

T.C.
İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

SENSÖR AMAÇLI SOL-JEL KAPLAMALARIN HAZIRLANMASI
VE ÖZELLİKLERİNİN İNCELENMESİ

Nizamettin DEMİRKİRAN

DOKTORA TEZİ
KİMYA ANABİLİM DALI

MALATYA
Haziran-2009

M. Mustafa ve F. Nazlı' ya

Tezin Başlığı : Sensör Amaçlı Sol-Jel Kaplamaların Hazırlanması Ve
Özelliklerinin İncelenmesi

Tezi Hazırlayan : Nizamettin DEMİRKIRAN

Sınav Tarihi : 26.06.2009

Yukarıda adı geçen tez jürimizce değeriendirilerek Kimya Anabilim Dalında
Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.

Sınav Jürisi Üyeleri:

Prof. Dr. Kadir DEMİRELLİ

Fırat Üniversitesi

Prof. Dr. Asım KÜNKÜL

İnönü Üniversitesi

Prof. Dr. Ergun EKİNCİ (Danışman)

İnönü Üniversitesi

Prof. Dr. M. Engin ŞENER

İnönü Üniversitesi

Doç. Dr. Gamze ERDOĞDU

İnönü Üniversitesi

İnönü Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Onayı

Prof. Dr. İsmail ÖZDEMİR

Enstitü Müdürü

ONUR SÖZÜ

Doktora Tezi olarak sunduğum “Sensör Amaçlı Sol-Jel Kaplamaların Hazırlanması Ve Özelliklerinin İncelenmesi” başlıklı bu çalışmanın bilimsel ahlâk ve geleneklere aykırı düşecek bir yardıma başvurmaksızın tarafımdan yazıldığını ve yararlandığım bütün kaynakların, hem metin içinde hem de kaynaklar bölümünde yöntemine uygun biçimde gösterilenlerden oluştuğunu belirtir, bunu onurumla doğrularım.

Nizamettin DEMİRKIRAN

İÇİNDEKİLER

İÇİNDEKİLER	i
ÖZET	iii
ABSTRACT	v
TEŞEKKÜR	vii
ÇİZELGELER DİZİNİ	viii
ŞEKİLLER DİZİNİ	ix
1. GİRİŞ	1
2. KURAMSAL TEMELLER	3
2.1. Elektrokimyasal Hücreler ve Reaksiyonlar.....	3
2.1.1. Referans elektrotlar.....	4
2.1.2. Çalışma elektrodu.....	4
2.1.3. Elektrokimyasal reaksiyonlar.....	6
2.2. Elektrot Modifikasyonu.....	8
2.3. Sol-Jel Prosesi.....	12
2.3.1. Sol-jel film ve kaplamalar.....	19
2.3.2. Sol-jel filmlerle elektrot modifikasyonu.....	21
2.4. Hidrojen Peroksit ve Dopamin Sensör.....	24
2.5. Biyosensörler.....	26
2.5.1. Enzim immobilizasyon metotları.....	29
2.5.2. Sol-jel matrislere enzim immobilizasyonu.....	31
2.5.3. Biyosensörlerin genel özellikleri.....	36
3. MATERYAL VE YÖNTEM	38
3.1. Materyal.....	38
3.1.1. Kullanılan kimyasal maddeler.....	38
3.1.2. Kullanılan alet ve cihazlar.....	38
3.2. Yöntem.....	40
3.2.1. Sol-jel kaplama çözeltilerinin hazırlanması.....	40
3.2.2. Elektrotların kaplanması.....	42
3.2.3. Deneylerde kullanılan çözeltilerin hazırlanması.....	42
3.2.4. Elektrokimyasal ölçümler.....	43

4.	ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA	44
4.1.	Hidroliz ve Kondenzasyon Reaksiyonları	44
4.2.	FT-IR Analizleri	50
4.3.	TGA Analizler	51
4.4.	Kurutma Sıcaklığı ve Süresinin Belirlenmesi	54
4.5.	Sol Çözeltilerinin Seyreltme Oranının Belirlenmesi	61
4.6.	Sensör Çalışmaları	63
4.6.1.	Hidrojen peroksit sensörü	63
4.6.2.	Dopamin sensörü	81
4.6.3.	Glikoz sensörü	90
5.	SONUÇ VE ÖNERİLER	116
6.	KAYNAKLAR	118
	ÖZGEÇMİŞ	125

ÖZET

Doktora Tezi

SENSÖR AMAÇLI SOL-JEL KAPLAMALARIN HAZIRLANMASI VE ÖZELLİKLERİNİN İNCELENMESİ

Nizamettin DEMİRKIRAN

İnönü Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Kimya Anabilim Dalı

Sayfa 125+xi

2009

Danışman: Prof. Dr. Ergun EKİNCİ

Bu çalışmada, çeşitli silan bileşikleri içeren sol-jel kaplama çözeltileri kullanılarak sol-jel modifiye elektrotlar hazırlandı. Filmlerin yapışma özellikleri üzerine kurutma süresi, kurutma sıcaklığı ve kaplama çözeltilerinin bileşiminin etkileri sistematik olarak incelendi ve optimize edildi.

H₂O₂ ve dopamin için hazırlanan sol-jel modifiye elektrotların sensör karakteristikleri incelendi. Sol-jel bileşimi, film kalınlığı, potansiyel, elektrolit tür ve konsantrasyonu gibi sensör yanıtını etkileyen deneysel parametreler sistematik olarak incelendi ve optimize edildi. Sol-jel modifiye elektrotların H₂O₂ ve dopamin sensör olarak kullanılabileceği görüldü.

Sol-jel matrikslere glikoz oksidazı immobilize etmek suretiyle sol-jel/enzim elektrotlar da hazırlandı. Sol-jel/enzim elektrotların amperometrik yanıtı üzerine film kalınlığı, enzim miktarı, potansiyel, pH, interferans gibi faktörlerin etkileri incelendi ve optimize edildi. Optimal enzim elektrotlar için amperometrik sensör

karakteristikleri (duyarlılık, doğrusallık, seçicilik, yanıt süresi ve kararlılık) belirlendi. Enzim elektrotlar için elde edilen bulguların tatmin edici olduğu gözlemlendi.

Sonuç olarak, anılan sol-jel kaplamaların sensör tasarımında alternatif membran olarak kullanılabileceği iddia edilmektedir.

ANAHTAR KELİMELEER: Sol-jel, elektrot modifikasyonu, seçimli geçirgen membran, enzim immobilizasyonu, sensör, hidrojen peroksit, dopamin, glikoz, glikoz oksidaz.

ABSTRACT

Ph.D. Thesis

PREPARATION AND INVESTIGATION OF THEIR PROPERTIES OF SOL-GEL COATINGS FOR SENSOR

Nizamettin DEMİRKİRAN

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

Pages 125+xi

2009

Supervisor: Prof. Dr. Ergun EKİNCİ

In this study, sol-gel-modified electrodes were prepared by using sol-gel coating solutions containing various silane compounds. The effects of drying period, drying temperature and composition of coating solutions on the adhesive properties of films were systematically examined and optimized.

The sensor characteristics of the prepared sol-gel modified electrodes for H_2O_2 and dopamine were checked. The experimental parameters affecting sensor response such as sol-gel composition, film thickness, potential, electrolyte type and concentration were systematically investigated and optimized. It was seen that the sol-gel modified electrodes could be used as H_2O_2 and dopamine sensor.

Moreover, sol-gel/enzyme electrodes were prepared by immobilizing glucose oxidase in the sol-gel matrices. The effects of factors such as film thickness, enzyme amount, potential, pH, interference on the amperometric response of the sol-gel/enzyme electrodes were examined and optimized. The amperometric sensor

characteristics (sensitivity, linearity, selectivity, response time and stability) for the optimal enzyme electrodes were determined. It was observed that the obtaining findings for the enzyme electrodes were satisfactory.

As a result, it has been claimed that the mentioned sol-gel coatings could be used as an alternative membrane in the sensor design.

KEYWORDS: Sol-gel, electrode modification, permselective membrane, enzyme immobilization, sensor, hydrogen peroxide, dopamine, glucose, glucose oxidase.

TEŞEKKÜR

Bu tez konusunu öneren, çalışma imkânı sağlayan, görüş ve önerileri ile tezin daha iyi olması için yol gösteren danışman hocam Sayın Prof. Dr. Ergun EKİNCİ' ye; çalışmanın başlangıcında yardımlarını gördüğüm ve laboratuvar imkânlarından faydalanmamı sağlayan merhum Prof. Dr. Hikmet SAYILKAN' a; çalışmanın her aşamasında büyük bir gayretle bana yardımcı olan değerli arkadaşım Dr. Meltem ASİLTÜRK' e; özellikle elektrokimyasal deneylerde yardımcı olan değerli arkadaşım Dr. Aziz PAŞAHAN' a, sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Öğrenim hayatım süresince beni her zaman destekleyen değerli aileme; daha rahat çalışmam için üstün fedakârlık gösteren sevgili eşim ve canım çocuklarıma teşekkür ederim.

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 3.1.	Elektrotların kaplanması için kullanılan sol-jel çözeltilerin bileşimi... 41
Çizelge 4.1.	GLYMO + MTEOS karışımları için elde edilen akım yanıtları (5 enjeksiyon sonunda 10 mM a karşılık gelen akım değişimleri)..... 64
Çizelge 4.2.	GLYMO + TEOS karışımları için elde edilen akım yanıtları (5 enjeksiyon sonunda 10 mM a karşılık gelen akım değişimleri)..... 65
Çizelge 4.3.	GLYMO+MTEOS+TEOS karışımları için elde edilen akım yanıtları (5 enjeksiyon sonunda 10 mM a karşılık gelen akım değişimleri)..... 66
Çizelge 4.4.	Askorbik asitin geçmediği film kalınlıklarında 10 mM Dopamin için yanıtlar..... 81
Çizelge 4.5.	GLYMO+MTEOS+TEOS ve GLYMO+MTEOS karışımından hazırlanan enzim sensörün 10 mM glikoz için verdiği yanıtların film kalınlığı ile değişimi..... 91

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 3.1.	Sol-jel prosesinde kullanılan bazı silan bileşikleri.....	18
Şekil 4.3.	GLYMO+MTEOS (GM5) içeren filmlerin çeşitli sıcaklıklarda kurutulmasıyla oluşan görüntüler.....	56
Şekil 4.4.	GLYMO+TEOS (GT4) içeren filmlerin çeşitli sıcaklıklarda kurutulmasıyla oluşan görüntüler.....	57
Şekil 4.5.	GLYMO+MTEOS+TEOS (GMT6) içeren filmlerin çeşitli sıcaklıklarda kurutulmasıyla oluşan görüntüler.....	58
Şekil 4.6.	Oda sıcaklığında kurutulan sol-jel filmlere ait SEM görüntüleri.....	60
Şekil 4.7.	A=GM2, B=GM5 ve C=GM8 çözeltilerinden oluşan filmlerin hidrojen peroksit enjeksiyonlarına verdikleri amperometrik yanıtları.....	69
Şekil 4.8.	A=GT2, B=GT4 ve C=GT6 çözeltilerinden oluşan filmlerin hidrojen peroksit enjeksiyonlarına verdikleri amperometrik yanıtlar.....	70
Şekil 4.9.	Farklı bileşimlerdeki bazı GMT filmlere ait SEM görüntüsü.....	72
Şekil 4.10.	A=GMT3, B=GMT6 ve C=GMT9 çözeltilerinden oluşan filmlerin hidrojen peroksit enjeksiyonlarına verdikleri amperometrik yanıtlar.....	74
Şekil 4.11.	Hidrojen peroksit yanıtları üzerine potansiyel etkisi.....	77
Şekil 4.12.	Hidrojen peroksit yanıtları üzerine elektrolit türünün etkisi.....	78
Şekil 4.13.	Hidrojen peroksit yanıtları üzerine KCl derişiminin etkisi.....	78
Şekil 4.14.	İnterferant türlerin yokluğunda hidrojen peroksit karşı alınan yanıtlar.....	80
Şekil 4.15.	Çeşitli interferantların varlığında hidrojen peroksit karşı alınan yanıtlar.....	80
Şekil 4.16.	A=GM2, B=GM5, C=GM8 çözeltilerinden oluşan filmlerin dopamin enjeksiyonlarına verdikleri amperometrik yanıtlar.....	83
Şekil 4.17.	A=GT2, B=GT4, C=GT6 çözeltilerinden oluşan filmlerin dopamin enjeksiyonlarına verdikleri amperometrik yanıtlar.....	84
Şekil 4.18.	A=GMT3, B=GMT6, C=GMT9 çözeltilerinden oluşan filmlerin dopamin enjeksiyonlarına verdikleri amperometrik yanıtlar.....	85
Şekil 4.19.	Dopamin yanıtlarına potansiyel etkisi.....	86
Şekil 4.20.	Dopamin yanıtları üzerine elektrolit türünün etkisi.....	87

Şekil 4.21.	Dopamin yanıtı üzerine elektrolit konsantrasyonunun etkisi.....	88
Şekil 4.22.	Dopamin yanıtı üzerine pH etkisi.....	88
Şekil 4.23.	Farklı film kalınlıklarında GMT6 kaplamayla 1 µL enzim varlığında glikoza karşı alınan amperometrik yanıtlar.....	93
Şekil 4.24.	Farklı film kalınlıklarında GMT6 kaplamayla 2 µL enzim varlığında glikoza karşı alınan amperometrik yanıtlar.....	94
Şekil 4.25.	10 mM glikoz enjeksiyonu için alınan yanıtlar üzerine potansiyel etkisi.....	95
Şekil 4.26.	10 mM glikoz enjeksiyonu için alınan yanıtlar üzerine pH etkisi.....	96
Şekil 4.27.	Enzim sensörün seri glikoz enjeksiyonlarına verdiği amperometrik yanıtlar.....	97
Şekil 4.28.	Enzim elektrot ile glikoz için elde edilen yanıt grafiği.....	98
Şekil 4.29.	GMT6-enzim elektrot ile glikoz için elde edilen kalibrasyon grafiği.....	99
Şekil 4.30.	İnterferant türlerin varlığında glikoza karşı alınan amperometrik yanıtlar.....	100
Şekil 4.31.	GMT6 kaplamadan hazırlanan enzim elektrodun kararlılığı.....	102
Şekil 4.32.	Kararlılık deneylerinde glikoza karşı alınan amperometrik yanıtlar.....	103
Şekil 4.33.	Enzimsiz elektrodun glikoza karşı amperometrik davranışı.....	104
Şekil 4.34.	Farklı film kalınlıklarında GM5 kaplamayla 2 µL enzim varlığında glikoza karşı alınan amperometrik yanıtlar.....	105
Şekil 4.35.	GM5-enzim filmi için 10 mM glikoz enjeksiyonuna alınan yanıtlar üzerine potansiyel etkisi.....	106
Şekil 4.36.	GM5-enzim filmi için 10 mM glikoz enjeksiyonuna alınan yanıtlar üzerine pH etkisi.....	106
Şekil 4.37.	GM5 kaplı enzim sensörün seri glikoz enjeksiyonlarına verdiği amperometrik yanıtlar.....	107
Şekil 4.38.	GM5-enzim elektrot ile glikoz için elde edilen yanıt grafiği.....	107
Şekil 4.39.	GM5-enzim elektrot ile glikoz için elde edilen kalibrasyon Grafiği.....	108
Şekil 4.40.	GM5-enzim filmi için interferant türlerin varlığında glikoza karşı alınan amperometrik yanıtlar.....	108
Şekil 4.41.	GM5 kaplamadan hazırlanan enzim elektrodun kararlılığı.....	109
Şekil 4.42.	Kararlılık deneylerinde glikoza karşı alınan amperometrik yanıtlar.....	110

Şekil 4.43.	Cam yüzeyde kurutulan, kaplanmamış enzimin mikroskop görüntüleri.....	111
Şekil 4.44.	Sol-jel kaplama çözeltileri ile tutuklanmış enzimin mikroskop görüntüleri.....	112
Şekil 4.45.	Sol-jel film ile kaplanmış enzim elektrotlara ait SEM görüntüleri.....	114

1. GİRİŞ

Elektrokimyanın analitik kimyaya uygulanmasıyla geliştirilen elektroanalitik teknikler, diğer analitik tayin yöntemlerine göre tayinin kısa sürede ve yüksek hassasiyetle yapılabilmesi gibi avantajlara sahiptir.

Elektroanalitik metotlarda temel elemanlar elektrotlardır. Genellikle üç elektrot içeren sistemlerde en önemli elektrot çalışma elektrodudur, çünkü tayini yapılacak olan maddenin belirlenmesi, bu elektrotla etkileşimi sonucunda olmaktadır. Elektrokimyasal reaksiyonlar esnasında elektrot yüzeylerinin kirlenmesi veya ölçüm ortamında hedef maddenin yanı sıra başka maddelerin de bulunması gibi durumlarda, istenen tayin gerçekleşmeyebilir veya hatalı sonuçlar ortaya çıkabilir. Bu gibi sebeplerden dolayı modifiye elektrot kavramı ortaya atılmıştır. Elektrotların modifikasyonu ile yukarıda bahsedilen olumsuzlukların önlenmesi ve elektrotların seçiciliğinin artırılması amaçlanır.

Elektrotların daha seçici hale getirilmeleri için uygulanan modifikasyon yöntemleri sınırlı sayıda olmakla birlikte, modifikasyonda kullanılan madde sayısı bir hayli fazladır. Çok çeşitli maddeler bu amaç için kullanılmış, ancak özellikle iletken olan (ve olmayan polimerler) modifikasyon işleminde en çok kullanılan malzemeler olmuşlardır.

1980' lerde sol-jel prosesinin hızlı gelişmesi sonucunda çok çeşitli şekillerde (cam, seramik, film ve metal oksit tozlar gibi) ürünler elde edilebilmiş ve değişik alanlara uygulanmıştır. Sol-jel film ve kaplamalar bu prosesin ilk ticari uygulamaları olmasına rağmen ancak 90' lı yıllardan itibaren elektrot modifikasyonunda kullanılmışlardır. Özellikle enzim gibi biyomoleküller için immobilizasyon ortamı

olarak kullanılmaları ile birlikte, biyosensörlerde uygulanmış ve başarılı sonuçlar alınmıştır.

Sol-jel filmlerin oldukça ince ve kolaylıkla hazırlanabilmesi, sol-jel oluşumu esnasında çözeltiye çeşitli organik moleküller (biyomoleküller gibi) veya iletkenlik sağlayıcı türlerin ilave edilebilmesi, oluşan filmlerin elektrot yüzeyine iyi yapışması, istenen bileşimde ve gözeneklilikte kaplamaların elde edilebilmesi, fazla cihaz gerektirmemesi ve oldukça tekrarlanabilir filmlerin oluşturulabilmesi gibi avantajlarından dolayı modifiye elektrot hazırlanmasında bu proses son yıllarda oldukça önem kazanmıştır.

Bu çalışmada sol-jel prosesi ile hazırlanan kaplama çözeltileri kullanılarak platin elektrotların modifiye edilmesi, bu elektrotların çeşitli elektroaktif türlere karşı permselektif davranışı ve biyosensör uygulamalarında enzim immobilizasyon ortamı olarak kullanılabilirliğinin incelenmesi amaçlanmıştır.

Bu kapsamda, üç farklı silan bileşiğinin değişik oranlarda karıştırılmasıyla sol-jel kaplama çözeltileri hazırlanmıştır. Bu çözeltilerin bileşiminin, seyrelme oranının ve kurutma sıcaklığı ile kurutma süresinin oluşan filmleri nasıl etkilediği incelenmiştir. Daha sonra, hazırlanan modifiye elektrotların hidrojen peroksit ve dopamin için permselektif membran olarak kullanımları araştırılmış ve deney parametrelerinin bu sonuçları nasıl etkilediği belirlenmiştir. Hidrojen peroksit ölçümlerinde en iyi sonuçların alındığı iki farklı film kullanılarak glikoz oksidaz enzimi bu filmlerle tutuklanmak suretiyle glikoz sensör uygulaması yapılmış ve deneysel parametreler optimize edilmiştir.

2. KURAMSAL TEMELLER

Bir elektrolit çözeltisindeki iyonik akımın birbirine bağlanmış olan iki elektrottan geçmesi sonucunda kimyasal ve elektrik enerjisi arasında bir dönüşüm meydana gelir. Elektrokimyanın konusunu oluşturan bu enerjiler arasındaki dönüşümden bataryalar, yakıt hücreleri, korozyon prosesleri, elektroliz, elektrokaplama, elektroanaliz gibi birçok alanda faydalanılmaktadır [1–3].

Elektroanalitik teknikler sayesinde akım, potansiyel ve yük gibi elektriksel niceliklerle madde miktarı arasında ilişki kurularak kimyasal analizler yapılmıştır [4–6]. Elektroanalitik tekniklerin kimyasal analiz, çevre koruma, endüstriyel kalite kontrol ve sağlık gibi alanlara uygulanmasıyla pekçok kimyasal ve biyosensörler geliştirilmiştir [1, 5].

2. 1. Elektrokimyasal Hücreler ve Reaksiyonlar

Elektrokimyasal olaylar, elektrokimyasal hücre denilen ve en az iki elektrot ile elektrolit içeren düzeneklerde gerçekleştirilir [4, 7]. Bir elektrokimyasal hücrede akımın oluşabilmesi için elektrotların bir dış iletkenle birbirine bağlanması, çözelti arasında iyon geçişini sağlayacak bir temasın olması ve her bir elektrotta elektron aktarım reaksiyonunun (redoks) meydana gelmesi gerekir [8]. Elektrokimyasal hücreler, elektrik enerjisi üreten galvanik hücreler ve elektrik enerjisini harcayan elektrolitik hücreler olarak sınıflandırılabilir [2]. Hücreler ayrıca iki elektrotlu ve üç elektrotlu hücreler olarak da sınıflandırılabilirler [7]. Dengede olan sistemlerdeki ölçümlerde (potansiyometrik) genellikle referans ve çalışma elektrodu olmak üzere iki elektrot kullanılırken, dengede olmayan elektroanalitik ölçümlerde veya çözelti direncinin önemli olduğu durumlarda bu iki elektrodun yanı sıra yardımcı elektrot

olarak adlandırılan üçüncü bir elektrot daha kullanılır [4]. Yardımcı elektrot genellikle platin tel veya grafit çubuk gibi inert bir maddeden yapılır ve elektriksel devreyi tamamlayan ikinci elektrot olarak görev yapar. Böylece referans elektrot üzerinden akım geçmesi ve bunun sonucunda ortaya çıkacak polarizasyon önlenmiş olur.

2. 1. 1. Referans elektrotlar

Referans elektrotlar veya karşılaştırma elektrotları elektrokimyasal çalışmalarda oldukça önemlidir. Bir elektrokimyasal yarı hücrenin potansiyeli doğrudan ölçülemez fakat referans bir elektroda karşı potansiyel farkı ölçülebilir.

Referans elektrotlardan biri olan standart hidrojen elektrot, standart elektrot potansiyellerinin tayinin de kullanıldığı için ayrı bir öneme sahiptir. Diğer referans elektrotların potansiyelleri de standart hidrojen elektroda göre tayin edildiği için primer referans elektrot olarak da bilinir. Ancak hazırlanmasındaki ve kullanımındaki zorluklardan dolayı günlük işlemlerde pek kullanılmaz. Bu sebeple hazırlanması ve kullanımı daha kolay olan başka referans elektrotlar geliştirilmiştir. Bunlardan en çok kullanılanları (doygun) kalomel elektrot ve gümüş/gümüş klorür elektrodudur [3,8, 9].

İyi bir referans elektrot kolaylıkla ve tekrarlanabilir bir şekilde hazırlanabilmeli, pahalı olmamalı, tersinir olmalı, Nernst denklemine uymalı, zamanla değişmeyen sabit bir potansiyele sahip olmalı, sıcaklık değişimlerinden fazla etkilenmemeli ve farklı çalışma şartlarında kullanılabilmelidir [9, 10].

2. 1. 2. Çalışma elektrodu

Çalışma elektrodu elektroaktif maddeyle ilgili olayların meydana geldiği elektrottur. Analitik amaçlı çalışmalarda, çalışma elektrotları tayini yapılacak

elektroaktif maddenin miktarında meydana gelen bir değişikliğe çok kısa zamanda ve tekrarlanabilir cevaplar veren elektrotlardır.

Genel olarak elektrotları metalik, ametalik elektrotlar ve membran elektrotlar olarak sınıflandırmak mümkündür [9].

Metalik ve ametalik elektrotlar birinci, ikinci, üçüncü tür ve redoks elektrotlar şeklinde sınıflandırılabilir. Bu tür elektrotlarla çeşitli iyonlar potansiyometrik olarak tayin edilebilir [8,9].

Membran elektrotlar da bazı iyonların tayinin de kullanılır. Membran elektrotlar hem tasarım hem de çalışma prensibi bakımından metal elektrotlardan farklıdır [11]. Oldukça yüksek seçiciliklerinden dolayı bu tür elektrotlar iyon seçici elektrotlar olarak da adlandırılırlar [8].

Elektroanalizde kullanılan çalışma elektrotları çeşitli şekil ve büyüklüklerde, farklı malzemelerden yapılmış olabilir [5, 8]. Bu elektrotlar genellikle Teflon veya Kel-F gibi içine bir bağlantı teli yerleştirilmiş olan inert malzemelerden yapılmış bir çubuğa preslenerek tutturulmuş olan küçük iletkenlerdir. Bu tip elektrotlarda iletken madde altın, platin, karbon, kalay veya indiyum oksit olabilir. Bunlardan başka civa da çalışma elektrodu olarak kullanılır [5, 8, 9].

Elektroanalitik bir deneyde kullanılacak olan çalışma elektrodunun seçimi başlıca elektrodun kullanılacağı potansiyel aralığına bağlıdır. Çünkü bu tip elektrotlar belli bir potansiyel aralığında kullanılabilirler. Bu potansiyel aralığı elektrot malzemesinin yanı sıra kullanılan hücre elektrolitine de bağlıdır [3, 7, 8].

Elektroanalizde elektron transfer kinetiği ve mekanizmasının incelenmesinde ve termodinamik parametrelerin belirlenmesinde katı metal elektrotlar (altın, platin gibi) çalışma elektrodu olarak çok sık kullanılmaktadır. İletkenliklerinin yüksek ve inert oluşları en önemli avantajlarıdır. Yüzeyleri modifiye edilerek çeşitli amaçlar için

kullanılabilirler. En önemli dezavantajları ise bulundukları ortamda yüzeylerinin kirlenmesinden dolayı pasifleşmeleridir. Katı metal elektrotlar kullanıldığı zaman yüzeyleri uygun bir metotla (mekanik, kimyasal ve elektrokimyasal) temizlenmeli ve parlatılmalıdır [3, 5].

2. 1. 3. Elektrokimyasal reaksiyonlar

Bir elektrokimyasal hücrede elektronik iletken, elektrolitik iletken ortamına daldırıldığı zaman bu iki faz arasında ara faz veya ara yüzey olarak adlandırılan bir bölge oluşur. Elektrokimyasal reaksiyonlar bu ara yüzeyde meydana gelen elektron transferini içeren heterojen reaksiyonlardır [1, 2]. Yük, elektronik iletkende elektronlar, elektrolitik iletkende ise iyonlar tarafından taşınır. Bu iki farklı iletkenin birinden diğerine geçiş olabilmesi için ara yüzeyden elektron transferinin olması gerekir [12].

Elektrot çözelti ara yüzeyinde oluşan reaksiyonlar birkaç basamakta meydana gelir. Böyle bir reaksiyonun genel mekanizması aşağıdaki gibi yazılabilir [2, 5].

- 1- Ana çözeltilerden elektrot yüzeyine elektroaktif maddenin kütle transferi
- 2- Ara yüzeyde elektron transferi
- 3- Reaksiyon ürünlerinin ana çözeltilere transferi (kimi zaman)
- 4- Adsorpsiyon, desorpsiyon gibi yüzey olayları

Basit reaksiyonlar sadece ilk üç basamağı içerir. Bu durumda reaksiyonun hızı ve böylece ölçülen akım ya kütle transferinin ya da elektron transferinin hızıyla sınırlanır. En yavaş olan basamak elektrot reaksiyonunun hızını tayin eder [5]. Çözeltideki tayini yapılacak olan elektroaktif madde kütle transferi ile elektrot yüzeyine ulaşır, burada elektrotla elektroaktif madde arasında bir elektron transferi olur ve sonuçta bir

indirgenme yükseltgenme reaksiyonu meydana gelir. Böyle bir reaksiyonun sonucunda dış devreden geçen akım ölçülerek elektrokimyasal tepkimenin hızı tespit edilebilir [6].

Elektroaktif bir türün kütle transferi ile elektrot yüzeyine ulaşması migrasyon (göç), konveksiyon ve difüzyon olmak üzere üç şekilde olabilir [5].

Çalışma elektrodu ile yardımcı elektrot arasındaki elektriksel alandan dolayı iyonların ters yüklü elektrotlara doğru hareket etmeleri sonucunda migrasyon veya elektriksel göç denilen yolla bir miktar kütle transferi olur. Voltametrik ölçümlerde bu olayın elimine edilmesi istenir. Bunun için ortama elektroaktif olmayan inert destek elektrolitin aşırı katılır. Böylece migrasyon etkisi en aza indirilerek elektrik yükünün taşınımı kolaylaştırılmış, çözeltinin direnci azaltılarak iletkenliği artırılmış olur [2, 12]. Migrasyon olayı olmadığı zaman kütle transferi sadece difüzyon ve konveksiyonla meydana gelir.

Konveksiyonla kütle aktarımı çözeltinin karıştırılması veya elektrodun hareketi sonucunda oluşur. Böylece elektroda kütle transferi kolaylaştırılmış olur [3].

Difüzyonla kütle transferi, elektriksel alanın ve konveksiyonun etkisi olmadan çözeltideki nötral veya yüklü türlerin hareketiyle gerçekleşir. Elektroaktif maddenin çözelti ile elektrot yüzeyindeki konsantrasyon farkından kaynaklanır [3, 7].

Difüzyon ve konveksiyonla kütle transferi daha sık karşılaşılan durumlardır. Çözeltinin durgun olduğu ve elektrodun hareket ettirilmediği durumlarda sadece difüzyonla kütle transferi gerçekleşirken, çözelti veya elektrotun hareketli olduğu durumlarda her iki kütle transfer şekli de söz konusu olabilir [6].

Elektroanalitik metotlar analizin gerçekleştiği ortama göre ara yüzeyde gerçekleşen ve tüm analiz ortamında gerçekleşen yöntemler olmak üzere iki gruba ayrılır. Elektrot-çözelti ara yüzeyinde meydana gelen olaylar potansiyometrik ve amperometrik ölçümler şeklinde olabilir. Potansiyometride devreden akım geçmediği

durumda sistemin potansiyeli ölçülür ve Nernst denklemi ile ilişkilendirilerek analitin konsantrasyonu tayin edilir. Amperometrik ölçümlerde ise sisteme sabit bir potansiyel uygulanır ve devreden geçen akım ölçülerek analitin miktarı ile ilişkilendirilir [1, 5, 8].

2. 2. Elektrot Modifikasyonu

Elektrokimyanın temel konularından biri elektrot-çözelti ara yüzeyini kontrol etmektir. Elektrokimyada, potansiyel kontrol edilebilen bir değişken olduğundan potansiyelin değiştirilmesiyle ara yüzeyde meydana gelen olaylara müdahale edilebilir. Fakat bu müdahaleler küçük değişiklikler oluşturabilir ve genellikle yeterli seçicilik sağlanamaz. Bu yüzden araştırmacılar elektrot yüzeylerini kontrol edebilmek için modifikasyon işlemine başvurmuşlardır. Elektrotların modifikasyonu ile modifiye edicinin özelliklerinin elektrot yüzeyine transfer edilebileceği düşünülmüştür [13].

