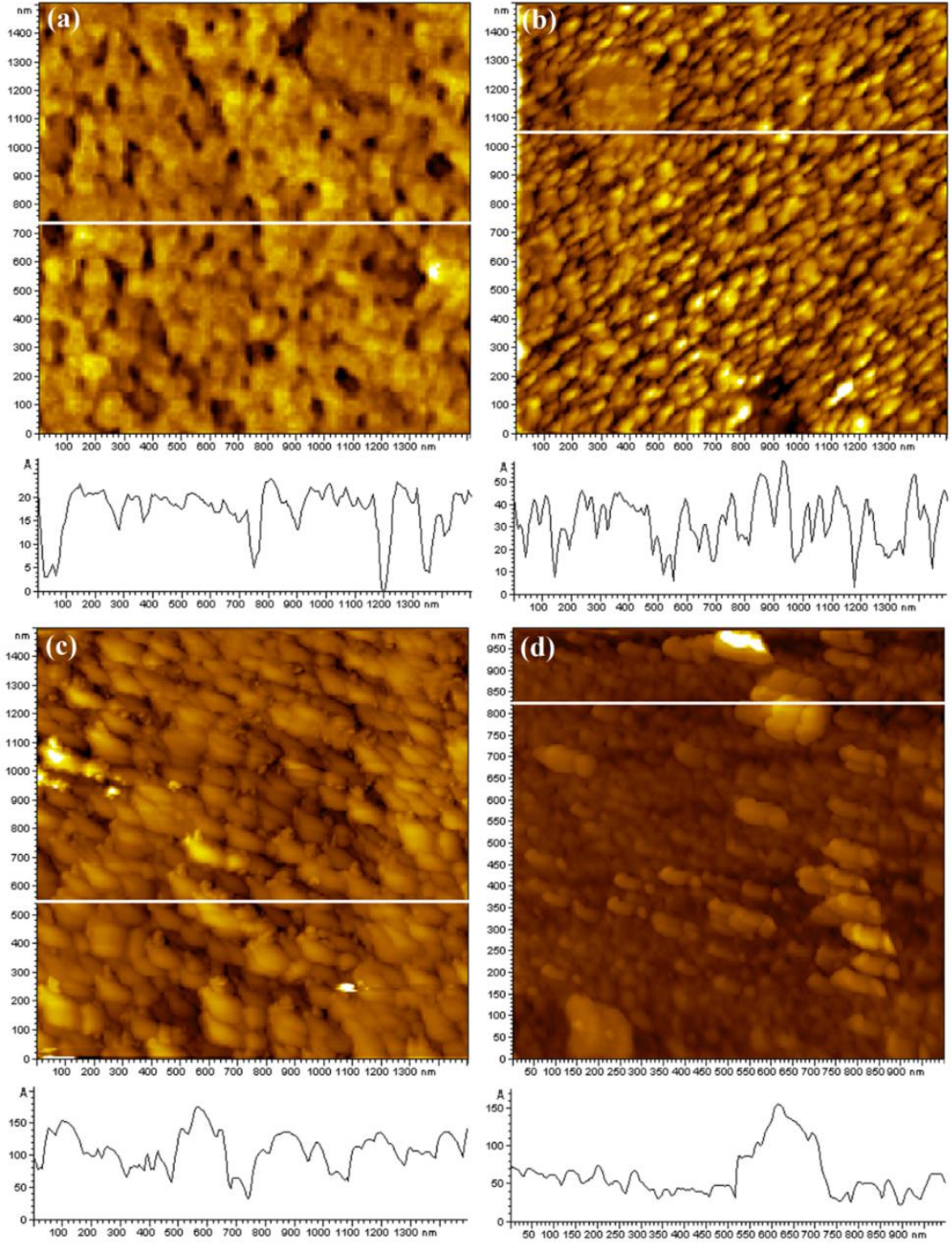
Şekil 4.6. ITO üzerinde poli(AB) ince filminin optimum şartlarda 10-100 arası farklı çevrim sayılarında CV uygulaması sonrası alınan UV-Vis absorpsiyon spektrumları

Şekil 4.7'de Au(111) yüzeyi için STM (a) ve SEM (b) görüntüleri verilmiştir. Bu şekilden de görüldüğü gibi Au(111) yüzeyi atomik seviyede düz bir yüzeye sahiptir ve bir Au atomu kalınlığındaki atomik basamaklardan oluşan klasik hekzagonal tabakalardan oluşmaktadır. Bu tür düz yüzeyler, ince tabaka film yapılarının morfolojik incelemelerinde referans yüzey olarak kullanılmaktadır.



Şekil 4.7. Au(111) yüzeyine ait STM (a) ve SEM (b) görüntüleri

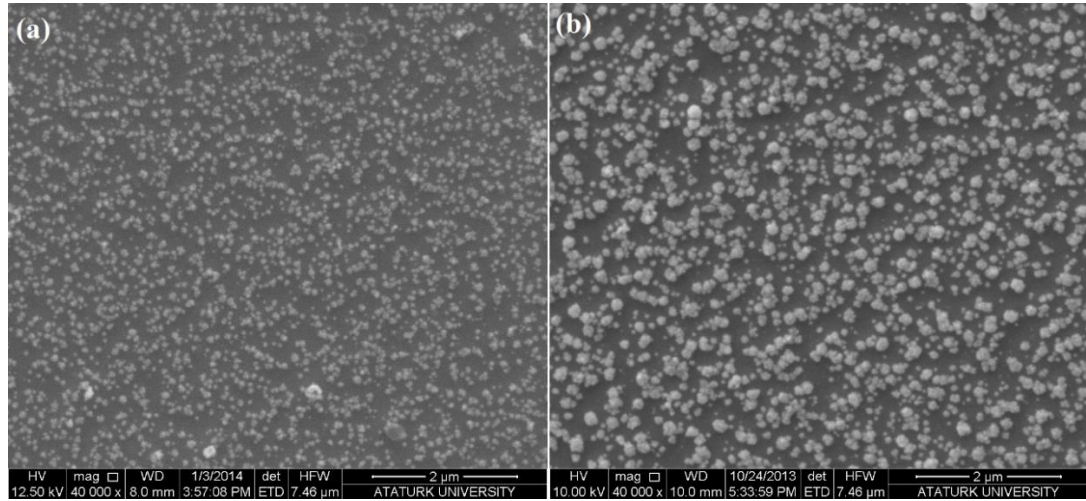
Morfolojik incelemeler, poli(AB) filmin oluşumunu daha iyi inceleyebilmek için atomik seviyede düz olan yani referans özelliği taşıyan Au(111) substratı üzerinde gerçekleştirilmiştir. Şekil 4.8’de 0,1 mM AB içeren 0,1 M PBS pH 7,0 elektrolitinde Au(111) üzerinde CV tekniği ile 900, 1000, 1100 ve 1200 mV üst potansiyellerden dönülerek 50 çevrim sonrası elde edilen poli(AB) ince filmlerinin STM görüntüleri verilmiştir. 900 mV üst potansiyelden dönülerek hazırlanan yüzey (a), boş Au(111) yüzeyi ile kıyaslandığında Au(111) yüzeyinin tamamıyla bir filmle kaplandığı ve düzenli bir yapının oluşmadığı görülmektedir. 1000 mV değerinden dönülerek oluşturulan yüzeyde (b) ise, ortalama 70 nm çapında partiküllerin olduğu ve bu partiküllerin düzenli şekilde sıralandığı bir filmin şekillendiği görülmektedir. Şekilde verilen Z boyutu analizine bakıldığında yüzey pürüzlülüğünün arttığı anlaşılmaktadır. 1100 mV (c) üst potansiyelden dönülerek oluşturulan filmde çekirdek büyümesi eşliğinde yaklaşık 100 nm ve üzerinde çaplara sahip düzenli çekirdeklerin şekillendiği ve yüzey pürüzlülüğünün artmaya devam ettiği görülmektedir. Bu şekle dikkatli bakıldığında yüzeyde yeni çekirdeklerin de olduğu dikkate değerdir. Bu durum düzenli film oluşumunun farklı bir mekanizmayla ilerlediğini işaret etmektedir.



Şekil 4.8. 0,1 mM AB içeren 0,1 M PBS (pH 7,0) elektrolitinde Au(111) üzerinde CV tekniği kullanılarak 900 mV (a), 1000 mV (b), 1100 mV (c) ve 1200 mV (d) üst potansiyellerden 50 çevrimlik elektropolimerizasyonlardan elde edilen polimerik AB filmlerinin STM görüntüleri

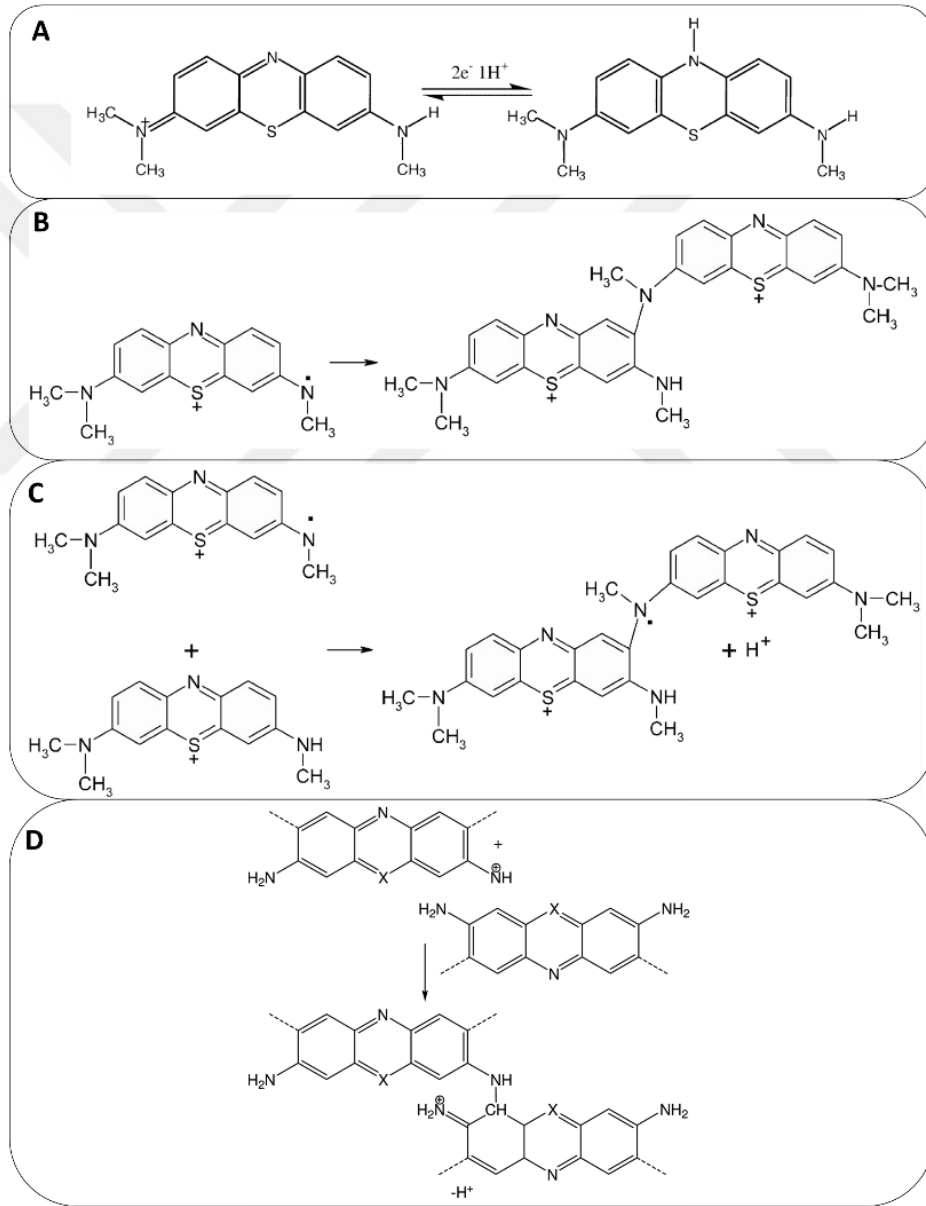
1200 mV üst potansiyelden dönülerek hazırlanan (d) film yapısında ise farklı çaplarda partiküllerin olduğu görülmektedir. Bu STM şeklinde yüzey pürüzlülüğünü bozan oldukça büyük parçacıkların olduğu ve dolayısıyla film oluşumunun bozulmaya başladığı ileri sürülebilir. Buna göre 1200 mV ve üstündeki potansiyel değerlerinde aşırı oksidasyonun meydana geleceği sonucu çıkarılabilir.

Film kalınlığına bağlı olarak morfolojik inceleme yapmak amacıyla SEM tekniğinden faydalanılmıştır. 0,1 mM AB içeren 0,1 M PBS pH 7,0 elektrolitinde Au(111) üzerinde CV tekniği kullanılarak 1100 mV üst potansiyelinden dönülerek 50 (a) ve 100 çevrim (b) sayıları ile elde edilen polimerik AB ince filmlerinin SEM görüntüleri Şekil 4.9'da verilmiştir. SEM görüntüleri incelendiğinde tarama sayısı ile çekirdek boyutlarında ortalama 90 nm'den 170 nm'ye bir artışın olduğu ve çekirdek boyutlarının 50 nm ile 200 nm arasında değişiklik gösterdiği belirlenmiştir. Bu durum, BFT modellemesiyle öne sürülen düzenli çekirdekleşme ve çekirdek gelişimini destekler niteliktedir. Buna göre, poli(AB) ince filmin oluşmasının Langmuir tip adsorpsiyon ile başladığı ve filmin zamanla düzenli çekirdekleşme ve çekirdek büyümesi (önce progressive ve devamında instantaneous mekanizma) ile tabaka tabaka devam ettiği ileri sürülebilir.



Şekil 4.9. 0,1 mM AB içeren 0,1 M PBS pH 7,0 elektrolitinde Au(111) üzerinde CV tekniği kullanılarak 1100 mV üst potansiyelinden dönülerek 50 (a) ve 100 (b) çevrimlik elektropolimerizasyonlardan elde edilen polimerik AB ince filmlerinin SEM görüntüleri

AB'nin nötral pH ortamında düşük potansiyellerdeki elektrokimyasal dönüşümü, AB ile 5-hidrojen AB arasında Şekil 4.10.A'da görüldüğü gibi tersinir olarak 2 elektron ve 1 proton eşliğinde gerçekleşir (Shan *et al.* 2003; Fang *et al.* 2010). Yüksek potansiyellerde ise AB monomerinin oksidasyonu sonucu oluşan radikal katyonu üzerinden AB'nin elektropolimerizasyonu gerçekleşir (Chen and Gao 2007). Şekil 4.10.B-D, C-N bağlanmasıyla muhtemel bazı polimerizasyon mekanizmalarını resmetmektedir.



Şekil 4.10. AB'nin nötral ortamda düşük potansiyeldeki elektrokimyasal dönüşümü (Shan *et al.* 2003) (A) ve yüksek potansiyellerdeki muhtemel elektrokimyasal C-N bağlanması ile polimerizasyon mekanizmaları (C-D) (Chen and Gao 2007; Pauliukaite *et al.* 2010)

AB'nin elektrokimyasal polimerizasyonu, kararsız radikal katyonun elektron kaybederek serbest radikale dönmesi ve bir diğer radikalle tepkimeye girmesi sonucu dimer oluşumuyla (Şekil 4.10.B), monomer ile tepkimeye girmesi sonucu bir proton kaybederek radikal dimer oluşumuyla (Şekil 4.10.C ve D) C-N bağlanması yönünde polimerleşebileceği (Chen and Gao 2007; Pauliukaite *et al.* 2010) gibi, monomer başına 2 elektron kaybetmesiyle oluşan radikalın serbest monomer veya bir diğer radikal ile molekül uçlarındaki amin grupları arasında N-N bağlanması yönünde ilerleyebileceği önerilmiştir (Shan and Mu 2001; Kong *et al.* 2014).

Aşırı üst potansiyel voltamogram verilerinde, ilk çevrimde gözlenmeyen fakat ikinci çevrimden sonra tarama sayısı ile artan 100 ile -350 mV arasında iki indirgenme, 0,0 ile 170 mV arasında iki yükseltgenme pikinin görülmesi, UV-Vis spektrumlarında bantların yayvanlaşması, piklerin maksimum değerlerinin değişmesi, 450 nm dalgaboyunda yeni bir omuz pikinin oluşması ve bu pikin tarama sayısı ile artması, STM ve SEM görüntülerinde yüzey morfolojisinin değişmesi ile poli(AB) oluşumu karakterize edilmiştir.

4.2. NADH'nın Amperometrik Belirlenmesinde Elektrot Materyali Geliştirme

Elektrokimyasal biyosensör araçları, polimer ince filmlerin gözenekli yapısı, iletkenliği ve kristalitesi gibi elektrodun yüzey özelliklerine oldukça bağlıdır. Boş metal yüzeylerinde NADH'nın elektrokimyasal oksidasyonu yüksek aşırı potansiyellerde gerçekleşmektedir. Fenotiyazin türevi katyonik boyar maddelerden biri olan AB'nin NADH'nın oksidasyonunda elektrokatalitik etki göstermesi, AB'nin GO yapıları ile π - π etkileşiminin yanı sıra GO'daki fonksiyonel gruplarla elektrostatik etkileşime girmesi, Au(111) tek kristal yüzeyinin kolay bir prosesle hazırlanabilmesi ve bu tür yüzeyler üzerine iyi bir yüzey modifikasyon aracı olarak GO yapılarının desteklenebilmesi özelliklerinden dolayı NADH'nın elektrokimyasal olarak belirlenmesinde bu tür materyaller ve kompozitleriyle çeşitli elektrotlar geliştirilebilir.