Elektroanalizde ölçümden ölçüme ideal bir elektrot yüzeyinin olması istenir. Böyle bir ideal yüzey bir kapilerden geçen cıva damla elektrotla sağlanabilir. Ancak cıva damla elektrot, ortaya çıkan bazı sakıncalarından dolayı anodik çalışmalar için uygun bir elektrot değildir [14]. Civadan başka altın, platin, karbon elektrotlar elektroanalizde kullanılan elektrotlardır. Fakat bu tip elektrotlar çıplak olarak kullanıldıklarında benzer redoks karakterine sahip türleri ayırma kabiliyeti zayıflar ve meydana gelen redoks reaksiyonlarında genellikle yavaş elektron transferi olur. Böylesi elektrokimyasal reaksiyonlara gerekenden daha yüksek potansiyel uygulanarak yeterli elektron transfer hızına ulaşılabilir. Bu tip sorunlar elektrot yüzeyinde meydana gelen adsorpsiyon ve kimyasal reaksiyonlarla elektrodun kirlenmesinden kaynaklanır ve bunun sonucunda elektrotdan beklenen sonuç elde edilemez [5, 15]. Bu sorunlardan dolayı ilk olarak 1970' li yıllarda kimyasal modifiye

elektrot kavramı ortaya atılmış ve katı elektrot yüzeylerine ince tabakalar uygulanarak elektrokimyasal reaksiyonların daha iyi kontrol edilebilir olması amaçlanmıştır.

Elektrokimyasal olaylarda modifiye elektrotların kullanılması ile bazı avantajlar sağlanabilir. Bunları şu şekilde sıralamak mümkündür: Elektrot yüzeylerinin kirlenmesi önlenerek elektron transfer reaksiyonları hızlandırılabilir; interferanslar en aza indirilerek veya ortadan kaldırılarak hedef analite karşı seçici tanıma sağlanabilir; elektrodun kararlılığı arttırılarak ilgilenilen analit için tekrarlanabilir sonuçlar alınabilir; biyokataliz gerçekleştirilebilir. Bütün bu uygulamalarda esas olarak elektrodun seçiciliğinin, duyarlılığının ve kararlılığının artırılması amaçlanır [5,16,17].

Modifiye elektrot hazırlanmasında kullanılan metot ve malzemeler çözülmek istenen problemle veya kullanım yeriyle doğrudan ilişkilidir. Ancak, kullanışlı bir modifiye elektrot hazırlanmasında düşünülmesi gereken bazı genel prensipler vardır [15]. Bunlar,

- 1- Analit ile kaplama altında kalan elektrot yüzeyi arasında elektriksel temasın sağlanması çok önemlidir. Elektronlar modifiye edici tabakadan hareket edebilmelidir.
- 2- Modifiye tabakadan yük transferi etkili olmalıdır.
- 3- Modifiye edici tabaka, elektrot yüzeyini çözeltideki istenmeyen türlerden koruma amaçlı olduğu zaman bu tabaka ilgilenilen analiti geçirmeli ve tabaka içersinden elektrot yüzeyine doğru analitin yeterli bir şekilde transferi olmalıdır. Bu durum, yani difüzyon olayı tabakanın kalınlığından önemli oranda etkilenir. Çok kalın filmler ilk bakışta avantajlı görünebilir, ancak yük transferi zayıflar ve hassasiyet azalabilir. Bu yüzden optimum film kalınlığı modifiye elektrot çalışmalarında önemlidir.

4- Modifiye elektrot hazırlanmasında düşünülmesi gereken bir diğer faktör oluşturulan filmin kararlılığıdır. Fiziksel ve kimyasal kararlılık olmak üzere iki tip kararlılık düşünülebilir. Film yeteri kadar uzun bir süre temel kimyasal bileşimini koruyabilmelidir, bununla birlikte elektrot yüzeyinde sağlam bir şekilde kalmalı yani yüzeye iyi yapışmalıdır. Zira elektrot farklı çalışma koşullarında kullanıldığında film, elektrot yüzeyinde kalabilmelidir.

Bu genel prensipler dikkate alınarak, elektrot yüzeylerini modifiye etmek için değişik metotlar kullanılabilir. Elektrot modifikasyonu için en genel metotlar şunlardır [5, 13-18].

Adsorpsiyon:

Elektrot yüzeylerinin modifikasyonunda kullanılan en eski ve en basit metot modifiye edicinin yüzeye adsorpsiyonudur. Bu metodun en önemli avantajı yüzeye tutturulacak modifiye edici ajanın bağlanması için herhangi bir yardımcı maddeye gereksinim duyulmamasıdır. Modifikasyondan önce yüzeyin parlatılması yeterlidir. Bu metodla modifiye edilmiş elektrotların ömrü kısadır, çünkü çoğu zaman elektrot ölçüm çözeltisine daldırıldığında modifiye tabaka yüzeyden düşer.

Kovalent bağlanma:

Bu metotta modifiye edici ajan elektrot yüzeyine kovalent bağlarla tutunur ve daha kararlı kaplamalar hazırlanabilir.

Polimer filmler ile modifikasyon:

Elektrot yüzeylerinin polimerik filmlerle modifikasyonu çok yaygın olarak kullanılan bir metottur. Özellikle iletken polimerlerin keşfi ve bu alanda

kullanılmasıyla birlikte polimerler modifikasyon işlemlerinde neredeyse vazgeçilmez malzemeler olmuşlardır.

Polimer filmlerle elektrot modifikasyonunda iki metot uygulanır. Polimer çözeltisiyle yüzeyin kaplanması ve elektropolimerizasyonla film yapımı.

Polimer çözeltileriyle modifikasyon işleminde polimerin uygun bir çözücüde çözeltisi hazırlanır. Bu çözelti ile yüzey üç farklı şekilde kaplanabilir. Elektrodun polimer çözeltisine daldırılması ve solventin buharlaştırılması ile elektrot kaplanabilir. Ancak bu metodun tekrarlanabilirliği iyi değildir. Daha tekrarlanabilir filmler bilinen miktarlarda polimer çözeltisinin elektrot yüzeyine damlatılmasıyla hazırlanabilir. Bir diğer metod olarak spin kaplama tekniği ile modifiye elektrotlar hazırlanabilir. Bu yolla daha ince, homojen ve tekrarlanabilir filmler oluşturmak mümkündür. Polimer çözeltisi elektrot yüzeyine damlatılır ve elektrot döndürülerek filmin kuruması sağlanır. Polimer çözeltilerinin kullanılmasıyla modifiye elektrot hazırlanırken oluşacak filmin kalınlığını iyi ayarlamak gerekir. Hazırlanan polimer çözeltisinin konsantrasyonu ve yüzeye damlatılan çözelti miktarı filmin kalınlığını doğrudan etkiler. Polimerik filmler grafit, camı karbon, altın, platin gibi elektrotlara uygulanabilir.

Elektropolimerizasyonla elektrot modifikasyonu son yıllarda çok kullanılan bir metot olmuştur. Polimerizasyon sırasında devreden geçen akımın kontrol edilebilmesinden dolayı istenen kalınlıklarda filmler oluşturulabilir. Bu metotla küçük yüzeyler kaplanabilir ve oldukça homojen, tekrarlanabilir filmler oluşturulabilir.

Elektrot modifikasyonunda yukarıda verilen metotların yanı sıra son yıllarda sol-jel prosesiyle hazırlanan kaplama çözeltileri kullanılarak modifiye elektrotlar hazırlanabilmektedir.

2. 3. Sol-Jel Prosesi

Cam ve seramik endüstrisinde son yıllarda önem kazanan uygulamalardan biri sol-jel reaksiyonlarıdır. Bu reaksiyonlarda, silisyum veya diğer metal alkoksit monomerlerden çıkılarak çeşitli cam ve seramik malzemeler ılımlı koşullarda elde edilebilmektedir. Sol-jel prosesiyle ilgili ilk çalışma 1846 yılında J. Ebelmen tarafından gerçekleştirilmiş ve tetraetoksilanın nem ile reaksiyonundan silikat monolitler sentezlenebilmiştir. Fakat bu prosesin gelişimi uzun bir süre almış ve 1930' lu yıllarda yoğun çalışmalar başlamış, endüstriyel uygulamaları ise ancak 1950' li yılların sonlarında olmuştur. Günümüzde camlar, fiberler, dolgu maddeleri, anorganik-organik hibrit malzemeler, gözenekli katılar ve filmler, izolasyon maddeleri ve kaplama malzemeleri gibi alanlarda sol-jel prosesinden yararlanılmaktadır [19-22].

Sol-jel prosesinin çok geniş bir kullanım alanı bulması bu prosesin sahip olduğu bazı avantajlardan kaynaklanır. Bunlar aşağıdaki gibi sayılabilir [23-25].

- 1- Reaksiyonları gerçekleştirmek için büyük ve karmaşık sistemler gerekmez, küçük reaksiyon kapları yeterli olmaktadır.
- 2- Reaksiyonlar için inert bir ortamın sağlanması gerekmemektedir. Atmosferik koşullarda çalışmalar yapılabilir.
- 3- Reaksiyonlar çözelti ortamında gerçekleştirildiğinden, reaksiyonları etkileyecek parametrelerin kontrolü kolaydır ve böylece oluşacak ürünün mikro yapısal kontrolü mümkün olmaktadır.
- 4- Reaksiyonlar düşük sıcaklıklarda gerçekleştirilebilir. Böylece, enerji tasarrufu sağlanabilir, buharlaşmayla oluşabilecek kayıplar en aza indirilmiş olur, faz ayrılmaları engellenebilir, reaksiyon kapları ile olabilecek etkileşimler önlenir

ve saflık korunmuş olur. Ayrıca, çeşitli organik moleküllerin jel ağı sokulması sağlanabilir.

- 5- Kullanılan çıkış maddeleri sentetik olarak hazırlandıklarından oldukça yüksek saflıktadırlar. Bu da oluşacak ürünün yüksek saflıkta olmasını sağlar.
- 6- Homojen madde kullanılması sağlanmış olur. Özellikle seramik üretiminde hammadde olarak doğal mineraller kullanılır ve her zaman istenilen bileşimde hammadde hazırlanamayabilir. Sol-jel prosesinde kullanılan hammaddeler aynı bileşim ve yapıya sahip olup, saf olduklarından her zaman homojen hammadde kullanmak mümkün olur.
- 7- Amorf ve kristal yapıda ürünler hazırlanabilir.
- 8- Elyaf, film, kaplama malzemeleri gibi özel ürünler hazırlanabilir.

Sol-jel prosesinin bu avantajlarının yanı sıra bazı dezavantajları da vardır.

Bunlar:

- 1- Çıkış maddeleri genellikle pahalıdır.
- 2- Proses süresi bazen uzun zaman alır.
- 3- Kullanılan çözücüler sağlık yönünden zararlıdır.
- 4- Jellerin kurutulması sırasında büyük miktarlarda büzölmeler meydana gelir.

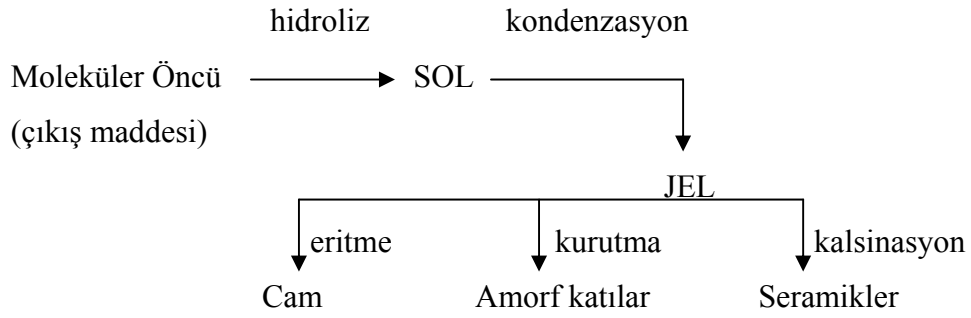
Bu prosesin dezavantajlı yönleri olsa bile avantajları oldukça fazladır ve artık birçok alanda uygulanmaktadır.

Sol-jel prosesini değişik şekillerde tanımlamak mümkündür. Buna göre sol-jel prosesi [20, 22],

- a- Çözelti içerisinde düşük sıcaklıklarda inorganik, gerektiğinde organik ağın sentezlenmesidir,
- b- Başlangıçta sadece tanecikleri içeren kolloidal bir çözeltiden, yani sol üzerinden, iki fazlı (jel) konuma dönüşmeyi içeren bir prosestir,

c- Kolloidal süspansiyonların jelleştirilerek katı bir fazın elde edilmesini içeren prosestir.

Sol, yerçekimi etkisinin ihmal edildiği ve Van der Waals kuvvetleri ile yüzey yükleri gibi kuvvetlerin etkili olduğu küçük kolloidal partiküllerin süspansiyonu olarak tanımlanabilir. Jel, sıvı faz ile doldurulmuş gözenekli bir ağdan ibaret yapıdır. Solün jele dönüşümü hidroliz ve kondenzasyon reaksiyonları sonucunda gerçekleşir [24]. Böylece sol-jel prosesi genel olarak, kolloidal süspansiyonlar (sol) aracılığıyla inorganik ağların oluşumu ve sürekli sıvı fazda yer alacak (jel) ağ yapının elde edilmesini içeren proses olarak ifade edilebilir. Prosesin şematik olarak gösterimi ve işlem basamakları aşağıdaki gibi özetlenebilir [22].

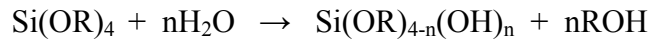


- 1) Moleküler öncülün (çıkış maddesi) homojen çözeltisinin hazırlanması,
- 2) Homojen çözeltiden hidroliz reaksiyonu sonucu sol oluşumu,
- 3) Sol üzerinden kondenzasyon reaksiyonları ile karışımın jel durumuna geçmesi,
- 4) İstenilen ürüne göre jele şekil verilmesi,
- 5) Şekil verilmiş jelin uygun işlemlerden geçirilerek hedeflenen ürünün elde edilmesi.

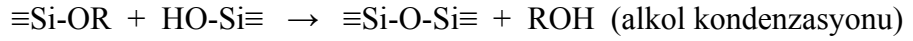
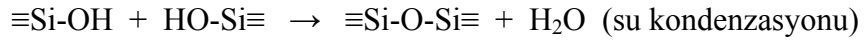
Sol-jel prosesinde, çıkış maddesi olarak metal alkoksit bileşikleri su ile kolayca hidroliz reaksiyonları verdikleri için kullanılmaktadırlar. Genel formülleri $M(OR)_n$ şeklinde gösterilebilen alkoksitler, metal katyonu ile alkolün hidroksil grubundan bir hidrojenin uzaklaşmasıyla oluşan alkoksi grubunun birleşmesinden oluşan

bileşiklerdir. Tetrametoksisilan (TMOS) ve tetraetoksisilan (TEOS) en çok kullanılan metal alkoksitlere örnek olarak gösterilebilir [24].

Sol-jel prosesi temel olarak iki reaksiyona dayanır. Bunlar hidroliz ve kondenzasyon reaksiyonlarıdır [24, 26]. Silisyum alkoksitler dikkate alınarak bu reaksiyonlar şu şekilde izah edilebilir. Hidroliz reaksiyonlarında silisyum alkoksit su ile reaksiyona girerek, alkoksit grupları ile hidroksil grupları yer değiştirir ve reaktif silanol grupları oluşur.



Bu reaksiyonun yan ürünü olarak alkol açığa çıkar. Su miktarına bağlı olarak hidroliz reaksiyonu tamamlanmaya doğru gidebilir veya kısmen hidroliz gerçekleşir. Kısmen hidroliz olmuş iki molekül kondenzasyon reaksiyonları ile birbirine bağlanarak siloksan bağlarını ($\equiv\text{Si-O-Si}\equiv$) oluşturur. Kondenzasyon reaksiyonları su veya alkol kondenzasyonu şeklinde olabilir.



Hidroliz ve kondenzasyon reaksiyonlarını kesin olarak birbirinden ayırmak zordur. Çünkü hidroliz reaksiyonları tamamlanmadan kondenzasyon reaksiyonları başlayabilir [26]. Kondenzasyon reaksiyonlarıyla oluşan siloksanların polimerleşmesiyle farklı büyüklüklerde türler meydana gelir ve sonuçta bunların iç içe geçmesiyle bir ağ yapısı, yani jel oluşur. Oluşan jel yapısının yavaş yavaş ısıtılmasıyla jelin gözeneklerine girmiş olan çözücü molekülleri ve fazla su uzaklaştırılarak katı bir madde elde edilmiş olur.

Silisyum alkoksitlerin düşük reaktivitelerinden dolayı hidroliz ve kondenzasyon reaksiyonları oldukça yavaş gerçekleşir. Bu yüzden reaksiyonları hızlandırmak için asidik veya bazik katalizörler kullanılır [26]. Sol-jel reaksiyonlarının asidik veya bazik şartlarda gerçekleştirilmesi, su miktarı ve kullanılan çıkış maddesinin alkoksit

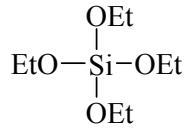
grubunun uzunluğu, proses üzerinde önemli etkilere sahiptir ve sonuçda oluşacak ürünün yapısını tayin etmektedir. Genellikle düşük pH değerlerinde ve düşük su oranları kullanıldığı zaman daha yoğun ve ortalama gözenek boyutu daha küçük malzemeler elde edilirken, yüksek pH ve su oranlarında ise daha gözenekli yapılar oluşmaktadır. Asidik şartlarda kondenzasyon sonucunda birbiri içine girmiş lineer zincirli jel oluşumu meydana gelirken, bazik şartlarda ise birbiri içine girmiş dallanma oranı yüksek yumakçıklar şeklinde jelleşme meydana gelir. Alkoksit grubunun uzunluğu ne kadar büyük olursa hidroliz o kadar yavaş gerçekleşir [26].

Sol-jel çalışmalarında elde edilmek istenen ürüne göre çeşitli metal alkoksitler kullanılır. Bununla birlikte silisyum alkoksitler ve bunlardan türetilen çeşitli silan bileşikleri bu proseste daha yaygın kullanılan çıkış maddeleridir. Tetraalkoksisilanlar kullanıldığı zaman inorganik polimerizasyon sonucunda oksit bir ağ elde edilir. İnorganik ağa organik karakter kazandırılmak istendiğı zaman ise organik modifiye silanlar kullanılır ve böylece organik-inorganik hibrit malzemeler kolaylıkla sentezlenebilir.

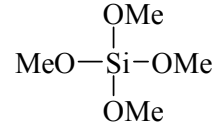
Sol-jel prosesi başlıca inorganik polimerizasyon reaksiyonlarına dayanarak cam ve seramikler gibi inorganik malzemelerin hazırlanmasında kullanılan bir kimyasal sentez metodu olarak bilinir [27]. Organik-inorganik hibrit malzemelerin sentezlenmesi bu metot kullanılarak gerçekleştirilebilir. Bilindiğı gibi inorganik ve organik malzemelerin özellikleri birbirinden oldukça farklıdır. Seramik ve cam gibi inorganik malzemeler serttirler, fakat dirençli değildirler ve kırılabilirler. Organik polimer malzemeler ise bunların aksine genellikle esnektirler. Ancak bunlar ısıya karşı dayanıksızdırlar ve zamanla bozunabilirler. İnorganik malzemeler termal ve mekanik olarak kararlıdırlar ve optik özellikler gösterebilirler. Organik-inorganik hibrit malzemeler bu iki tip malzeme grubunda aynı anda bulunmayan özellikleri bir araya

getirerek yeni ve farklı özelliklere sahip bir malzeme grubunu oluşturlar. Sol-jel prosesi, düşük sıcaklıklarda çalışabilmenin verdiği avantajla bu kompozitlerin hazırlanmasında kullanılan bir metot olmuştur [28].

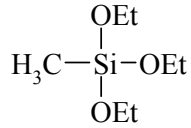
Sol-jel prosesiyle organik-inorganik hibrit malzemeler hazırlanmasına en uygun çıkış maddeleri organoalkoksisilanlardır. Bunlar yapılarına organik moleküllerin bağlanmasıyla modifiye edilmiş silisyum bileşikler olup genel formülleri $R'_nSi(OR)_{4-n}$ şeklinde gösterilebilir. Burada R' bir organik grup olup fonksiyonel veya nonfonksiyonel olabilir. R' nonfonksiyonel olduğunda metil, etil, propil gibi bir alkil grubudur. Bu durumda organik grup ağı modifiye edici olarak görev yapar. R' grubu Si atomuna Si-C bağı ile bağlıdır ve hidroliz olmaz. R' grubunda aynı zamanda vinil, metakril, epoksi, glisidioksi, amino gibi fonksiyonel gruplarda bulunuyorsa bunlar ağ oluşturuıcı olarak davranırlar. Bu tip çıkış maddeleri daha çok organofonksiyonel alkoksisilanlar olarak ifade edilirler ve genel olarak $F-(CH_2)_n-Si(OR)_3$ şeklinde gösterilirler. Ormosil (organically modified silanes) olarak bilinen bu çıkış maddelerinin kullanılmasıyla hem inorganik bir ağ oluşur hem de polimerleşen organik yapılar yardımıyla organik bir ağ elde edilir [24, 27–30]. Şekil 3.1' de çeşitli silan bileşikler gösterilmiştir.



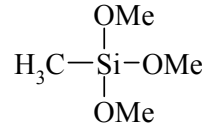
Tetraetoksisilan (TEOS)



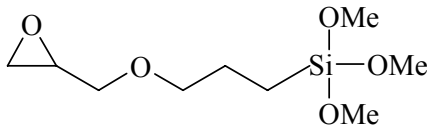
Tetrametoksisilan (TMOS)



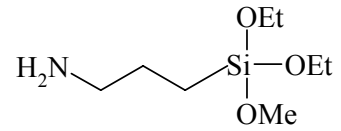
Metiltrietoksisilan (MTEOS)



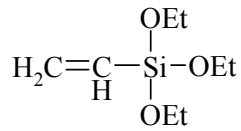
Metiltrimetoksisilan (MTMOS)



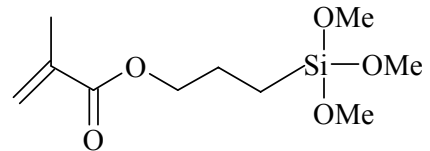
3-glisidoksipropiltrimetoksisilan (GLYMO)



3-aminopropiltrimetoksisilan (APTEOS)



Viniltrietoksisilan (VTEOS)



3-metaktiiloksipropiltrimetoksisilan (MAPTMS)

Şekil 3.1. Sol-jel prosesinde kullanılan bazı silan bileşikleri

Hibrit organik-inorganik silika malzemeler genellikle tetraalkoksisilanlarla bir veya daha fazla organoalkoksisilanın birlikte hidroliz ve kondenzasyonu ile hazırlanırlar. Burada siloksan (alkoksisilan) prokürsör oluşacak yapının iskeletini oluşturma fonksiyonunu sağlarken, organofonksiyonel silanlar hem bu yapının oluşmasına katkıda bulunurlar hem de yapılarındaki organik fonksiyonel grupların oluşan ağa katılmasını sağlarlar [28]. Genellikle diorganodialkoksisilanlar ($R'_2Si(OR)_2$) ve organotrialkoksisilanlar ($R'Si(OR)_3$) bu tip yapıların hazırlanmasında tercih edilirler. Trialkoksisilanlar inorganik ağa hidrofobisite, reaktivite, esneklik gibi özellikler kazandırmak için ağ modifiye edici olarak kullanılırlar. Daha çok tetraalkoksisilanlarla birlikte kullanılmak suretiyle ağ bağlantılarını sağlarlar, çapraz bağlı yapı oluşturmaları ve oluşan katıya kararlılık kazandırır. Dialkoksisilanlar kullanıldığında ise çapraz bağlar meydana gelmez ve daha çok düz zincirli yapılar oluşur. Dolayısıyla bunlarla çapraz bağlı yapılar oluşturmak için tri veya tetrafonksiyonel prokürsörlerle birlikte kullanılmaları gerekir. Difonksiyonel alkoksilanlar oksit ağa esneklik kazandırmak için kullanılırlar [24, 26, 28, 31].

2.3.1. Sol-jel film ve kaplamalar

Sol-jel metodu ile katı filmler oluşturmak amacıyla sıvı çözeltilerin kullanılması ve böylece çeşitli kimyasal bileşimlere sahip kaplama çözeltilerinin hazırlanmasına imkân tanınması, değişik geometrilere sahip maddelerin kolaylıkla kaplanabilmesi gibi avantajlarından dolayı bu prosesin önemli uygulama alanlarından birisi ince film ve kaplama yapımı olmuştur [32]. Sol-jel prosesiyle hazırlanan film ve kaplamalar bu prosesin ilk ticari uygulamalarını oluşturur. Önce optik kaplamalar şeklinde uygulanan filmler daha sonra elektronik ve korozyon önleyici kaplamalar ve poröz filmler şeklinde çeşitli alanlara uygulanmıştır [24].

Sol-jel filmlerle kaplama yapılmasıyla malzemelerin aşınmaya, çizilmeye ve korozyona karşı dirençli olmaları, kaplanacak maddelerin optik özelliklerinin değiştirilmesi, yüzeye hidrofobik özellik kazandırılması, elektriksel yalıtkanlığın sağlanması, termal kararlılık ve antibakteriyal özellik kazandırılması gibi amaçların yanı sıra son zamanlarda sensör geliştirilmesi amacıyla da bu filmler kullanılmaktadır [24, 33–38].

Sol-jel film hazırlanmasında, GLYMO (3-glisidoksipropiltrimetoksi silan) tetrafonksiyonel alkoksi silanlarla (TEOS, TMOS gibi) birlikte kullanılan bir organofonksiyonel trialkoksi silan çıkış maddesidir. Yapısındaki silisyumdan dolayı bir taraftan SiO₂ kaynağı olarak görev yaparak inorganik ağı oluşumuna katkıda bulunurken diğer taraftan yapısındaki organik fonksiyonel gruptaki epoksi halkasının açılmasıyla organik polimerleşmeye uğrar ve böylece organik-inorganik fazlar arasında kovalent bağlı hibrid bir ağ yapı oluşturur [39]. Diğer organofonksiyonel trialkoksi silan monomerleri gibi GLYMO, kaplama ve film yapımında bağlayıcı ajan olarak kullanılır [40]. Epoksi grubu sayesinde uygulandığı yüzeye filmin yapışma özelliğini iyileştirir ve böylece GLYMO içeren filmler daha iyi bir mekanik kararlılık sergiler. Ayrıca, filme gözeneklilik kazandırır ve filmde kırılmaları/çatlama ları önlemede yardımcı olur [29, 30]. GLYMO’ nun bu özelliklerinin yanı sıra epoksi grubu biyo moleküllerin amin grubuyla reaksiyon verebilir. Dolayısıyla enzim tutuklanmasında, enzimin sol-jel matrikse kovalent olarak bağlanmasını sağlayarak immobilizasyon işleminde kullanılabilir [41, 42].

GLYMO içeren kaplama çözeltileri ile yapılan çalışmalarda bilhassa metal ve cam yüzeylerin kaplanması incelenmiştir. Cam yüzeylerin renklendirilmiş filmlerle kaplanmasında GLYMO içeren çözeltiler kullanılmıştır. Bu çalışmada GLYMO’ nun filmin cam yüzeye yapışmasını iyileştirdiği vurgulanmıştır [43]. Yine alüminyum ve

demir yüzeylerinin korozyondan korunması için uygulanan sol-jel filmlerde GLYMO bağlanmayı artırmak için kullanılmış [36, 44], cam yüzeylerin anti bakteriyel olarak kaplanması yine bu çıkış maddesinden yararlanılmıştır [38].

2.3.2. Sol-jel filmlerle elektrot modifikasyonu

Elektroanalitik çalışmalarda silika modifiye elektrotların kullanılması ilk olarak 1990' ların başlarında ortaya çıkmış ve ilerleyen yıllarda artmıştır. Özellikle sol-jel matrikse enzim tutuklanmasıyla ve biyosensörlerde kullanılmaya başlanmasıyla birlikte bu alandaki çalışmalar büyük bir hız kazanmıştır [45].

Sol-jel filmlerin oldukça ince ve kolaylıkla hazırlanabilmesi, sol-jel oluşumu esnasında çözeltiye çeşitli organik moleküller veya iletkenlik sağlayıcı türlerin ilave edilebilmesi, oluşan filmlerin elektrot yüzeyine çok iyi yapışması ve sağlam oluşları, istenen bileşimde ve gözeneklilikte kaplamaların elde edilebilmesi, elektrot hazırlanmasının basit olması ve fazla cihaz gerektirmemesi, oldukça tekrarlanabilir filmlerin oluşturulabilmesi gibi özelliklerinden dolayı modifiye elektrot hazırlanmasında bu proses son yıllarda sıkça kullanılmaktadır.

Sol-jel metodu ile modifiye elektrot hazırlanmasında gerek çözelti hazırlama aşamasında gerekse film yapımı aşamasında dikkate alınması gereken bazı faktörler söz konusudur. Sol-jel film yapımında önemli bir sorun filmin büzülmesi ve kurutmanın iyi yapılmaması durumunda filmde çatlakların meydana gelmesiyle filmin elektrot yüzeyinden düşmesidir. Film yapımı, çözelti pH' sı, su/Si oranı, çözeltinin yaşlandırılması (aging), kullanılan çıkış maddesi, filmin kurutma sıcaklığı ve kurutma süresinden bir hayli etkilenmektedir.

Sol çözeltisinin pH' sı çok önemlidir. pH değeri sol-jel prosesinin başlıca reaksiyonları olan hidroliz ve kondenzasyon reaksiyonlarının hızlarını dolayısıyla

oluşacak filmin yapısını etkiler. Silikanın izoelektrik noktası yaklaşık pH 2 civarındadır. Bu pH değerinin altında ve üstündeki pH değerleri prosesin asit veya baz katalizli olarak ifade edilmesinde bir sınır oluşturur. $pH < 2$ durumunda hidroliz reaksiyonları hızlı, kondenzasyon reaksiyonları yavaş gerçekleşir, böylece jelleşme için daha uzun süreler gerekir. $pH > 2$ durumunda ise yukarıdaki durumun tam tersi söz konusudur. $pH < 2$ durumunda daha az dallanmış mikro gözenekli yapılar oluşurken $pH > 2$ durumunda ise daha büyük gözenekli yapılar meydana gelir [26, 46].

Su/Si oranı da hidroliz hızını etkilemektedir. Genellikle su/Si oranının 2 olması hidroliz reaksiyonlarının tamamlanması için yeterli olmaktadır. Bu değerden büyük oranlarda hidroliz hızı artar [46].

Sol-jel dönüşümü süresince çözeltinin viskozitesinde bir artma meydana gelir. Küçük partiküllerin kolloidal süspansiyonu olan sol, polikondenzasyon reaksiyonlarıyla birbirine bağlanarak poröz bir ağ olan jeli oluşturur. Bu dönüşümle çözeltinin viskozitesi artar [34, 48]. Çözeltinin viskozitesi oluşacak filmin yapısını etkileyeceği için uygun bir değerde olması gerekir. Çok viskoz çözeltilerden kalın filmler oluşur ve bu filmler yüzeyden düşebilir. Belli oranlarda seyreltilmiş düşük viskoziteli çözeltilerden elde edilen filmler ise daha iyi yapışma özelliği gösterir ve daha ince olarak hazırlanabilirler. Filmdeki çatlamları ve kusurları önlemek için genellikle düşük viskoziteli çözelti tercih edilir. Uygun viskoziteye sahip olmayan çözeltilerle yapılan kaplamalar kusurlu olur. Bu sebeple kaplama için yeterli viskoziteye sahip bir çözelti oluşturmak ve gözeneklilik sağlamak için yaşlandırma (aging) işlemi uygulanır. Bu işlemle çözelti ya oda sıcaklığında ya da biraz daha yüksek bir sıcaklıkta bekletilir. Bu esnada hidroliz ve kondenzasyon reaksiyonları devam eder ve çapraz bağlanmalar meydana gelir. Bekletilen çözeltilerden hazırlanan filmler daha kararlı olurlar ve poröziteleri de oldukça yüksektir. Ancak çok uzun

sürelerde veya yüksek sıcaklıklarda bekletme yapılmamalıdır, çünkü kaplama yapılmadan önce jelleşme meydana gelebilir [46, 47].