Tez kapsamında, daha önce hazırlanan e-GO, k-GO ve AB ile kompozitleri olan e-GO/AB, k-GO/AB materyalleri kullanılarak damlatıp kurutma tekniği ile boş Au(111) elektrodunun yanı sıra e-GO/Au(111), e-GO/AB/Au(111), k-GO/Au(111) ve k-GO/AB/Au(111) modifiye elektrotları üretilmiştir. Elektroaktif bir tür olan NADH'nın elektrokimyasal davranışının ortamın pH değerinden etkilendiği bilinmektedir (Sha *et al.* 2004; Topcu *et al.* 2016). Desteklenen materyal ve miktarına bağlı olarak yüzey modifikasyonu sonucu elektrokimyasal süreçte optoelektronik, iletkenlik, pürüzlülük, yüzey alanı ve elektrokatalitik etki gibi birçok özellikte değişimler gözlenebilir. NADH'nın amperometrik belirlenmesinde desteklenen materyalin türü ve miktarı, pH değeri ve üst potansiyel optimize edilerek en verimli elektrot üretilmiştir. En uygun elektrot ile optimum şartlarda NADH'nın amperometrik tayini, gerçek numune analizi, zamana bağlı kararlılık, fabrikasyonun tekrarlanabilirliği, literatür kıyaslaması ile performans değerlendirmesi çalışılmıştır. Materyallerin ve modifiye elektrotların CPE, CV, UV-Vis, SEM, XRD, XPS ve Raman teknikleri ile karakterizasyonları yapılmıştır. Çalışmalarda, yüzey alanı farklılıklarından kaynaklanan hataları minimuma indirmek için, akım yerine akım yoğunluğu değerleri kullanılmıştır.

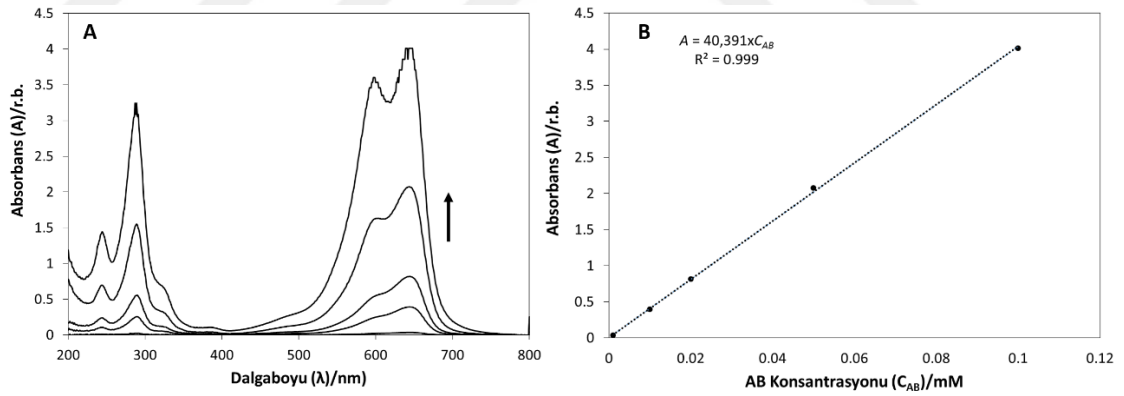
4.2.1. e-GO ve k-GO'ya AB'nin maksimum adsorpsiyon miktarının tespiti

Kompozit oluşumunda pozitif yüklü fenotiyazin türevi bir boyar madde olan AB ile negatif yüklü k-GO arasında π - π etkileşiminin yanı sıra elektrostatik etkileşim de muhtemeldir. AB ile e-GO arasında ise, C=O, O-C-O, -OH gibi oksijen içeren gruplar sentez prosesindeki elektrokimyasal indirgemeden dolayı çok az olacağından elektrostatik etkileşimin de az olması ve k-GO'ya göre daha az AB molekülleriyle etkileşmesi beklenen bir durumdur (Erçarıkcı *et al.* 2017). AB ile e-GO ve k-GO tabakaları arasındaki maksimum etkileşme ve modifiye Au(111) elektrotların üretimi şematik olarak Şekil 3.10'da gösterilmiştir. Adsorplanmayan serbest haldeki AB moleküllerinin tamamen ayrıştırılması için vakum filtrasyon ve yıkama işlemlerinden sonra elde edilen süzüntüler, kalibrasyon eğrisi yardımıyla adsorpsiyon miktarını hesaplamak için saf su ile 500 mL'ye tamamlanarak saklanmıştır.

Eşitlik 3.17'deki Lambert-Beer kanununda ışık yolu (b) 1 cm olarak sabit alındığında, ϵb çarpımına k denerek eşitlik yeniden düzenlenirse, Eşitlik 4.1'deki gibi bir doğru denklemi elde edilir ve oluşturulan kalibrasyon eğrisindeki eğim k sabitini vermektedir. Bu sayede numune için okunan absorpsiyon değeri yardımıyla çözeltideki AB konsantrasyonu hesaplanabilir.

$$A = kc \quad (4.1)$$

Kalibrasyon eğrisinin oluşturulması için 1,0 mM AB stok çözeltisinden hazırlanan 0,1, 0,05, 0,02, 0,01 ve 0,001 mM'lik AB standart çözeltilerinden elde edilen UV-Vis spektrumları Şekil 4.11.A'da, AB'nin maksimum absorbans gösterdiği 644 nm'deki UV-Vis absorpsiyon pikleri yardımıyla oluşturulan kalibrasyon eğrisi ise Şekil 4.11.B'de gösterilmiştir. Kalibrasyon eğrisi dikkate alındığında Eşitlik 4.1 için k sabiti 40,391 olarak 0,999 R^2 ile hesaplanmıştır.



Şekil 4.11. 0,001, 0,01, 0,02, 0,05 ve 0,1 mM AB standart çözeltilerinin UV-Vis absorpsiyon spektrumları (A) ve bu spektrumlardan elde edilen kalibrasyon eğrisi (B)

Kalibrasyon eğrisi yardımıyla süzüntülerin UV-Vis spektrumları alınarak adsorplanan AB miktarı hesaplamalarına ait bilgiler Tablo 4.1 ve Tablo 4.2'de verilmiştir. Tablo 4.1'de 3 farklı e-GO ve AB çözelti karışımından elde edilen 500 mL'lik süzöntü numunelerindeki AB'nin konsantrasyonu ve ilk başta e-GO süspansiyonuna ilave edilen AB'den mg cinsinden süzöntüdeki miktarı çıkarılarak maksimum adsorplanan AB

miktarı değerleri gösterilmiştir. Hesaplamalar neticesinde 1,0 mg e-GO için $0,069 \pm 0,007$ mg AB adsorplandığı belirlenmiştir.

Tablo 4.2’de ise e-GO’ya göre yapısında daha fazla fonksiyonel grup bulunduran k-GO’nun daha fazla AB adsorplayarak daha düşük konsantrasyonlarda AB içeren süzüntüler elde edildiği için 5 farklı k-GO ve AB çözeltileri karışımının süzöntü numunesi sonuçları verilmiştir. Hesaplamalar neticesinde 1,0 mg k-GO için adsorpsiyon miktarı ortalama $0,274 \pm 0,010$ mg AB olarak belirlenmiştir. k-GO’nun e-GO’ya göre yaklaşık 4 kat daha fazla AB adsorplamasının sebebi yapısında bol miktarda bulunan oksijenli fonksiyonel gruplar olarak tahmin edilmektedir.

Tablo 4.1. 1,0 mg e-GO için maksimum tutunan AB miktarının hesaplama verileri

Numune	A	C (mM)	Süzüntüdeki AB (mg)	Adsorpsiyon Miktarı (mg AB/mg e-GO)
1	0,646	0,016	2,446	0,061
2	0,622	0,015	2,355	0,070
3	0,605	0,015	2,291	0,077
			Ortalama	0,069
			Standart Sapma	0,007

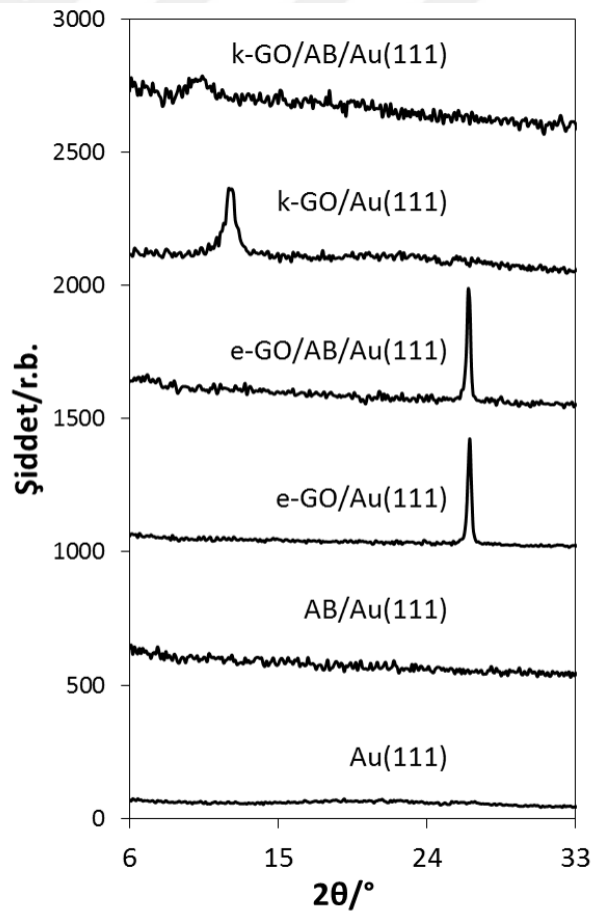
Tablo 4.2. 1,0 mg k-GO için maksimum tutunan AB miktarının hesaplama verileri

Numune	A	C (mM)	Süzüntüdeki AB (mg)	Adsorpsiyon Miktarı (mg AB/mg k-GO)
1	0,076	0,002	0,288	0,277
2	0,038	0,001	0,144	0,291
3	0,113	0,003	0,428	0,263
4	0,086	0,002	0,326	0,273
5	0,103	0,003	0,390	0,267
			Ortalama	0,274
			Standart Sapma	0,010

4.2.2. Materyaller ve modifiye elektrotların karakterizasyonları

4.2.2.a. XRD

Şekil 4.12’de, boş Au(111) yanında süspansiyonlardan damlatıp kurutulması tekniği ile hazırlanmış AB/Au(111), k-GO/Au(111), k-GO/AB/Au(111), e-GO/Au(111) ve e-GO/AB/Au(111) modifiye elektrotlarından alınmış XRD difraktogramları verilmiştir. Boş Au(111) yüzeyinin incelenen 2θ aralığında herhangi bir piki bulunmamaktadır (JCPDS kart no: 04-0784). Bu açıdan altlık olarak kullanımında girişim olmamaktadır ve referans yüzey özelliği göstermektedir.

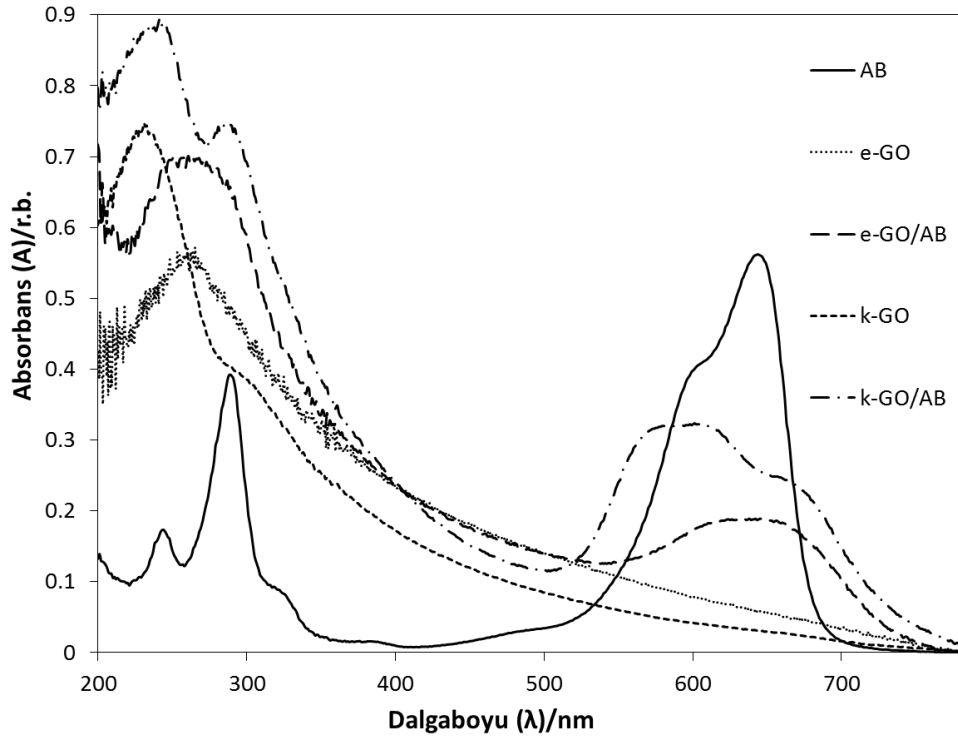


Şekil 4.12. Farklı elektrotların XRD difraktogramları

AB/Au(111) yüzeyi için alınan XRD verisinde de herhangi bir pik görülmemektedir (Zeyada *et al.* 2017). Bu durum AB ince filminin amorf olduğunu işaret etmektedir. e-GO/Au(111) elektrodunda $26,6^\circ$, e-GO/AB/Au(111) elektrodunda ise $26,5^\circ$ 2θ açısında e-GO'ya ait keskin pikler gözlenmektedir (JCPDS kart no: 75-2078). Piklerin konumunda $0,1^\circ$ 'lik düşük değere doğru açı kayması, az da olsa AB ile e-GO tabakaları arasındaki etkileşimi göstermektedir ve AB katkılanmasıyla e-GO tabakaları arası mesafesinin az miktarda açıldığını göstermektedir. k-GO/Au(111)'de $12,3^\circ$ 'lik 2θ civarında hafif yayvan bir pik, e-GO/Au(111)'inki ile kıyaslandığında çok daha düşük bir değerdedir. e-GO/Au(111) için d mesafesi $3,32 \text{ \AA}$ 'e karşılık gelirken k-GO/Au(111)'de d mesafesi $7,20 \text{ \AA}$ 'e karşılık gelmektedir. k-GO/Au(111)'deki daha fazla olan tabakalar arası mesafe, yüksek derecede oksidasyonun ve bunun sonucu GO tabakası üzerindeki oksijen içeren fonksiyonel grupların varlığını işaret etmektedir. k-GO/AB/Au(111)'de $10,1^\circ$ 'lik 2θ civarında çok daha yayvan bir pik gözlenmektedir. Bu pik için d mesafesi $8,75 \text{ \AA}$ 'e karşılık gelmektedir ve bu durum AB moleküllerinin k-GO üzerine e-GO'ya göre daha kuvvetli adsorplandığını gösterir (Yan *et al.* 2010). Pik açılarındaki düşük değerlere kaymadurumu için, GO ve kompozit tabakaları arasına su moleküllerinin katkılanması da muhtemeldir.

4.2.2.b. UV-Vis

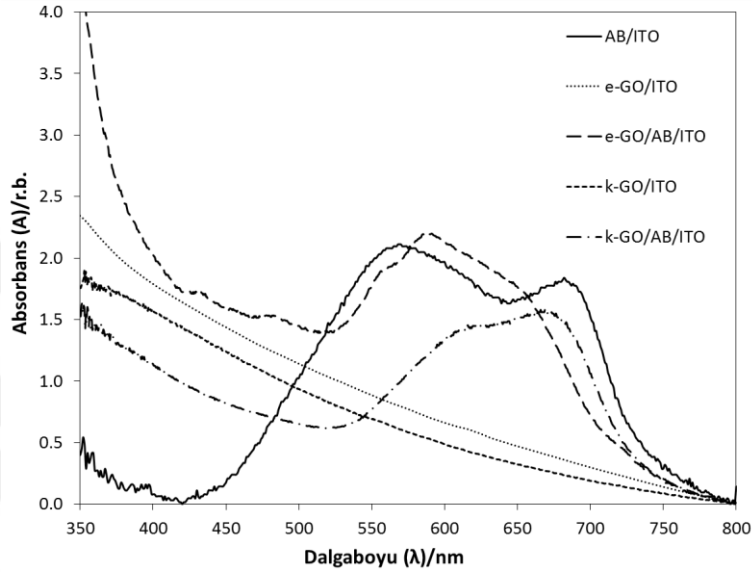
Şekil 4.13'te AB, e-GO, e-GO/AB, k-GO ve k-GO/AB'nin sulu dispersiyonların normalize edilmiş UV-Vis absorpsiyon spektrumları verilmiştir. Yaklaşık 300 ve 600 nm'deki omuz piki ile birlikte maksimum absorbansın gözlemlendiği 644 nm'de AB'ye ait pikler görülmektedir. 644 nm'deki ana pik, AB monomerlerine ait spesifik absorbans pikidir. 600 nm'deki omuz piki ise konsantrasyona bağlı olarak (Şekil 4.5), AB moleküllerinin agregasyonundan ileri geldiği düşünülmektedir.



Şekil 4.13. AB, e-GO, e-GO/AB, k-GO ve k-GO/AB kompozitlerinin sulu dispersiyonlarına ait normalize edilmiş UV-Vis spektrumları

Spektrum incelendiğinde yaklaşık 234 nm’de k-GO ve 260 nm’de e-GO’ya ait C=C bağlarının $\pi \rightarrow \pi^*$ geçişlerine denk gelen pikler gözlenmektedir. Yaklaşık 300 nm’de ise k-GO için oksijen içeren fonksiyonel gruplara ait olduğu düşünülen ve $n \rightarrow \pi^*$ geçişine karşılık gelen, bir omuz şeklinde absorpsiyon pikleri görülmektedir. e-GO tabakalarında bu tür fonksiyonel gruplar çok az miktarda bulunduğu için 300 nm’de pik net gözlenmemektedir (Xu *et al.* 2011). Bu sonuca dayanarak, e-GO’nun üretimindeki ikinci basamakta (redüksiyon) grafen tabakalarının pul pul dökülmeleri esnasında oksijen içeren fonksiyonel grupların da redüksiyonu ile tabakalardan kısmen uzaklaştığı söylenebilir. e-GO/AB ve k-GO/AB kompozit çözeltilerinde 300 nm’deki bu omuz pikinin genişlemesi ve 644 nm’deki AB’ye ait ana pikin yerine yayvan pikin oluşması e-GO ve k-GO’nun AB ile iyi şekilde etkileşmesine atfedilebilir. Bununla birlikte, k-GO/AB kompozitindeki AB’ye ait bantların GO bandına oranı daha yüksektir ve bu durum, k-GO’nun AB ile e-GO’ya göre daha iyi kompozit oluşturduğunu gösterir.

Kompozit ince filmlerin optik özelliklerini incelemek için e-GO, k-GO ve AB ile kompozitleri olan e-GO/AB ve k-GO/AB dispersiyonlarından ITO elektrot üzerine damlatıp kurutulması ile hazırlanan örneklerin normalize edilmiş UV-Vis spektrumları ise Şekil 4.14'te verilmiştir.



Şekil 4.14. AB, e-GO, e-GO/AB, k-GO ve k-GO/AB kompozitlerinin ITO üzerine damlatıp kurutulması ile alınan normalize edilmiş UV-Vis spektrumları

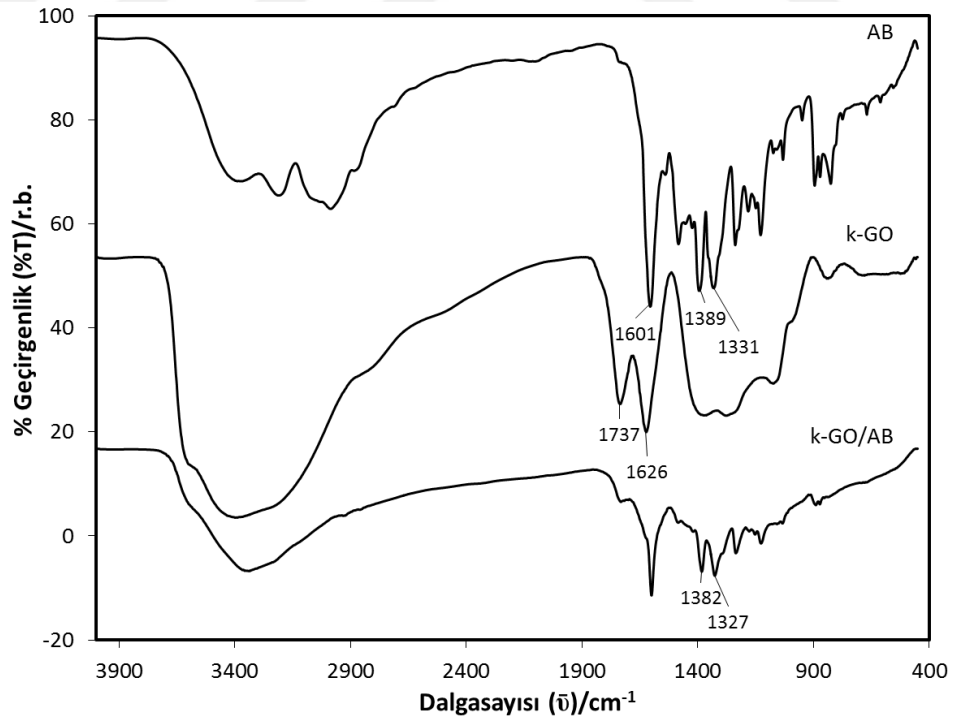
Şekil incelendiğinde e-GO ve k-GO için 800 nm'den başlayarak 350 nm'ye doğru gidildikçe artan bir absorpsiyon meydana gelmektedir. e-GO/AB ve k-GO/AB'nin ITO üzerine damlatıp kurutulmasıyla hazırlanan elektrotlarda ise, hem AB'nin hem de GO'nun pikleri görülmektedir. Bu sonuçlar, AB moleküllerinin e-GO ve k-GO'ya iyi bir şekilde adsorplandığına atfedilebilir.

4.2.2.c. FT-IR

GO tabakaları ile AB molekülleri arasındaki etkileşimi incelemek amacıyla, etkileşimin yüksek olduğu k-GO örnek olarak alınmıştır. Şekil 4.15'te, AB, k-GO ve k-GO/AB sulu çözeltilerinin damlatıp kurutma ile Au levha üzerinde hazırlanmış örneklerinin speküler reflektans tekniği ile alınmış FT-IR spektrumları yer almaktadır. Şekil incelendiğinde tüm

yapılarda 3600 ile 3200 cm^{-1} dalga sayısı arasında aromatik C-H, O-H ve N-H gruplarına ait sinyallerinin üst üste geldiği, geniş, yayvan ve şiddetli bir bant gözlenmektedir. AB molekülü için 1601 cm^{-1} dalga sayısında fenotiyazin halkasındaki C=C çift bağının gerilme titreşimi, 1389 cm^{-1} 'de C-N simetrik gerilim ve 1331 cm^{-1} 'de simetrik deformasyon pikleri bulunmaktadır (Zeyada *et al.* 2017). k-GO için, 1626 cm^{-1} 'de yapı içindeki halkalarda bulunan C=C gerilme titreşimlerini, 1737 cm^{-1} 'de oksijen içeren fonksiyonel gruplardaki C=O çift bağı simetrik gerilimini ve 3200 cm^{-1} ile 3600 cm^{-1} arasında bulunan güçlü, yayvan pik ise fonksiyonel gruplardaki -OH grubunu işaret ettiği düşünülmektedir.

FT-IR spektrumları kıyaslandığında; k-GO/AB kompozitinin hem AB, hem de k-GO piklerini içerdiği görülmektedir. Ayrıca, 3400 cm^{-1} 'deki yayvan ve güçlü hidroksil grubuna (-OH) ve 1737 cm^{-1} 'deki C=O'ya ait piklerin şiddetinin azalması, k-GO ile AB'nin etkileşimini işaret etmektedir.



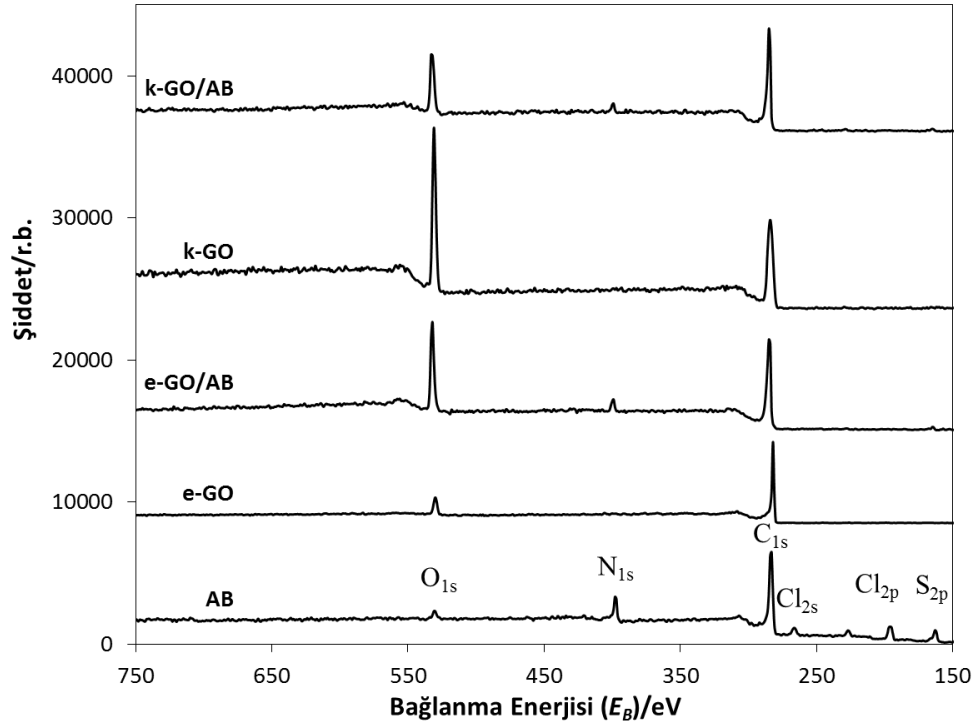
Şekil 4.15. AB, k-GO ve k-GO/AB kompozitinin Au levha üzerinde hazırlanan ince filmleri için speküler yansıma ile alınan FT-IR spektrumları

4.2.2.d. XPS

Au levha üzerinde damlatıp kurutma tekniği ile hazırlanmış AB, e-GO, e-GO/AB, k-GO ve k-GO/AB materyallerinin XPS spektrumları Şekil 4.16'da, atomik yüzdeleri ise Tablo 4.3'te verilmiştir. Spektrum ve tablo incelendiğinde AB için yapısında bulunan yaklaşık 165 eV'de S_{2p} , 284 eV'de C_{1s} ve 398 eV'de N_{1s} atomlarının yanı sıra AB'nin Cl tuzu kullanıldığı için 198 eV'de Cl_{2p} ve 265 eV'de Cl_{2s} bağlanma enerjilerine ait pikler de görülmektedir. Yaklaşık 529 eV'de O_{1s} bağlanma enerjisi pikinin ya AB kimyasalındaki safsızlıklardan ya da AB bünyesinde bulunması muhtemel su moleküllerinden ileri geldiği düşünülmektedir.

e-GO materyalinin atomik yüzdeleri (Tablo 4.3) ile spektrum birlikte incelendiğinde ise sırasıyla %87,87 ve %12,13 atomik yüzde değerleri ile C_{1s} ve O_{1s} atomlarına ait pikler görülmektedir. AB ile oluşturulan e-GO/AB kompozitinin spektrumunda C ve O atomlarının yanı sıra AB'den kaynaklanan sırasıyla %4,77 ve %1,43 atomik yüzde ile N_{1s} ve S_{2p} atomlarına ait pikler de görülmektedir. N ve S atomlarının varlığı e-GO tabakalarına AB moleküllerinin başarılı şekilde katkılандığını göstermektedir.

k-GO ve k-GO/AB için spektrumlar incelendiğinde ise yapısında e-GO'ya göre daha yüksek oranda (%31,24) oksijen olduğu anlaşılmaktadır ki bu durum beklenen bir olaydır. e-GO/AB kompozitine benzer şekilde AB'nin yapısında bulunan S ve N atomlarına ait pikler k-GO/AB'de de görülmektedir ve bu durum k-GO/AB kompozitinin de başarılı şekilde oluşumunu ispat etmektedir.



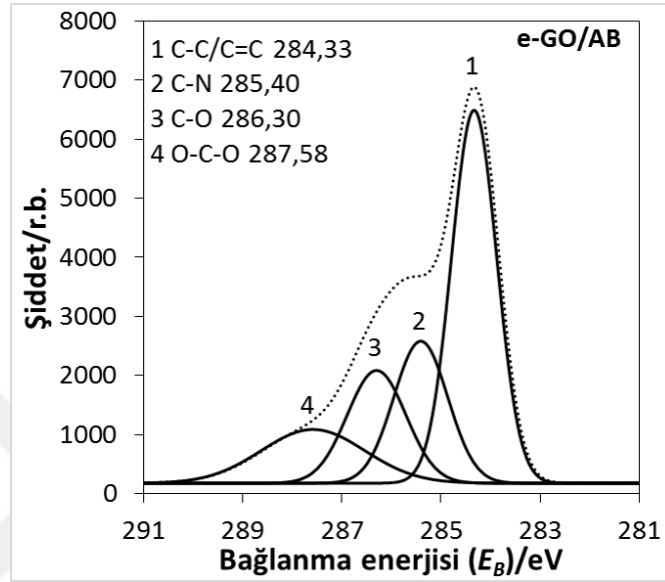
Şekil 4.16. Altın levha üzerinde AB, e-GO, e-GO/AB, k-GO ve k-GO/AB materyallerin damlatıp kurutma ile hazırlanmış numunelerinin normalize edilmiş XPS spektrumları

Tablo 4.3. Altın levha üzerinde AB, e-GO, e-GO/AB, k-GO ve k-GO/AB için XPS spektrumlarındaki atomik yüzdeleri

	C (%)	O (%)	N (%)	S (%)	Cl (%)
AB	69,42	3,93	14,51	6,44	5,70
e-GO	87,87	12,13	-	-	-
e-GO/AB	72,12	21,68	4,77	1,43	-
k-GO	68,76	31,24	-	-	-
k-GO/AB	77,10	17,85	3,81	1,24	-

Kompozit oluşumuna örnek teşkil etmesi açısından e-GO/AB'nin kimyasal çevresi hakkındaki bilgi edinmek için C_{1s} pikinin çözümlenmiş XPS spektrumu Şekil 4.17'de verilmiştir. Şekil incelendiğinde 284,33 eV'de %45,9 C-C/C=C, 285,40 eV'de %20,9 C-N, 286,30 eV'de %18,0 C-O ve 287,58 eV'de %15,2 O-C-O bağlarına ait pikler gözlenmektedir (Guo *et al.* 2012). C-N bağının varlığı yapıdaki AB moleküllerine

atfedilirken, diğer bağlar e-GO'daki ana iskelet ve oksidasyon nedeniyle oluşan oksijen içeren fonksiyonel gruplara karşılık gelmektedir.

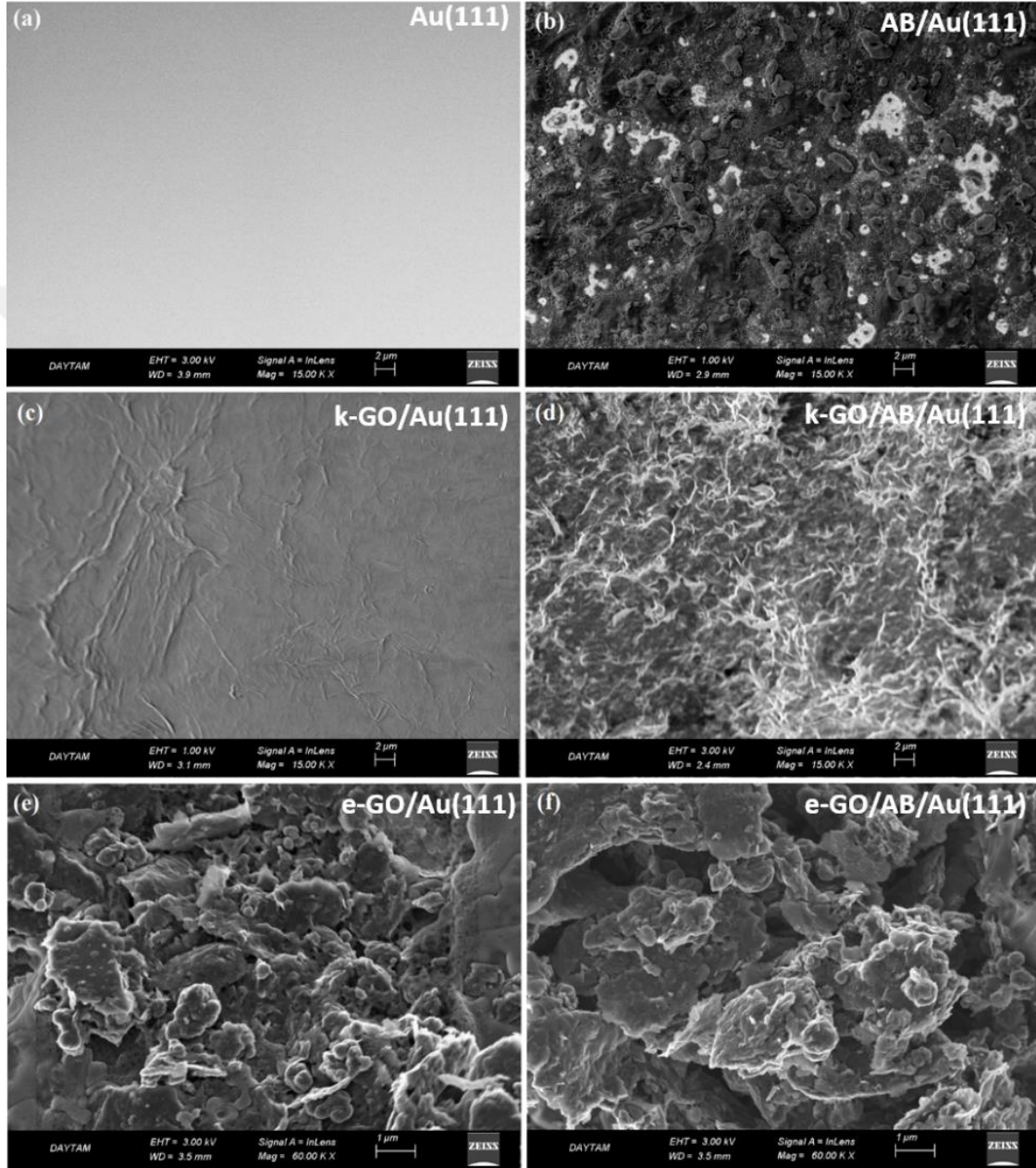


Şekil 4.17. e-GO/AB'nin çözömlenmiş C_{1s} XPS spektrumu

4.2.2.e. SEM

Boş Au(111) yüzeyi ve hazırlanan kompozitlerle modifiye edilen Au(111) yüzeylerine ait SEM görüntüleri Şekil 4.18'de verilmiştir. Au(111) yüzeyinin oldukça pürüzsüz olduğu (a) dikkate değerdir. AB/Au(111) yüzeyi incelendiğinde, Au(111) üzerinde AB'nin düzensiz bir dağılımla partiküller halinde dağıldığı görölmektedir (b). k-GO/Au(111) yüzeyinde k-GO'nun klasik kırışık yapısı (c) net olarak gözlenmektedir. k-GO/AB/Au(111) yüzeyinde ise tamamen farklı bir düzenleme görölmektedir (d). Yapıdaki bu değişimin k-GO üzerine AB adsorpsiyonundan kaynaklandığı düşünülmektedir. e-GO yüzeyi (e) k-GO (c) ile kıyaslandığında oldukça farklıdır. Bu farklılık, GO tabakalarının sentez yöntemlerindeki farklılıktan kaynaklanmaktadır. k-GO sentezi tek tabaka ile sonuçlanırken, e-GO'da farklı tabakalara sahip bir karışım oluşur. e-GO/AB/Au(111)'in yüzey morfolojisinde e-GO/Au(111)'e göre fazla bir değişimin olmadığı görölmektedir. Bunun sebebinin oksijenli fonksiyonel grupların k-GO'ya göre

e-GO yapısında oldukça az olmasından dolayı AB moleküllerinin elektrostatik etkileşimlerinin de az olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir (f).