Kaplama yapıldıktan sonra çok önemli bir basamak olan kurutma süreci başlar. Katı bir substratın sol çözeltisiyle kaplanması sonrasında jelleşme ve solventin buharlaşması sonucunda xerogel filmler elde edilir [45]. Kurutma sırasında su ve alkol gözeneklerden buharlaşır ve filmde büzölmeler meydana gelir. Bu aşamada kurutma sıcaklığının ve süresinin iyi ayarlanması gerekir. Yüksek sıcaklıklarda kurutma yapıldığı zaman büzölmeler fazla olabilir ve gözenekler kapanabilir. Bu durumda filmde çatlaklar oluşabilir ve filmin yüzeyden düşmesine sebep olabilir. Düşük sıcaklıklarda yapılan kurutmadan en iyi sonuçlar alınır. Oda sıcaklığında yapılan kurutma ile gözenekli homojen filmler oluşur. Filmlerin yüzeye yapışması daha iyidir. Kurutma sıcaklığının yanı sıra kurutma süresi de özellikle filmin kararlılığı bakımından önemlidir. Kısa sürelerde kurutulan filmler yüzeyden düşerken, daha uzun süreli kurutulan filmlerin yüzeye yapışma kabiliyetleri daha iyidir ve daha uzun sürelerde kullanılabilirler [34, 46-49].

Elektroanalitik amaçlı sol-jel modifiye elektrotların hazırlanmasında silika sol çözeltisinin doğrudan elektrot yüzeyinde filmi oluşturulabilir ya da farklı iletkenlik sağlayıcı türleri de içeren sol çözeltilerinin kullanılmasıyla da modifiye elektrotlar yapılabilir. Sol çözeltisine polimerler (iletken, redoks, iyon değişim polimerleri), karbon toz, altın partikülleri, değişik mediatörler ve enzimlerin ilavesiyle farklı uygulamalar için birçok modifiye elektrot hazırlamak mümkündür [50].

Elektroanalitik olarak sol-jel filmler eletrokataliz ve önderiştirme çalışmalarında, iyon değişim ve permselektif kaplamalar şeklinde, biyosensör uygulamalarında kullanılmaktadır [45].

Permselektif kaplamalarla yüksek seçiciliğe ulaşmak amaçlanır. Bu filmlerle çözeltide hedef analitle birlikte bulunan interferans türler arasında bir ayırma sağlanır ve ilgilenilen tür elektrot yüzeyine ulaşarak tayin edilir. İstenmeyen türlerin yüzeye ulaşması engellenir ve kirlenmeler ile oluşabilecek sinyal girişimleri önlenmiş olur. Permselektif ayırma veya tayine moleküllerin yük, boyut ve şekil gibi özelliklerinden yararlanılarak ulaşılır [15].

2.4. Hidrojen Peroksit ve Dopamin Sensör

Hidrojen peroksidin çevre, endüstri, gıda, klinik ve biyokimya gibi alanlarda hızlı, ekonomik ve duyarlı bir şekilde belirlenmesi oldukça önemlidir [51]. Oksidaz ve peroksidaz esaslı elektrokimyasal biyosensörlerde ölçülen hidrojen peroksit konsantrasyonu, tayini yapılacak maddenin konsantrasyonu ile doğru orantılıdır [52].

Hidrojen peroksit elektrokimyasal olarak platin elektrot yüzeyinde 0.7 V' da (Ag/AgCl referans elektroda karşı) tayin edilebilir. Hidrojen peroksitin yükseltgenmesi esnasında ortamdaki askorbik asit, okzalik asit, ürik asit gibi bazı elektroaktif türler de yükseltgenir ve hidrojen peroksidin sinyaline girişim etkisi yapar. Bu olumsuzluğu yenmek için hidrojen peroksitin indirgenmesini katalizleyen peroksidaz enziminden faydalanarak hidrojen peroksit biyosensörler kullanılabilir [51].

Enzim sensörler kullanılarak hidrojen peroksidin doğru ve hassas ölçümünü yapmak mümkün olmakla birlikte maliyetinin yüksek, stabilitesinin düşük olması ve elektrot yüzeyine enzimin iyi bağlanmaması bir dezavantajdır [53]. Bu sorun hidrojen peroksidin yükseltgenmesini ve indirgenmesini katalizleyen elektrokimyasal medyatörleri enzim yerine kullanmakla aşılabılır. Bu yolla modifiye edilen elektrotlarda uygulanan potansiyel azaltılır ve birçok interferant türün girişim etkisi minimize edilebilir veya tamamen ortadan kaldırılabilir [51].

Medyatör ve enzim kullanmaksızın hidrojen peroksit tayini permselektif membranlar kullanılarak yapılabilir. Bu membranlar vasıtasıyla ölçümün yapıldığı ortamda girişim etkisi yapacak elektroaktif türlerle, elektrot yüzeyinin kirlenmesine sebep olabilecek elektroaktif olmayan türlerin (laktoz, sükroz, üre gibi) geçişleri engellenerek hidrojen peroksit tayin edilebilir [52]. Aynı zamanda herhangi bir yardımcı maddeye gereksinim duyulmadığından sensörün maliyeti de azaltılmış olur.

Hidrojen peroksidin permselektif polimer filmler kullanılarak tayinleri yapılmıştır. Poli(1,2-diaminobenzen) filmlerin kullanılmasıyla hidrojen peroksidin tayini rahatlıkla yapılabilirken, daha büyük bir molekül olan askorbik asit ve ürik asidin filmden geçişleri engellenmiştir [54]. Polibenzidin, poli(o-toluidin) ve pirimidin esaslı poliimitler hidrojen peroksit tayininde permselektif polimerik membranlar olarak kullanılmıştır [52, 55, 56]. Sol-jel prosesiyle modifiye edilmiş elektrotlarla, hidrojen peroksit tayinine yönelik çalışmalar incelendiğinde, bu çalışmaların hemen hepsinde ya peroksidaz enzimi kullanılmış ya da uygun bir medyatörden faydalanarak tayinler yapılmıştır [52, 57–63].

Dopamin tayini de permselektif membranlar kullanılarak yapılabilir. Merkezi sinir sistemi ve hormonal sistemlerde önemli bir rol oynayan dopamin, en önemli ketakolaminlerden birisidir [64]. Dopamin beyin dokularında nörotransmitter madde olarak görev yapar. Dopamin seviyesinin düşük olması Parkinson gibi ciddi hastalıklara neden olur. Dolayısıyla bu maddenin tayin edilmesi klinik bakımdan önemlidir [65]. Merkezi sinir sisteminde dopamin, interferant tür olan askorbik asitle birlikte bulunur. Bu iki türün yükseltgenme potansiyelinin birbirine yakın olmasından dolayı, interferant moleküllerin varlığında dopaminin elektrokimyasal olarak fizyolojik şartlarda duyarlı, seçici ve güvenilir bir şekilde tayin edilebilmesi önemlidir [64, 66]. Dopamin tayininde ortaya çıkan bu sorun, her ne kadar sinyalde zayıflamaya ve

difüzyondan dolayı yanıt süresinin uzamasına sebep olsa da, elektrotların polimerik filmlerle kaplanması suretiyle aşılabılır [67]. Böylece dopamin permselektif olarak tayin edilebilir. Bu amaçla çeşitli polimerik filmler dopamin tayininde kullanılmıştır [68–71].

Sol-jel filmlerle elde edilen modifiye elektrotlar kullanılarak askorbik asit ve dopaminin birlikte tayin edildiği çalışmalar yapılmıştır [66, 72]. 3-aminopropiltrimetoksisilan ve feniltrimetoksisilandan hazırlanan modifiye elektrotlar [73] ve metiltrimetoksisilanın kullanıldığı sol-jel filmlerle [65] dopamin tayini gerçekleştirilmiştir. Dopamin tayininde farklı bir yol olarak, sol oluşumu esnasında dopamin molekülleri çözeltiye ilave edilerek camsı karbon elektrot kaplanmıştır. Film kurutulduktan sonra, modifiye elektrot fosfat tampon çözeltisinde bir süre bekletilerek dopamin moleküllerinin liç edilmesi ile oluşan boşluklardan faydalanıp dopamin tayini yapılmıştır. Bu amaçla feniltrimetoksisilan ve tetrametoksisilan içeren sol-jel kaplamalar kullanılmıştır [74].

2. 5. Biyosensörler

Genel olarak endüstriyel, medikal ve çevresel uygulamalarının yanı sıra sosyal yönden de sahip oldukları önemden dolayı sensör alanındaki araştırmalar son 20–30 yılda oldukça önem kazanmıştır. Malzeme biliminin gelişmesiyle ortaya çıkan yeni materyallerinde bu alana uygulanmasıyla birlikte sensörlere olan ilgi artmıştır.

Sensör kavramı genel olarak cihazın tamamını ifade etmekle birlikte, fiziksel veya kimyasal bir özelliği belirleyen ya da ölçen ve bu özelliğe cevap veren bir cihaz olarak tanımlanabilir [75, 76].

Kimyasal sensör, bir kimyasal reaksiyon esnasında belli bir analite seçici olarak cevap veren ve analitin kalitatif veya kantitatif belirlenmesinde kullanılabilen bir cihaz

olarak tanımlanabilir [75]. Burada, kimyasal bilgi analitik olarak kullanılabilen faydalı bir sinyale dönüştürülür [76]. Kimyasal bir sensörün iki temel bileşeni vardır.

- 1- Reseptör/Alıcı: Analitin seçici olarak tanınmasına imkan veren sensör elemanıdır. Seçici membran veya filmler bu görevi yerine getirir.
- 2- Transduser/Dönüştürücü: Analit hakkındaki kimyasal bilginin ölçülebilen bir sinyale dönüştürüldüğü kısımdır.

Biyosensörler, kimyasal sensörlerin bir alt grubu olarak düşünülür. İkisi arasındaki en temel fark biyosensörlerde tanıma elemanı olarak biyolojik bir molekülün kullanılmasıdır. Buna göre biyosensörler, biyolojik bir alıcının elektronik bir dönüştürücüyle birleştirilerek, biyolojik bilginin ölçülebilir bir sinyale dönüştürüldüğü cihaz olarak tanımlanabilir [77, 78].

Biyosensörler, biyolojik elemanın temasta olduğu dönüştürücünün tipine göre optik, kalorimetrik, piezoelektrik ve elektrokimyasal biyosensörler olarak dört gruba ayrılabilir. İlk üç gruptaki biyosensörler bazı uygulama güçlüklerinden dolayı avantajlı değildirler. Bu yüzden elektrokimyasal biyosensörler daha geniş bir şekilde kullanılmaktadır [79]. Bu tip biyosensörler, biyolojik bir etkileşim sonucunda ölçülecek maddenin konsantrasyonuyla orantılı olarak oluşan elektriksel sinyalin ölçülmesi esasına dayanır [79]. Ölçülecek elektrokimyasal özelliğe bağlı olarak bunları potansiyometrik ve amperometrik biyosensörler olarak iki gruba ayırmak mümkündür [78, 79]. Potansiyometrik biyosensörlerde elektroaktif türün konsantrasyonundaki değişime bağlı olarak potansiyeldeki değişimler izlenir. Amperometrik biyosensörlerde ise sabit bir potansiyelde çözeltideki türün biyokimyasal reaksiyonu sonucunda oluşan akım ölçülür. Amperometrik biyosensörler yüksek seçiciliklerinden dolayı daha fazla kullanılırlar [2, 79].

Farklı biyomoleküllerin kullanıldığı çok sayıda biyosensör geliştirilmiş olmakla birlikte, bunların içinde enzim elektrotlar önemli bir yer işgal eder. Glikoz, üre, kolesterol gibi elektro aktif olmayan bazı maddelerin tayin edilmesinde enzim elektrotlar kullanılır [2, 15].

Enzimler, biyolojik sistemlerdeki reaksiyonların, canlılığa zarar vermeden ılımlı koşullarda gerçekleşmesini sağlayan biyokatalizörler olarak tanımlanabilirler. Gerekli koşulların sağlanması durumunda enzimlerden doğal ortamlarının dışında birçok alanda yararlanılabilir [80]. Enzimlerin spesifik olmaları ve reaksiyonları katalizleme özellikleri onların biyokimyasal, endüstriyel ve analitik alanlarda uygulamalarını cazip hale getirmektedir [81].

Enzimler canlılar tarafından üretildiklerinden, endüstriyel ve analitik amaçlı kullanımları için doku, kan, mikroorganizma gibi canlı veya canlı kökenli kaynaklardan saflaştırılırlar. Enzimlerin mikrobiyal kaynaklardan saflaştırılması oldukça masraflı bir iştir. Endüstriyel uygulamalarda serbest enzimin aktivitesini kaybetmeden geri kazanılması çok zordur. Serbest enzim, reaksiyon ortamından istenilen anda uzaklaştırılamadığından reaksiyonun kontrolü zorlaşır. Katalizör olarak kullanılan serbest enzimi reaksiyon ortamından aktivitesini yitirmeden çıkarabilmek olanaksız olduğundan enzimin yeniden kullanılması da söz konusu olamaz. Bu durum enzimlerin pahalı katalizörler olmalarından dolayı maliyeti arttıran önemli bir faktör olmaktadır [80]. Çözelti halindeyken kararlılıklarının sınırlı olması, ortamdan ayrılmasının zor olması, reaksiyon kontrolünü güçleştirme, enzimlerin tekrar kullanımlarının mümkün olmaması ve maliyeti artırması gibi sebeplerden dolayı saflaştırılmış enzimlerden mümkün olduğu kadar fazla faydalanabilmek için immobilizasyon teknikleri geliştirilmiştir. Enzimlerin uygun bir metodla immobilize

edilmeleri sonucunda mekanik ve kimyasal kararlılıklarının arttırılması ve tekrar tekrar kullanılabilmeleri mümkün olmaktadır [80, 81].

Enzimler suda çözünmeyen bir taşıyıcıya fiziksel veya kimyasal olarak bağlanmak suretiyle, suda çözünmeyen bir kopolimere monomer olarak katılarak veya suda çözünmeyen mikrokapsüllerde tutuklanarak immobilize edilebilirler [80].

Enzim elektrotlarda da en önemli olay belki de enzimin elektrot yüzeyine tutturulmasıdır. Enzimlerin analiz yapılacak ortama doğrudan katılmaları ekonomik açıdan dezavantaj oluşturur. Bu yüzden enzim immobilize elektrotların kullanılmasıyla birçok kez analiz yapmak mümkündür.

2. 5. 1. Enzim immobilizasyon metotları

Adsorpsiyon

Enzim immobilizasyonunda en basit ve en eski metot adsorpsiyondur. Elektrot yüzeyine enzim çözeltisinin damlatılması ve çözücünün buharlaştırılmasıyla yapılır. Bu metot da, enzim elektrot yüzeyine zayıf bir şekilde bağlandığından yüzeyden kolaylıkla sıyrılması gibi dezavantajından dolayı çok kullanılan bir immobilizasyon metodu değildir.

Çapraz bağlanma

Bu metotda enzim katı desteğe kimyasal olarak bağlanır. Burada çapraz bağlayıcı maddeler immobilizasyon amacıyla kullanılır. Sağlam yapılar elde edilir ancak enzimin zarar görerek aktivitesinde azalma meydana gelmesi, sağlam yapıdan dolayı difüzyonda meydana gelen azalmalar gibi olumsuzlukları söz konusudur.

Kovalent bağlanma

Kovalent bağlanma metodunda enzimle elektrot yüzeyi arasında kovalent bağlar meydana gelir. Bu bağlanmanın olabilmesi için enzim ve elektrot yüzeyinde fonksiyonel grupların bulunması gerekir. Örneğin elektrot yüzeyindeki karbonil grubu ile enzimin amino grupları arasında kovalent bağlanma sağlanabilir. Bu bağlanmada enzim elektrot yüzeyine oldukça sıkı bir şekilde bağlanır. Ancak enzimin aktif merkezlerinin bağlanmaya katılması durumunda ise, enzim aktivitesinde azalma gözlenir.

Tutuklama

Enzim immobilizasyonunda kullanılan en popüler teknik bir jel veya polimer matrikse enzimin tutuklanmasıdır. Tutuklama yönteminde, enzim molekülleri belirli bir mekânda durmaya zorlanmaktadır. Enzim molekülleri polimer jel matrikslerde veya mikrokapsülleme ile tutuklanabilir. Polimer matrikslerde tutuklama, çapraz bağlı bir polimerin enzim çözeltisi içinde oluşturulması temeline dayanmaktadır. Polimerleşme sonucunda enzim molekülleri çapraz bağ ağları arasında tutuklanır ve çözelti ortamına geçmeleri engellenmiş olur. Mikrokapsülleme yönteminde ise enzim moleküllerinin yarı geçirgen bir membran içinde tutuklanması sağlanır. Yarı geçirgen membranın gözenek boyutu substrat moleküllerinin kapsül içine girişine ve ürün moleküllerinin dışarı çıkışına olanak verecek ancak enzimin çıkışına izin vermeyecek büyüklükte olması gerekir.

Son zamanlarda sol-jel matriksler enzim immobilizasyonunda ve sonuç olarak biyosensör çalışmalarında kullanılmaktadır.

2. 5. 2. Sol-jel matrisler ile enzim immobilizasyonu

Biyosensör çalışmalarında biyolojik türlerin immobilizasyon ortamı olarak polimerlerin kullanılması oldukça yaygındır. Sol-jel prosesinin gelişmesine paralel olarak, biyosensör araştırmalarında da kullanılmaya başlanmıştır.

Önceki bölümlerde, bahsedildiği gibi özellikle sol-jel prosesinin oda sıcaklığında gerçekleştirilebilmesi biyolojik türün aktivitesini koruması bakımından önemli bir avantaj sağlamaktadır. Bununla birlikte ince filmlerin hazırlanabilmesi, matrisin gözenek boyutunun kontrol edilebilmesi, sol oluşumu sırasında çeşitli maddelerin çözeltiye ilave edilebilmesi, immobilize edilen biyomolekülün aktivitesini koruması, elektrot hazırlanmasının kolay olması gibi önemli avantajlarından dolayı sol-jel prosesinin enzim immobilizasyonunda ve biyosensör çalışmalarında kullanımı artmıştır [29, 82-84].

Sol-jel filmlerin biyosensörlerde kullanılmasının sözü edilen avantajlarının yanı sıra bazı dezavantajları da mevcuttur. Bunlardan birisi belki de en önemlisi filmin kuruması sırasında çoğu zaman meydana gelen büzülme ve çatlamalardır. Diğer bir olumsuzluk ise gözenek boyutunun iyi ayarlanamaması durumunda biyolojik maddenin matrisden dışarıya difüzyonudur [83].

Sol-jel esaslı elektrokimyasal biyosensör hazırlamasında biyomolekülün ve filmin durumuna göre dört farklı şekilde enzim elektrot hazırlamak mümkündür [29].

- 1- Biyomolekülün film içine tutuklanması
- 2- Elektrot yüzeyinin kaplanması ve biyomolekülün filme bağlanması
- 3- Biyomolekülün ortada olduğu sandviç konfigürasyon
- 4- Mediator ve enzimi ayrı ayrı film tabakalarının içerdiği konfigürasyon

Sol-jel matrikslere enzim immobilizasyonunda uygulanan en genel metot, sol oluşumu esnasında enzimin çözeltiye katılmasıdır. Daha sonra enzim içeren sol çözeltisi ile elektrot kaplanarak jelleşme gerçekleştirilir. Böylece enzim/sol-jel elektrot hazırlanır. Sandviç konfigürasyonda önce elektrot yüzeyi kaplanır sonra enzim tabakası bu kaplama üzerinde oluşturulur ve son olarak ikinci bir film tabakası ile enzim kaplanarak korunur. Bazı durumlarda iletkenliği arttırmak için mediatörler kullanıldığında, önce elektrot yüzeyinde mediatörü içeren bir sol-jel film oluşturulur ve bunun üzerinde enzimi içeren sol-jel film ile kaplama yapılır.

Değişik enzimler çeşitli sol-jel matrikslere immobilize edilmiş ve biyosensör olarak kullanımları incelenmiştir [60, 85–90]. Bu çalışmalarda özellikle klinik önemi sebebiyle glikoz tayini için hazırlanan enzim elektrotla ilgili araştırmalar daha yoğun bir şekilde yapılmıştır [42, 91, 92].

Glikoz, doğadaki en yaygın şeker olup, serbest ya da bileşikleri halinde en çok bulunan organik bileşiktir ve monosakkaritlerin en önemlisidir. Glikoz canlı organizmaların başlıca enerji kaynağıdır. Bütün memeli hayvanların kanlarında % 0.08–0.1 civarında bulunur ve doğrudan kana karışabilen bir bileşiktir [93].

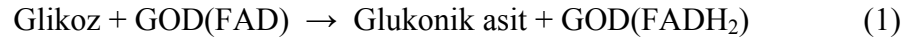
Bazı insanlar glikozu tamamen sindirebilmek için yeterli miktarda insülinde yoksundurlar, bazıları da salgı bezlerinin anormal çalışmasından ötürü vücutlarında gereğinden fazla glikoz meydana getirirler. Her iki durumda da kana normalden fazla şeker emildiğinden hyperglycemia denilen hastalığa yakalanırlar [93].

Kandaki glikoz seviyesi pankreas hormonunun saldığı insülinle kontrol edilir. Bu hormonun görevini kısmen veya tamamen yapamadığı durumlarda yeteri kadar insülin salgılayamayacağından kandaki glikoz seviyesi normal sınırların dışında kalır. Bu durumda glikoz seviyesini normal sınırlarda tutmak için dışardan insülin alınması gerekir. Şeker hastalığının teşhis ve tedavisi bakımından kandaki glikoz seviyesinin

hızlı ve duyarlı bir şekilde tayin edilmesi önemlidir. Elektrokimyasal glikoz biyosensörler bu amaçla kullanılabilirler [5, 94].

Glikoz normal olarak, elektroaktif bir madde olmadığından dolayı elektrokimyasal olarak doğrudan tayin edilemez ve bunun için glikoz oksidaz enziminden faydalanılır.

Glikoz oksidaz, glikozun moleküler oksijen ile yükseltgenip glukonolakton ve hidrojen peroksidin olduğu reaksiyonu katalizler. Lakton sulu ortamda hidroliz olarak glukonik aside dönüşür. Oksijen içeren sulu ortamda glikoz oksidaz ile glikoz arasında iki basamakta meydana gelen reaksiyonlar şöyledir. Reaksiyonlar glikoz oksidaz enziminin prostetik grubu (kofaktör) olan FAD (flavin adenin dinükleotid) üzerinden gerçekleşir. Birinci basamakta, glikoz iki proton ve elektronu enzime aktararak glukonik aside yükseltgenir ve FAD elektron akseptörü olarak davranarak enzim indirgenir.



İkinci basamakta, enzim moleküler oksijeni indirgeyerek tekrar yükseltgenmiş formuna dönüşürken hidrojen peroksit ürünü oluşur [75, 80, 95].



Bir glikoz sensörde glikoz konsantrasyonun belirlenmesi hedeflenir. Ancak glikozun elektrokimyasal olarak doğrudan tayin edilememesinden dolayı, yukarıdaki reaksiyonlara göre, oksijen, glukonik asit veya hidrojen peroksit miktarının belirlenmesiyle glikoz miktarı tespit edilebilir.

Oksijene duyarlı bir elektrot kullanılarak reaksiyon da harcanan oksijen miktarının tayin edilmesiyle glikoz miktarı belirlenebilir. Bu durumda oksijenin başlangıçta çözelti ortamındaki kısmi basıncının bilinmesi gerekir. Bu yolla glikoz tayininde ortam sıcaklığı önemli olmaktadır, çünkü çözünmüş oksijen miktarında

meydana gelecek değişiklik kısmi basıncı değiştirir ve yanlış ölçümlere sebep olabilir. Glikozu tayin etmenin bir başka yolu, birinci reaksiyonun ürünü olarak açığa çıkan glukonik asitin belirlenmesiyle olabilir. pH elektrot kullanılarak hidrojen iyonları konsantrasyonun değişimi izlenebilir. Ancak enzim elektrot çalışmaları tampon çözelti ortamlarında gerçekleştirildiği için oluşacak hidrojen iyonları tampondan maskelenebilir ve gerektiği gibi ölçüm yapılamayabilir. Ayrıca, ikinci reaksiyonda açığa çıkan hidrojen peroksidin amperometrik olarak tayin edilmesiyle de glikoz konsantrasyonu belirlenebilir. Hidrojen peroksit platin elektrot yüzeyinde 0.6–0.7 V' luk bir potansiyelde yükseltgenerek belirlenebilmektedir [5, 15, 75, 95].

Enzim immobilizasyonunda, polimerik matriks içerisine enzimi tutuklamak çok sık kullanılan bir immobilizasyon tekniğidir. Glikoz oksidaz enziminin polimerik matrikslere immobilize edilerek hidrojen peroksit ölçümlerinin yapıldığı çeşitli çalışmalar yapılmıştır. Poli(p-aminofenol) ve poli(1,4-diaminobenzen) [94], poli(1,3-fenildiamin) [96], poli(4-metoksifenol) [97] ve poli(o-toluidin) [98], glikoz oksidazın immobilizasyonunda kullanılmış ve sensör özelliklerini etkileyen çeşitli elektrokimyasal parametreler incelenmiştir.

Sol-jel prosesiyle hazırlanan çeşitli silika matrikslere glikoz oksidaz immobilize edilmiştir.

3-glisidoksipropildimetiletoksisilan ile tetrametoksisilan'dan oluşan sol çözeltileri kullanılarak glikoz oksidaz immobilizasyonun gerçekleştirildiği bir çalışmada glikoz amperometrik olarak belirlenmiştir. Bu çalışmada silan miktarının yanıtları önemli ölçüde etkilediği tespit edilmiştir. Silan oranının az olması durumunda enzimin matrikse iyi bağlanmadığı ve bu yüzden yanıtların küçük olduğu, silan miktarının belli bir değere kadar artırılmasıyla yanıtların büyüdüğü belirtilmiştir [41].

3-aminopropiltrioksisisilan, 3-glycidoksiopropiltrimetoksisisilan ve tetraetoksisisilan kullanılarak, Pauliukaite ve Brett tarafından yapılan bir çalışmada, her bir silan bileşiği ile glikoz oksidazın immobilizasyonu gerçekleştirilerek enzim sensörler hazırlanmış ve glikoz yanıtları incelenmiştir. Bu sensörlerden alınan yanıtlar karşılaştırıldığında, 3-glycidoksiopropiltrimetoksisisilan'dan hazırlanan biyosensörün glikoza karşı daha duyarlı olduğu tespit edilmiştir [92].

Tetrametoksilan filmlere sandviç konfigürasyonu ile glikoz oksidaz enzimi immobilize edilmiş ve amperometrik olarak glikoz tayinleri yapılmıştır. Hazırlanan sensörün yanıt süresinin kısa, tekrarlanabilirliğinin oldukça iyi ve geniş bir konsantrasyon aralığında cevapların doğrusal olduğu tespit edilmiştir [99].

Sol-jel filmlerde kırılmaları önlemek için poli(etilen glikol) ilave edilen sol çözeltileri kullanılarak enzim immobilizasyonu gerçekleştirilmiş ve olumlu sonuçlar alınmıştır [100]. Yine sol-jel filmde kırılmaları önlemek için 3-aminopropiltrioksisisilan ve 2,(3,4-epoksisikloheksil)etiltrimetoksisisilan kullanılarak enzim immobilizasyonu gerçekleştirilmiş, gözeneklerin simetrik bir şekilde dağıldığı ağ yapı elde edilmiş ve enzimin matrikse oldukça iyi bir şekilde bağlandığı belirlenmiştir [101].

3-trimetoksisisilpropilmetakrilat ve tetraetoksisisilan'ın farklı oranlarda karıştırılmasıyla hazırlanan sol çözeltilerinden elde edilen filmlere glikoz oksidazın immobilizasyonu yapılmış, glikoz tayinleri sırasında karışımdaki bileşenlerin oranlarının yanıtlar üzerinde önemli bir etkiye sahip olduğu belirlenmiştir. Sadece tetraetoksisisilan içeren filmlerin kırılma olduğu, ancak belli oranlarda 3-trimetoksisisilpropilmetakrilat ile karıştırılmasıyla oluşan filmlerde bu kırılma probleminin ortadan kalktığı ve aynı zaman da bu oranın filmlerin görünümünü de etkilediği tespit edilmiştir [102].

2. 5. 3. Biyosensörlerin genel özellikleri

Klinik uygulamalarda kullanılacak olan elektrokimyasal biyosensörlerde aranan bazı temel özellikler şunlardır [15, 94].

1- Seçicilik

Sensörün en önemli karakteristiğidir. Sensör, istenilen analite karşı seçici davranmalı, ortamda bulunabilecek girişim yapan elektroaktif türlere cevap vermemelidir. Yani, hazırlanan film sadece ilgilenilen analitin geçişine izin vermelidir.

2- Duyarlılık

Tayini yapılacak maddenin derişimindeki değışimlere karşılık sinyaldeki değışim olarak tanımlanabilir. Sensörün küçük konsantrasyonlara karşı yanıt vermesi önemlidir. Bu sensörün tayin sınırını belirler. Enzimlerin yüksek seçiciliklerinden dolayı oldukça küçük konsantrasyonlarda tayin yapılabilmektedir.

3- Doğrusallık

Tayini yapılacak maddenin konsantrasyonu ile alınan yanıt arasındaki doğrusal ilişkidir. Analitin geniş bir konsantrasyon aralığında tayini yapılabilmeli ve bu aralıkta akım-konsantrasyon arasında doğrusal bir ilişki olmalıdır. Genellikle, belirli bir konsantrasyon değerinden sonra doğrusallıktan sapma gözlenmektedir.

4- Yanıt süresi

İdeal bir sensörün, ölçümü yapılacak olan maddeye karşı hızlı cevap vermesi yani yanıt süresinin kısa olması istenir. Yanıt süresi sistemin dengeye gelmesi için

geçen süredir. İki enjeksiyon arasında, birinci enjeksiyondan sonra akımın sabit bir değere ulaşması için geçen süre olarak tanımlanabilir. Yanıt süresinin kısa olmasını etkileyen en önemli faktör filmin kalınlığıdır. Enzimatik bir reaksiyonda analit filmde difüzlenerak ve enzimin aktif merkezleriyle reaksiyon vererek oluşan ürün tayin edilmektedir. Dolayısıyla film ne kadar kalın ve gözenekler ne kadar dar olursa difüzyon o kadar zorlaşacak ve cevap süresi uzayacaktır. İdeal bir biyosensör için cevap süresi birkaç saniyeden birkaç dakikaya kadar değişen sürelerde olabilir.

5- Kararlılık

Kararlılık, sensörün ne kadar süre kullanılabileceği yani ömrü hakkında bilgi verir. Enzimler pahalı maddeler olduklarından hazırlanan elektrodun en azından belli bir süre kullanılabilmesi gerekir. Bu süre, birkaç gün olabileceği gibi birkaç ay da olabilir. Bu durum enzimin immobilize edildiği ortam ve oluşturulan filmle yakından ilgilidir. Film elektrot üzerinde sağlam bir şekilde kalmalı, ölçümün yapılacağı ortamda düşmemelidir. Filmin gözenek boyutunun uygun olmaması durumunda enzim gözeneklerden dışarı difüzlenebilir bu da elektrodun kararlılığının azalmasına sebep olur.

Bu faktörlerin yanı sıra, sensörün hazırlanma prosedürünün pratik ve ucuz olması, hazırlanan sensörün tekrarlanabilir sonuçlar vermesi oldukça önemlidir.

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Materyal

3.1.1. Kullanılan kimyasal maddeler

Sol-jel kaplama çözeltilerinin hazırlanmasında 3-glisidoksi propiltrimetoksi silan-GLYMO ($C_9H_{20}O_5Si$, %98, Aldrich), tetrametoksi silan-TEOS ($C_8H_{20}O_4Si$, %98, Aldrich), metiltrimetoksi silan-MTEOS ($C_7H_{18}O_3Si$, %99, Aldrich), 2-butoksi etanol ($BuOC_2H_4OH$, Aldrich), hidroklorik asit (HCl , %37, Riedel-de-Haen) ve saf su; elektrokimyasal deneylerde hidrojen peroksit (H_2O_2 , %40, Carlo Erba), dopamin hidroklorür ($C_8H_{11}NO_2.HCl$, Alfa-Aesar), ve D-(+)-glikoz (Dextrose; corn sugar, Sigma) kullanıldı. Yine elektrokimyasal deneylerde interferant türler için askorbik asit, okzalik asit, ürik asit, laktoz, sükroz ve üre; elektrolit çözeltilerinin hazırlanmasında $NaCl$, KCl , Na_2SO_4 , KNO_3 , KH_2PO_4 ve $Na_2HPO_4.2H_2O$; enzim elektrotların hazırlanmasında ise glikoz oksidaz (*Aspergillus niger*, Sigma) kullanıldı.

3.1.2. Kullanılan alet ve cihazlar

Elektrokimyasal deneylerde BAS 100W (Bionalytical Systems, Inc.) elektrokimyasal analizör kullanılmıştır. Analizör kişisel bir bilgisayara bağlanarak aygıtın kontrolü, veri depolaması ve işlenmesi bilgisayara yüklenmiş ve MS-Windows altında çalışan bir program vasıtasıyla gerçekleştirilmiştir. Analizör çözeltinin karıştırılmasına ve hücreden gaz geçirilmesine imkân tanımaktadır.

Deneylerde yaklaşık 15 mL hacimli pyrex cam hücreler kullanılmıştır. Bu hücreler, aynı firmanın C2 (cell stand) hücre kafesi içine yerleştirilerek dış elektriksel ve manyetik etkilerden yalıtılmıştır.

Hücreler ve kullanılan diğer cam malzemeler ile sol-jel filmlerin kurutulmasında Nüve marka EN 400 model etüv; elektrotların temizlenmesinde Sonorex marka RK 100 model ultrasonik banyo; pH ölçümlerinde Jenway 3010 pH metre; tartımlar için Mettler Toledo AB204-S terazi kullanılmıştır.

Çalışmalarda kullanılan saf su Milli Pore Milli- Q Water Purification System saf su cihazından elde edilmiştir.

Sol-jel çözeltilerin hazırlanmasında Ikamag RH manyetik karıştırıcı kullanılmıştır.

Sol-jel filmlerin görüntülenmesinde Olympus BX 41M mikroskop ve Dijital LEO-EVO 40 XVP taramalı elektron mikroskobundan (SEM) yararlanılmıştır.

Kaplama çözeltilerinin FT-IR analizleri Varian 1000 model FT-IR cihazıyla, termal analizleri ise Shimadzu 50 model termal analizörle yapılmıştır.

Deneylerde referans elektrot olarak 3 M KCl içindeki Ag/AgCl elektrot (BAS, MF-2063), çalışma elektrodu olarak sol-jel filmlerle modifiye edilmiş Pt (BAS, MF-2013, 1.98 mm²) elektrot ve yardımcı elektrot olarak da spiral disk şeklindeki platin elektrot kullanılmıştır.

Referans elektrot kullanılmadığı zamanlarda 3 M KCl çözeltisinde saklanmıştır.

Yardımcı elektrot zaman zaman alkolde bekletilip çıplak ateşte yakılmış ve saf su ile yıkanmıştır.

Çalışma elektrodu olarak kullanılan Pt elektrot, kadife disk üzerine bir miktar sulu alümina pastası damlatılıp üzerinde “8” çizdirilecek şekilde 1-2 dakika hareket ettirilerek temizlenmiş, daha sonra elektrot 90° döndürülerek aynı

işlem tekrarlandıktan sonra saf su ile yıkanmıştır. Temizleme işleminde ultrasonik banyodan da yararlanılmıştır.

3.2. Yöntem

3.2.1. Sol-jel kaplama çözeltilerinin hazırlanması

Platin elektrotların sol-jel filmlerle modifikasyonu amacıyla değişik sol çözeltileri hazırlandı. Çözeltilerin hazırlanmasında silan bileşikler olarak GLYMO, MTEOS ve TEOS, hidroliz reaksiyonlarını gerçekleştirmek için saf su, katalizör olarak derişik HCl kullanıldı. Çözeltiler 50 mL' lik ağzı kapatılmış cam beherlerde manyetik karıştırıcı kullanılarak oda sıcaklığında hazırlandı.

Kullanılan silan bileşiklerinin bilinen miktarlarda alınmasıyla GYLMO + MTEOS, GLYMO + TEOS ve GLYMO + MTEOS + TEOS bileşimlerinde temel olarak üç farklı kaplama çözeltisi hazırlandı. Bu kaplama çözeltilerinin bileşenlerinin farklı oranlarda alınması ve değişik seyreltme oranlarının kullanılmasıyla çok sayıda kaplama çözeltisi hazırlanmış oldu. Film yapımında kullanılan çözeltilerin bileşen ve seyreltme oranları Çizelge 3.1 de gösterilmiştir. Hazırlanan çözeltilerin tümünde GLYMO miktarı 1 mL olarak alındı. MTEOS, TEOS ve MTEOS + TEOS miktarları ise değişik oranlarda alındı, ayrıca bunlardan hazırlanan çözeltiler farklı oranlarda seyreltildi. Böylece 15 farklı kaplama çözeltisi hazırlanmış oldu.

Çizelge 3.1. Elektrotların kaplanmasında kullanılan sol-jel çözeltilerin bileşimi

Bileşenler	Bileşen miktarları (mL)	Seyreltme oranı (mL/mL)
GYLMO + MTEOS	1 + 0.3	1/2 (GM1), 1/3 (GM2)
	1 + 0.4	1/2 (GM3), 1/3 (GM4), 1/4 (GM5)
	1 + 0.5	1/2 (GM6), 1/3 (GM7), 1/4 (GM8)
GLYMO + TEOS	1 + 0.3	1/2 (GT1), 1/3 (GT2)
	1 + 0.4	1/2 (GT3), 1/3 (GT4)
	1 + 0.5	1/2 (GT5), 1/3 (GT6)
GLYMO + MTEOS + TEOS	1 + 0.3 + 0.3	1/3 (GMT1)
	1 + 0.3 + 0.4	1/3 (GMT2)
	1 + 0.3 + 0.5	1/3 (GMT3)
	1 + 0.4 + 0.2	1/3 (GMT4)
	1 + 0.4 + 0.3	1/3 (GMT5)
	1 + 0.4 + 0.4	1/3 (GMT6)
	1 + 0.5 + 0.1	1/3 (GMT7)
	1 + 0.5 + 0.2	1/3 (GMT8)
	1 + 0.5 + 0.3	1/3 (GMT9)

Kaplama çözeltilerinin hazırlanması şu şekilde yapılmıştır: Öncelikle 1 mL GLYMO behere konuldu ve 5 dakika karıştırıldıktan sonra kullanılacak MTEOS, TEOS veya MTEOS + TEOS miktarı reaksiyon kabına ilave edildi. Elde edilen karışım 10 dakika karıştırıldıktan sonra gerekli miktarda derişik HCl ilave edildi. 10 dakika da bu şekilde karıştırıldıktan sonra hesaplanan miktarda saf su damla damla ilave edildi ve karışım sürekli olarak karıştırıldı. Su ilavesiyle bulanık bir çözelti oluştu. Bu çözelti, berrak ve homojen bir sol çözeltisi oluşturuncaya kadar karıştırıldı. Elde edilen berrak sol çözeltisi yaklaşık 24 saat bekletildi. Daha sonra bu çözeltiden 1 mL alınarak başka bir behere konuldu. Bunun üzerine seyreltilecek oran kadar 2-butoksi etanol ilave edilerek 5–6 saat karıştırıldı. Oluşan bu son çözelti de 24 saat bekletildikten sonra elektrotlar kaplandı.

3.2.2. Elektrotların kaplanması

Deneylerde çalışma elektrodu olarak kullanılan platin elektrodun yüzeyi, hazırlanan kaplama çözeltileri ile damlatma metodu kullanılarak kaplandı. Kaplama için kullanılacak olan her bir çözeltiden mikro pipet yardımıyla değişik film kalınlıkları elde etmek için belirli miktarlarda çözelti alınarak elektrot yüzeyine damlatıldı ve farklı sıcaklıklar uygulanarak kurumaları sağlandı. Enzim elektrotlar da benzer şekilde hazırlanmakla birlikte önce elektrot yüzeyine bir miktar enzim çözeltisi damlatılıp kuruması sağlandı ve ardından kaplama çözeltisi damlatılarak oda sıcaklığında kurutuldu.

3.2.3. Deneylerde kullanılan çözeltilerin hazırlanması

Elektrolit çözeltisi olarak KCl, NaCl, KNO₃ ve Na₂SO₄' ın sulu çözeltileri hazırlandı. PBS tampon çözeltisinin hazırlanmasında KH₂PO₄ ve Na₂HPO₄.2H₂O kullanıldı.

Ölçümü yapılacak olan askorbik asit, okzalik asit, laktoz, süktroz, üre, hidrojen peroksit ve dopaminin sulu çözeltileri her deneyden önce 0.2 M olacak şekilde hazırlandı. 0.2 M' lık stok glikoz çözeltisi kullanılmadan bir gün önce hazırlandı ve iki hafta süreyle kullanıldı.

Enzim çözeltisi, 5.1 mg glikoz oksidazın 50 µL PBS (pH=7) tamponu içinde çözünmesiyle hazırlandı.

3.2.4. Elektrokimyasal ölçümler

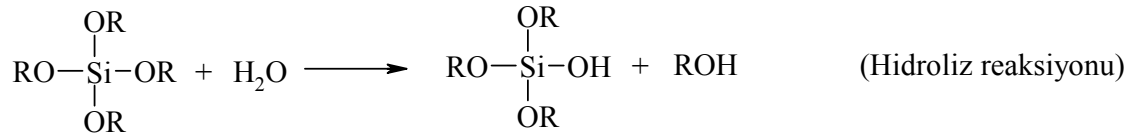
Modifiye platin elektrotlar kullanılarak hidrojen peroksit, dopamin ve glikoz sensör çalışmaları amperometrik olarak gerçekleştirildi.

Cam hücre içerisine elektrolit çözeltisinin 10 mL' si konuldu ve üç elektrotlu sistem (referans, yardımcı ve modifiye çalışma elektrodu) bu elektrolit çözeltisine yerleştirildi. Çalışılacak olan potansiyel uygulanarak zemin akımın kararlı hale (steady-state) ulaşması için beklendi. Daha sonra ölçümü yapılacak olan türün belirli miktarı hücre içersine enjekte edildi ve bir sonraki enjeksiyon öncesinde akımın yine kararlı hale gelmesi için beklendi. Böylece, ilgili akım-zaman grafikleri elde edildi. Glikoz biyosensörü deneylerinde, ölçüm öncesinde tampon çözeltiden hava geçirildi.

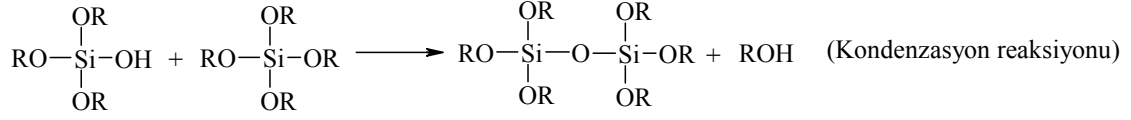
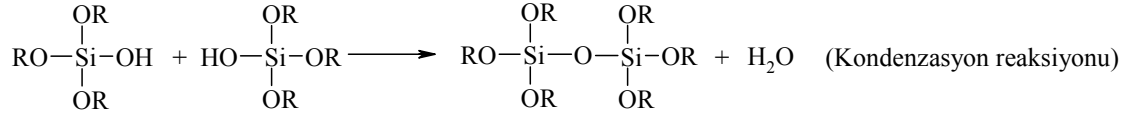
4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA

4.1. Hidroliz ve Kondenzasyon Reaksiyonları

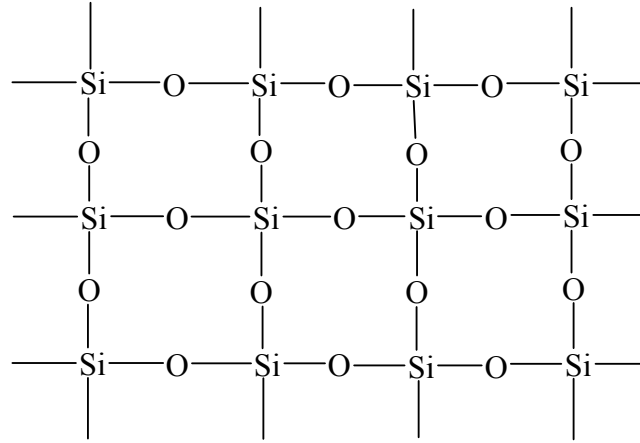
Sol-jel prosesi hidroliz ve kondenzasyon reaksiyonlarına dayanır. Hidroliz reaksiyonlarıyla reaktif olan silanoller oluşurken, kondenzasyon reaksiyonlarıyla silanoller birleşerek siloksan bağlarını oluştururlar. Sonuç olarak inorganik polimerizasyon reaksiyonlarıyla silisyum ağ elde edilmiş olur. Çalışmada kullanılan silan bileşikleri dikkate alınarak tetraalkoksi silan (TEOS), organo trialkoksi silan (MTEOS) ve organofonksiyonel trialkoksi silan (GLYMO) monomerleri için hidroliz ve kondenzasyon reaksiyonları aşağıdaki gibi yazılabilir. Bu reaksiyonlarda $R=C_2H_5-$, $R'=CH_3-$ ve $R''=CH_2OCHCH_2-O-(CH_2)_3-$ şeklinde gösterilmektedir.



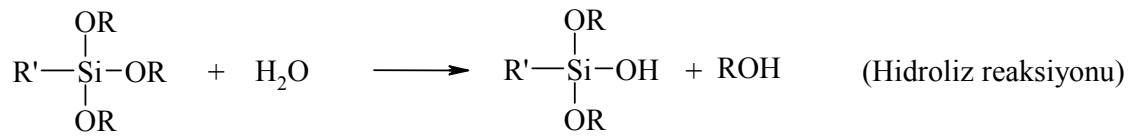
Kısmen hidroliz olmuş iki molekülün Si atomlarına bağlı $-OH$ grupları arasında su ayrılması şeklinde kondenzasyon reaksiyonları gerçekleşebileceği gibi, Si atomlarından birine bağlı $-OH$ grubu ile diğer Si atomuna bağlı $-OR$ grubu arasında alkol ayrılması şeklinde de kondenzasyon reaksiyonları gerçekleşebilir. Buna göre bu reaksiyonlar aşağıdaki gibi yazılabilir.



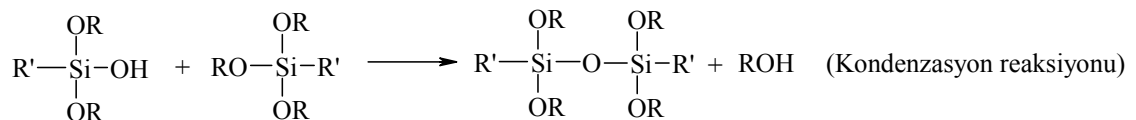
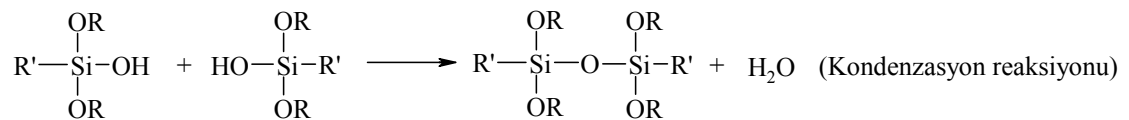
Hidroliz reaksiyonları tamamlanmadan kondenzasyon reaksiyonları başlayabilir. Sonuç olarak polikondenzasyon reaksiyonları ile inorganik oksit ağ elde edilmiş olur.

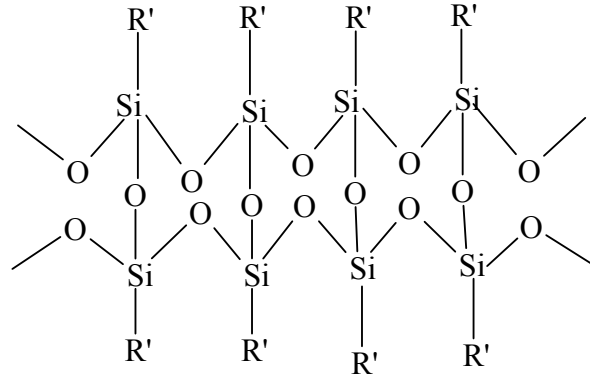


MTEOS içinde benzer reaksiyonlar aşağıdaki gibi yazılabilir.

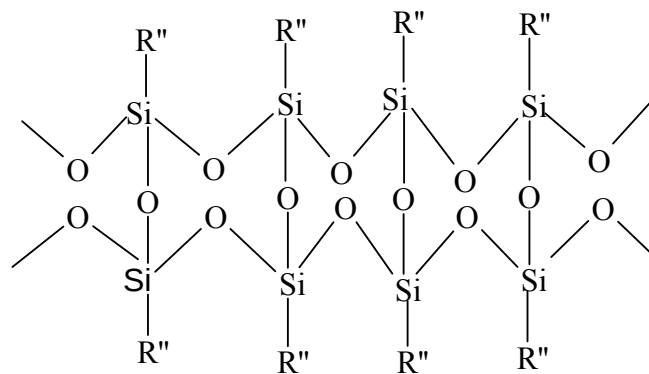
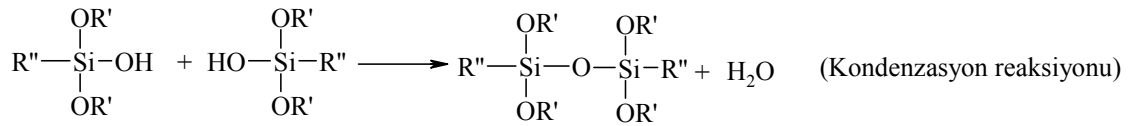
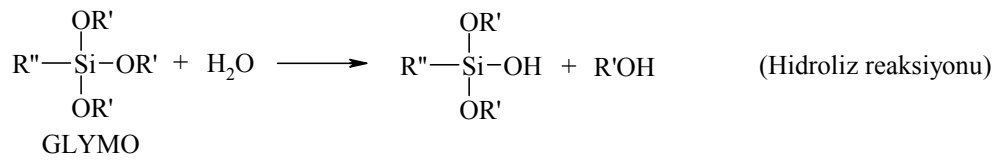


MTEOS

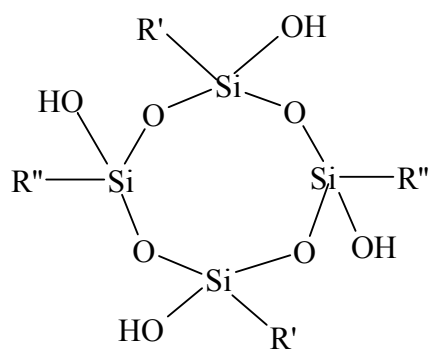
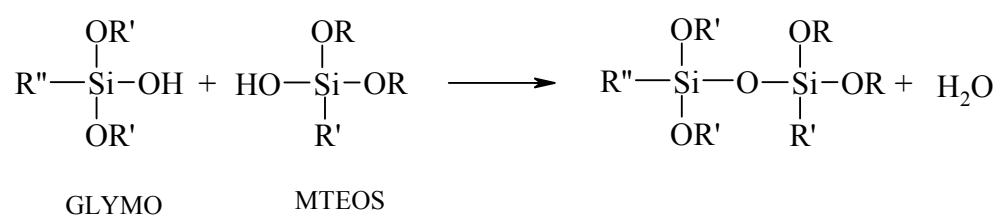
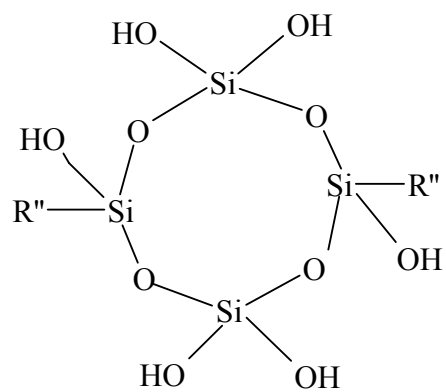
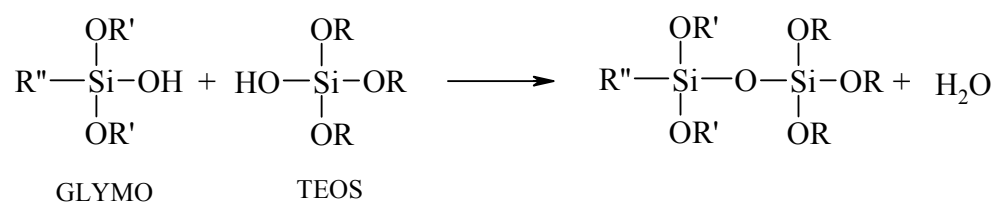


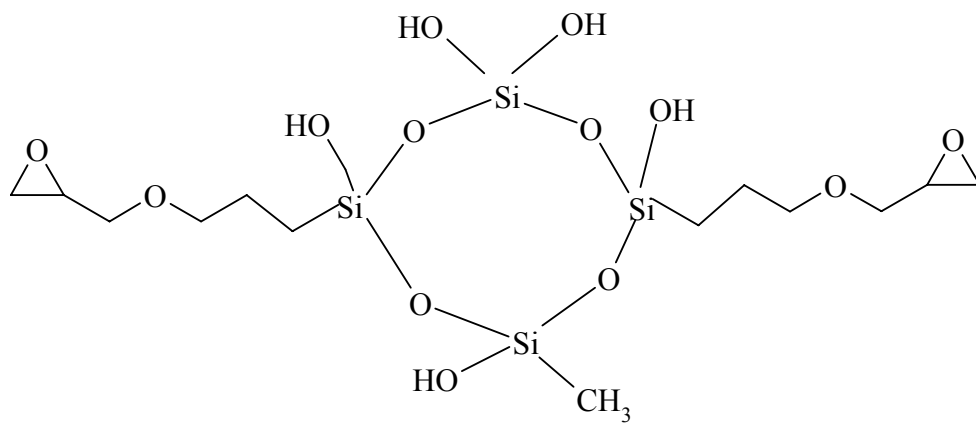
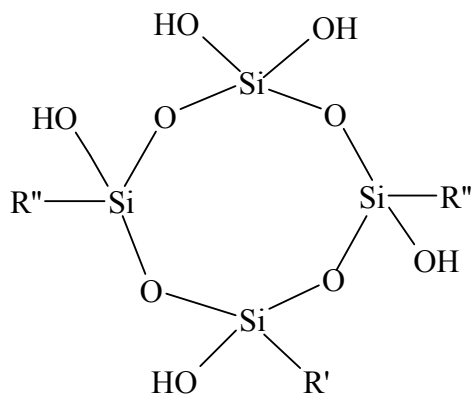
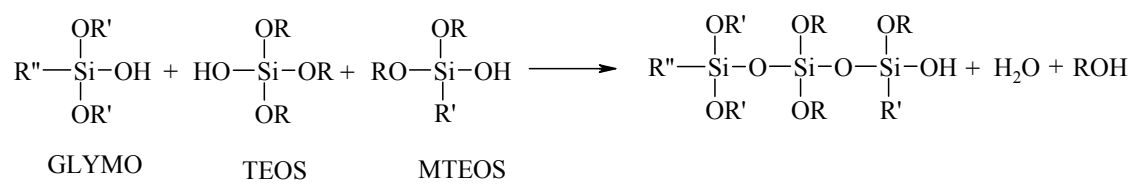


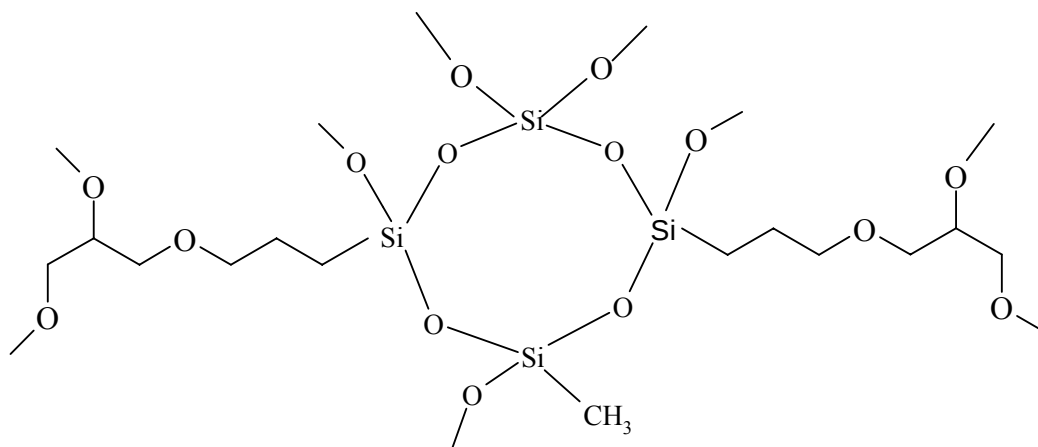
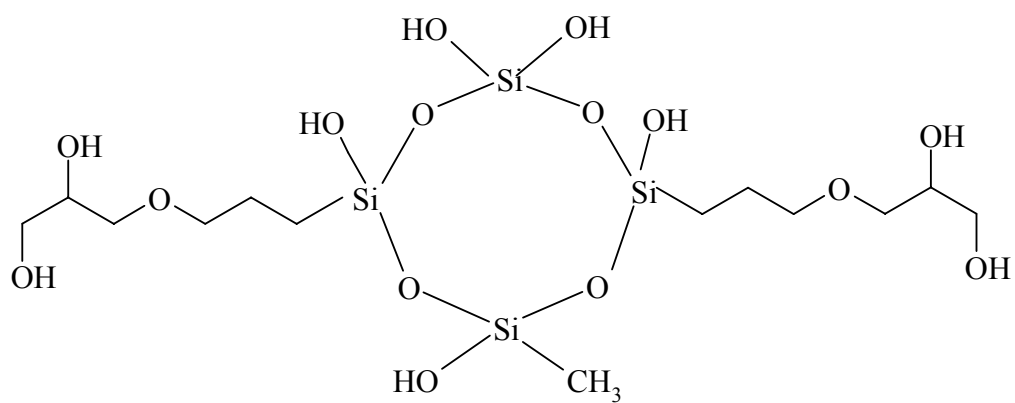
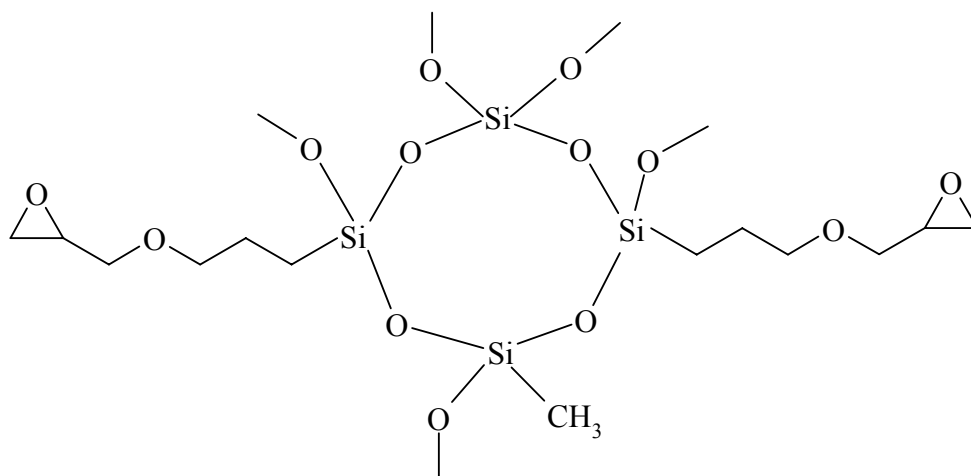
GLYMO içinde benzer reaksiyonları şu şekilde yazmak mümkündür.



Deneylerde kullanılan silan bileşiklerinin yukarıda verilmiş olan hidroliz reaksiyonlarının ürünleri dikkate alınıp GLYMO+TEOS, GLYMO+MTEOS ve GLYMO+MTEOS+TEOS için kondenzasyon reaksiyonları aşağıdaki gibi yazılabilir.



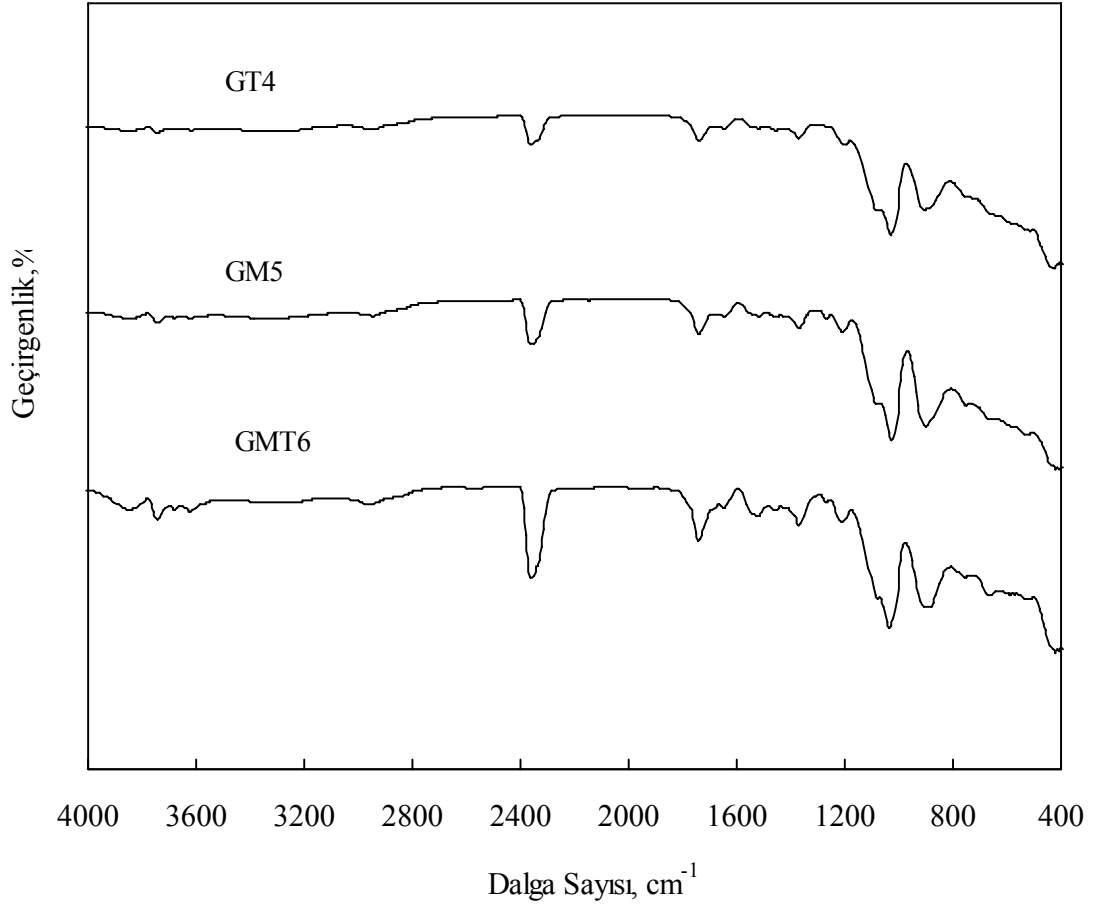




4.2. FT-IR Analizleri

Çalışmada hazırlanmış olan kaplama çözeltilerinin FT-IR analiz sonuçları incelendiğinde benzer sonuçlar elde edildiği gözlenmiştir. Üç farklı kaplama çözeltisine ait FT-IR sonuçları Şekil 4.1 'de gösterilmiştir.

Grafikte gözlenmiş olan pikler literatürle uyumlu olup, hazırlanan kaplama çözeltilerinde Si-O-Si ağının oluştuğu ve bağlayıcı ajan olarak kullanılan GLYMO' nun epoksi halkasının açıldığı anlaşılmaktadır. IR spekturumunda 440, 540, 1064 ve 1120 cm^{-1} de gözlenen pikler Si-O-Si bağının karakteristik absorpsiyon pikleridir. Bu pikler sırasıyla ardıl köprülerdeki Si-O-Si titreşimlerine, siloksan omurgasındaki titreşimlere, asimetrik Si-O-Si bağlanma ve asimetrik gerilme titreşimlerine karşılık gelmektedir [103–107]. 678, 750 ve 1465 cm^{-1} de görülen pikler simetrik Si-C gerilme titreşimiyle ilgilidir [104, 106, 108]. 830, 1226 ve 3024 cm^{-1} de gözlenmiş olan pikler Si-CH₃ titreşimini göstermektedir [106, 109, 110]. 894, 1373 ve 3750 cm^{-1} deki pikler ise alkolde seyrelmeden kaynaklanan –OH ile ağ yapısındaki –OH' dan kaynaklanan titreşim piklerine karşılık gelmektedir [103, 106]. 960 cm^{-1} de ortaya çıkan küçük pik silanol gruplarının karakteristik pikidir [103, 107, 110]. 1650 cm^{-1} de çok küçük olarak gözlenen pik moleküler su titreşimini göstermektedir [106, 107]. GLYMO' nun glisidoksipropil grubunda bulunan C-O piki 1743 cm^{-1} de gözlenirken 2870 ve 2950 cm^{-1} de ise –CH gerilme titreşimlerine karşılık gelen pikler gözlenmektedir [108, 110-112]. 2360 cm^{-1} de görülen keskin pik atmosferdeki CO₂' den kaynaklanmaktadır [105, 108]. Bu sonuçlardan, Si-O-Si ağı oluştuğu ve yine organik grupların katılımıyla hibrit bir organik-inorganik yapıya sahip kaplama çözeltileri hazırlanabilmiş olduğu anlaşılmaktadır.