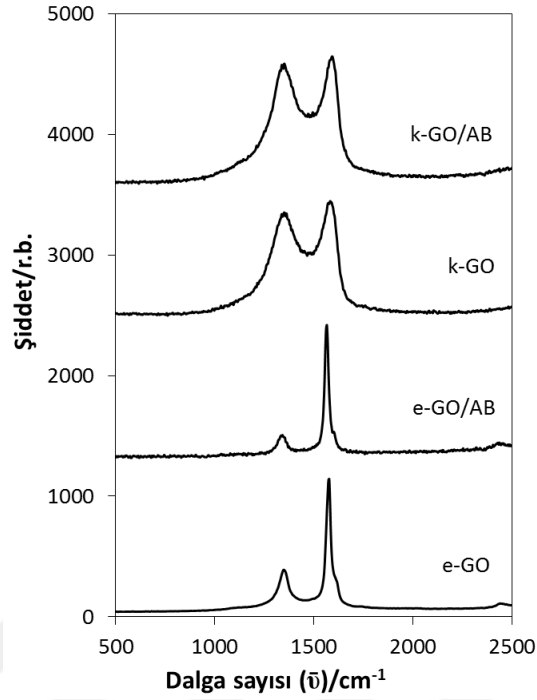
Şekil 4.18. Au(111) yüzeyi (a), ve Au(111) yüzeyine materyallerin damlatıp kurutma ile hazırlanmış AB/Au(111) (b), k-GO/Au(111) (c), k-GO/AB/Au(111) (d), e-GO/Au(111) (e) ve e-GO/AB/Au(111) yapılarının SEM görüntüleri

4.2.2.f. Raman

Raman spektroskopisi, analitte bulunan kimyasal bağlardaki elektronların titreşim enerji düzeyleri arasındaki fark kadar elastik olmayan saçılmalarla ilgilenmektedir. Konjuge ve çift karbon-karbon bağları tarafından üretilen güçlü Raman sinyali, karbon esaslı materyallerin karakterizasyonunda bu tekniğin güçlü ve etkin bir teknik olarak yaygın kullanılmasına neden olmuştur. Karbona ait G bandı yapıdaki tüm sp^2 karbon atomlarının C-C bağlarındaki düzlem içi (E_{2g}) titreşimlerini (fononlar), D bandı ise halkadaki düzlem dışı (A_{1g}) simetrisinin κ -nokta fononlarının esnemesiyle (nefes alması) yapıdaki düzensizliği işaret etmektedir. Bu bantların birbirine oranı (I_D/I_G) karbonlu yapılardaki keskin kenar, bozukluk ve boşluklar nedeniyle kusur derecesini veya kimyasal modifikasyonun derecesini göstermek için sıklıkla kullanılmaktadır (Kudin *et al.* 2008; Raj and John 2013).

Şekil 4.19'da e-GO, e-GO/AB, k-GO ve k-GO/AB materyallerine ait Raman spektrumları verilmiştir. Şekil incelendiğinde tüm numunelerde D ve G bantlarının ortaya çıktığı görülmektedir. e-GO/AB ve k-GO/AB numunelerinde AB için ekstra pikler gözlenmemiştir. Kompozit yapılardaki AB moleküllerinin varlığını anlamak için Raman spektrumlarındaki D ve G piklerinin oranına (I_D/I_G) bakılabilir. Bu oranın artması yapıdaki kusurların artışı, azalması ise kusurların azalmasını ifade eder. e-GO, e-GO/AB, k-GO ve k-GO/AB materyallerindeki I_D/I_G oranları sırasıyla 0,31, 0,16, 0,90 ve 0,94 olarak ölçülmüştür.

e-GO/AB kompozitinde kusurların azalması, k-GO/AB yapısında ise kusurların artması söz konusudur. SEM görüntülerine bakıldığında, k-GO'ya göre k-GO/AB yüzeyinde daha düzensiz ve kusurlu bir yapı olabileceği ileri sürülebilir.

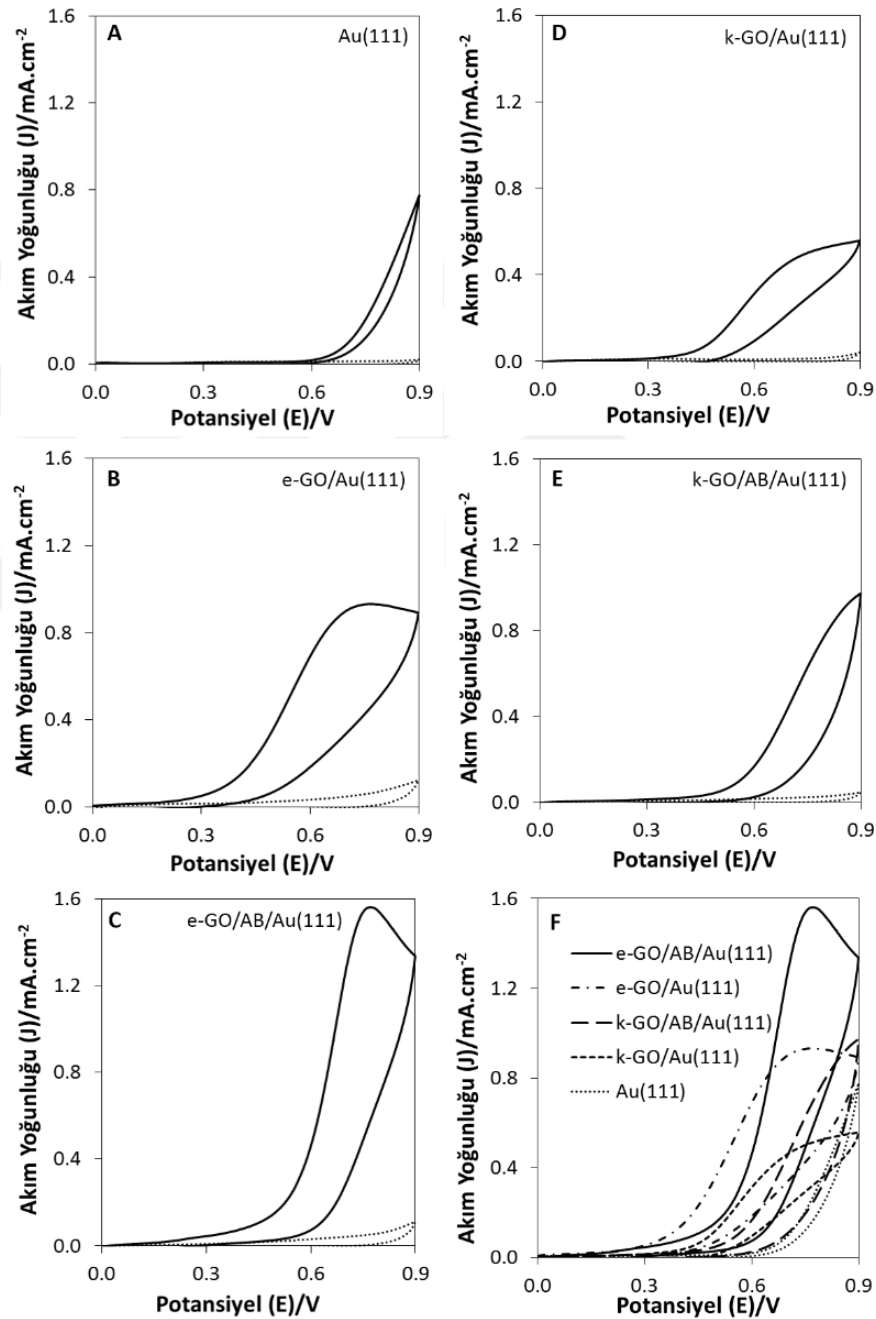


Şekil 4.19. e-GO, e-GO/AB, k-GO ve k-GO/AB materyallerine ait normalize edilmiş Raman spektrumları

4.2.3. NADH'nın elektrokimyasal belirlenmesinde en iyi elektrodun seçimi

Şekil 4.20 A-E'de, 0,0 mV ile 900 mV arasında 0,1 M PBS elektrolitinde Au(111) (A) elektrodu ve bu elektrot üzerine e-GO, k-GO ve AB katkılanmasıyla oluşturulmuş kompozitlerinin 0,1 mgmL⁻¹ çözeltilerinden 10 µL damlatıp 50°C'de kurutma ile hazırlanmış elektrotlar (B-E) kullanılarak 10 mM NADH'nın yokluğunda (noktalı çizgi) ve varlığında (düz çizgi) alınan voltamogramlardan elde edilen akım yoğunluğu-potansiyel grafikleri gösterilmiştir. Grafikler incelendiğinde NADH varlığında her bir elektrot için oksidasyon piki gözlenmektedir. NADH'nın oksidasyonunda pik potansiyelleri olarak Au(111), e-GO/Au(111) ve e-GO/AB/Au(111) için sırasıyla 910 (Erçarıkcı *et al.* 2017), 760 ve 780 mV belirlenmiştir. k-GO/Au(111) ve k-GO/AB/Au(111) için pik potansiyel değerleri, 900 mV'nin bir miktar üzerinde olduğu tahmin edilmektedir. Bu modifiye elektrotların pik akım yoğunlukları birlikte kıyaslandığında ise sırası ile 0,86 (Erçarıkcı *et al.* 2017), 0,93, 1,56, 0,55 ve 0,95 mA.cm⁻² olarak belirlenmiştir. Bu veriler ışığında, NADH'nın dönüşümsüz oksidasyonuna denk

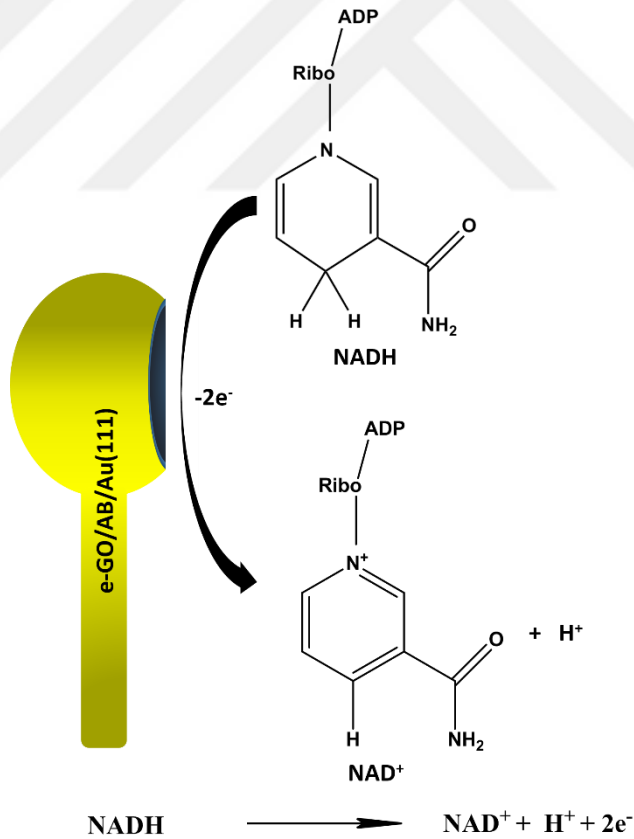
gelen elektrokatalitik etkinin, en yüksek akım yoğunluğu ve en düşük potansiyel değerleri ile en iyi gözleendiği elektrot, yaklaşık 780 mV potansiyelde $1,56 \text{ mA.cm}^{-2}$ akım yoğunluğu ile e-GO/AB/Au(111) elektrodu olduğu görülmektedir (Şekil 4.20.F).



Şekil 4.20. Au(111) (A) ve $10 \mu\text{L}$ ($0,1 \text{ mg mL}^{-1}$) damlatıp kurutma ile hazırlanan elektrotlar (B-E) ile 10 mM NADH yokluğunda (noktalı çizgi) ve varlığında (düz çizgi) $0,1 \text{ M}$ PBS pH 7,0 elektrolitinde alınan voltamogramlara ait potansiyel-akım yoğunluğu grafikleri ve tüm elektrotlar için 10 mM NADH varlığındaki voltamogramların toplu gösterimi (F)

e-GO/AB/Au(111) elektrodun en iyi katalitik etki sergilemesinin sebebi olarak, iyi bir yüzey modifikasyon aracı olan GO yapılarından üzerinde daha az kusur bulunduran e-GO'nun daha iletken olması ve fenotiyazin türevi bir boyar madde olan AB'nin elektrokatalitik etki göstermesi düşünülebilir.

e-GO/AB/Au(111) elektrodu üzerinde NADH'nın muhtemel elektrooksidasyon mekanizması Şekil 4.21'de resmedilmiştir. NADH'nın tersinmez elektrooksidasyonu 2 elektron ve 1 proton kaybederek NAD^+ 'ya yükseltgenmesiyle gerçekleştiği düşünülmektedir (Karyakin *et al.* 1999b). Daha sonraki çalışmalarda NADH'nın belirlenmesinde geliştirilen elektrotlar içerisinde en iyi performansın gözlendiği e-GO/AB/Au(111) modifiye elektrodu kullanılmıştır.



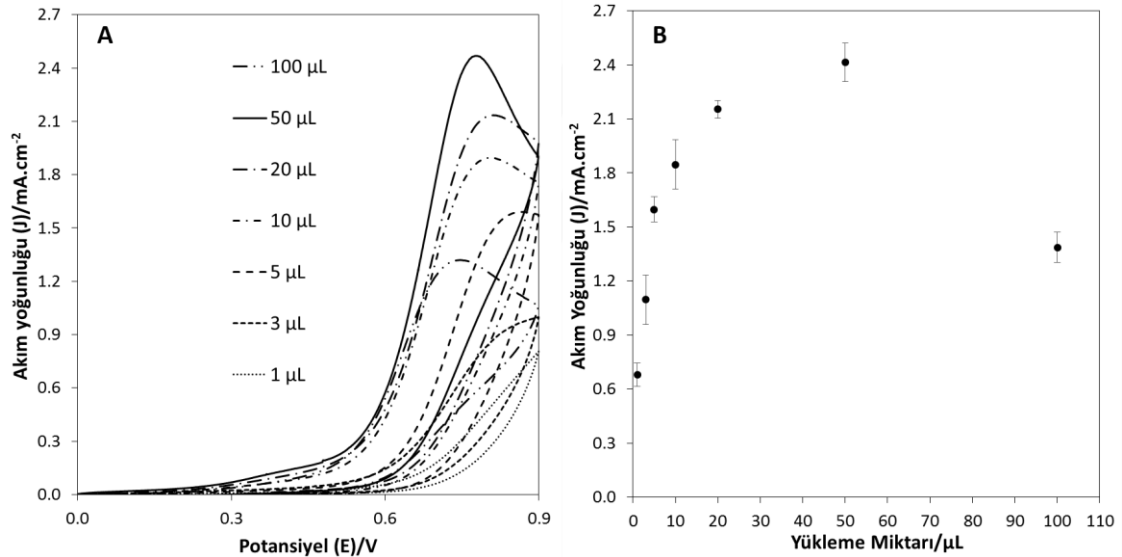
Şekil 4.21. NADH'nın e-GO/AB/Au(111) elektrodu üzerinde elektrokimyasal oksidasyon mekanizması

Çalışma elektrodu yüzey alanı, izolasyon sırasında farklılık gösterebileceği için akım yoğunluğu hesaplamalarında her defasında aktif elektrot yüzey alanı belirlenmiştir. Bu amaçla, elektrokimyasal süreç sonrasında elektrot yüzeyi saf su ile yıkanıp birkaç saniye pirana çözeltisine daldırılarak yüzeydeki kompozitlerin sıyrılması sağlanmıştır. Yüzey tekrar saf su ile yıkanarak 0,01 M potasyum hekzasiyanoferrat(III) ($K_3Fe(CN)_6$) içeren 0,1 M KNO_3 çözeltisinde, 600 mV ile -200 mV arasında, 100 mVs^{-1} tarama hızı ile voltamogramları alınarak Eşitlik 3.6'daki Randles-Sevcik eşitliği yardımıyla aktif elektrot yüzey alanı hesaplanmıştır. Transfer edilen elektron sayısı (n)=1, konsantrasyon (C_0^*)=0,01 M, tarama hızı (v)=100 mVs^{-1} olarak belirlenmiştir ve difüzyon katsayısı (D)= $6,20 \times 10^{-6} cm^2s^{-1}$ olarak bilinmektedir (Bard and Faulkner 2011). Değerler yerine yazılarak Eşitlik 3.6'da aktif elektrot yüzey alanı olan A , her çalışma sonrasında voltamogramlardan indirgenme pik potansiyelleri (E_{pc}) okunarak hesaplanmıştır.