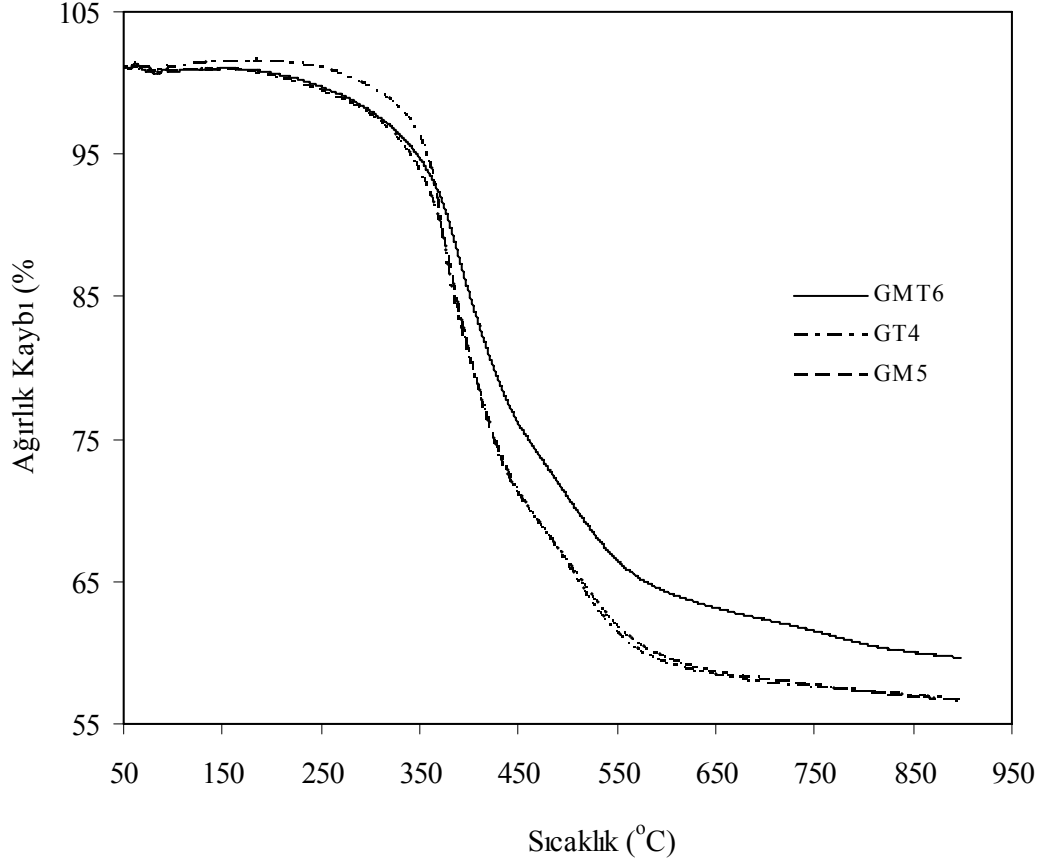


Şekil 4.1. Kaplama çözeltilerine ait FT-IR spektrumu.

4.3. TGA Analizleri

Modifiye elektrot hazırlanmasında kullanılan kaplama çözeltilerinden GT4, GM5 ve GMT6'ya ait termal analiz ölçümleri Şekil 4.2' de gösterilmiştir. Örnekler 60 °C' de etüvde kurutulup toz haline getirildikten sonra Ar atmosferinde, oda sıcaklığından 900 °C' ye kadar 5 °C/dak. hızla ısıtılmıştır. Şekilden görüldüğü gibi her üç örnekte benzer davranış göstermekle birlikte bazı küçük farklılıklar gözlenmektedir.

200 °C' ye kadar önemli bir kütle kaybı olmamıştır. Sıcaklık uygulandığı zaman silika nano partiküllerin yüzeyindeki silanol gruplar kendi aralarında siloksan bağlarını oluşturmak üzere kondense olurlar.



Şekil 4.2. Sol-jel filmlerin TGA grafiği.

Bu durumda nano porların kapanmasıyla sert bir yapı oluşur ve adsorplanmış olan su ve çözücü molekülleri porların içersinde kalır [113]. 200 °C' ye kadar kütle kaybının olmaması bu duruma bağlanabilir. Bu sıcaklıktan sonra matriks bozunmaya uğrayarak porların içersine hapsedilmiş su çıkmaya başlar. Örneklerin 200–350 °C arasındaki kütle kayıpları GT4 için %3.8, GM5 için %6.2 ve GMT6 için ise %5.3 olarak gerçekleşmiştir. Her üç örnek için 350–650 °C arasında önemli bir kütle kaybı olmuştur. Bu aralıktaki kayıp, oluşan inorganik-organik polimerik yapıda silika

matrikse bağı olan organik kısımların bozunması ve OH-silanol gruplarının dehidroksilasyonu sonucunda oluşan suyun uzaklaşması ile ilgilidir [39, 114–117]. 650 °C sonunda örnekler için gözlenen kütle kaybı değerleri GT4 ve GM5 için % 41.4, GMT6 için ise % 36.8 olarak bulunmuştur. 650 °C’ den sonra 900 °C’ ye kadar önemli bir kütle kaybı gözlenmemiştir ve bu sıcaklıkta örnekler için toplam ağırlık kaybı GT4 ve GM5 için % 43.3, GMT6 için de % 40.3 olarak gerçekleşmiştir. Organik kısımların yapıdan uzaklaşmasıyla tamamen silisyum oksit bir ağ yapı oluşmaktadır.

GMT6 örneğin diğer iki örneğe göre daha iyi bir termal kararlılığa sahip olduğu görülmüştür. Kaplama çözeltilerinin bileşimleri dikkate alındığında diğer iki örneğe karşın toplam hacim içersinde GMT6’ daki Si içeriği daha fazla olmaktadır. Toplam hacimde organik grupların azalması (CH₃ vb.) ve inorganik yapının zenginleşmesi (Si) malzemenin termal kararlılığının artmasını sağlar [39, 113, 117].

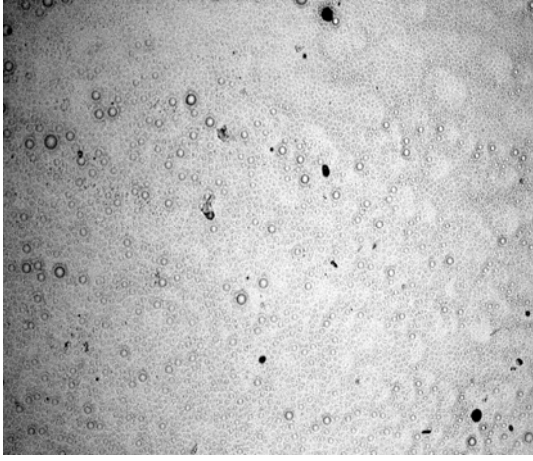
4.4. Kurutma Sıcaklığı ve Süresinin Belirlenmesi

Sol-jel modifiye elektrotların sensör davranışlarının elektrokimyasal olarak incelenmesine geçmeden önce kaplama çözeltilerinin elektrot yüzeyine damlatıldıktan sonra film oluşumu için uygun kurutma sıcaklığı ve süresinin tespit edilmesine yönelik çalışmalar yapıldı. Bu çalışmalarda Çizelge 3.1’ de gösterilmiş olan farklı bileşim ve oranlarda seyreltilmiş kaplama çözeltileri, platin elektrot yüzeyine damlatılarak oda sıcaklığı, 40, 50, 60 ve 70°C’ lerde kurutuldu. Sol-jel film çalışmalarında kurutma sıcaklığı oldukça önemlidir. Kurutmanın yapıldığı sıcaklığın iyi belirlenmemesi durumunda filmlerde çatlaklar meydana gelebilir ve filmler elektrot yüzeyinden düşebilir. Aynı zamanda sıcaklık oluşacak filmin gözenekliliğini de etkilemektedir. Bu yüzden öncelikle kurutma sıcaklığının filmleri nasıl etkilediği incelendi. Kaplama çözeltilerinden 5 µL elektrotların yüzeyine damlatılarak belirtilen sıcaklıklarda kuruması sağlandı. Kurutma sıcaklığının artmasıyla filmlerin kuruma sürelerinin kısaldığı belirlendi. Örneğin 60 ve 70 °C’ lerde 2–3 saat, 50 °C için 6 saat ve 40 °C kurutma sıcaklığı için ise 10 saatlik bir sürenin yeterli olduğu tespit edildi. Ancak yüksek sıcaklıklarda kurutulan filmlerde bazı olumsuzluklar gözlemlendi. Sol-jel prosesinin en büyük dezavantajı olarak bilinen büzülme problemi bu incelemelerde gözlemlenmiştir. Çözücünün hızlı buharlaşması sonucunda kalan katı kısmın bir araya toplanarak büzülmenin meydana geldiği, filmlerin yüzeyde homojen bir görüntü sergilemediği, çatlakların oluştuğu, büzülmelerden dolayı gözeneklerin tıklandığı ve kalın filmlerin oluştuğu belirlenmiştir. Filmlerin büzülmesi temelde çözeltilerde bulunan suyun buharlaşma hızına dayanır. Eğer su hızlı buharlaşırsa elektrot yüzeyindeki filmde çatlaklar meydana gelir ve buda filmin düşmesine sebep olur [49]. Kurutma sıcaklığının artmasıyla filmde oluşan büzülmeler artar böylece iç içe girmiş daha

yoğun bir film oluşur ve bunun sonucunda da gözenekler tıkanır [118]. Belirtilen sıcaklıklara ilave olarak 80 ve 90°C' ler de kurutmalar yapılmış, ancak bu kurutmalar cam yüzeylerde gerçekleştirilmiştir. Çeşitli kurutma sıcaklıklarında silisyum cam yüzeylerde oluşturulan bazı sol-jel filmlerin mikroskop görüntüleri Şekil 4.3, 4.4 ve 4.5' de gösterilmektedir. Bu şekillerden de görüleceği gibi düşük sıcaklıklarda nispeten gözenekler bulunurken yüksek sıcaklıklara çıkıldıkça gözenekler küçülmekte veya kaybolmaktadır. Mikroskop görüntüleri 10000 kat oranında büyütülmüş olarak verilmiştir.

Modifiye elektrotlarda modifiye edici ajanın ölçüm yapılan çözelti ortamında yüzeyden düşmesi önemli bir sorundur. Böyle bir durumun olup olmadığını gözlemek için değişik sıcaklıklarda kurutulmuş olan elektrotlar elektrolit çözeltisine (KCl) daldırıldı ve oda sıcaklığından daha yüksek sıcaklıklarda kurutulan filmlerin 10–15 dakika içerisinde elektrot yüzeyinden düştüğü gözlemlendi. Bu ve yukarıda ifade edilen olumsuzluklardan dolayı filmlerin kurutulması oda sıcaklığında gerçekleştirildi.

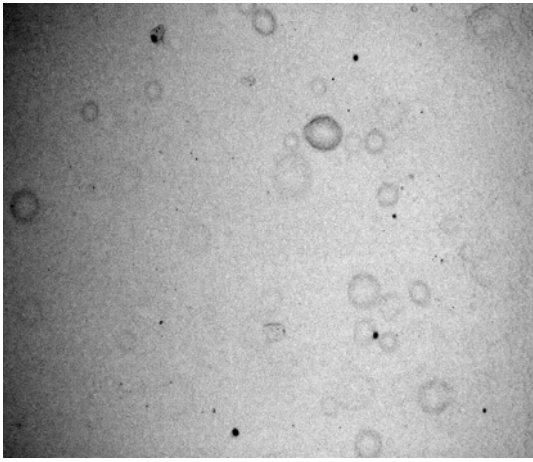
Oda koşullarında filmlerin kuruması için daha uzun süreler gerekmektedir. Bunun için en az 36–40 saatlik bir sürenin gerekli olduğu tespit edildi. Daha iyi bir kuruma sağlanması için kaplanmış elektrotlara 48 saatlik bir kurutma süresi uygulandı. Kurutma süresinin uzamasının filmler üzerinde olumlu etkisinin olduğu literatürde belirtilmektedir. Filmler ne kadar uzun süre ve ne kadar düşük sıcaklıklarda kurutulursa o kadar dayanıklı olmaktadır [119].



A



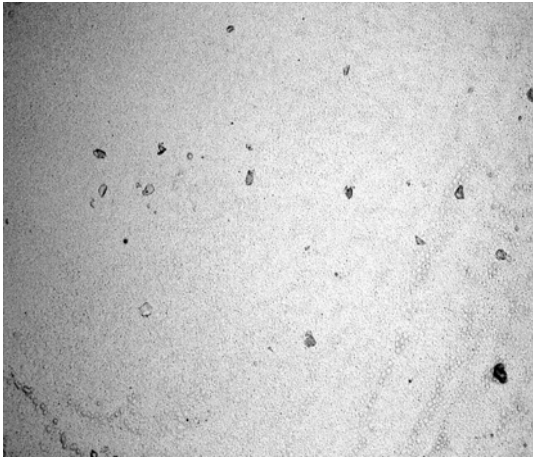
B



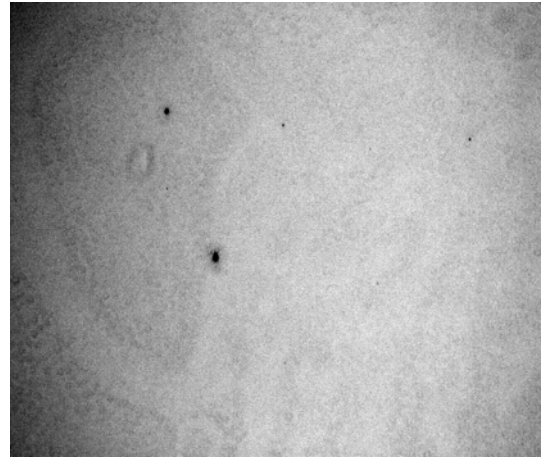
C



D

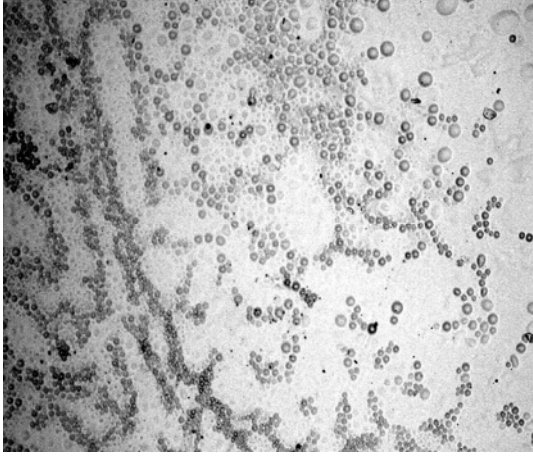


E

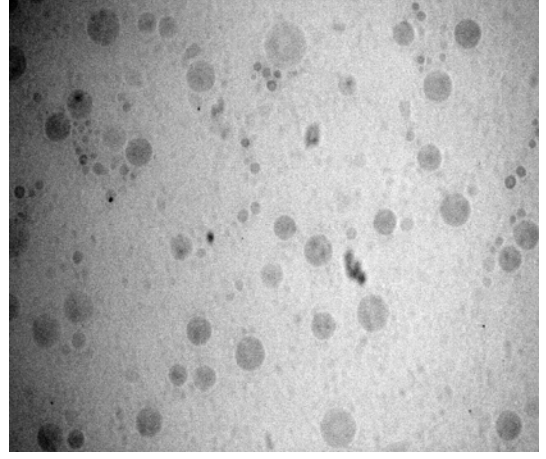


F

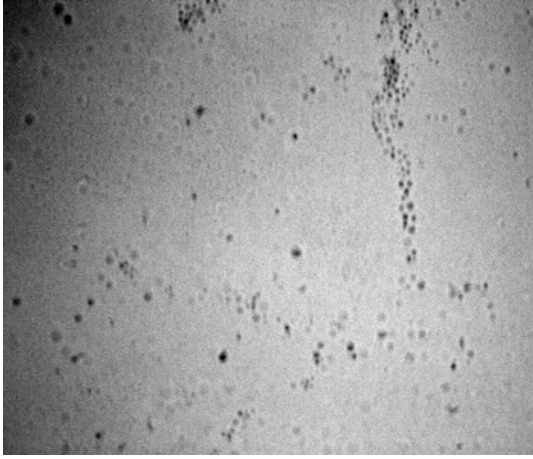
Şekil 4.3. GLYMO+MTEOS (GM5) içeren filmlerin çeşitli sıcaklıklarda kurutulmasıyla oluşan görüntüler (A=40, B=50, C=60, D=70, E=80, F=90 °C).



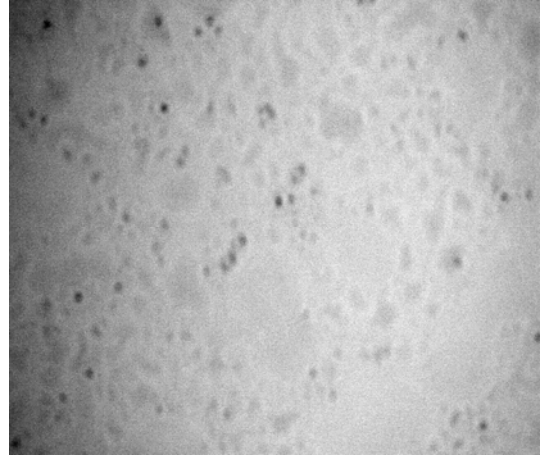
A



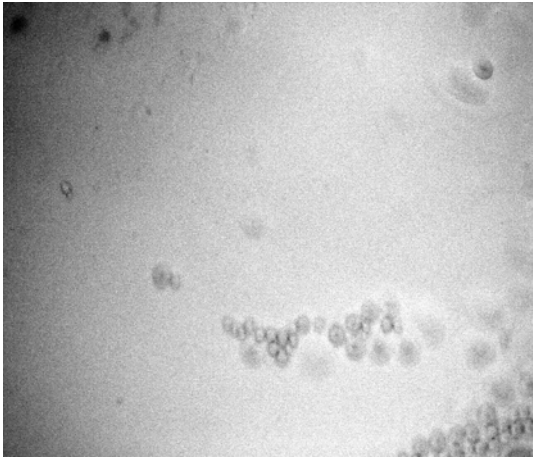
B



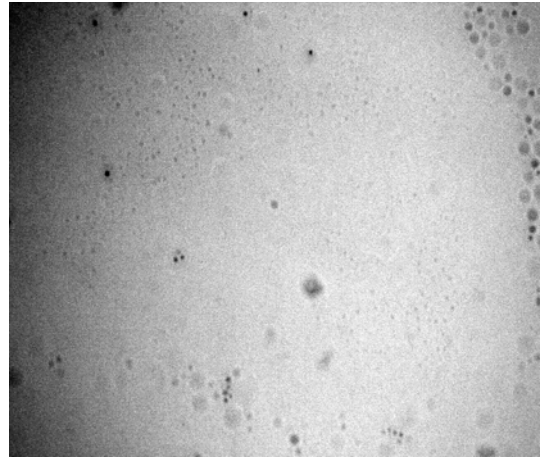
C



D

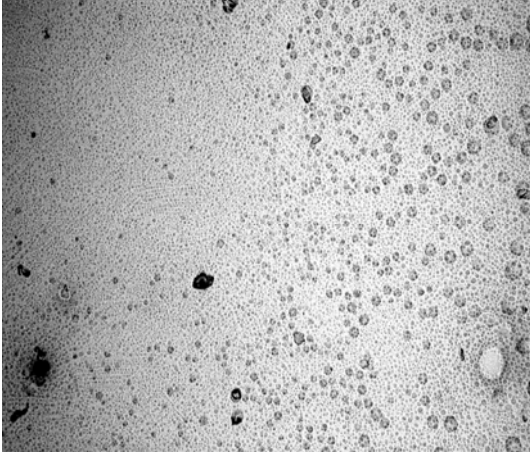


E



F

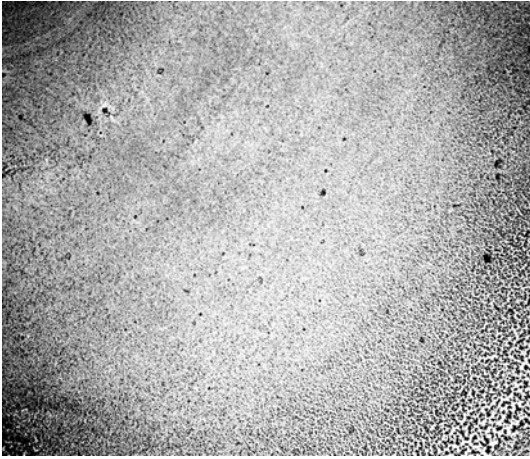
Şekil 4.4. GLYMO+TEOS (GT4) içeren filmlerin çeşitli sıcaklıklarda kurutulmasıyla oluşan görüntüler (A=40, B=50, C=60, D=70, E=80, F=90 ⁰C).



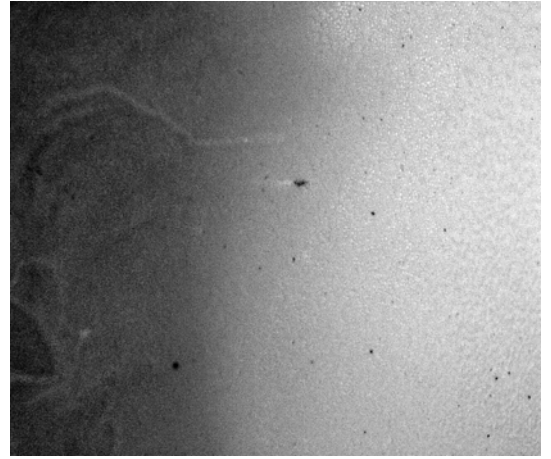
A



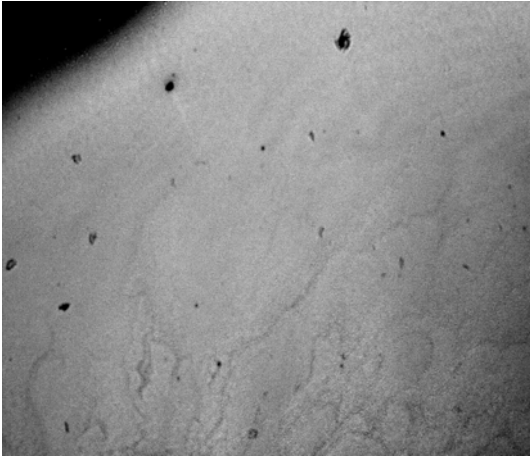
B



C



D



E



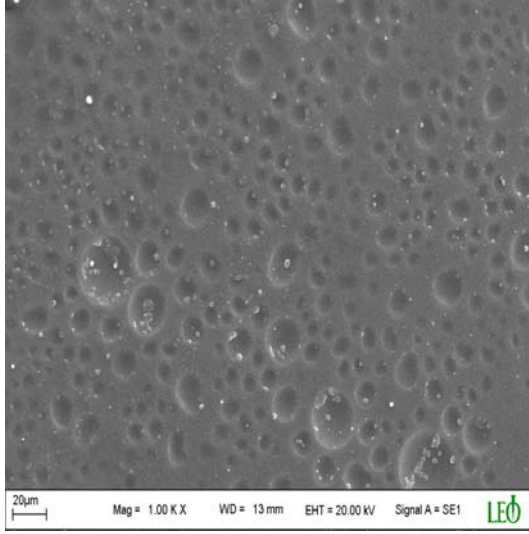
F

Şekil 4.5. GLYMO+MTEOS+TEOS (GMT6) içeren filmlerin çeşitli sıcaklıklarda kurutulmasıyla oluşan görüntüler (A=40, B=50, C=60, D=70, E=80, F=90 °C).

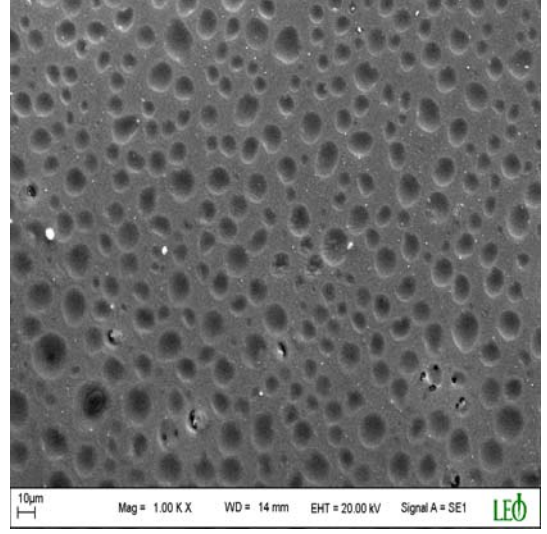
Oda sıcaklığında kurutulan filmlerde yapılan gözlemler şu şekildedir. GLYMO + MTEOS karışımlarından hazırlanan filmler kuruduğu zaman büzölmelerin seyreltme oranına bağılı olarak değıştiğı, daha seyreltik olan filmlerin elektrot yüzeyinde daha düzgün yayıldığı camsı bir görüntü sergilemektedir. Filmler uzun süre elektrolit ortamında bekletildiğinde düşmedikleri ve oldukça sağlam oldukları belirlendi.

GLYMO + TEOS karışımlarından hazırlanan filmlerin ise kurudukları zaman oldukça büzüldükleri, filmlerin daha yumuşak jelimsi bir yapı oluşturduğu tespit edildi. Bu filmlerin elektrolit ortamında uzun süre bekletilince düştükleri gözlemlendi.

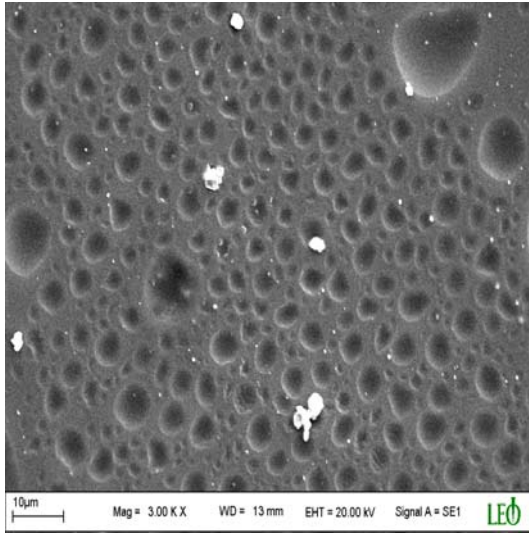
GLYMO + MTEOS + TEOS karışımlarından hazırlanan filmlerin hem GLYMO + MTEOS hem de GLYMO + TEOS karışımlarından hazırlanan filmlere göre daha iyi görünümde oldukları gözlemlendi. Homojen, saydam, yüzeye oldukça iyi yapışan, dayanıklı filmlerin oluştuğı, büzölmelerin olmadığı ve elektrolit ortamında filmlerin düşmediğı belirlendi. Oda sıcaklığında kurutulan filmlere ait SEM fotoğrafları Şekil 4.6' da görölmektedir.



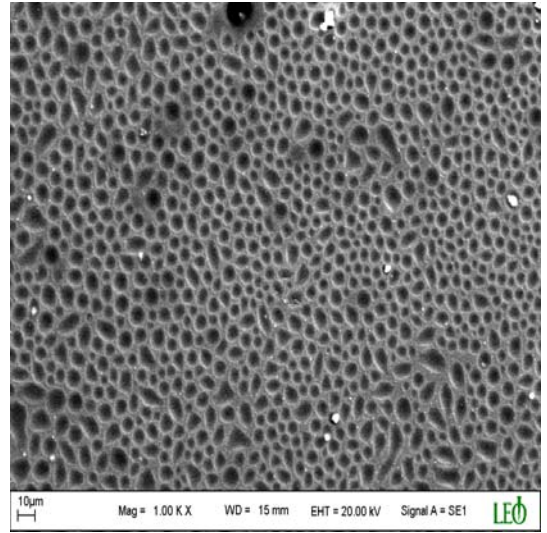
GLYMO



GM5



GT4



GMT6

Şekil 4.6. Oda sıcaklığında kurutulanan sol-jel filmlere ait SEM görüntüleri.

4.5. Sol Çözeltilerinin Seyreltme Oranının Belirlenmesi

Sol-jel prosesinde kondenzasyon reaksiyonları sonucunda birbiri içine girmiş yoğun bir jel yapı meydana gelir. Kaplama çözeltisi bu haliyle kullanılırsa kalın filmler oluşur, film yüzeye iyi tutunamaz ve yüzeyden düşer [36]. Sol-jel ince filmler alkolle seyreltilmiş sol çözeltileri kullanılarak hazırlanırlar. Bu şekilde hem solün viskozitesi azalır ve daha seyreltik bir çözelti oluşur, hem homojen bir çözelti elde edilir hem de filmin yüzeye yapışması iyileştirilmiş olur [120].

Literatür incelendiğinde, sol-jel film uygulamalarında değişik alkollerin kullanıldığı görülmektedir. Ancak bu çalışmalarda genellikle belirli miktarlarda alkol kullanılmış, neden bu miktarın alındığına dair bir bilgi ise verilmemiştir. Alkol miktarının sistematik olarak değiştirilmesinin oluşan filmleri nasıl etkilediğine yönelik bir çalışmaya rastlanmıştır. Bu çalışmada etil alkol kullanılmış ve kaplama çözeltisindeki alkol oranı % 15–60 arasında değiştirilmiş, % 60 alkol içeren filmlerin daha homojen olduğu belirlenmiştir [120]. Bunun yanı sıra çözelti hazırlanmasında kullanılan silan bileşiklerinin miktarı da oluşacak filmi yakından etkilemektedir. Bu, aynı zamanda çözeltinin seyreltilmesiyle ilgili bir durumdur. Sol çözeltisinde silan miktarının fazla olması, yani düşük seyreltmelerde, kalın filmler oluşur. Bu durumda yeterli gözenek elde edilemeyebilir ve örneğin, sensör uygulamalarında difüzyon zorlaşacağından yanıtlar küçülür veya hiç yanıt alınamayabilir. Sol çözeltisi seyreltik oldukça silan miktarı azalacağından daha ince, düzgün filmler oluşur [99].

Bu iki faktör aynı zamanda oluşacak filmin gözenekliliğini de önemli ölçüde etkiler. Çözücü molekülleri de kurutma basamağında su ile birlikte buharlaşarak yapıdan uzaklaşır ve gözenekliliği etkiler. Değişik alkollerin kullanılmasıyla hazırlanan sol-jel kuru filmlerin gözenekliliğinin incelendiği bir çalışmada alkolün

molekül büyüklüğünün artmasıyla filmlerin gözenek boyutunun da arttığı belirtilmiştir [121]. Çözücünün bir diğer önemli görevi de filmin kontrollü bir şekilde kurumasına yardımcı olmasıdır [110]. Bu, kullanılan alkolün kaynama noktasıyla ilişkilidir. Düşük kaynama noktasına sahip olan alkoller daha çabuk buharlaşacağından filmlerde büzölmeler fazla olabilir ve kalın filmler oluşabilir.

Deneylerde etil alkol (K.N=78.3 °C), n-propil alkol (K.N=97.2 °C), 2-butoksi etanol (K.N=171 °C) kullanılarak alkol türünün filmin kuruması üzerindeki etkisi incelendi. (Bu deneyler bütün sol-jel çözeltileri değil sadece bazı çözeltiler kullanılarak yapıldı). Aynı bileşime sahip olan çözeltiler, belirtilen üç farklı alkolle seyreltilerek kaplama çözeltileri hazırlandı ve elektrotlar kaplandı. Bu deneylerde etil alkol ve n-propil alkol kullanılarak hazırlanan çözeltiler damlatıldıktan 1–2 saat içinde büzölmenin olduğu film kuruduktan sonra ise kalın jelimsi bir yapının oluştuğu gözlemlendi. 2-butoksi etanolün kullanıldığı çözeltilerin ise daha uzun sürelerde kuruduğu ve büzölmelerin olmadığı düzgün filmler oluşturduğu gözlemlendi. Bu yüzden çalışmalarda 2-butoksi etanol kullanıldı. Bu denemelerde kurutma işlemi oda sıcaklığında gerçekleştirilmiştir. Çizelge 3.1’ de kullanılan alkolle hangi oranlarda seyreltildikleri gösterilmiştir. Bu parametrenin yanıtlar üzerindeki etkisi, sensör çalışmaları bölümünde verilen çizelgelerde görülebilir.

4.6. Sensör Çalışmaları

Hazırlanan modifiye elektrotların hidrojen peroksit ve dopamine karşı permselektif davranışları ve glikoz oksidaz enzim sensör olarak kullanılabilirliği incelendi. Bu çalışmalarda Çizelge 3.1’ de verilmiş olan çözeltiler kullanılarak öncelikle hidrojen peroksit çalışmaları yapıldı. Bu aşamada elde edilen bulgular dopamin ve enzim sensörü çalışmalarına temel oluşturmaktadır.

4.6.1. Hidrojen peroksit sensörü

Deneylerde interferans türlerin geçişinin engellendiği film kalınlığının belirlenmesi ilk ve en önemli basamağı oluşturur. Bunun için her bir kaplama çözeltisinden farklı miktarlarda alınan çözelti elektrot yüzeyine damlatılarak kurutulmuş ve askorbik asit ile okzalik asitin geçmediği film kalınlıkları tespit edilmiştir. Çizelge 4.1, 4.2 ve 4.3’ de her bir kaplama çözeltisi için deneysel bulgular topluca gösterilmiştir. Bu çizelgelerdeki her bir kaplama çözeltisi kısaltmalarla ifade edilmiştir: GM=GLYMO + MTEOS sistemini, GT=GLYMO + TEOS sistemini, GMT=GLYMO + MTEOS + TEOS sistemini ifade etmektedir. Bu kısaltmalara verilen numaralar her bir sistemdeki seyreltilmiş olan çözeltileri göstermektedir.

Her bir çizelgede koyu renkle gösterilmiş olan değerler interferans türlerin geçmediği film kalınlıkları olarak belirlenmiştir.

Çizelge 4.1. GLYMO + MTEOS karışımları için elde edilen akım yanıtları
(5 enjeksiyon sonunda 10 mM a karşılık gelen akım değişimleri).

GLYMO+MTEOS Miktarı (mL)	Seyreltme (mL/mL)	Damlatılan kaplama çözeltisi (μ L)	Askorbik asit ve Okzalik asit için toplam yanıt değişimi, (nA)	H ₂ O ₂ için akım değişimi Δi , (nA)
1 + 0.3	1/2 GM1	2	175.0	1015.0
		3	9.5	364.5
		4	0.0	219.6
		5	0.0	78.8
		6	0.0	24.4
	1/3 GM2	4	185.0	1065.0
		5	24.4	785.6
		6	0.0	319.5
		7	0.0	150.5
1 + 0.4	1/2 GM3	8	0.0	106.6
		1	34.0	347.0
		2	9.5	195.5
		3	0.0	175.0
		4	0.0	73.0
	1/3 GM4	5	0.0	39.1
		3	146	396.0
		4	27.2	323.8
		5	0.0	277.5
		6	0.0	140.7
	1/4 GM5	7	0.0	63.1
		4	102	918.0
		5	29.3	683.7
		6	0.0	460.1
		7	0.0	316.7
1 + 0.5	1/2 GM6	8	0.0	135.8
		1	14.3	366.7
		2	0.0	117.0
		3	0.0	38.7
	1/3 GM7	4	0.0	14.3
		1	63.2	727.8
		2	4.58	383.4
		3	0.0	184.7
		4	0.0	63.1.0
	1/4 GM8	5	0.0	29.2.0
		2	23.2	532.8
		3	14.3	405.7
		4	0.0	249.0
		5	0.0	204.6
		6	0.0	103.0

Çizelge 4.2. GLYMO + TEOS karışımları için elde edilen akım yanıtları
(5 enjeksiyon sonunda 10 mM a karşılık gelen akım değişimleri).

GLYMO+TEOS Miktarı (mL)	Seyreltme (mL/mL)	Damlatılan kaplama çözeltisi (μ L)	Askorbik asit ve Okzalik asit için toplam yanıt değişimi (nA)	H ₂ O ₂ için akım değişimi Δi , (nA)
1 + 0.3	1/2 GT1	1	24.1	1056.0
		2	0.0	653.0
		3	0.0	582.6
		4	0.0	342.0
	1/3 GT2	1	87.6	2272.4
		2	38.8	1141.2
		3	0.0	751.8
		4	0.0	634.3
		5	0.0	533.3
1 + 0.4	1/2 GT3	1	29	1121.0
		2	0.0	826.3
		3	0.0	634.0
		4	0.0	435.6
	1/3 GT4	2	112	2248.0
		3	44	1476.0
		4	0.0	876.4
		5	0.0	633.6
		6	0.0	631.3
1 + 0.5	1/2 GT5	1	77.8	1292.3
		2	29.3	903.7
		3	0.0	573.6
		4	0.0	303.0
		5	0.0	244.0
	1/3 GT6	2	83	1367.0
		3	82.7	1097.3
		4	0.0	735.4
		5	0.0	533.0
		6	0.0	488.0

Çizelge 4.3. GLYMO+MTEOS+TEOS karışımları için elde edilen akım yanıtları
(5 enjeksiyon sonunda 10 mM a karşılık gelen akım değişimleri).

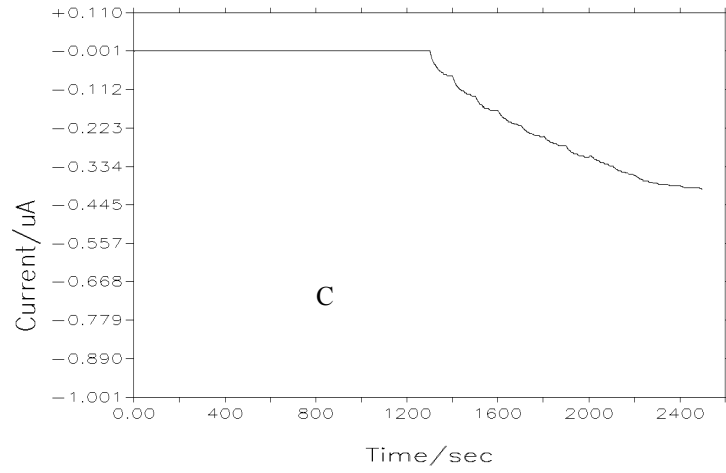
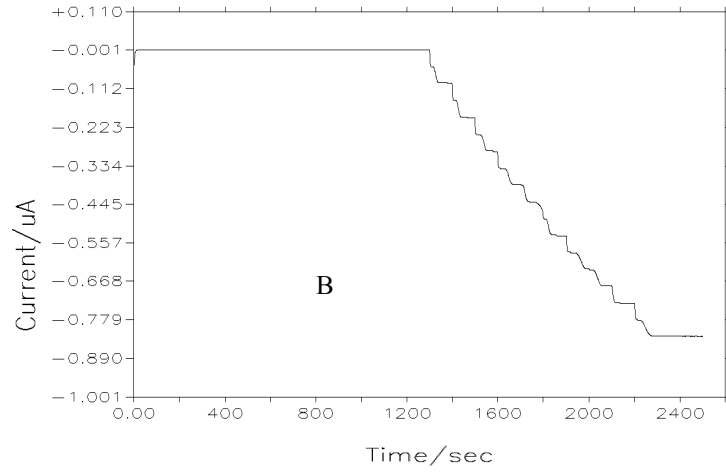
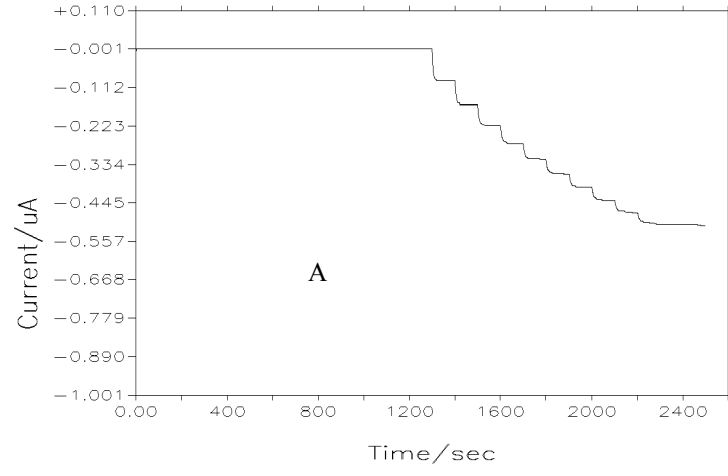
GLYMO+MTEOS+TEOS Miktarı (mL)	Seyreltme (mL/mL)	Damlatılan kaplama çözeltisi (μ L)	Askorbik asit ve Okzalik asit için toplam yanıt değişimi, (nA)	H ₂ O ₂ için akım değişimi Δi , (nA)
1 + 0.3 + 0.3	1/3 GMT1	8	83.3	1156.7
		9	19.2	688.8
		10	0.0	450.3
		11	0.0	297.5
		12	0.0	194.6
1 + 0.3 + 0.4	1/3 GMT2	7	92.5	1687.5
		8	36.0	687.0
		9	0.0	418.6
		10	0.0	322.0
		11	0.0	254.0
1 + 0.3 + 0.5	1/3 GMT3	5	161	1810.0
		6	62.6	1087.4
		7	0.0	507.2
		8	0.0	360.4
		9	0.0	303.5
1 + 0.4 + 0.2	1/3 GMT4	4	58.6	1031.4
		5	20.1	742.0
		6	0.0	473.0
		7	0.0	311.5
		8	0.0	238.6
1 + 0.4 + 0.3	1/3 GMT5	4	102	1248
		5	29.6	937.4
		6	0.0	497.6
		7	0.0	342.4
		8	0.0	251.8
1 + 0.4 + 0.4	1/3 GMT6	4	430	1330
		5	117	1223
		6	47	983.0
		7	0.0	683.0
		8	0.0	464.2
1 + 0.5 + 0.1	1/3 GMT7	9	0.0	385
		3	38.8	786.2
		4	24.1	550.0
		5	0.0	355.4
		6	0.0	292.5
1 + 0.5 + 0.2	1/3 GMT8	7	0.0	205
		5	63.5	747.5
		6	51.6	534.4
		7	0.0	365.4
		8	0.0	283.0
1 + 0.5 + 0.3	1/3 GMT9	6	259	1371.0
		7	29.0	771.0
		8	0.0	400.0
		9	0.0	346.8
		10	0.0	239.0

Çizelge 4.1. GLYMO + MTEOS karışımları için elde edilen deneysel sonuçları göstermektedir. Bu tablo incelendiği zaman bütün kaplama çözeltileri için elektrot yüzeyine damlatılan miktarlar arttıkça, alınan akım yanıtı değerlerinde azalma olduğu görülmektedir. Yine bu çizelgedeki verilerden çıkarılabilecek iki önemli sonuç şunlardır: Birincisi, askorbik asit ve okzalik asit için yanıt alınmayan film kalınlıkları farklı olmakla birlikte, aynı seyrelme oranları dikkate alındığında karışımdaki MTEOS miktarının artmasıyla akımların azaldığı görülmektedir. Bu durum, birim hacimdeki madde miktarının artmasıyla, yani daha yoğun bir çözeltinin oluşması sonucunda gözeneklerin azalması veya daha sık gözenekli bir yapının oluşmasına bağlanabilir. İkincisi, her bir grup kaplama çözeltisi kendi içerisinde değerlendirildiğinde seyrelmenin artmasıyla film kalınlığının artmasına rağmen yanıtların büyümesidir. Bu durum yukarıda ifade edilen durumun tersi olarak düşünülebilir. Bununla birlikte, kaplamalar yapıldığında seyrelmenin artmasıyla oluşan filmlerin daha homojen oldukları gözlenmiştir. Bu çizelgeden çıkarılacak bir başka sonuç GLYMO + MTEOS oranının 1 + 0.5 (GM6, GM7 ve GM8 çözeltileri) olduğu durumda alınan yanıtların en düşük olduğudur. Yukarıda ifade edildiği gibi çözelti içerisinde silan miktarının artması ve seyrelmenin az olması durumunda yoğun bir filmin oluşması ile izah edilebilir. Her ne kadar hacimsel olarak damlatılan çözelti miktarı az olsa da kurumadan sonra kalan katı filmin yoğun bir yapı oluşturmasıyla difüzyon zorlaşır ve akımlar küçülür.

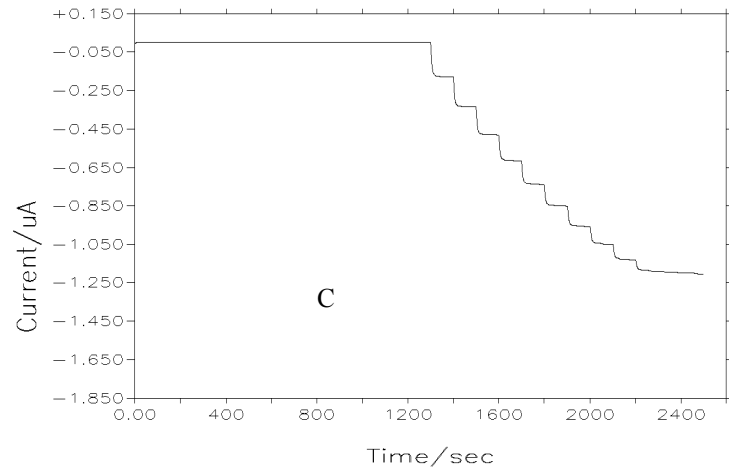
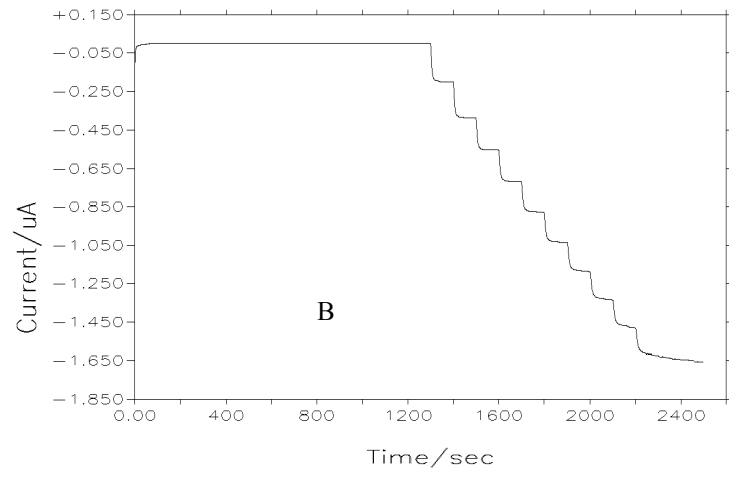
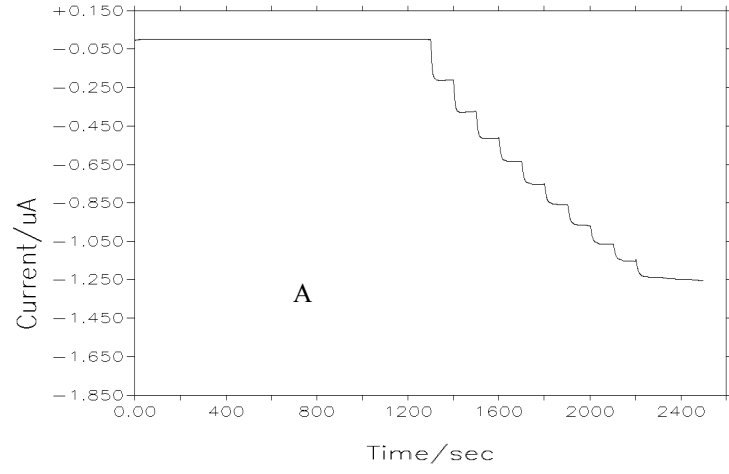
Çizelge 4.2' deki sonuçlar GLYMO + TEOS karışımları için elde edilen deneysel verileri göstermektedir. Bu çizelge incelendiği zaman MTEOS içeren çözeltilerden elde edilen sonuçlara benzer bir durumun olduğu görülmektedir. Çözeltiler elektrot yüzeyine ilk damlatıldıkları zaman çok düzgün olarak yayılmış ancak kuruduktan sonra oldukça büzüldükleri ve gözle görülür bir şekilde kalın filmlerin oluştuğu tespit edilmiştir. Çizelge incelendiği zaman 1/4 seyrelme oranında

sonuçların verilmediği görülmektedir. Bunun sebebi, bu oranda hazırlanan kaplama çözeltileri elektrot yüzeyine damlatıldığında çözeltilerin elektrodun yüzeyinden kenarlara doğru döküldüğünün gözlenmiş olmasıdır. Bu durumda oluşacak kuru filmlerin kalınlığı doğru sonucu yansıtmayacağı için bu orandaki çözeltiler kullanılmamıştır. Bu şekilde olan bazı kaplanmış elektrotlarla ölçümler yapılmış ancak tutarsız sonuçlar alınmıştır. TEOS içeren filmlerden alınan yanıtların MTEOS içeren filmlerden alınan yanıtlardan daha büyük olduğu görülmektedir. Ayrıca TEOS içeren filmlerle alınan amperometrik yanıt grafikleri incelendiğinde MTEOS filmlere göre daha düzenli yanıtların alındığı görülmüştür. Ancak daha önce de değinildiği gibi TEOS filmlerin yüzeyden düşmesinden dolayı bu filmlerin kullanılması dezavantajdır.

Şekil 4.7’ de MTEOS ve Şekil 4.8’ de TEOS içeren filmlerden girişim yapıcı türlerin geçmediği film kalınlıklarında amperometrik akım yanıtları görülmektedir. Bu şekillerde, her bir enjeksiyon yaklaşık 2 mM olmak üzere 500, 600 ve 700. saniyelerde askorbik asit 900, 1000 ve 1100. saniyelerde okzalik asit ve 1300. saniyeden itibaren ise hidrojen peroksit enjeksiyonları (10 enjeksiyon) yapılmıştır. Şekil 4.7 ve 4.8 farklı miktarlarda MTEOS ve TEOS içeren çözeltilerden en yüksek yanıtların alındığı filmler için verilmiştir.



Şekil 4.7. A=GM2, B=GM5 ve C=GM8 çözeltilerinden oluşan filmlerin hidrojen peroksit enjeksiyonlarına verdikleri amperometrik yanıtlar.



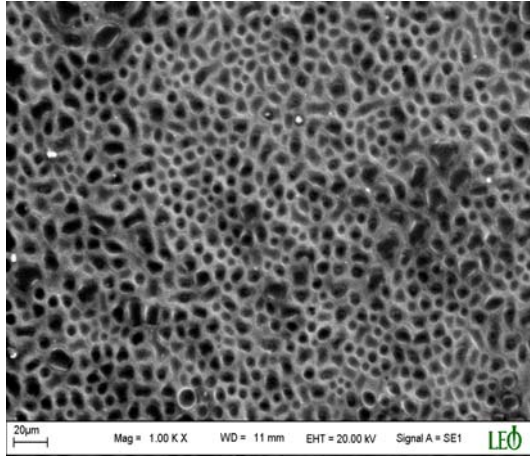
Şekil 4.8. A=GT2, B=GT4 ve C=GT6 çözeltilerinden oluşan filmlerin hidrojen peroksit enjeksiyonlarına verdikleri amperometrik yanıtlar.

GLYMO + MTEOS (GM) ve GLYMO + TEOS (GT) karışımları değerlendirildiği zaman, GM filmlerde yanıtlar GT filmlere nazaran oldukça düşüktür ve GT filmler elektrot yüzeyine iyi yapışmamaktadır. Bu sebeple, üç silan bileşiğini içeren bir kaplama çözeltisinin daha iyi sonuçlar verebileceği, filmlerin daha kararlı ve homojen olabileceği, gözenekliliğin daha iyi kontrol edilebileceği gibi düşüncelerle, GMT çözeltileri hazırlanarak elektrotlar kaplanmış ve benzer deneyler yapılmıştır.

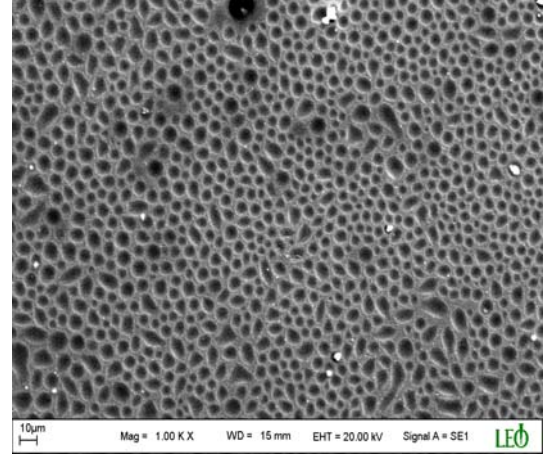
GLYMO + MTEOS + TEOS içeren filmlerden alınan sonuçlar Çizelge 4.3' de gösterilmiştir. Bu tablodan da görüldüğü gibi 1/2 ve 1/4 seyreltme oranları incelenmemiştir. Bu oranlara ilişkin yapılan denemelerde 1/2 seyreltme oranında bütün çözelti durumları için olmamakla birlikte büzülmeler ve nispeten kalın filmlerin oluştuğu gözlenmiştir. 1/4 oranında ise çözeltinin elektrot kenarlarına dökülmesinden dolayı istenen kalınlıkta filmler oluşturulamayacağı için, bu iki orana ilişkin deneyler yapılmamıştır. 1/3 oranında yapılan deneylerde ise filmlerin kuruduktan sonra yüzeye çok iyi yayıldığı, büzülmelerin, kırılmaların olmadığı ve oldukça şeffaf bir görünüme sahip oldukları gözlenmiştir. Elektrot yüzeyine damlatılan çözelti miktarı fazla olmasına rağmen oldukça ince filmler hazırlanabilmiştir.

Çizelge 4.3 incelendiğinde, MTEOS miktarı sabit tutulup TEOS miktarı artırıldıkça genel olarak yanıtların büyüdüğü görülmektedir. Yine bu tablodan GMT1, GMT2 ve GMT3 karışımlarında TEOS miktarının artmasıyla interferantların geçmediği ve film kalınlığının azaldığı; GMT4, GMT5 ve GMT6 karışımlarında TEOS miktarı artmasına rağmen film kalınlığında önemli bir değişimin olmadığı ve yanıtların büyüdüğü; GMT7, GMT8 ve GMT9 karışımlarında ise TEOS miktarının artmasıyla interferantların geçmediği ve film kalınlığının tekrar artmaya başladığı, yanıtlarda ise çok önemli bir değişimin olmadığı gözlenmektedir. Bu sonuç, kaplama çözeltisini oluşturan bileşenlerin miktarının oluşan filmin gözenekliliğini etkilediğini

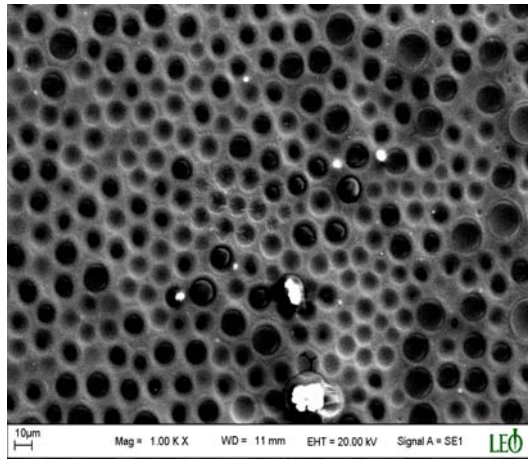
göstermektedir. Şekil 4.9’ da farklı oranlardaki bazı GMT çözeltileri için SEM görüntüsü verilmiştir.



GMT3



GMT6



GMT7

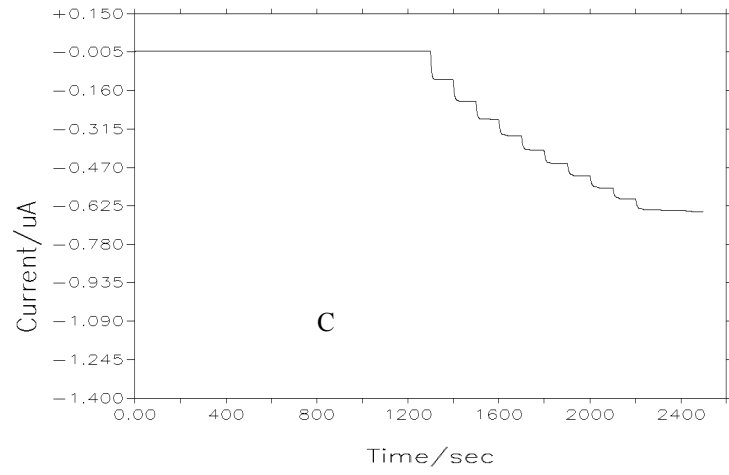
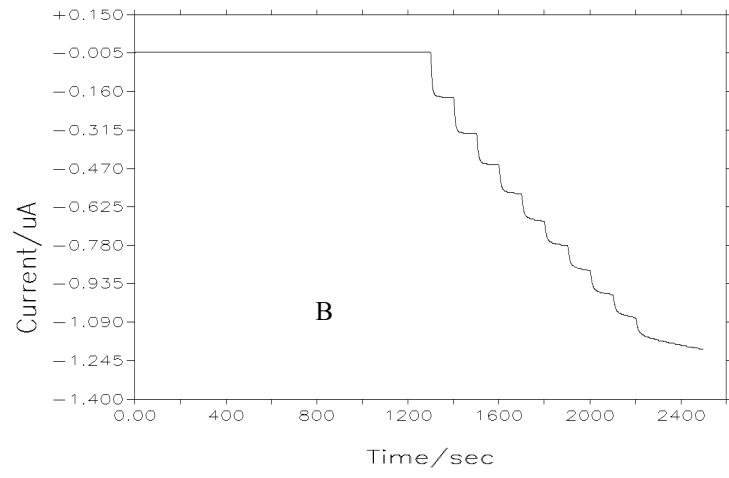
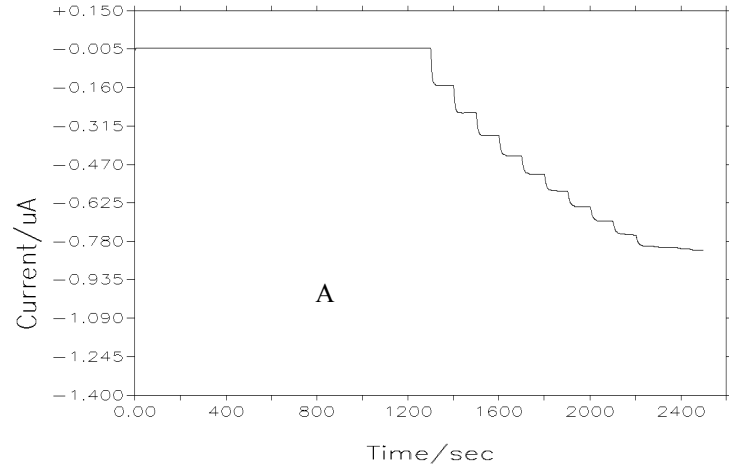
Şekil 4.9. Farklı bileşimlerdeki bazı GMT filmlere ait SEM görüntüsü

Şekil 4.9’ dan görüldüğü gibi karışım içersindeki TEOS miktarının artmasıyla gözeneklerin şeklinde değişiklikler meydana gelmektedir.

Şekil 4.10’ da GMT3, GMT6 ve GMT9 kaplama çözeltilerinden hazırlanan ve interferans yapıcı türlerin geçmediği film kalınlıklarında hidrojen peroksit

enjeksiyonlarına karşı alınan amperometrik yanıtlar görülmektedir. Bu şekillerde, her bir enjeksiyon 2 mM olmak üzere 500, 600 ve 700. saniyelerde askorbik asit 900, 1000 ve 1100. saniyelerde okzalik asit ve 1300. saniyeden itibaren hidrojen peroksit enjeksiyonları (10 enjeksiyon) yapılmıştır.

Sol-jel çalışmalarında çokça kullanılan bir çıkış maddesi olan TEOS'un hidroliz ve kondenzasyonu sonucunda saf silika inorganik bir ağ oluşur. TEOS tetrafonksiyonel bir silan bileşiği olup dört grubundan birbirine bağlanmış bir yapı oluşturur. Bu yapıda oluşan boşluklar gözenekliliği sağlar. Silika ağ lineer veya düzenli olarak dallanmış inorganik polimer yapıları oluşturur ve dallanmalar jelleşmeyi sağlar. MTEOS küçük bir organik grup (metil) taşıyan organo trifonksiyonel bir çıkış maddesidir. Trifonksiyonel bir silisyum alkoksit çapraz bağlayıcı bir ajan olarak davranır ve dallanmış bir ağ oluşturur. Silisyuma bağlı olan metil grubu hidroliz esnasında bu reaksiyona katılmaz. GLYMO organofonksiyonel trialkoksi silan bileşiğidir. Yapısında bulunan organik grup MTEOS la mukayese edildiği zaman daha uzundur ve bu grup organik polimerizasyon gerçekleştirebilir, çapraz bağlı bir yapı oluşturabilir. GLYMO' nun bu tip filmlerdeki temel görevi filmin matrikse daha iyi yapışmasını sağlamaktır.



Şekil 4.10. A=GMT3, B=GMT6 ve C=GMT9 çözeltilerinden oluşan filmlerin hidrojen peroksit enjeksiyonlarına verdikleri amperometrik yanıtlar.

Mekanik performansı daha iyi olan filmler hidrolizlenmeyen organik gruplar içeren çıkış maddeleri kullanılarak oluşturulabilir. GLYMO ve MTEOS bu amaç için kullanılabilir [30]. Reaktif olmayan organik gruplar sol-jel reaksiyonlarına katılmazlar ve oluşan silika ağına içerisine girerler. Organik ve inorganik kısımların ağ içersindeki etkileşimleri sonucunda mikroyapısal değişimler meydana gelir ve bu değişimler yapının esneklik, yoğunluk ve optik özelliklerini değiştirir [110]. Bu etkileşimler yapının gözenekliliğinin değişmesine de sebep olurlar. Hidrolizlenmeyen organik gruplar içeren silanlarda bu gruplar sol-jel reaksiyonlarıyla oluşan jel ağ yapının içine girmeye ve orayı doldurmaya çalışırlar. Böylece hem daha sıkı bir yapı ortaya çıkmış olur hem de porların açıkta kalan yüzeylerine yerleşmek suretiyle mikro kanalları doldururlar. Sonuçta gözenek boyutunun değişmesine sebep olurlar [30, 110]. GLYMO' nun glisidoksipropil organik zinciri uzundur ve silika ağdaki porları doldurmaya yetecek kadar esnektir. Eğer boşluklara girerse kompakt bir yapı oluşur [110]. Bununla birlikte bu gruptaki epoksi fonksiyonel grubu asidik ortamda açılarak bir diol oluşur ve bunların reaktif olmasından dolayı kondenzasyon reaksiyonlarına katılabilirler, böylece sistemin kondenzasyonunun tamamlanmasına yardımcı olabilirler.