4.2.4. Yükleme miktarı optimizasyonu

Au(111) yüzeyi üzerine daha düşük iletkenliğe sahip materyalin yükleme miktarına bağlı olarak, elektrodun iletkenliğinin düşmesi istenilen bir durum olmasa da muhtemeldir. Bunun yanında elektrooksidasyon, yüklenen kompozit kalınlığı dikkate alınarak gerçekleşeceği için yükleme miktarına bağlı olarak elektrokatalitik etkinin artması beklenir. Bu yüzden, en optimum kalınlığı belirlemek için çok düşük miktarlardan başlanarak farklı miktarlarda Au(111) yüzeyi üzerine bir dizi yükleme çalışmaları yapılmıştır. Şekil 4.22'de NADH'nin elektrokimyasal oksidasyonunda Au(111) yüzeyine 0,1 $mgmL^{-1}$ e-GO/AB kompozitinden 1,0, 3,0, 5,0, 10, 20, 50 ve 100 μL yükleme yapılarak 10 mM NADH'nin varlığında 0,1 M PBS pH 7,0 elektrolitinde alınan voltamogramlar (A) ve bunların 3'er tekrarıyla oluşturulmuş standart sapmalı akım yoğunluğu-yükleme miktarı grafiği (B) verilmiştir. Şekil incelendiğinde, 50 μL 'nin altında çok az yükleme miktarlarında yüzey boş Au(111) yüzey özelliğine benzer bir şekilde daha yüksek potansiyel ve daha az akım yoğunluğu sergilerken, 50 μL 'nin üzerindeki yükleme miktarında (100 μL) ise daha düşük potansiyel olmasına rağmen azalan iletkenlikle akım yoğunluğunun azaldığı gözlenmektedir. NADH'nin elektrokimyasal oksidasyonunda üç tekrar ile oluşturulan akım yoğunluğu-yükleme

miktarı grafiği (Şekil 4.22.B) incelendiğinde, yüzeyin az miktarda kompozit ile modifikasyonu sonucu yeterli elektrokatalitik etki görülmemektedir. Çok miktarda modifikasyon sonucu ise kompozitin Au'ya göre düşük iletkenliğinden dolayı belirli bir kalınlıktan sonra elektrokatalitik etkiden ziyade elektrot yüzey iletkenliğinin düşmesi neticesinde akım yoğunluğunda ciddi kayıp söz konusudur. Optimum bir elektrokatalitik etki ile en yüksek akım yoğunluğunun $2,41 \pm 0,11 \text{ mA.cm}^{-2}$ 'lik değerde 50 μL yükleme ile hazırlanan elektrotta olduğu belirlenmiştir (Şekil 4.22.B). Sonraki çalışmalarda Au(111) elektrodu yüzeyine $0,1 \text{ mgmL}^{-1}$ e-GO/AB kompozitinden optimum yükleme miktarı olarak 50 μL kullanılmıştır.

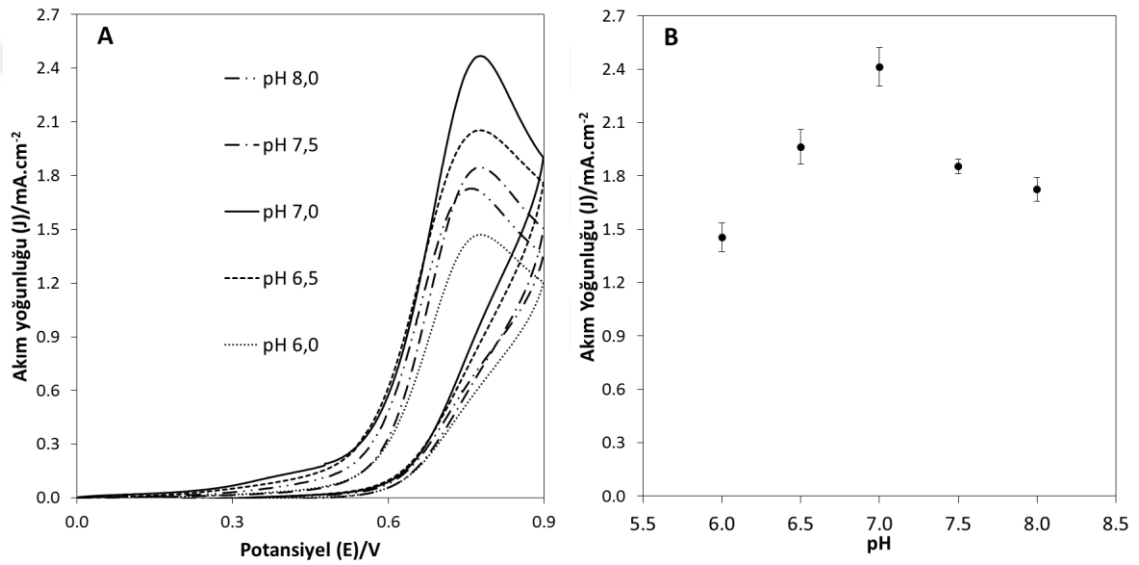


Şekil 4.22. 10 mM NADH içeren 0,1 M PBS pH 7,0 elektrolitinde Au(111) yüzeyine e-GO/AB kompozitinden ($0,1 \text{ mgmL}^{-1}$) damlatma miktarına bağlı olarak alınan voltamogramlar (A) ve bu voltamogramlardan elde edilen pik akım yoğunluğu-yükleme miktarı grafiği ($n=3$)

4.2.5. pH optimizasyonu

NADH'nin elektrooksidasyonu elektrokatalitik etki, yüzey iletkenliği, topografi ve morfoloji yanında pH'ya da bağlıdır. NADH, fosfat temelli bir tuzdur. Hem NADH hem de elektrot yüzeyinin elektriksel şarjı, elektrokimyasal proses için önemlidir. Bu yüzden NADH'nin elektrokimyasal oksidasyonunda pH'nın etkisini incelemek oldukça gerekli bir durumdur (Istrate *et al.* 2016). Optimum pH değerini belirlemek için en iyi performans

gösteren 50 μL kompozit yüklemeyle oluşturulmuş e-GO/AB/Au(111) elektrotları kullanılarak 0,1 M PBS'nin pH 6,0, 6,5, 7,0, 7,5 ve 8,0'a ayarlanmış elektrolitlerinde alınan voltamogramlar (A) ve üç tekrar ile yapılan çalışmalardan elde edilen akım yoğunluğu-pH grafiği (B) Şekil 4.23'te verilmiştir. Şekil incelendiğinde, NADH'nın oksidasyon pik potansiyellerinde kayda değer bir değişim gözlenmezken (A) artan pH değeri ile pH 7,0'a kadar akım yoğunluğunda bir artış pH 7,0'dan sonra ise bir azalış gözlenmektedir.



Şekil 4.23. 10 mM NADH içeren 0,1 M PBS pH 7,0 elektrolitinde 50 μL ($0,1\text{mgmL}^{-1}$) k-GO/AB kompozit yükleme miktarı ile hazırlanmış e-GO/AB/Au(111) çalışma elektrodu ile farklı pH'larda alınan voltamogramlar (A) ve bu voltamogramlardan elde edilen akım yoğunluğu-pH grafikleri (B) (n=3)

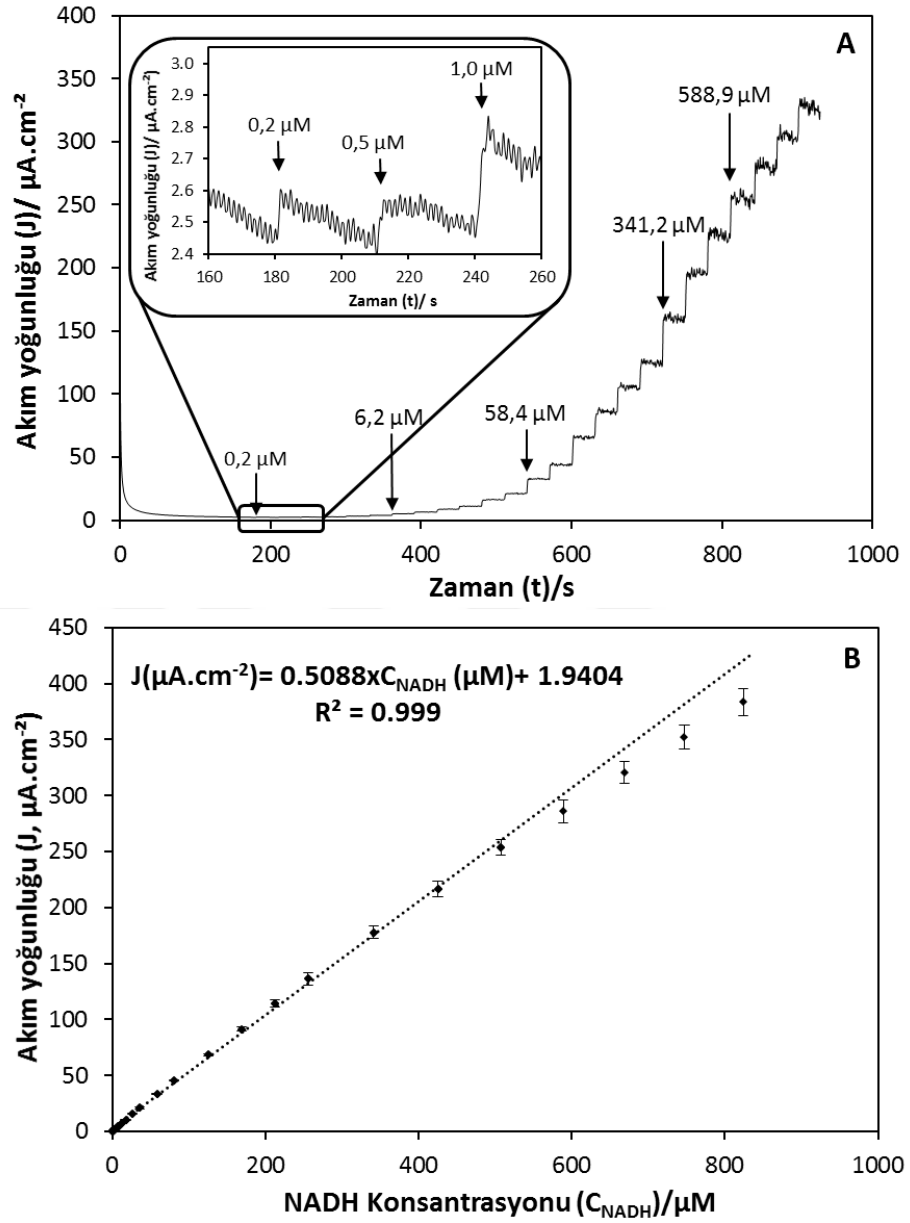
Asidik ortamda NADH'nın kararsız olduğu ve hidrolize uğradığı bilinmektedir (García-Pineda *et al.* 2013; Sangamithirai *et al.* 2015). Bazik ortamda ise NADH kararlı olmasına rağmen okside olabilmektedir (Chenault and Whitesides 1987). Ayrıca elektrokimyasal süreç pH'ya bağlı olarak değişmektedir. pH 7,0'dan daha düşük pH değerlerinde akım yoğunluğundaki azalmanın asidik ortamda NADH'nın protonlanmasından ileri geldiği düşünülmektedir. pH 7,0'dan daha yüksek pH değerlerinde ise akım yoğunluğundaki azalmanın proton eksikliğinden ileri geldiği düşünülmektedir. Bu yüzden pH değeri, e-GO/AB kompoziti ile NADH'nın etkileşimini

etkilemektedir. Bu veriler ışığında en yüksek akım yoğunluğunun pH 7,0'da $2,41 \pm 0,11 \text{ mA.cm}^{-2}$ olduğu görülmektedir (Şekil 4.23.B). Bundan sonraki çalışmalarda optimum PBS elektroliti, pH 7,0 olarak ayarlanmıştır.

Sonuç olarak NADH'nin elektrokimyasal dedeksiyonunda en iyi elektrot ve optimum şartlar CV tekniği kullanılarak belirlenmiştir. NADH'nin elektrokimyasal belirlmesine yönelik bundan sonraki çalışmalarda $50 \text{ } \mu\text{L}$ ($0,1 \text{ mgmL}^{-1}$) e-GO/AB kompozitiyle hazırlanmış e-GO/AB/Au(111) elektroduyla oda şartlarında $0,1 \text{ M}$ PBS pH 7,0 elektroliti kullanılmıştır.

4.2.6. e-GO/AB/Au(111) elektrodu ile NADH'nin amperometrik belirlenmesi

Optimum şartlarda en iyi elektrokatalitik etkininin görüldüğü e-GO/AB/Au(111) elektrodu ile CV çalışmalarıyla; belirlenen 780 mV sabit potansiyelde, $0,1 \text{ M}$ PBS (pH 7,0) elektrolitinde NADH'nin tayinine ait ardışık ilave ile alınmış amperometri verisi (A) ve bu verilerden elde edilen kalibrasyon eğrisi (B) Şekil 4.24'te verilmiştir. Sadece $0,1 \text{ M}$ PBS pH 7,0 çözeltisinin olduğu ve 300 rpm 'de karıştırılan elektrolit için akım yoğunluğu stabil olana kadar (180 saniye) bekletildikten sonra elektrolitteki NADH konsantrasyonu $0,2 \text{ } \mu\text{M}$ 'den $824,2 \text{ } \mu\text{M}$ 'ye kadar artan değerlere 30 saniyede bir NADH çözeltilerinden ilave edilerek e-GO/AB/Au(111) elektrodu ile amperometri verileri elde edilmiştir (A). Bu veriler kullanılarak ve Eşitlik 3.9 ile Eşitlik 3.10'un yardımıyla NADH'nin tayini için kalibrasyon eğrisi (B) üretilmiştir. Amperometrik veride NADH eklemeye başlamadan hemen önceki $78.$ ile $180.$ saniyeleri arasındaki 100 değer üzerinden S_{bl} değeri $0,02561$ olarak hesaplanmıştır. Kalibrasyon eğrisinden faydalananarak gözlenebilme sınırı (LOD) $0,15 \text{ } \mu\text{M}$, tayin aralığı (LOQ-LOL) $0,5-508 \text{ } \mu\text{M}$ ve duyarlılık $0,51 \text{ } \mu\text{A}\mu\text{M}^{-1}\text{cm}^{-2}$ olarak belirlenmiştir.



Şekil 4.24. e-GO/AB/Au(111) elektrodu ile çalışılmış NADH'nın 780 mV'de elektrooksidasyonu için elde edilen amperometri verisi (A) ve bu verilerden elde edilmiş kalibrasyon eğrisi (B) (n=5, karıştırma hızı=300 rpm)

4.2.7. e-GO/AB/Au(111) elektrodu ile gerçek numune analizi

e-GO/AB/Au(111) elektrodunun NADH'nın amperometrik tayininde standart numune için performansının iyi olduğu görülmektedir. Elektrodun gerçek bir analiz ortamındaki performansının incelenmesi için NADH'nın ardışık ilave yöntemiyle tayin aralığı

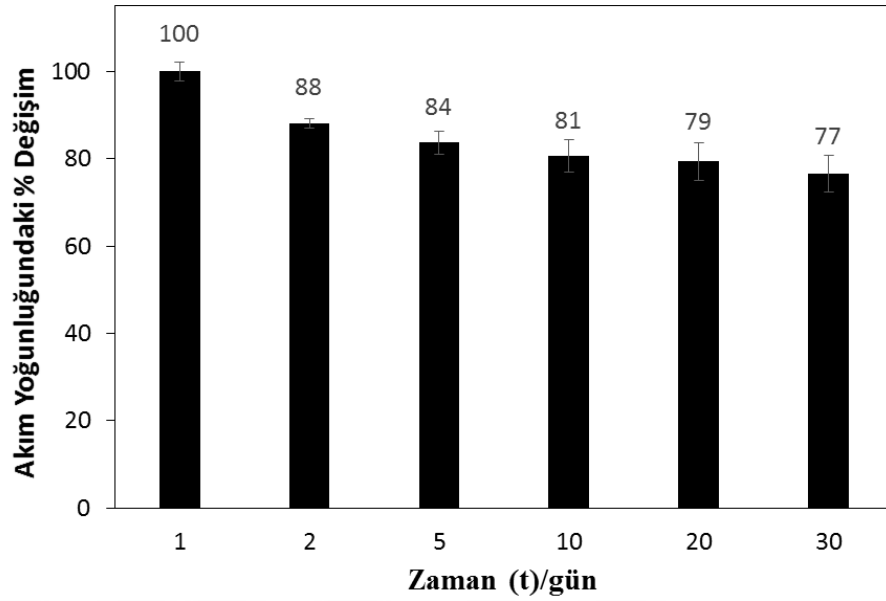
içerisinde 50, 100 ve 200 μM olacak şekilde izotonik serum ve musluk suyunu içeren 0,1 M PBS elektrolitindeki performansına ait veriler Tablo 4.4'te verilmiştir. Tablo incelendiğinde geri kazanım değerlerinin %100'e yakın olduğu görülmektedir. Bu sonuç, elektrot materyali olan e-GO/AB/Au(111)'in amperometrik olarak NADH'nın tayininde ortalama %2,44'lük bir standart sapma ile gerçek ortamda da iyi bir performans sergilediğini göstermektedir.

Tablo 4.4. Gerçek numune olarak izotonik serum ve musluk suyunda NADH analiz verileri (n=3)

NADH'nın Gerçek Numunede Belirlenmesi (n=3)			
Örnek	Eklenen (μM)	Belirlenen (μM)	Kazanım (%)
İzotonik Serum	0	0	---
	50	50,8 $\pm$ 3,0	101,6
	100	97,9 $\pm$ 1,3	97,9
	200	195,0 $\pm$ 5,7	97,5
Musluk Suyu	0	0	---
	50	51,1 $\pm$ 1,9	102,1
	100	97,2 $\pm$ 4,2	97,2
	200	206,9 $\pm$ 14,5	103,5

4.2.8. e-GO/AB/Au(111) elektrodunun zamana bağlı kararlılığı

Geliştirilen elektrot materyali e-GO/AB/Au(111)'nin zamana bağlı kararlılığını incelemek için hazırlandığı günden itibaren kullanılmadığı zamanlarda atmosfer şartlarına maruz bırakılarak farklı günlerdeki 10 mM'lik NADH çözeltilerindeki dönüşümlü voltametritlerden elde edilen akım yoğunluğu kazanımlarına ait veriler Şekil 4.25'te gösterilmiştir. 30. gün sonunda bile akım yoğunluğunda %77'lik bir kazanım sergilendiği görülmektedir.

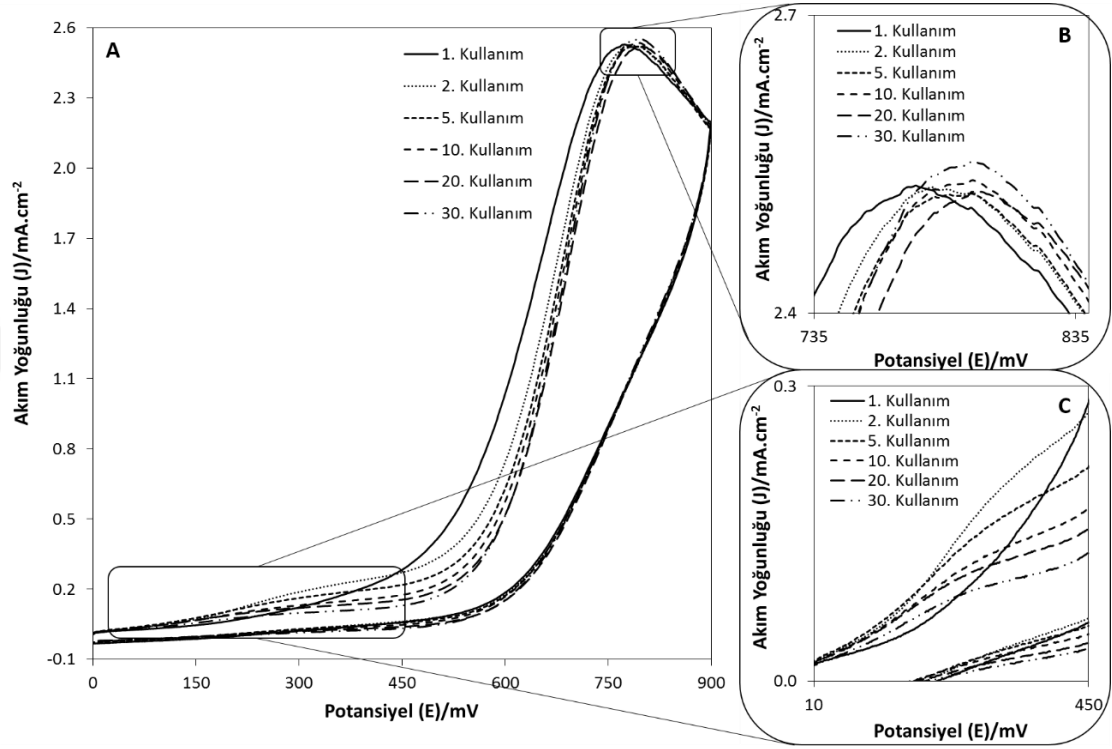


Şekil 4.25. e-GO/AB/Au(111) elektrodunun NADH'nın tayininde kullanılmadığı zaman dilimlerinde atmosfer şartlarına maruz bırakılarak 1., 2., 5., 10., 20., ve 30. günlerde 0-900 mV arasındaki CV tekniği ile elde edilen % akım yoğunlukları kazanımı (n=3)

4.2.9. e-GO/AB/Au(111) elektrodunun ardışık kullanılabilirliği

e-GO/AB/Au(111) elektrodunun ardışık kullanımdaki kararlılığını incelemek için 10 mM NADH içeren 0,1 M PBS pH 7,0 elektrolitlerinde dönüşümlü voltametrileri kıyaslanmıştır. İlk voltametri alındıktan sonra elektrot yıkanmadan diğer bir ölçüm için yeni NADH çözeltisine daldırıldıktan sonra stabil olması için 5-10 saniye kadar 350 rpm'de karıştırıldıktan sonra bir diğer voltamogram alınmıştır. Böylece alınan ardışık 1., 2., 5., 10., 20. ve 30. voltamogramlara ait akım yoğunluğu-potansiyel grafikleri Şekil 4.26'da verilmiştir. NADH'nın oksidasyon pik potansiyeli aralığına odaklanıldığında, ilk kullanımda yaklaşık 775 mV'de, daha sonrakilerde ise 795 mV'de konumlanan, %0,5 standart sapma ile ortalama $2,53 \mu\text{A.cm}^{-2}$ 'lik bir akım yoğunluğu sergilendiği görülmektedir (Şekil 4.26.B). Yaklaşık 100-350 mV potansiyel aralığına odaklanıldığında ise ilk kullanımda gözlenmeyen, ikinci kullanımdan sonra giderek azalan, yaklaşık 300 mV civarında yayvan bir pik ortaya çıkmıştır (Şekil 4.26.C). Hem potansiyeldeki 20 mV'lik kayma hem 300 mV civarında şekillenen pikin sebebinin

e-GO/AB kompozitindeki AB monomerlerinin yüzey sınırlı elektropolimerizasyonundan ileri geldiği düşünülmektedir (Shao *et al.* 2002; Farias *et al.* 2013).



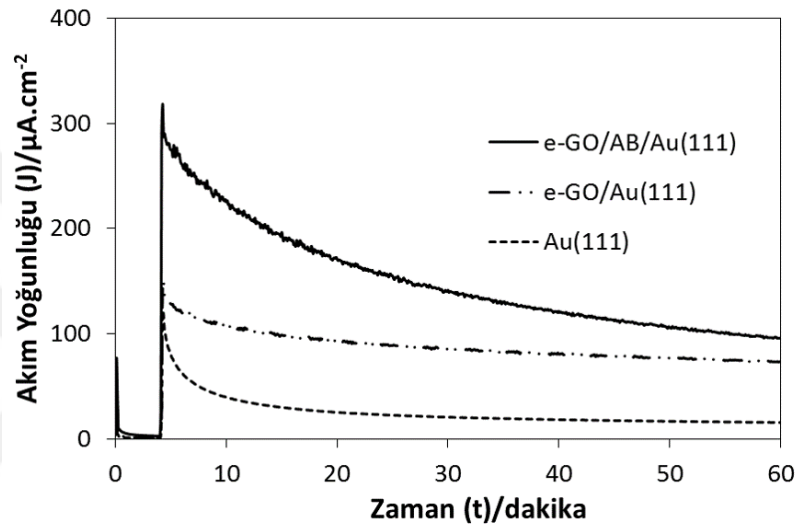
Şekil 4.26. Ardışık kullanıma bağlı olarak 10 mM NADH içeren 0,1 M PBS pH 7,0 elektrolitinde e-GO/AB/Au(111) elektrodunun akım yoğunluğu-potansiyel grafiği

Pik akım yoğunluklarında kayda değer bir değişim olmaması e-GO/AB/Au(111) elektrodun NADH tayininin ardışık olarak uygulanması için oldukça uygun olduğunu göstermektedir.

4.2.10. Amperometrik kararlılık çalışmaları

Amperometrik kararlılığın incelenmesi için e-GO/AB/Au(111), e-GO/Au(111) ve Au(111) elektrotları ile 0,5 mM NADH içeren ve 750 rpm'de karıştırılan 10 mL 0,1 M PBS pH 7,0 elektrolitinde, 780 mV sabit potansiyelde 60 dakikalık akım yoğunluğu-zaman eğrileri Şekil 4.27'de verilmiştir. Elektrotların stabil bir durum sergilemesi için 10 mL PBS elektrolitinde amperometrik sürecin 4. dakikasından sonra 10 mM NADH'dan

526 μL eklenerek NADH konsantrasyonu 0,5 mM'ye getirilmiştir. Şekil incelendiğinde akım yoğunlukları bakımından 60. dakika sonunda e-GO/AB/Au(111) için %71,1'lik bir azalmayla 318,4 mA.cm^{-2} 'den 92,0 mA.cm^{-2} 'ye, e-GO/Au(111) için %52,2'lik bir azalmayla 150,2 mA.cm^{-2} 'den 71,8 mA.cm^{-2} 'ye ve Au(111) için %87,4'lük bir azalmayla 121,8 mA.cm^{-2} 'den 15,4 mA.cm^{-2} 'ye bir değişim gözlenmiştir.

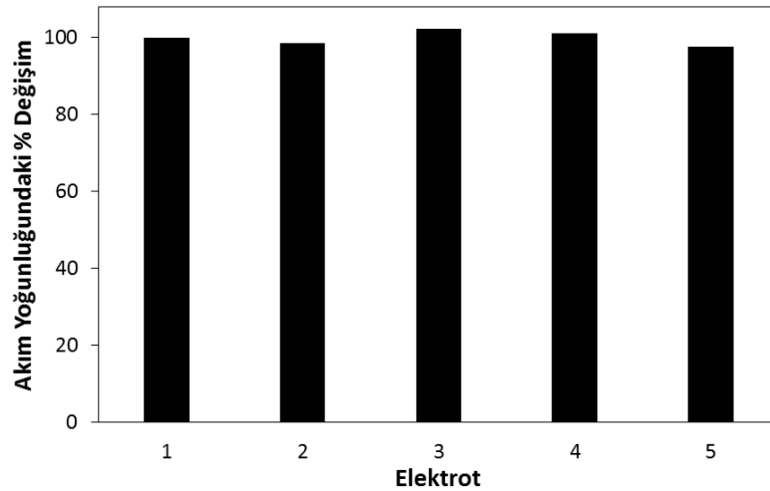


Şekil 4.27. 0,5 mM NADH içeren 10 mL, 0,1 M PBS pH 7,0 elektrolitinde 780 mV uygulama potansiyeli ve 750 rpm karıştırma şartlarında e-GO/AB/Au(111), e-GO/Au(111) ve Au(111) elektrotlarının amperometrik cevabı

Başlangıç akım yoğunluğu değerleri ve 60 dakika sonunda akım yoğunluklarındaki % azalmalar incelendiğinde, en düşük başlangıç akım yoğunluğu ($121,8 \text{ mA.cm}^{-2}$) ve en hızlı azalışın (%87,4) Au(111) elektrodunda, en yüksek başlangıç akım yoğunluğunun ($318,4 \text{ mA.cm}^{-2}$) e-GO/AB/Au(111) elektrodunda olmasına rağmen, en yavaş azalışın (%52,2) e-GO/Au(111) elektrodunda olduğu gözlenmiştir. Bu sonuçlar neticesinde e-GO ve AB materyallerinin, NADH'nın elektrokimyasal oksidasyonunda etkileşimi artırmasından dolayı başlangıç akım yoğunluğunu artırmasının yanında, NADH'nın oksidasyon sürecine az bir inhibisyon etkisiyle yüzey kirlenmesine direnç gösterdiği söylenebilir (Musameh *et al.* 2002; Shan *et al.* 2010). e-GO/AB/Au(111) elektrotta, e-GO/Au(111)'e göre hızlı akım artışı da amperometri işlemi sürecinde AB moleküllerinin yüzeyden desorbe olduğunu işaret etmektedir.

4.2.11. e-GO/AB/Au(111) elektrodu için fabrikasyonun tekrarlanabilirliği

e-GO/AB/Au(111) elektrot materyalinin üretilebilirliğinin incelenmesi için aynı çalışma koşulları ve üretim yöntemiyle farklı zamanlarda hazırlanan e-GO/AB/Au(111) elektrotlardan seçilen rasgele beş tanesinin % akım yoğunluğu kazanımları kıyaslaması Şekil 4.28’de gösterilmiştir. Elektrotların akım yoğunluklarındaki % değişim değerleri sırasıyla 100,0, 98,5, 102,2, 101,2 ve 97,6 olarak ölçülmüştür. Bu ölçümler neticesinde %1,9’luk bir standart sapma ile akım yoğunluğu kazanımlarının %100’e çok yakın olduğu görülmektedir. Bu sonuçlar, e-GO/AB/Au(111) elektrot materyali için önerdiğimiz fabrikasyon tekrarlanabilirliğinin yüksek olduğunu göstermektedir.

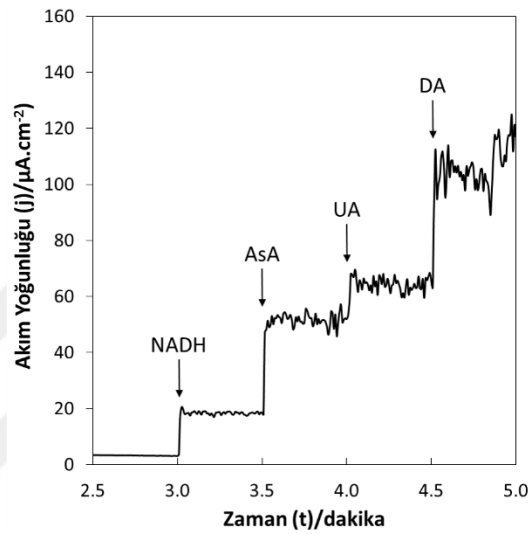


Şekil 4.28. Aynı teknikle farklı zamanlarda hazırlanmış 5 farklı e-GO/AB/Au(111) elektrodunun NADH’nın tayinindeki akım yoğunluklarının % değişimi

4.2.12. e-GO/AB/Au(111) elektrodu ile girişim çalışması

NADH tayininde girişim yapması en muhtemel türler AsA, UA ve DA’dır. 10 mL 0,1 M PBS tamponunda e-GO/AB/Au(111) elektrodunun stabil duruma gelmesi için üç dakika bekledikten sonra 40 µM olacak şekilde 30 saniye aralıklarla 5 mM’lik NADH, AsA, UA ve DA çözeltilerinden 80 µL sırasıyla eklenmesiyle elde edilen amperometrik veri Şekil 4.29’da gösterilmiştir. Her türün ilavesi sonrası akım yoğunluğunda artma yani girişim

gözlenmektedir. Bu tür girişimleri önlemek için spesifik oksidaz enzim ilavesi (da Silva *et al.* 2017), bazı türleri elektrot yüzeyinden uzaklaştırıp oksidasyonunu engellemek için elektrot yüzeyinin kaplanması (Fang *et al.* 2010; Ribeiro *et al.* 2016) ve yüksek elektrokatalitik etkiye sahip, sadece NADH'nın okside olduğu çalışmalar (Sangamithirai *et al.* 2015) bulunmaktadır.



Şekil 4.29. Optimum şartlarda 40 μ M NADH, AsA, UA ve DA eklenmesiyle elde edilen amperometri verisi

4.2.13. e-GO/AB/Au(111) elektrodunun performans kıyaslaması

e-GO/AB/Au(111) elektrot materyalinin performansını belirlemek için literatürde son zamanlarda çalışılmış olan ve NADH'nın amperometrik tayini amacıyla üretilen diğer elektrot materyalleri ile kıyaslanmasına ait veriler Tablo 4.5'te verilmiştir. Tablo incelediğinde e-GO/AB/Au(111) elektrot materyalinin bu 10 çalışma içerisinde tayin aralığı bakımından düşük konsantrasyonlarda geniş bir aralığa sahip olduğu, duyarlılık bakımından ikinci en yüksek değerde olduğu ve gözlenebilirlik sınırı bakımından 4. en düşük değere sahip olduğu görülmektedir. Kıyaslamalar neticesinde elektrot materyalinin genel olarak iyi bir performansa sahip olduğu söylenebilir.