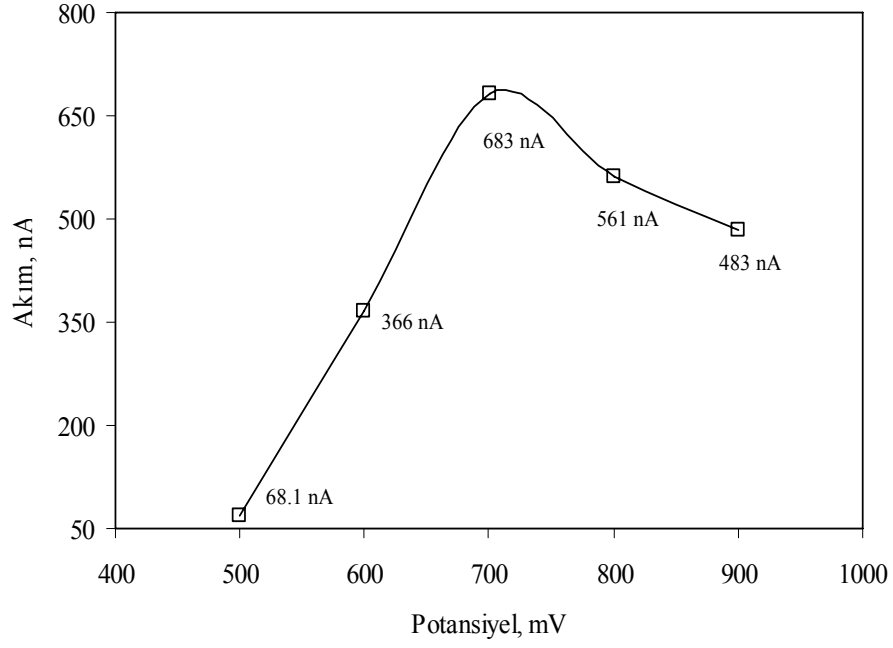
GLYMO + TEOS durumunda, silika ağ içine girebilecek gruplar uzun organik gruplardır. Bu, yapıya bir miktar esneklik kazandırır. Dolayısıyla hibrit ağdaki organik zincirlerin daha fazla moleküler hareketlilik sağlamasıyla daha gözenekli bir yapının oluşması muhtemeldir ve bu da TEOS içeren filmlerde yanıtların büyük olmasında etkili olabilir. Ayrıca bu filmlerde kuruma esnasında büzölmelerin fazla olması geniş bir boşluğun bulunmasından kaynaklanabilir.

GLYMO + MTEOS durumunda, silika ağ içersine ayrıca metil grupları girer. Bu sistemde her iki bileşikte trifonksiyoneldir ve bu tip çıkış maddelerinin çapraz bağlayıcı oldukları bilinmektedir. Dolayısıyla bu sistemde çapraz bağlanma derecesinin artması ve ayrıca mikro kanallara metil gruplarının da girebilme ihtimali göz önüne alınırsa daha dar yapıda veya daha az sayıda gözenekli bir yapının oluşması muhtemeldir. Buna bağlı olarak da yanıtlardaki azalmalar normal bir sonuçtur.

GLYMO + MTEOS + TEOS durumunda, karışım içine TEOS ilavesi silika ağda gözenekliliğin değişmesine sebep olabilir. Bu sistem için elde edilen yanıtlar GLYMO + MTEOS sisteminden alınan yanıtlardan daha büyük ve daha düzenlidir. GLYMO + MTEOS karışımına belli miktarlarda TEOS ilavesiyle çözelti içersinde organik grupların gözenekler üzerindeki olumsuz etkisinde bir azalma söz konusu olabilir. Böylece gözeneklilikte bir artış meydana gelebilir ki bu da, yanıtların büyümesini sağlayabilir.

Deneylerde kullanılan çözeltiler içersinde GLYMO + MTEOS + TEOS karışımından hazırlanan GMT6 çözeltileri kullanılarak elektrokimyasal deney parametrelerinin hidrojen peroksit yanıtlarını nasıl etkilediğine yönelik çalışmalar yapıldı. Bu çalışmalarda potansiyel, elektrolit tür ve derişimi, çözelti pH'sı, gibi parametrelerin yanı sıra interferans türlerin olduğu ve olmadığı durumlar için de deneyler yapılmıştır.

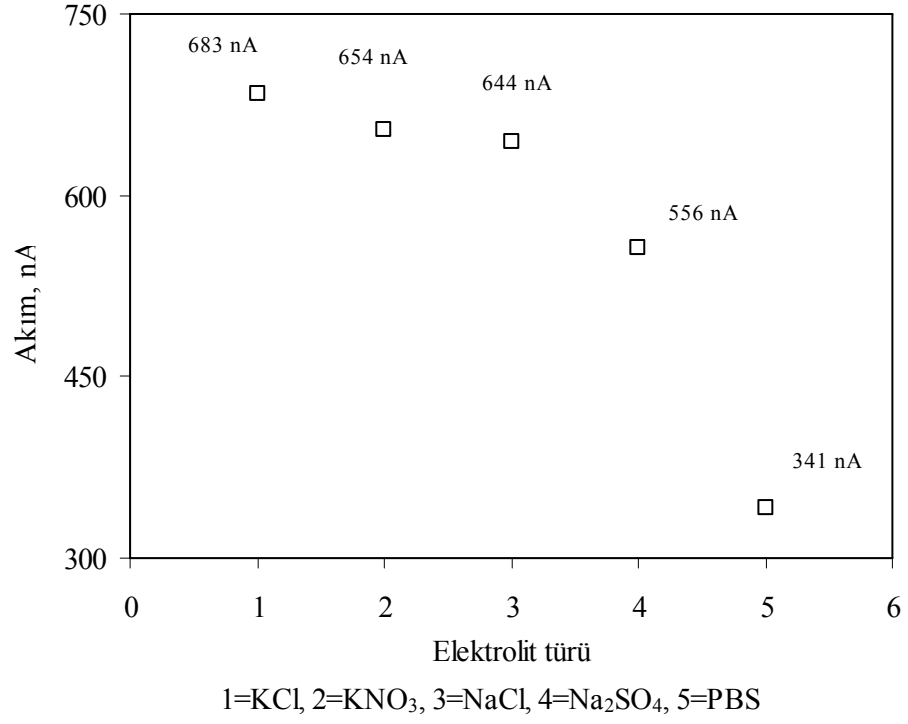
Toplam olarak 10 mM hidrojen peroksit enjeksiyonuna karşılık uygulanan potansiyelin hidrojen peroksit yanıtları üzerine olan etkisi Şekil 4.11' de verilmiştir. 500–900 mV arasında değişen potansiyellerde, şekilden görüleceği üzere en yüksek akım yanıtları 700 mV da alınmıştır. Bundan dolayı yapılan diğer deneyler 700 mV potansiyelde yapılmıştır.



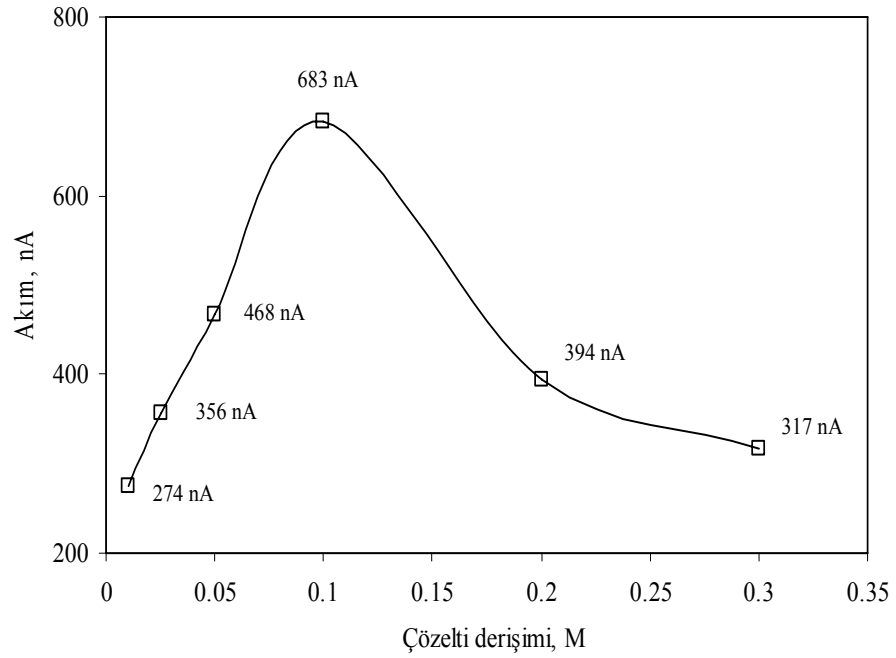
Şekil 4.11. Hidrojen peroksit yanıtları üzerine potansiyel etkisi

Yanıtlar üzerine elektrolit türünün etkisi, derişimleri 0.1 M olan KCl, Na₂SO₄, NaCl, KNO₃ ve pH'sı 7 olan PBS tampon çözeltileri kullanılarak 700 mV çalışma potansiyelinde incelendi. Şekil 4.12' de gösterilen akım değerleri 10 mM hidrojen peroksit derişimine karşılık gelmektedir. Şekil 4.12' den görüleceği üzere en yüksek yanıtlar 0.1 M KCl çözeltisi ile elde edilmiştir.

Çeşitli derişimlerde KCl çözeltileri kullanılarak hidrojen peroksin amperometrik yanıtları üzerine elektrolit derişiminin etkisi incelendi. Bu deneylerde 0.01–0.3 M arasında değişen konsantrasyonlarda potasyum klorür çözeltileri kullanıldı. Şekil 4.13' den görüldüğü gibi en yüksek değer 0.1 M KCl çözeltisi ile yapılan deneylerden elde edilmiştir.



Şekil 4.12. Hidrojen peroksit yanıtları üzerine elektrolit türünün etkisi

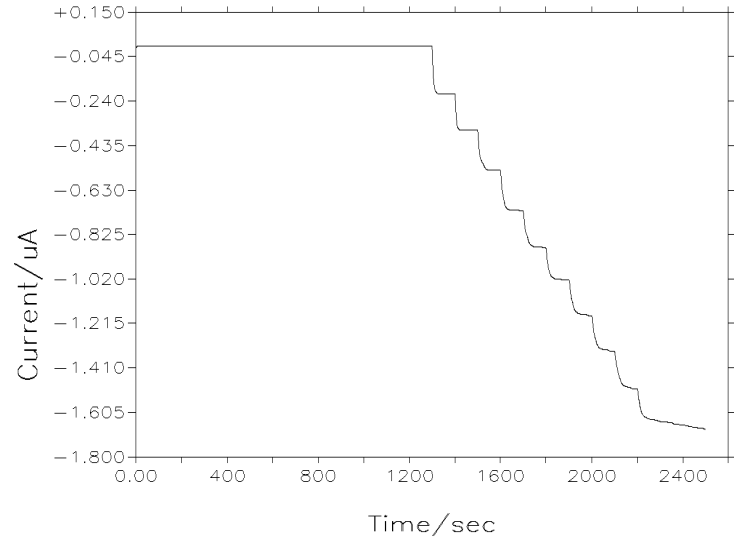


Şekil 4.13. Hidrojen peroksit yanıtları üzerine KCl derişiminin etkisi

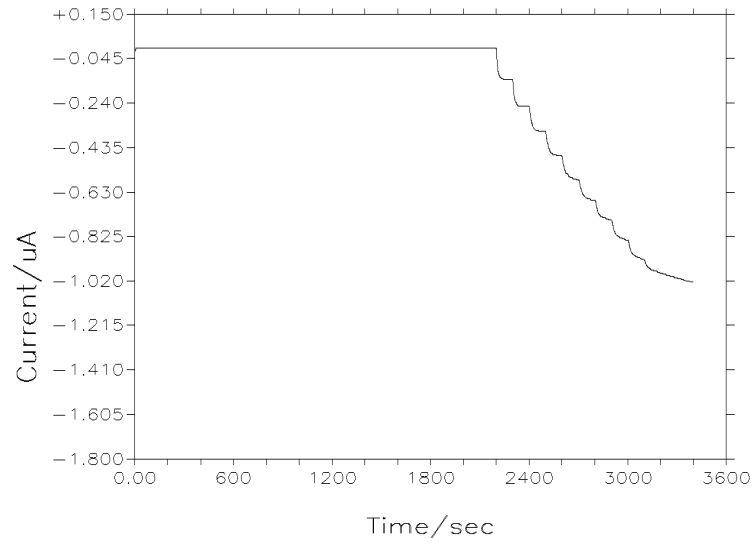
Hidrojen peroksit yanıtları üzerine ortamda bulunabilecek interferans yapıcı türlerin etkisini incelemek üzere iki tür deney yapılmıştır. Birinci deneyde, ortamda hiçbir interferans yapıcı tür yok iken hidrojen peroksit yanıtları izlenmiştir. Hidrojen peroksidin 1300. saniyeden itibaren her biri 2 mM olacak şekilde 10 enjeksiyonu yapılmıştır. Bu deney Şekil 4.14' de gösterilmiştir. İkinci deneyde ise, her biri 2 mM olmak üzere 500, 600 ve 700. saniyelerde askorbik asit, 900, 1000 ve 1100. saniyelerde okzalik asit, 1300 ve 1400. saniyelerde laktoz, 1600 ve 1700. saniyelerde süktroz, 1900 ve 2000. saniyelerde üre ve 2200. saniyeden itibaren 10 kez olmak üzere hidrojen peroksit enjeksiyonları yapılmıştır. Bu deneye ait grafik Şekil 4.15' de verilmiştir. Bu şekilden görüleceği gibi herhangi bir interferans yapıcı türe karşı yanıt alınmamış hidrojen peroksit karşı ise yanıtlar alınmıştır. Şekil 4.14 ve 4.15 kıyaslandığında interferantların varlığında hidrojen peroksit alanan yanıtlarda azalma görülmüştür. Ortamda çok sayıda değişik türden interferantların bulunması her ne kadar hidrojen peroksit sinyali girişim etkisi yapmamış olsa da, peroksit moleküllerinin hareketini engelleyici yönde bir etki gösterebilir ve yanıtların küçülmesine sebep olabilir.

Şekil 4.10-B de sadece askorbik asit ve okzalik asit türleri bulunmaktadır. Şekil 4.10-B ve Şekil 4.14 kıyaslandığında, Şekil 4.15' deki yanıtların azalmasında askorbik asit ve okzalik asitten başka diğer interferans yapıcı türlerin etkileri kolaylıkla görülebilir.

Buraya kadar yapılmış olan deneylerin sonucunda kaplama çözeltisinin bileşiminin sensör yanıtları üzerinde önemli bir etkiye sahip olduğu görülmektedir. Bundan sonraki deneylerde yukarıda ifade edilen durumların ışığında hazırlanan elektrotların askorbik asit varlığında dopamin sensörü olarak kullanılıp kullanılmayacağı incelenmiştir.



Şekil 4.14. İnterferant türlerin yokluğunda hidrojen peroksida karşı alınan yanıtlar.



Şekil 4.15. Çeşitli interferantların varlığında hidrojen peroksida karşı alınan yanıtlar.

4.6.2. Dopamin sensörü

Çalışmanın bu bölümünde, hidrojen peroksit deneylerinde askorbik asit geçişinin engellendiği film kalınlıkları kullanılarak dopamin sensör için deneyler yapılmıştır. Çizelge 4.4’ de dopamin için elde edilen akım yanıtlarının değerleri her bir kaplama çözeltisi için gösterilmiştir.

Çizelge 4.4. Askorbik asidin geçmediği film kalınlıklarında toplam 10 mM dopamin için yanıtlar

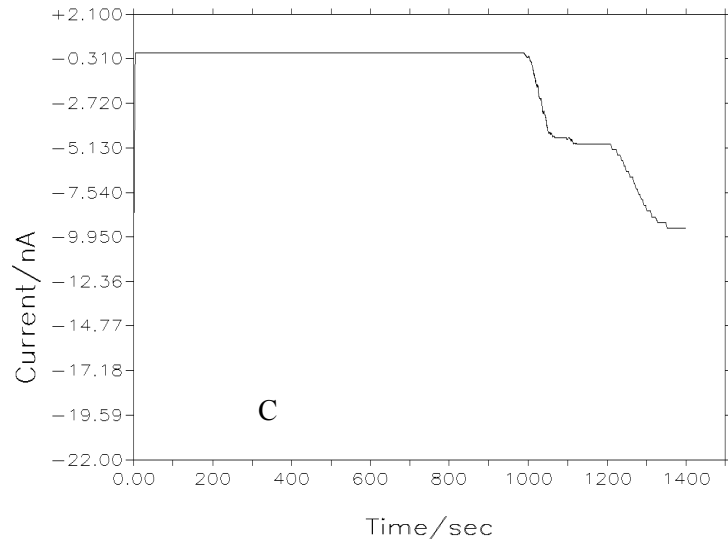
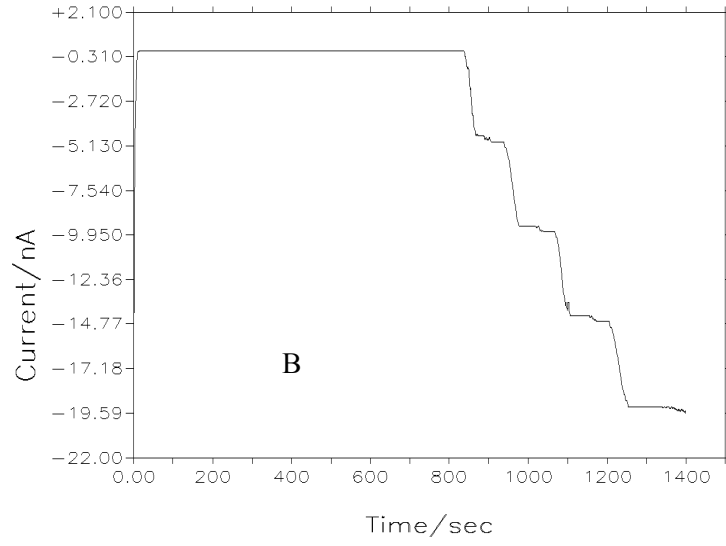
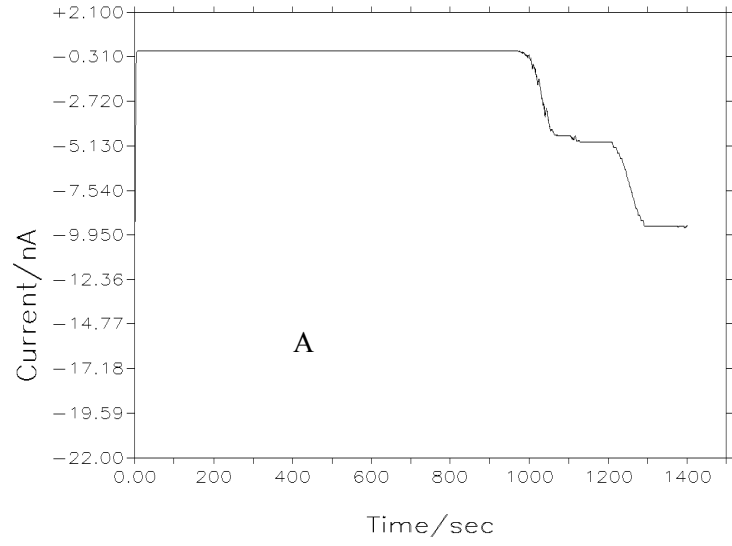
Karışım	Miktar (mL)	Seyreltme (mL/mL)	Damlatılan kaplama çözeltisi, (μL)	Akım Değişimi Δi, nA
GLYMO + MTEOS	1 + 0.3	1/2	4	4.6
	1 + 0.3	1/3	6	4.8
	1 + 0.4	1/2	3	0.0
	1 + 0.4	1/3	5	4.8
	1 + 0.4	1/4	6	14.6
	1 + 0.5	1/2	2	0.00
	1 + 0.5	1/3	3	0.00
	1 + 0.5	1/4	4	4.8
GLYMO + TEOS	1 + 0.3	1/2	2	19.2
	1 + 0.3	1/3	3	19.2
	1 + 0.4	1/2	2	23.5
	1 + 0.4	1/3	4	24.1
	1 + 0.5	1/2	3	6.4
	1 + 0.5	1/3	4	19.2
GLYMO + MTEOS +TEOS	1 + 0.3 + 0.3	1/3	10	29.3
	1 + 0.3 + 0.4	1/3	9	24.1
	1 + 0.3 + 0.5	1/3	7	33.9
	1 + 0.4 + 0.2	1/3	6	29.6
	1 + 0.4 + 0.3	1/3	6	33.9
	1 + 0.4 + 0.4	1/3	7	48.5
	1 + 0.5 + 0.1	1/3	5	14.6
	1 + 0.5 + 0.2	1/3	7	19.5
	1 + 0.5 + 0.3	1/3	8	24.1

Çizelge 4.4' den görüleceği gibi MTEOS içeren bazı filmler hariç diğer filmler için dopamine karşı yanıt alınmıştır. Ancak burada dikkat edileceği gibi yanıtlar oldukça düşüktür. Yine bu çizelgeden görüleceği gibi TEOS içeren filmlerle hidrojen peroksit deneylerinde en yüksek yanıtlar alınırken dopamin deneylerinde bu durum gözlenmemiştir. Daha önce ifade edildiği gibi TEOS içeren filmler büzülmekte ve gözle görülür bir şekilde kalın ve yumuşak jelimsi filmler oluşmaktadır. Buna bağlı olarak hidrojen peroksitten daha büyük bir molekül olan dopaminin bu filmlerden difüzyonu güçleşebilir. Bu da dopaminin aynı filmlerde hidrojen peroksit göre yanıtlarının küçük olmasını izah edebilir.

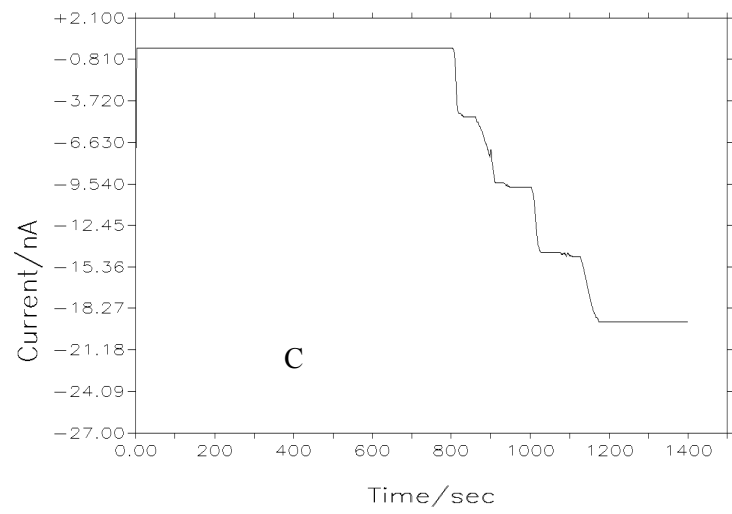
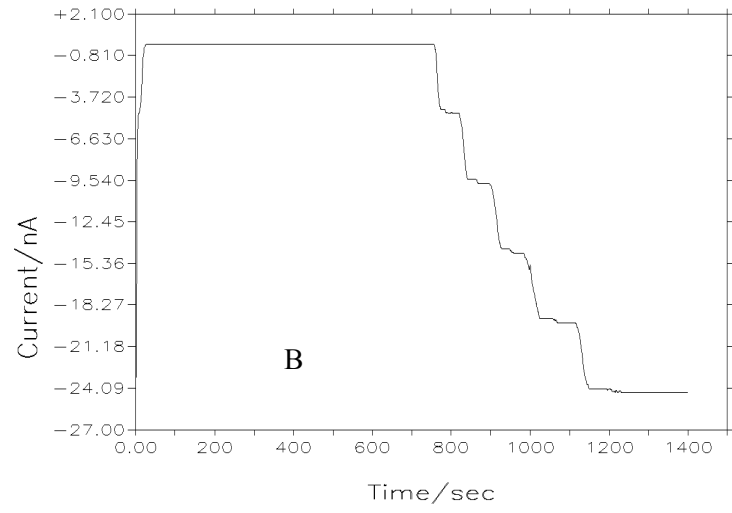
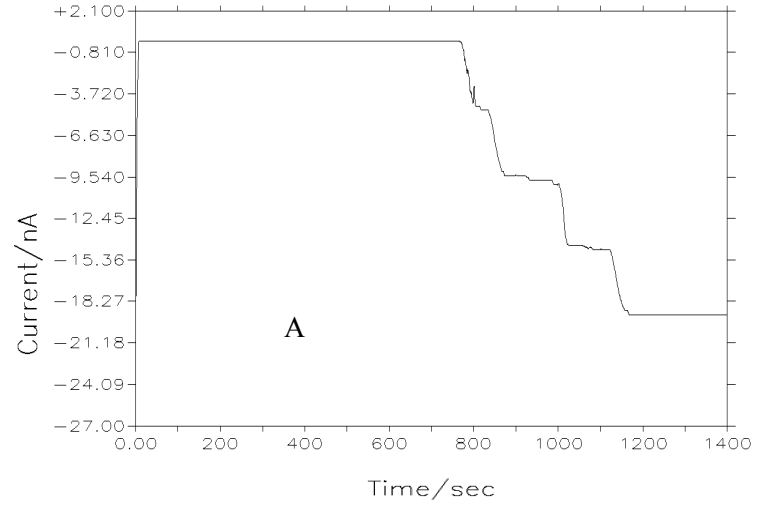
GLYMO + MTEOS içeren filmler için alınan sonuçlar incelendiği zaman bu filmlerin dopamin tayini için pek uygun olmadıkları görülmektedir. Bu filmlerden dopamin için ya hiç yanıt alınamamış ya da çok az yanıt alınmıştır.

Şekil 4.16' da GLYMO + MTEOS ve Şekil 4.17' de GLYMO + TEOS filmler için amperometrik akım yanıtları gösterilmiştir.

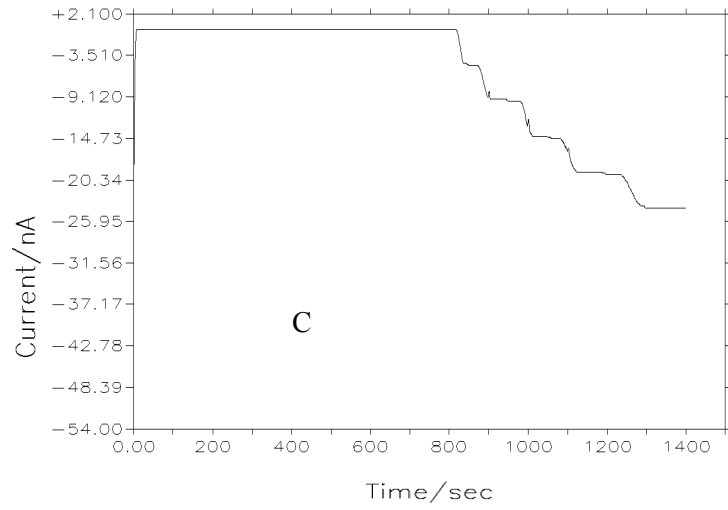
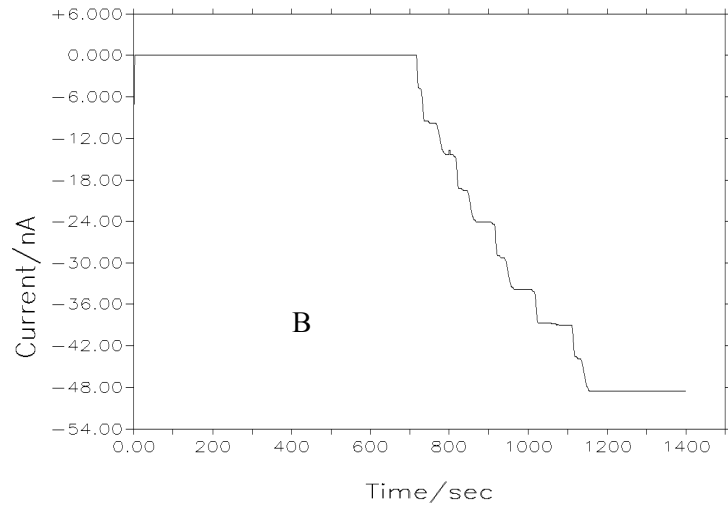
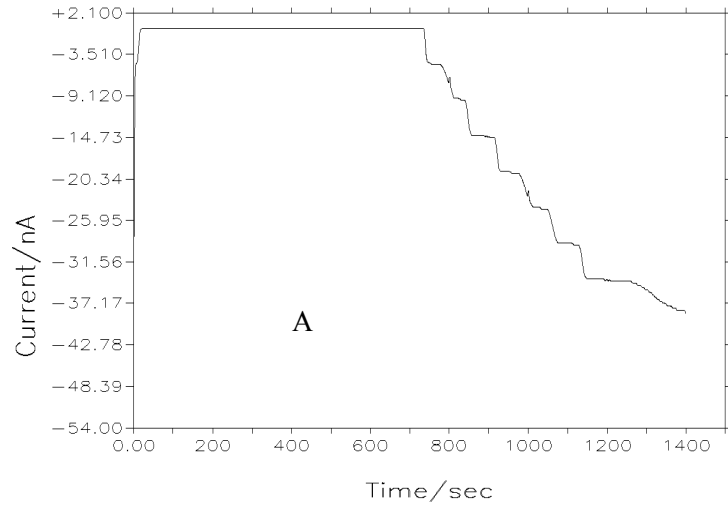
GLYMO + MTEOS + TEOS içeren filmlerden alınan sonuçlar incelendiği zaman en yüksek yanıtların bu filmlerden alındığı görülmektedir. Şekil 4.18' de bu filmler için amperometrik yanıt grafikleri verilmiştir. Bu üç grup deney 0.01 M Na_2SO_4 'da 600 mV'da yapılmıştır. Askorbik asit 300, 400 ve 500. saniyelerde, dopamin enjeksiyonları ise 700. saniyeden itibaren toplam 10 mM olacak şekilde 5 enjeksiyon olarak yapılmıştır.



Şekil 4.16. A=GM2, B=GM5, C=GM8 çözeltilerinden oluşan filmlerin dopamin enjeksiyonlarına verdikleri amperometrik yanıtlar.



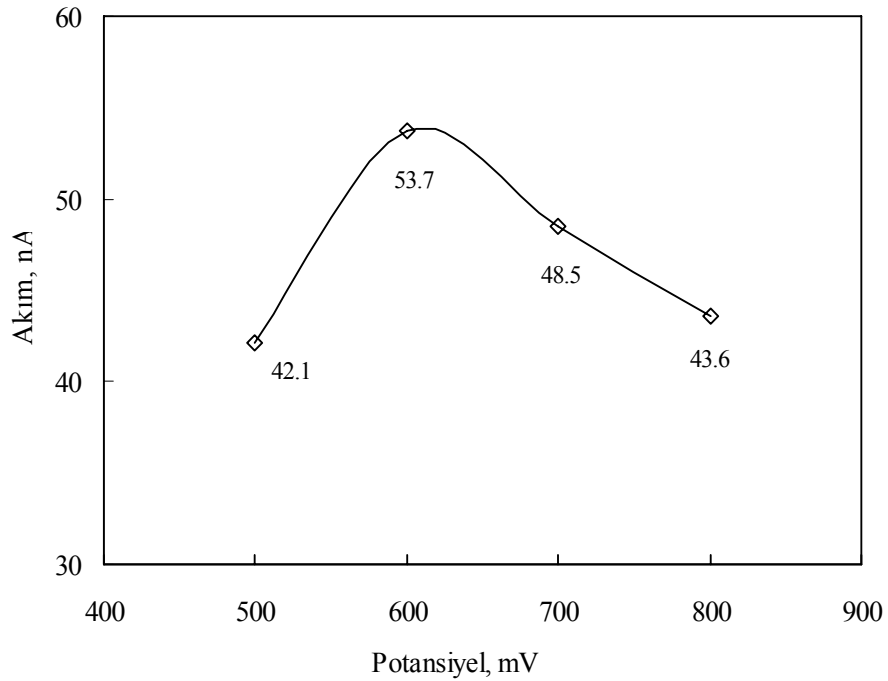
Şekil 4.17. A=GT2, B=GT4, C=GT6 çözeltilerinden oluşan filmlerin dopamin enjeksiyonlarına verdikleri amperometrik yanıtlar.



Şekil 4.18. A=GMT3, B=GMT6, C=GMT9 çözeltilerinden oluşan filmlerin dopamin enjeksiyonlarına verdikleri amperometrik yanıtlar.