Tablo 4.5. NADH'ın amperometrik belirlenmesinde e-GO/AB/Au(111) elektrodunun literatürdeki diğer elektrotlar ile performans kıyaslaması

Elektrot Materyali (Sensör)	pH	Tayin Aralığı (μM)	Duyarlılık (μAμM ⁻¹ cm ⁻²)	Gözlenebilme Sınırı (μM)	Referans
GNSs ^[a] /GC ^[b]	7.0	10-4690	0.2392	0.23	[1]
Au-TiO ₂ /GR	7.4	10-240	0.2287	0.2	[2]
ERGO ^[c] -PTH ^[d] /GC	8.6	10-3900	0.143	0.1	[3]
Ni-Cu ^[e] /GCE ^[f]	0.1 M NaOH	0.3-300	0.23002	0.18	[4]
PAH ^[g] /SPE ^[h]	6.0	10-5000	0.1259	0.22	[5]
Au-rGO ^[i] /GCE	7.2	0.05-500	0.916	0.0011	[6]
GCE/SWCNTs(oxidized) ^[j] -Polytyr ^[k]	7.4	0.15-83	0.217	0.0079	[7]
AuNPs ^[l] -ERGO-PAH/SPE	6.0	10-200	0.131	3.5	[8]
Gr-MB ^[m] /(Au)111	7.0	1.0-264	0.316	0.3	[9]
e-GO/AB/Au(111)	7.0	0.5-508	0.51	0.15	Bu Çalışma
[a]; grafit nanotabakalar, [b]; camısı karbon, [c]; elektrokimyasal indirgenmiş grafen oksit, [d]; poli(tiyonin), [e]; kurkumin (C ₂₁ H ₂₀ O ₆), [f]; camısı karbon elektrot, [g]; poli(allilamin hidroklorür), [h]; ekran baskılı elektrot, [i]; indirgenmiş grafen oksit, [j]; okside edilmiş tek duvarlı karbon nanotüpler, [k]; poli(L-tirozin), [l]; altın nanopartiküller, [m]; metilen mavisi.					
[1] Zhu, J.; Chen, X.; Yang, W., <i>Sensors and Actuators B: Chemical</i> 2010 , 150 (2), 564-568.					
[2] Fan, Y.; Yang, X.; Yang, C.; Liu, J., <i>Electroanalysis</i> 2012 , 24 (6), 1334-1339.					
[3] Li, Z., et al., <i>Sensors and Actuators B: Chemical</i> 2013 , 181, 280-287.					
[4] Ouyang, X.; Ding, Y.; Ba, X.; Gu, S., <i>Analytical Methods</i> 2014 , 6 (18), 7496.					
[5] Rotariu, L.; Istrate, O.-M.; Bala, C., <i>Sensors and Actuators B: Chemical</i> 2014 , 191, 491-497.					
[6] Govindhan, M.; Amiri, M.; Chen, A., <i>Biosens Bioelectron</i> 2015 , 66, 474-80.					
[7] Eguilaz, M.; Gutierrez, F.; Gonzalez-Dominguez, J. M.; Martinez, M. T.; Rivas, G., <i>Biosens Bioelectron</i> 2016 , 86, 308-14.					
[8] Istrate, O.-M.; Rotariu, L.; Marinescu, V. E.; Bala, C., <i>Sensors and Actuators B: Chemical</i> 2016 , 223, 697-704.					
[9] Erçankı, E.; Bayındır, O.; Alanyalıoğlu, M., <i>Polymer Composites</i> 2016 . doi:10.1002/pc.24021					

5. SONUÇLAR

Bu tez kapsamında, iki farklı çalışma yürütülmüştür. Bunlardan birincisi, AB'nin Au elektrotlar üzerinde elektrokimyasal polimerizasyonunda potansiyel aralığı, pH ve tarama hızı etkilerinin incelenmesi, polimerizasyon tipi ve elektrokristalizasyon prosesinin belirlenmesidir. Diğer ise, e-GO, k-GO ve bunların AB ile oluşturulmuş kompozitleri ile Au(111) substratının modifiye edilmesi sonucu bir dizi elektrot hazırlanarak NADH'nin elektrokimyasal belirlenmesi için elektrot materyali geliştirilmesidir.

İlk çalışma kapsamında, CV tekniği kullanılarak AB'nin Au elektrotlar üzerinde en iyi elektrokimyasal polimerizasyonu, poli(AB) redoksu için en yüksek akım sergilendiği pH 7,0 ortamı ve 1000 mV üst potansiyel değeri olduğu gözlenmiştir. Daha yüksek potansiyellerde poli(AB) film yapısının bozulduğu ve substrat olan Au'nun okside olduğu görülmüştür. 800 mV'lık bir üst potansiyel uygulandığında ise AB'nin oksidasyonu gözlenmemektedir. Doğrusal olarak elde edilen $I_{pc}-v$ grafiği ile elektrot prosesinin adsorpsiyon kontrollü olduğu belirlenmiştir. Kronoamperometri sonucu elde edilen j-t diyagramları incelendiğinde, poli(AB)'nin elektrokristalizasyon prosesinin rasgele tip adsorpsiyonla başladığı, progressive tip mekanizma ve ardından instantaneous tip mekanizma ile devam ettiği teorik olarak belirlenmiştir. Artan potansiyel ile polimer oluşumu hızlansa da, AB'nin elektrokimyasal polimerizasyon kinetiğinin oldukça yavaş olduğu belirlenmiştir. STM ve SEM görüntüleri incelendiğinde, en düzenli yapının 1000 mV üst potansiyel kullanıldığında meydana geldiği belirlenmiştir. Daha üst potansiyel değerlerinde film oluşumunun bozulduğu gözlenmiştir.

İkinci çalışma kapsamında ise, 1,0 mg e-GO için 0,069 mg AB ve 1,0 mg k-GO için 0,274 mg AB'nin adsorplandığı hesaplanmıştır. XRD verileri incelendiğinde, e-GO ve k-GO'nun AB ile etkileşmesi sonucu her iki materyalde de hem 2 θ açılarında kayma hem de FWHM değerlerinde artma olduğu gözlenmiştir. Altın levha üzerinde damlatıp kurutma ile hazırlanmış kompozitlerin XPS spektrumları incelendiğinde, e-GO ve k-GO'da gözlenmeyen, fakat AB ile kompozitlerinde gözlenen S ve N atomlarına ait pikler kompozit oluşumlarını desteklemektedir. SEM görüntüleri, AB'nin Au(111)

yüzeyinde agrega olduğuna, Raman spektrumlarında AB'nin katkılanması sonrasında kompozit yapıların I_D/I_G oranındaki değişimler AB ile e-GO ve k-GO arasındaki etkileşimden kaynaklandığına atfedilmiştir. Hazırlanan elektrotlar içerisinde NADH'nın elektrokimyasal belirlenmesinde katalitik etkinin en fazla gözlemlendiği e-GO/AB/Au(111) elektrodu, en uygun elektrot olarak seçildikten sonra, 50 μL (1 mg mL^{-1}) e-GO/AB yükleme miktarı ve pH 7,0 ortamı optimum şartlar olarak belirlenmiştir. Seçilen e-GO/AB/Au(111) elektrodu ve optimum şartlarda 780 mV sabit potansiyelde uygulanan amperometrik ölçümler neticesinde 0,15 μM dedeksiyon limiti, 0,5 μM ile 508 μM arasında doğrusal bir tayin aralığı ve $0,51 \mu\text{A} \mu\text{M}^{-1} \text{cm}^{-2}$ duyarlılık değerleri hesaplanmıştır. İzotonik serum ve musluk suyunda yapılan gerçek numune analiz değerleri, atmosfer şartlarında bekletilerek zamana bağlı, ardışık kullanım ve amperometrik kararlılık çalışmaları yanında fabrikasyonun tekrarlanabilirliği çalışması, seçilen elektrodun NADH tayini için iyi çalıştığını göstermiştir. e-GO/AB/Au(111) elektrodu ile NADH'nın amperometrik belirlenmesinde AsA, UA ve DA türlerinin girişim yaptığı tespit edilmiştir. Literatür ile yapılan performans kıyaslaması, e-GO/AB/Au(111) elektrodunun oldukça yüksek duyarlılığa ve geniş bir tayin aralığına sahip olduğunu göstermektedir. Bu tarz grafen esaslı kompozit elektrotların sadece NADH tayininde değil, daha farklı kimyasal ve biyolojik türlerin elektrokimyasal tayininde başarıyla uygulanabileceği düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

- Alanyalıoğlu, M., 2006. S, Se ve Te'ün potansiyel altı depozisyonu ve PbS, PbSe ve PbTe'ün yeni bir elektrotdepozisyon yöntemi ile sentezi ve karakterizasyonu, Fen Bilimleri Enstitüsü, Atatürk Üniversitesi.
- Alanyalıoğlu, M., Segura, J.J., Oró-Solè, J. and Casañ-Pastor, N., 2012. The synthesis of graphene sheets with controlled thickness and order using surfactant-assisted electrochemical processes. *Carbon*, 50 (1), 142-152.
- Anonim, 2017a. Metallerin kristal yapısı, <https://muhendishane.org/kutuphane/temel-malzeme-bilgisi/metallerin-kristal-yapisi/> (30.09.2017).
- Anonim, 2017b. Kompozit malzemeler, https://tr.wikipedia.org/wiki/Kompozit_malzemeler (02.10.2017).
- Anonim, 2017c. Daha yakın olmak için: Elektron mikroskopları, <http://www.acikbilim.com/2014/02/dosyalar/daha-yakin-olmak-icin-elektron-mikroskoplari-2.html> (31.07.2017).
- Anonymous, 2017a. Bragg's Law, <http://pd.chem.ucl.ac.uk/pdnn/powintro/braggs.htm> (31.07.2017).
- Anonymous, 2017b. Evaluation of X-Ray Spectra Measured with Energy Dispersive Xray Spectrometer (EPMA), <http://microanalyst.mikroanalytik.de/info2.phtml> (02.08.2017).
- Bard, A.J. and Faulkner, L.R., 2011. *Electrochemical Methods: Fundamentals and Applications*. Wiley, New York.
- Berger, C., Song, Z.M., Li, X.B., Wu, X.S., Brown, N., Naud, C., Mayou, D., Li, T.B., Hass, J., Marchenkov, A.N., Conrad, E.H., First, P.N. and de Heer, W.A., 2006. Electronic confinement and coherence in patterned epitaxial graphene. *Science*, 312 (5777), 1191-1196.
- Bewick, A., Fleischmann, M. and Thirsk, H.R., 1962. Kinetics of the electrocrystallization of thin films of calomel. *Transactions of the Faraday Society*, 58, 2200-2216.
- Bonanni, A. and Pumera, M., 2012. Electroactivity of graphene oxide on different substrates. *RSC Advances*, 2 (28), 10575.
- Cai, C.-X. and Xue, K.-H., 1997. Electrocatalysis of NADH oxidation with electropolymerized films of azure I. *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 427 (1-2), 147-153.
- Camalli, M., Caruso, F., Mattogno, G. and Rivarola, E., 1990. Adducts of tin(IV) and organotin(IV) derivatives with 2,2'-azopyridine II. Crystal and molecular structure of SnMe₂Br₂AZP and further mössbauer and photoelectronic spectroscopic studies. *Inorganica Chimica Acta*, 170 (2), 225-231.
- Chen, C. and Gao, Y., 2004. Electrochemical polymerization of azure B in H₂SO₄ solution and properties of poly(azure B). *Materials Letters*, 58 (27-28), 3385-3387.
- Chen, C. and Gao, Y., 2007. Electrosynthesis of Poly(azure B) from Sulfuric Acid Solution. *Journal of Macromolecular Science, Part A*, 44 (10), 1089-1093.

- Chen, S.M. and Lin, K.C., 2001. The electrocatalytic properties of polymerized neutral red film modified electrodes. *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 511 (1-2), 101-114.
- Chenault, H.K. and Whitesides, G.M., 1987. Regeneration of Nicotinamide Cofactors for Use in Organic-Synthesis. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 14 (2), 147-197.
- Chiang, C.K., Fincher, C.R., Park, Y.W., Heeger, A.J., Shirakawa, H., Louis, E.J., Gau, S.C. and Macdiarmid, A.G., 1977. Electrical-Conductivity in Doped Polyacetylene. *Physical Review Letters*, 39 (17), 1098-1101.
- Clavilier, J., Faure, R., Guinet, G. and Durand, R., 1980. Preparation of monocrystalline Pt microelectrodes and electrochemical study of the plane surfaces cut in the direction of the {111} and {110} planes. *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 107 (1), 205-209.
- da Silva, L.V., Lopes, C.B., da Silva, W.C., de Paiva, Y.G., Silva, F.D.D., Lima, P.R., Kubota, L.T. and Goulart, M.O.F., 2017. Electropolymerization of ferulic acid on multi-walled carbon nanotubes modified glassy carbon electrode as a versatile platform for NADH, dopamine and epinephrine separate detection. *Microchemical Journal*, 133, 460-467.
- Dagci, K. and Alanyalioglu, M., 2016. Preparation of Free-Standing and Flexible Graphene/Ag Nanoparticles/Poly(pyronin Y) Hybrid Paper Electrode for Amperometric Determination of Nitrite. *ACS Appl Mater Interfaces*, 8 (4), 2713-22.
- Diaz, A.F., Kanazawa, K.K. and Gardini, G.P., 1979. Electrochemical Polymerization of Pyrrole. *Journal of the Chemical Society-Chemical Communications* (14), 635-636.
- Dong, S. and Chu, Q., 1993. Study of the electrode process of hemoglobin at a polymerized azure A film electrode. *Electroanalysis*, 5 (2), 135-140.
- Ensafi, A.A., Alinajafi, H.A., Jafari-Asl, M., Rezaei, B. and Ghazaei, F., 2016. Cobalt ferrite nanoparticles decorated on exfoliated graphene oxide, application for amperometric determination of NADH and H₂O₂. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*, 60, 276-84.
- Erçarıkcı, E., Bayındır, O. and Alanyalıoğlu, M., 2017. Amperometric Quantification of NADH Based on Graphene/Methylene Blue Nanocomposite Thin Films on Au(111). *Polymer Composites*, 38, E118-E127.
- Fang, J., Qi, B., Yang, L. and Guo, L., 2010. Ordered mesoporous carbon functionalized with poly-azure B for electrocatalytic application. *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 643 (1-2), 52-57.
- Farias, E.D., Pfaffen, V. and Ortiz, P.I., 2013. Electrochemical comparison of two methods for polythionineelectropolymerization and its relevance as amperometric detector. *Electrochimica Acta*, 105, 622-628.
- García-Pineda, I., Mayén, M., Rodríguez-Mellado, J.M. and Rodríguez-Amaro, R., 2013. NADH Electrocatalytic Oxidation on Gold Nanoparticle-Modified PVC/TTF-TCNQ Composite Electrode. Application as Amperometric Sensor. *Electroanalysis*, 25 (8), 1981-1987.
- Gómez-Anquela, C., Revenga-Parra, M., Abad, J.M., Marín, A.G., Pau, J.L., Pariente, F., Piqueras, J. and Lorenzo, E., 2014. Electrografting of N',N'-dimethylphenothiazin-5-ium-3,7-diamine (Azure A) diazonium salt forming

- electrocatalytic organic films on gold or graphene oxide gold hybrid electrodes. *Electrochimica Acta*, 116, 59-68.
- Guo, Y., Sun, X., Liu, Y., Wang, W., Qiu, H. and Gao, J., 2012. One pot preparation of reduced graphene oxide (RGO) or Au (Ag) nanoparticle-RGO hybrids using chitosan as a reducing and stabilizing agent and their use in methanol electrooxidation. *Carbon*, 50 (7), 2513-2523.
- Hamelin, A., 1996. Cyclic voltammetry at gold single-crystal surfaces. Part 1. Behaviour at low-index faces. *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 407 (1-2), 1-11.
- Havelcova, M., Kubat, P. and Nemcova, I., 1999. Photophysical properties of thiazine dyes in aqueous solution and in micelles. *Dyes and Pigments*, 44 (1), 49-54.
- He, W., Sun, Y., Xi, J., Abdurhman, A.A., Ren, J. and Duan, H., 2016. Printing graphene-carbon nanotube-ionic liquid gel on graphene paper: Towards flexible electrodes with efficient loading of PtAu alloy nanoparticles for electrochemical sensing of blood glucose. *Anal Chim Acta*, 903, 61-8.
- Heineman, W.R. and Jensen, W.B., 2006. Leland C. Clark Jr. (1918-2005). *Biosensors & Bioelectronics*, 21 (8), 1403-1404.
- Heli, H., Sattarahmady, N. and Zare, S.N., 2015. Electrooxidation and determination of perphenazine on a graphene oxide nanosheet-modified electrode. *RSC Adv.*, 5 (27), 21005-21011.
- Hong, J.M., Niyogi, S., Bekyarova, E., Itkis, M.E., Ramesh, P., Berger, C., deHeer, W.A., Haddon, R.C. and Khizroev, S., 2012. Effect of functionalization on the electrostatic charging, tunneling, and Raman spectroscopy of epitaxial graphene. *Journal of Vacuum Science & Technology B*, 30 (3).
- Hou, Y., Guo, L.P. and Wang, G., 2008. Synthesis and electrochemical performance of ordered mesoporous carbons with different pore characteristics for electrocatalytic oxidation of hydroquinone. *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 617 (2), 211-217.
- Hu, L., Yang, Z., Cui, L., Li, Y., Ngo, H.H., Wang, Y., Wei, Q., Ma, H., Yan, L. and Du, B., 2016. Fabrication of hyperbranched polyamine functionalized graphene for high-efficiency removal of Pb(II) and methylene blue. *Chemical Engineering Journal*, 287, 545-556.
- Huang Yugai, Wang Haiyan and Xiaoya, H., 2006. Detection of glucose at glassy carbon electrode modified by poly(azure B)/copper nanocomposite films. *Chinese Journal of Analytical Chemistry*, 34 (8), 1119-1121.
- Hummers, W.S. and Offeman, R.E., 1958. Preparation of Graphitic Oxide. *Journal of the American Chemical Society*, 80 (6), 1339-1339.
- Iijima, S., 1991. Helical Microtubules of Graphitic Carbon. *Nature*, 354 (6348), 56-58.
- Istrate, O.-M., Rotariu, L., Marinescu, V.E. and Bala, C., 2016. NADH sensing platform based on electrochemically generated reduced graphene oxide-gold nanoparticles composite stabilized with poly(allylamine hydrochloride). *Sensors and Actuators B: Chemical*, 223, 697-704.
- Ito, T., Shirakawa, H. and Ikeda, S., 1974. Simultaneous Polymerization and Formation of Polyacetylene Film on Surface of Concentrated Soluble Ziegler-Type Catalyst Solution. *Journal of Polymer Science Part a-Polymer Chemistry*, 12 (1), 11-20.
- Kalyoncu, E. and Alanyalioglu, M., 2011. Chronoamperometric and morphological investigation of nucleation and growth mechanism of poly(azure A) thin films. *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 660 (1), 133-139.

- Karyakin, A.A., Karyakina, E.E. and Schmidt, H.L., 1999a. Electropolymerized azines: A new group of electroactive polymers. *Electroanalysis*, 11 (3), 149-155.
- Karyakin, A.A., Karyakina, E.E., Schuhmann, W. and Schmidt, H.L., 1999b. Electropolymerized azines: Part II. In a search of the best electrocatalyst of NADH oxidation. *Electroanalysis*, 11 (8), 553-557.
- Karyakin, A.A., Strakhova, A.K., Karyakina, E.E., Varfolomeyev, S.D. and Yatsimirsky, A.K., 1993. The electrochemical polymerization of methylene blue and bioelectrochemical activity of the resulting film. *Bioelectrochemistry and Bioenergetics*, 32 (1), 35-43.
- Kessel, R. and Schultze, J.W., 1990. Surface analytical and photoelectrochemical investigations of conducting polymers. *Surface and Interface Analysis*, 16 (1-12), 401-406.
- Kondo, T., Morita, J., Hanaoka, K., Takakusagi, S., Tamura, K., Takahashi, M., Mizuki, J. and Uosaki, K., 2007. Structure of Au(111) and Au(100) single-crystal electrode surfaces at various potentials in sulfuric acid solution determined by in situ surface X-ray scattering. *Journal of Physical Chemistry C*, 111 (35), 13197-13204.
- Kong, Y., Ou, J., Liu, Z., Xue, S., Tao, Y. and Ma, J., 2014. The electrocatalytic characteristics of poly(azure B) and its application in the sensitive determination of hydroquinone. *Analytical Methods*, 6 (11), 3735.
- Kroto, H.W., Heath, J.R., O'Brien, S.C., Curl, R.F. and Smalley, R.E., 1985. C-60 - Buckminsterfullerene. *Nature*, 318 (6042), 162-163.
- Kudin, K.N., Ozbas, B., Schniepp, H.C., Prud'homme, R.K., Aksay, I.A. and Car, R., 2008. Raman spectra of graphite oxide and functionalized graphene sheets. *Nano Lett*, 8 (1), 36-41.
- Lacroix, J.C. and Diaz, A.F., 1986. Polyaniline Films on Electrode Surfaces. *Abstracts of Papers of the American Chemical Society*, 192, 74-Coll.
- Lee, J., 2007. Low Temperature Scanning Tunneling Microscope Development: Investigations of Au(111) and Ultra-slow Vortex Dynamics of NbSe₂. Dissertation Thesis, Physics, University of Maryland.
- Li, Y., Xu, L., Liu, H. and Li, Y., 2014. Graphdiyne and graphyne: from theoretical predictions to practical construction. *Chem Soc Rev*, 43 (8), 2572-86.
- Liu, H.T., Liu, Y.Q. and Zhu, D.B., 2011. Chemical doping of graphene. *Journal of Materials Chemistry*, 21 (10), 3335-3345.
- Liu, N., Luo, F., Wu, H., Liu, Y., Zhang, C. and Chen, J., 2008. One-Step Ionic-Liquid-Assisted Electrochemical Synthesis of Ionic-Liquid-Functionalized Graphene Sheets Directly from Graphite. *Advanced Functional Materials*, 18 (10), 1518-1525.
- Loh, K.P., Bao, Q.L., Ang, P.K. and Yang, J.X., 2010. The chemistry of graphene. *Journal of Materials Chemistry*, 20 (12), 2277-2289.
- Lorenzo, E., Pariente, F., Hernandez, L., Tobalina, F., Darder, M., Wu, Q., Maskus, M. and Abruna, H.D., 1998. Analytical strategies for amperometric biosensors based on chemically modified electrodes. *Biosensors & Bioelectronics*, 13 (3-4), 319-332.
- Lubert, K.-H. and Kalcher, K., 2010. History of Electroanalytical Methods. *Electroanalysis*, 22 (17-18), 1937-1946.
- Macdiarmid, A.G., Akhtar, M., Chiang, C.K., Cohen, M.J., Kleppinger, J., Heeger, A.J., Louis, E.J., Milliken, J., Moran, M.J., Peebles, D.L. and Shirakawa, H., 1977.

- Electrically Conducting Covalent Polymers - Halogen Derivatives of (Sn)X and (Ch)X. *Journal of the Electrochemical Society*, 124 (8), C304-C304.
- Mahalanabis, M., Al-Muayad, H., Kulinski, M.D., Altman, D. and Klapperich, C.M., 2009. Cell lysis and DNA extraction of gram-positive and gram-negative bacteria from whole blood in a disposable microfluidic chip. *Lab on a Chip*, 9 (19), 2811-2817.
- McDowell, J.J.H., 1976. The crystal and molecular structure of phenothiazine. *Acta Crystallographica Section B Structural Crystallography and Crystal Chemistry*, 32 (1), 5-10.
- Muller, F., 1983. The Flavin Redox-System and Its Biological Function. *Topics in Current Chemistry*, 108, 71-107.
- Musameh, M., Wang, J., Merkoci, A. and Lin, Y., 2002. Low-potential stable NADH detection at carbon-nanotube-modified glassy carbon electrodes. *Electrochemistry Communications*, 4 (10), 743-746.
- Novoselov, K.S., Fal'ko, V.I., Colombo, L., Gellert, P.R., Schwab, M.G. and Kim, K., 2012. A roadmap for graphene. *Nature*, 490 (7419), 192-200.
- Novoselov, K.S., Geim, A.K., Morozov, S.V., Jiang, D., Zhang, Y., Dubonos, S.V., Grigorieva, I.V. and Firsov, A.A., 2004. Electric field effect in atomically thin carbon films. *Science*, 306 (5696), 666-669.
- Obraztsov, A.N., Obraztsova, E.A., Tyurnina, A.V. and Zolotukhin, A.A., 2007. Chemical vapor deposition of thin graphite films of nanometer thickness. *Carbon*, 45 (10), 2017-2021.
- Ohsaka, T., Tanaka, K. and Tokuda, K., 1993. Electrocatalysis of poly(thionine)-modified electrodes for oxidation of reduced nicotinamide adenine dinucleotide. *Journal of the Chemical Society, Chemical Communications* (3), 222.
- Olvera-Vargas, H., Oturan, N., Aravindakumar, C.T., Paul, M.M., Sharma, V.K. and Oturan, M.A., 2014. Electro-oxidation of the dye azure B: kinetics, mechanism, and by-products. *Environ Sci Pollut Res Int*, 21 (14), 8379-86.
- Otero, T.F. and Martinez, J.G., 2016. Electro-chemo-biomimetics from conducting polymers: fundamentals, materials, properties and devices. *J. Mater. Chem. B*, 4 (12), 2069-2085.
- Paul, P., Mati, S.S., Bhattacharya, S.C. and Kumar, G.S., 2017. Exploring the interaction of phenothiazinium dyes methylene blue, new methylene blue, azure A and azure B with tRNAPhe: spectroscopic, thermodynamic, voltammetric and molecular modeling approach. *Phys Chem Chem Phys*, 19 (9), 6636-6653.
- Pauliukaite, R., Ghica, M.E., Barsan, M.M. and Brett, C.M.A., 2010. Phenazines and Polyphenazines in Electrochemical Sensors and Biosensors. *Analytical Letters*, 43 (10-11), 1588-1608.
- Raj, M.A. and John, S.A., 2013. Fabrication of Electrochemically Reduced Graphene Oxide Films on Glassy Carbon Electrode by Self-Assembly Method and Their Electrocatalytic Application. *The Journal of Physical Chemistry C*, 117 (8), 4326-4335.
- Rajaram, R., Anandhakumar, S. and Mathiyarasu, J., 2015. Electrocatalytic oxidation of NADH at low overpotential using nanoporous poly(3,4)-ethylenedioxythiophene modified glassy carbon electrode. *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 746, 75-81.

- Randriamahazaka, H., Noël, V. and Chevrot, C., 1999. Nucleation and growth of poly(3,4-ethylenedioxythiophene) in acetonitrile on platinum under potentiostatic conditions. *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 472 (2), 103-111.
- Revenga-Parra, M., Gomez-Anquela, C., Garcia-Mendiola, T., Gonzalez, E., Pariente, F. and Lorenzo, E., 2012. Grafted Azure A modified electrodes as disposable beta-nicotinamide adenine dinucleotide sensors. *Anal Chim Acta*, 747, 84-91.
- Ribeiro, J.A., Fernandes, P.M., Pereira, C.M. and Silva, F., 2016. Electrochemical sensors and biosensors for determination of catecholamine neurotransmitters: A review. *Talanta*, 160, 653-79.
- Roy, S., Rahman, I.A., Santos, J.H. and Ahmed, M.U., 2016. Meat species identification using DNA-redox electrostatic interactions and non-specific adsorption on graphene biochips. *Food Control*, 61, 70-78.
- Sangamithirai, D., Narayanan, V., Muthuraaman, B. and Stephen, A., 2015. Investigations on the performance of poly(o-anisidine)/graphene nanocomposites for the electrochemical detection of NADH. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*, 55, 579-91.
- Schirmer, R.H., Adler, H., Pickhardt, M. and Mandelkow, E., 2011. "Lest we forget you-methylene blue...". *Neurobiol Aging*, 32 (12), 2325 e7-16.
- Schotter, J., Shoshi, A. and Brueckl, H., 2009. Development of a magnetic lab-on-a-chip for point-of-care sepsis diagnosis. *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*, 321 (10), 1671-1675.
- Sha, Y., Gao, Q., Qi, B. and Yang, X., 2004. Electropolymerization of Azure B on a Screen-Printed Carbon Electrode and its Application to the Determination of NADH in a Flow Injection Analysis System. *Microchimica Acta*, 148 (3-4), 335-341.
- Shan, C., Yang, H., Han, D., Zhang, Q., Ivaska, A. and Niu, L., 2010. Electrochemical determination of NADH and ethanol based on ionic liquid-functionalized graphene. *Biosens Bioelectron*, 25 (6), 1504-8.
- Shan, D., Mousty, C., Cosnier, S. and Mu, S., 2003. A New Polyphenol Oxidase Biosensor Mediated by Azure B in Laponite Clay Matrix. *Electroanalysis*, 15 (19), 1506-1512.
- Shan, D., Mu, S. and Mao, B., 2001. Detection of Intermediate During the Electrochemical Polymerization of Azure B and Growth of Poly(azure B) Film. *Electroanalysis*, 13 (6), 493-498.
- Shan, D. and Mu, S.L., 2001. Electrochemical synthesis and properties of poly(azure B). *Chinese Journal of Polymer Science*, 19 (4), 359-370.
- Shao, Y., Jin, Y.D. and Dong, S.J., 2002. DNA-templated assembly and electropolymerization of aniline on gold surface. *Electrochemistry Communications*, 4 (10), 773-779.
- Shen-Tu, C., Liu, Z., Kong, Y., Yao, C. and Tao, Y., 2013. Electrochemical Synthesis and Properties of Poly(azure B). *Journal of the Electrochemical Society*, 160 (6), G83-G87.
- Shervedani, R.K., Amini, A. and Sadeghi, N., 2016. Electrografting of thionine diazonium cation onto the graphene edges and decorating with Au nano-dendrites or glucose oxidase: Characterization and electrocatalytic applications. *Biosens Bioelectron*, 77, 478-85.

- Shirakawa, H., Louis, E.J., Macdiarmid, A.G., Chiang, C.K. and Heeger, A.J., 1977. Synthesis of Electrically Conducting Organic Polymers - Halogen Derivatives of Polyacetylene, (Ch)X. *Journal of the Chemical Society-Chemical Communications* (16), 578-580.
- Silber, A., Hampp, N. and Schuhmann, W., 1996. Poly(methylene blue)-modified thick-film gold electrodes for the electrocatalytic oxidation of NADH and their application in glucose biosensors. *Biosensors & Bioelectronics*, 11 (3), 215-223.
- Song, Y., Xu, J.-L. and Liu, X.-X., 2014. Electrochemical anchoring of dual doping polypyrrole on graphene sheets partially exfoliated from graphite foil for high-performance supercapacitor electrode. *Journal of Power Sources*, 249, 48-58.
- Sun, Z.Z., James, D.K. and Tour, J.M., 2011. Graphene Chemistry: Synthesis and Manipulation. *Journal of Physical Chemistry Letters*, 2 (19), 2425-2432.
- Tanaka, K., Tokuda, K. and Ohsaka, T., 1993. An excellent electrocatalysis of poly(phenosafranine)-modified electrode for oxidation of reduced β -nicotinamide adenine dinucleotide. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* (23), 1770-1772.
- Topcu, E., Dagci, K. and Alanyalioglu, M., 2016. Free-standing Graphene/Poly(methylene blue)/AgNPs Composite Paper for Electrochemical Sensing of NADH. *Electroanalysis*, 28 (9), 2058-2069.
- Torstensson, A. and Gorton, L., 1981. Catalytic oxidation of NADH by surface-modified graphite electrodes. *Journal of Electroanalytical Chemistry and Interfacial Electrochemistry*, 130, 199-207.
- Waltman, R.J. and Bargon, J., 1986. Electrically Conducting Polymers - a Review of the Electropolymerization Reaction, of the Effects of Chemical-Structure on Polymer Film Properties, and of Applications Towards Technology. *CANADIAN JOURNAL OF CHEMISTRY-REVUE CANADIENNE DE CHIMIE*, 64 (1), 76-95.
- Wang, J., Xu, D.K., Kawde, A.N. and Polsky, R., 2001. Metal nanoparticle-based electrochemical stripping potentiometric detection of DNA hybridization. *ANALYTICAL CHEMISTRY*, 73 (22), 5576-5581.
- Woll, C., Chiang, S., Wilson, R.J. and Lippel, P.H., 1989. Determination of Atom Positions at Stacking-Fault Dislocations on Au(111) by Scanning Tunneling Microscopy. *Physical Review B*, 39 (11), 7988-7991.
- Xu, Z., Gao, H. and Guoxin, H., 2011. Solution-based synthesis and characterization of a silver nanoparticle-graphene hybrid film. *Carbon*, 49 (14), 4731-4738.
- Yan, X., Chen, J., Yang, J., Xue, Q. and Miele, P., 2010. Fabrication of free-standing, electrochemically active, and biocompatible graphene oxide-polyaniline and graphene-polyaniline hybrid papers. *ACS Appl Mater Interfaces*, 2 (9), 2521-9.
- Yun, M., Choe, J.E., You, J.M., Ahmed, M.S., Lee, K., Ustundag, Z. and Jeon, S., 2015. High catalytic activity of electrochemically reduced graphene composite toward electrochemical sensing of Orange II. *Food Chem*, 169, 114-9.
- Zeyada, H.M., Zidan, H.M., Abdelghany, A.M. and Abbas, I., 2017. Structural, Optical, and Dielectric Properties of Azure B Thin Films and Impact of Thermal Annealing. *Journal of Electronic Materials*, 46 (7), 4304-4311.
- Zhang, Y., Liu, Y., He, J., Pang, P., Gao, Y. and Hu, Q., 2013. Electrochemical behavior of graphene/Nafion/Azure I/Au nanoparticles composites modified glass carbon electrode and its application as nonenzymatic hydrogen peroxide sensor. *Electrochimica Acta*, 90, 550-555.

- Zhou, D.M., Sun, J.J., Chen, H.Y. and Fang, H.Q., 1998. Electrochemical polymerization of toluidine blue and its application for the amperometric determination of beta-D-glucose. *Electrochimica Acta*, 43 (12-13), 1803-1809.
- Zor, M., 2017. Kompozit Malzemelerle İlgili Genel Bilgiler, http://kisi.deu.edu.tr/userweb/mehmet.zor/composite%20materials/2-Genel_bilgiler.pdf (03.10.2017).



ÖZGEÇMİŞ

1980 yılında Erzurum'un Tortum ilçesinde doğdu. İlk ve orta öğrenimini Erzurum'da tamamladı. 2001 yılında girdiği Atatürk Üniversitesi Fen Fakültesi Kimya Bölümü'nden 2005 yılında mezun oldu. 2006 yılında başladığı Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ortaöğretim Fen ve Matematik Alanları Bölümü'nde tezsiz yüksek lisans eğitimini 2007 yılında tamamladı. Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü'nde Analitik Kimya Bilim Dalı'nda 2008 yılında doktora eğitimine başladı. Halen akademik çalışmalarına devam etmektedir.

Yayın Listesi:

1. Erçarıkçı, E., Bayındır, O. and Alanyalıoğlu, M., 2017. Amperometric Quantification of NADH Based on Graphene/Methylene Blue Nanocomposite Thin Films on Au(111). Polymer Composites, 38, E118-E127.