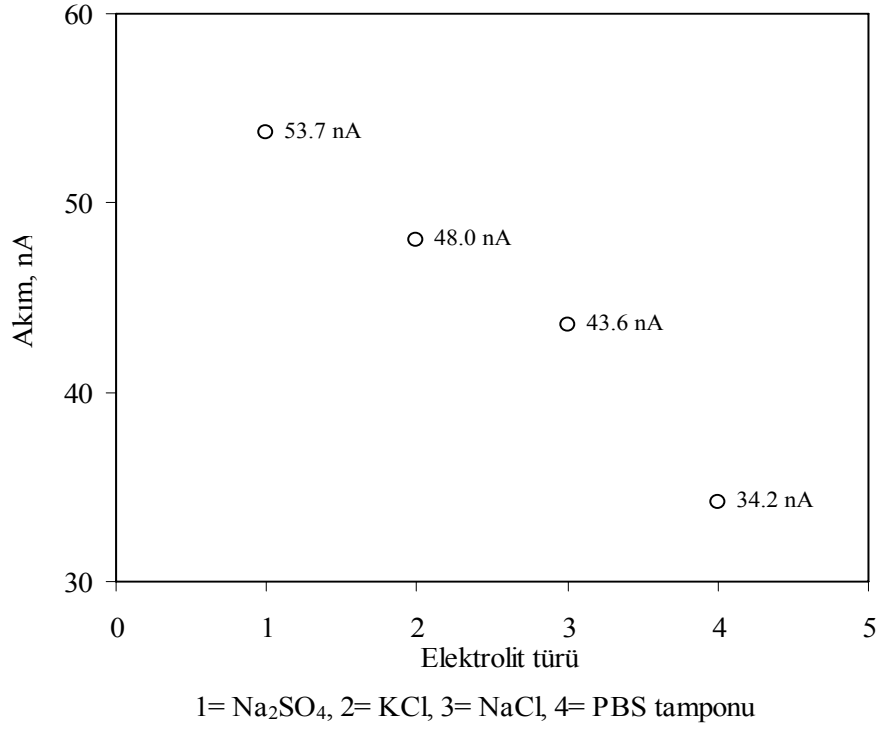
Deneylerde kullanılan çözeltiler içinde GLYMO + MTEOS + TEOS karışımından hazırlanan GMT6 çözeltileri kullanılarak elektrokimyasal deney parametrelerinin dopamin yanıtları üzerine etkisi incelendi. Bu çalışmalarda potansiyel, elektrolit tür ve derişimi, çözelti pH' sı gibi parametreler çalışıldı.

500–800 mV arasında uygulanan potansiyelin toplam olarak 10 mM dopamin yanıtları üzerine olan etkisi Şekil 4.19' da verilmiştir. Şekilden görüleceği gibi en yüksek akım 600 mV' da alınmıştır. Bu sebeple, sonraki deneyler 600 mV potansiyelde yapılmıştır.



Şekil 4.19. Dopamin yanıtlarına potansiyel etkisi.

Dopamin yanıtları üzerine elektrolit türünün etkisi 0.1 M konsantrasyonlarda olmak üzere KCl, Na₂SO₄, NaCl ve PBS tampon çözeltileri kullanılarak 600 mV potansiyelde incelendi. Sonuçlar Şekil 4.20' de gösterilmiştir.

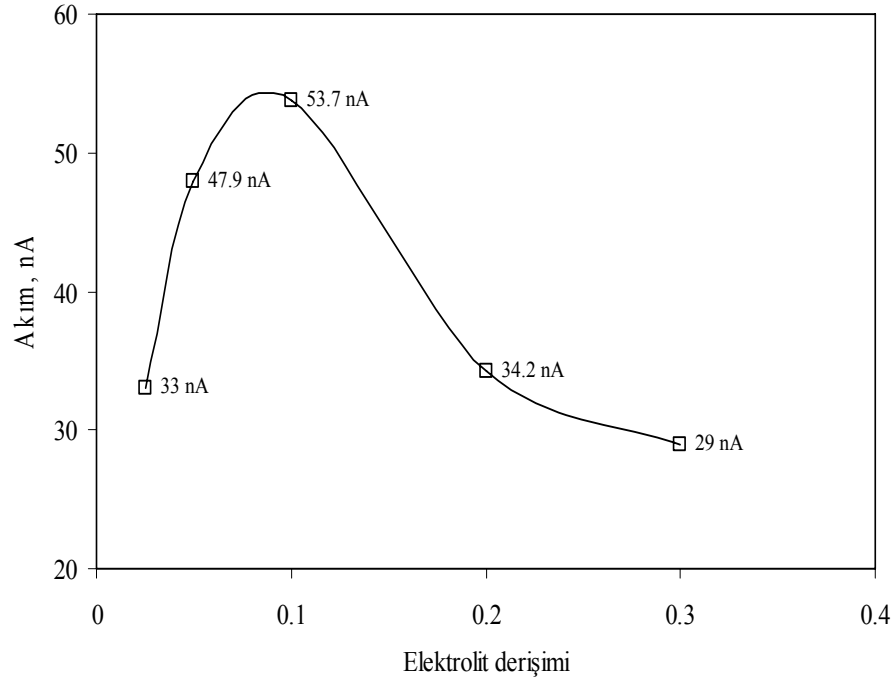


Şekil 4.20. Dopamin yanıtları üzerine elektrolit türünün etkisi.

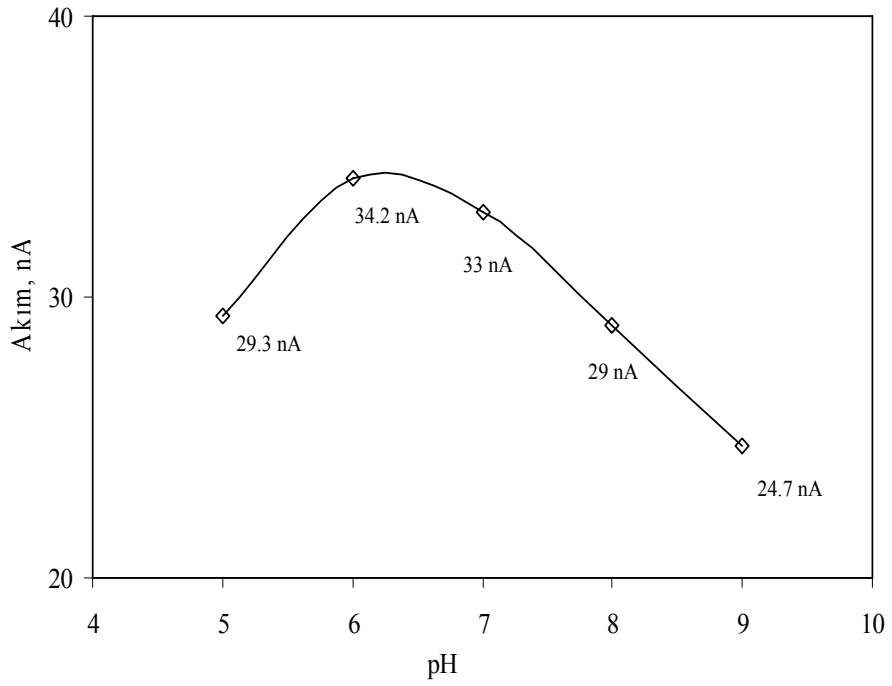
Şekilden görüleceği gibi en yüksek yanıtlar sodyum sülfat çözeltisinde alınmıştır.

Elektrolit konsantrasyonunun etkisi 0.025–0.3 M aralığında çeşitli konsantrasyonlardaki sodyum sülfat çözeltileri kullanılarak yapıldı. Dopamin yanıtları üzerine elektrolit konsantrasyonunun etkisi Şekil 4.21’ de gösterilmiştir. Şekilden, en yüksek yanıt değerinin 0.1 M konsantrasyonundaki çözeltilerden alındığı görülmektedir.

Çözelti pH’ının etkisini incelemek için PBS tampon çözeltileri kullanıldı. pH’ı 5–9 arasında olan çözeltilerle yapılan deneyler sonucunda en yüksek yanıtın pH=6’da alındığı Şekil 4.22’ de görülmektedir.



Şekil 4.21. Dopamin yanıtı üzerine elektrolit konsantrasyonunun etkisi



Şekil 4.22. Dopamin yanıtı üzerine pH etkisi

Dopamin tayininde potansiyel interferant olan askorbik asit geçişinin engellendiği film kalınlıkları kullanılarak dopamin tayini yapılmaya çalışılmıştır. Elde edilen sonuçlardan görölmüştür ki; aynı filmlerin hidrojen peroksit sensör amaçlı kullanılması durumunda çok iyi sonuçlar alınmasına rağmen dopamin tayinine yönelik kullanımlarında ise çok iyi olmamakla birlikte tayinin yapılabileceği tespit edilmiştir. Ancak dopamine karşı yanıt süresi uzundur ve yanıtlar çok düzgün değildir. Daha ince filmlerde daha iyi sonuçlar alınabilir. Fakat hidrojen peroksit çalışmalarında göröldüğü gibi ince filmlerde askorbik asit de yanıt vermektedir. Bu sebeple, interferant türe yanıt alınmayan film kalınlıkları kullanılarak deneyler yapılmıştır.

4.6.3. Glikoz biyosensörü

Sol-jel kaplamalara enzim immobilize edilmek suretiyle biyosensör olarak kullanılabilirliğini incelemek için glikoz oksidaz enziminden faydalanarak glikoz tayinleri yapılmıştır. Çalışmanın bu bölümü esas olarak hidrojen peroksit çalışmalarına dayanmaktadır. Bilindiği gibi glikoz oksidaz enzimi ile glikoz arasındaki reaksiyon sonucunda hidrojen peroksit oluşmakta ve bu da amperometrik olarak tayin edilebilmektedir. Hidrojen peroksit çalışmalarında olumlu sonuçların alınması üzerine bu filmlerle glikoz tayinlerinin yapılabileceği düşüncesinden hareket ederek enzim sensör deneyleri gerçekleştirilmiştir. Bu deneylerde bütün kaplama çözeltileri denenmemiş hidrojen peroksit deneylerinde en iyi sonuçların alındığı filmler kullanılmıştır. Ancak burada da GLYMO + TEOS kaplamaların yüzeyden düştüğü gözlemlendiği için bu deneyler yapılmamıştır. GLYMO + MTEOS (GM5) ve GLYMO + MTEOS + TEOS (GMT6) karışımlarından en iyi sonuçların alındığı filmler enzim immobilizasyon ortamı olarak kullanılmıştır.

Bu çalışmalarda öncelikle enzimin immobilizasyon metodu incelendi. Enzim üç farklı şekilde immobilize edildi. Birinci metotta, elektrot yüzeyine sol-jel kaplama çözeltisi damlatıldıktan sonra kuruması beklenmeden enzim çözeltisi kaplama çözeltisi üzerine damlatıldı. Hazırlanan elektrot kurutulduktan sonra enzimin kaplama içerisinde dağıldığı, elektrot yüzeyine gelecek şekilde bulunmadığı ve filmde çatlakların oluştuğu gözlemlendi. İkinci metotta, elektrot yüzeyinde film oluşturulduktan sonra enzim çözeltisi damlatıldı ve bunun üzerine ikinci bir tabaka kaplama çözeltisi damlatılarak kurutuldu. Kurutmadan sonra enzimin bir bölümünün filmin dışında kaldığı ve elektrolit çözeltisine daldırıldığı zaman büyük bir bölümünün çözeltiye difüzlendiği gözlemlendi. Üçüncü metot olarak, enzim çözeltisi elektrot yüzeyine damlatılıp oda sıcaklığında

kurutulduktan sonra kaplama çözeltisi enzim üzerine damlatıldı. Deneyler üçüncü metoda göre hazırlanan elektrotlarla gerçekleştirilmiştir.

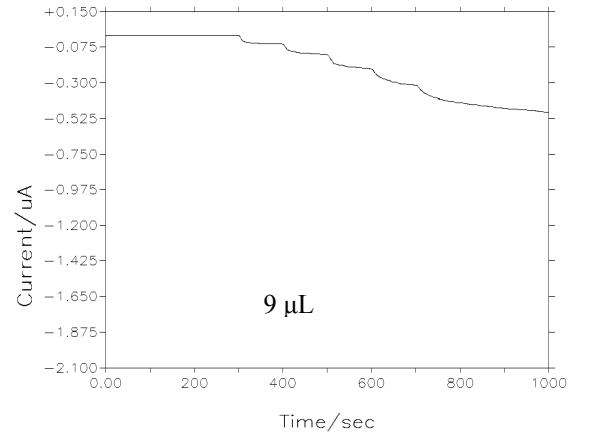
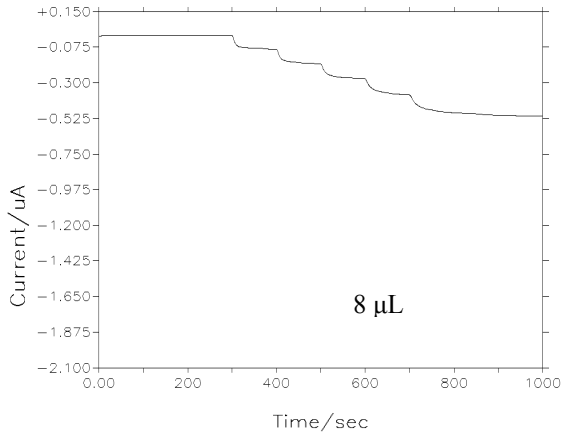
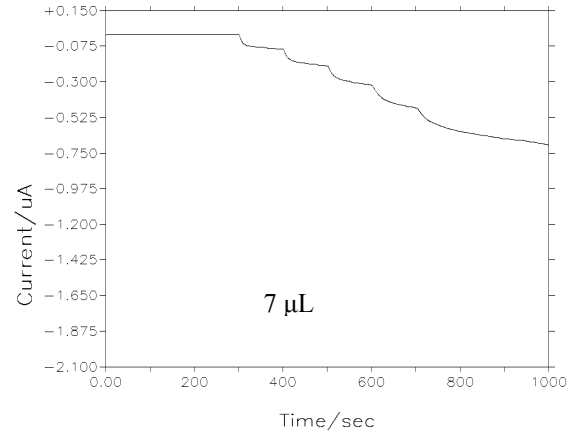
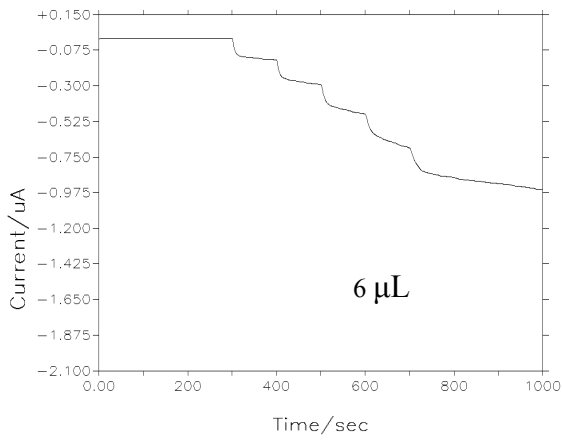
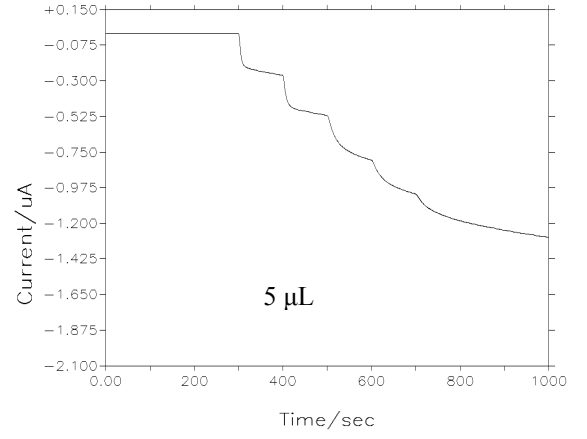
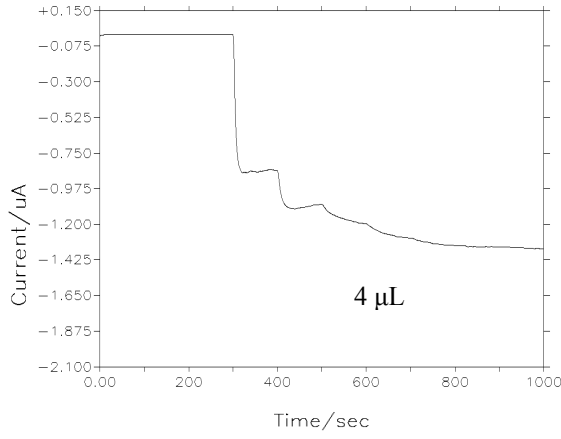
Çizelge 4.5, GLYMO + MTEOS (GM5) ve GYLMO + MTEOS + TEOS (GMT6) karışımından hazırlanan enzim sensörler kullanılarak toplam olarak 10 mM glikoz enjeksiyonları sonucunda elde edilen yanıtları göstermektedir. Bu deneyler, pH' sı 7 olan PBS tampon çözeltisinde, 700 mV' da yapılmıştır.

Çizelge 4.5. GLYMO+MTEOS ve GLYMO+MTEOS+TEOS karışımlarından hazırlanan enzim sensörlerin 10 mM glikoz için verdiği yanıtların film kalınlığı ile değişimi

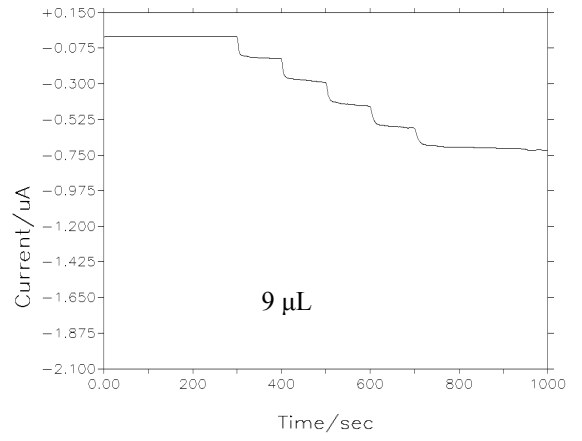
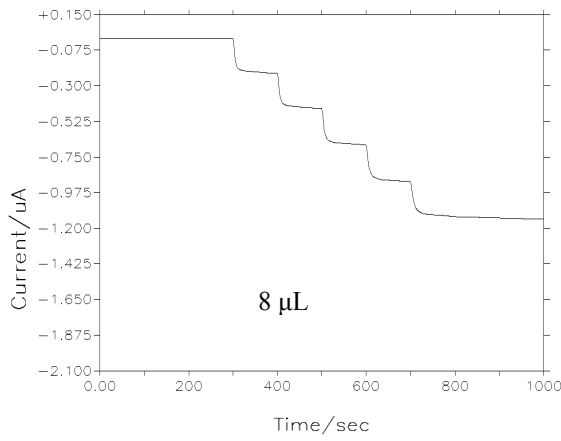
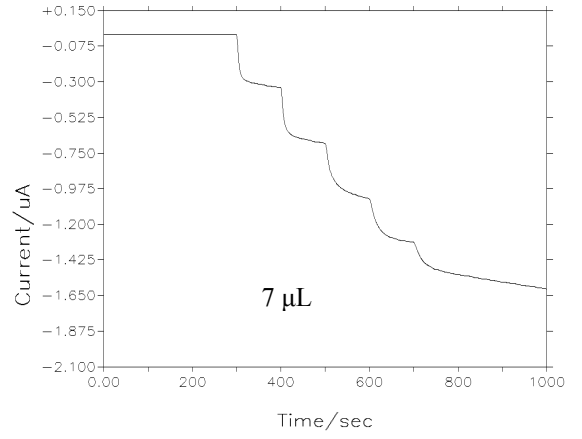
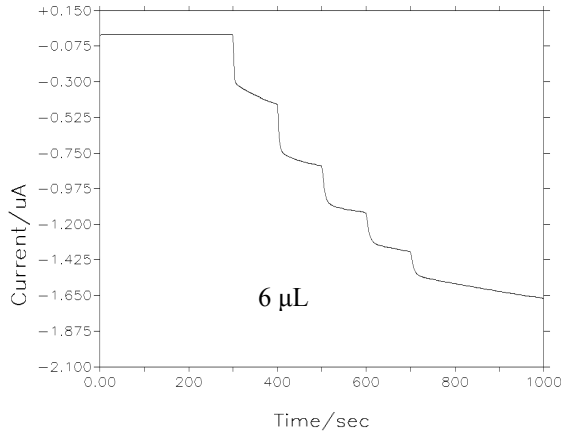
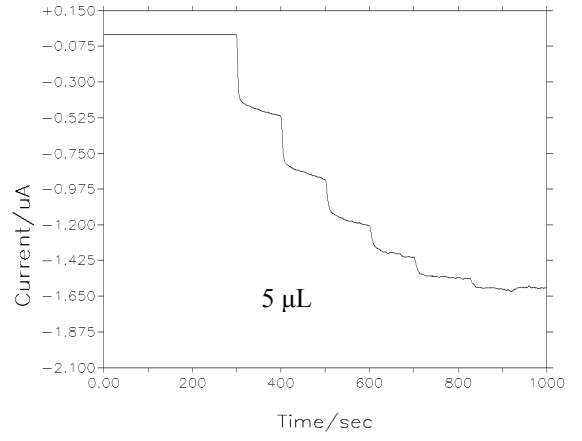
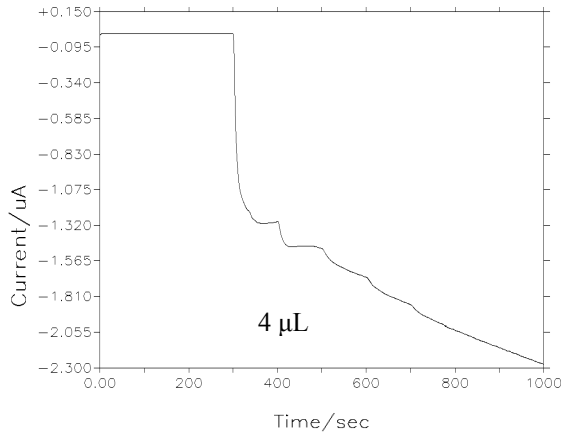
Kaplama çözeltisi bileşimi (mL)	Seyreltme (mL/mL)	Enzim miktarı, (μL)	Damlatılan kaplama çözeltisi (μL)	Glikoz için akım değişimi Δi, (nA)
GLYMO+MTEOS 1 + 0.4 (GM5)	1/4	2	5	918
			6	791
			7	522
			8	371
			9	239
GLYMO+MTEOS+TEOS 1 + 0.4 + 0.4 (GMT6)	1/3	2	4	2040
			5	1580
			6	1540
			7	1520
			8	1130
			9	747
			10	562
			11	457
			12	312
	1/3	1	4	1330
			5	1190
			6	879
			7	610
			8	488
			9	424

Çizelge 4.5' den görüldüğü gibi, GMT6 çözeltileri ile hazırlanan enzim sensörler için aynı kaplama kalınlıklarında, 1 μL enzim varlığında elde edilen yanıtlar daha küçüktür. Ayrıca 1 μL enzim olduğunda yanıtların 6 μL kaplama çözeltisinden hazırlanan filme kadar düzensiz olduğu ve bu film kalınlığından itibaren daha düzenli yanıtlar alındığı tespit edildi. Ancak bu durumda yanıtların küçüldüğü gözlemlendi. Şekil 4.23' de 1 μL enzim varlığında belirlenen akım değerleri grafiksel olarak gösterilmiştir. Bu şekillerde her bir glikoz enjeksiyonu 2 mM olacak şekilde 300. saniyeden itibaren 5 enjeksiyon olarak yapılmıştır.

2 μL enzim varlığında yapılan deneylerde de 7 μL kaplama çözeltisinden hazırlanan filme kadar düzensizlik olduğu gözlemlendi. 5, 6, 7 μL ' lik filmler için birbirine oldukça yakın yanıtlar elde edildi. 8 μL kaplama çözeltisi ile hazırlanan enzim elektrotdan alınan yanıtlar hem daha düzenlidir hem de ard arda yapılan ölçümlerde birbirine daha yakın sonuçlar alınmaktadır. 9 μL den itibaren oluşturulan filmlerden alınan yanıtlar gittikçe küçülmüştür. Film kalınlaştıkça glikozun filmde içeriye doğru difüzyonu güçleşmekte sadece geçebilen miktarı enzim ile reaksiyon verebilmektedir. Şekil 4.24' de 2 μL enzim varlığında farklı film kalınlıklarında belirlenen amperometrik akım değerleri grafiksel olarak gösterilmiştir.



Şekil 4.23. Farklı film kalınlıklarında GMT6 kaplamayla 1 µL enzim varlığında glikoza karşı alınan amperometrik yanıtlar.

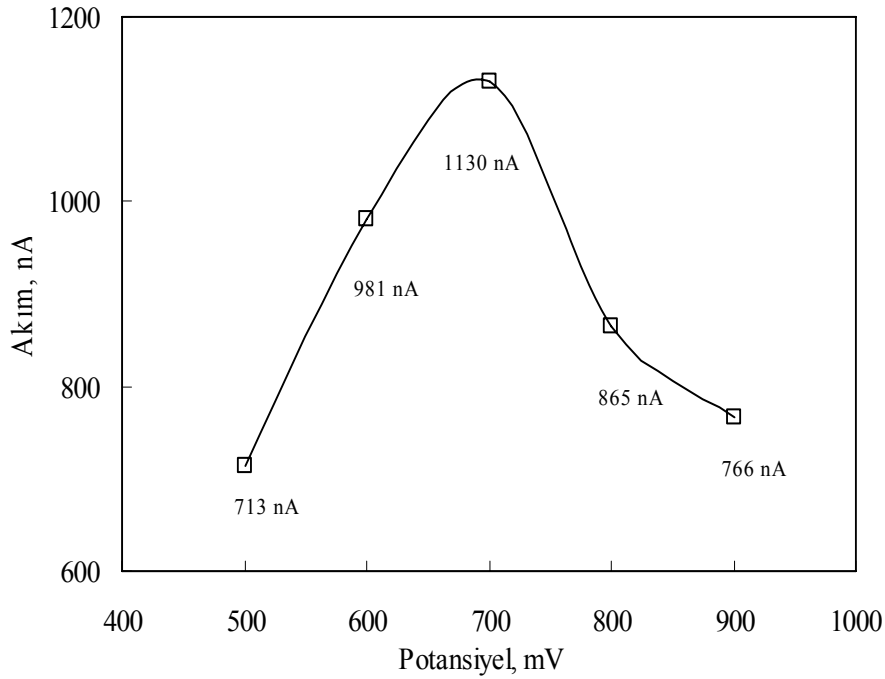


Şekil 4.24. Farklı film kalınlıklarında GMT6 kaplamayla 2 µL enzim varlığında glikoza karşı alınan amperometrik yanıtlar.

Çizelge 4.5’ de verilen değerlerden görüleceği gibi GMT6 filmler için enzim miktarının artmasıyla glikoza karşı yanıtlar artmıştır.

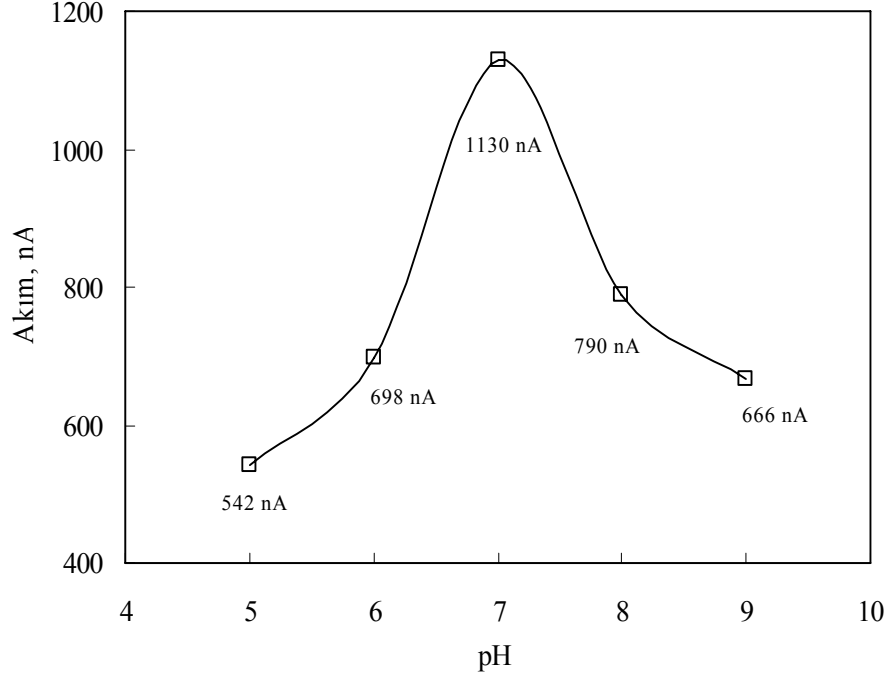
Enzim miktarı ve film kalınlığı ile ilgi deneylerden elde edilen sonuçlar dikkate alınarak 2 μL enzim ve 8 μL kaplama çözeltisinin (GMT6) damlatılmasıyla hazırlanan enzim elektrotlar kullanılarak, elektrokimyasal deney parametrelerinin optimal değerlerinin belirlenmesine yönelik çalışmalar yapıldı.

En iyi sonuçların alınacağı potansiyel değerini belirlemek için 500–900 mV aralığında 5 farklı potansiyelde deneyler yapıldı. Bu deneylere ait sonuçlar Şekil 4.25’ de verilmektedir. Akım değişimindeki en yüksek değerin 700 mV’ da alındığı görülmektedir. Bu sebeple, sonraki deneyler 700 mV potansiyelde yapılmıştır.



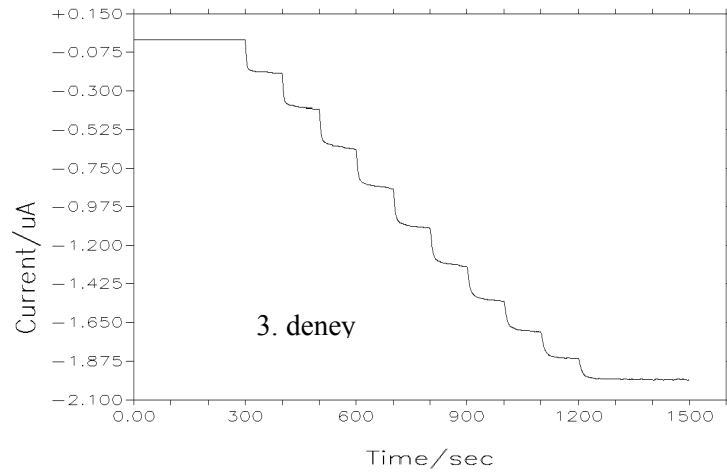
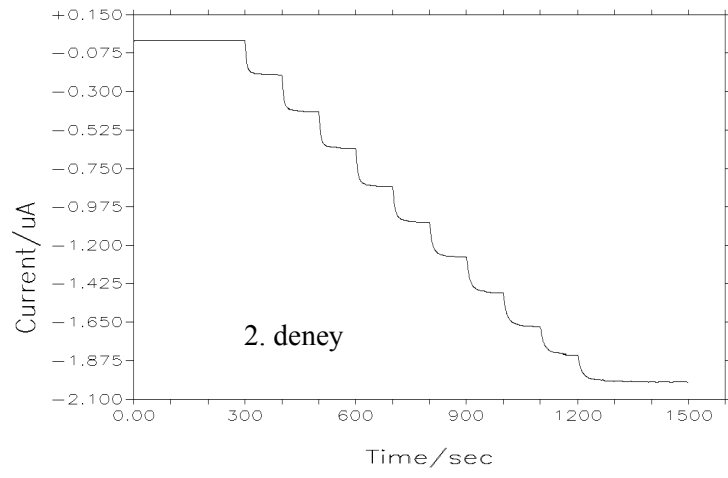
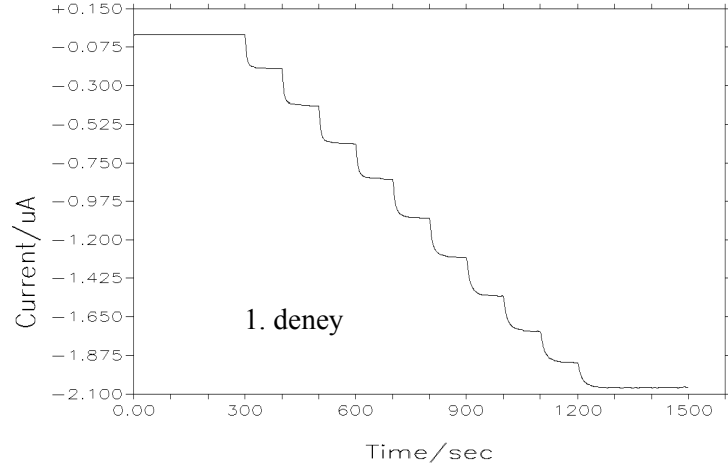
Şekil 4.25. 10 mM glikoz enjeksiyonu için alınan yanıtlar üzerine potansiyel etkisi.

Çözelti pH'ının etkisini incelemek için, pH=5–9 olan PBS tampon çözeltileri kullanıldı. Değişik pH değerlerinde elde edilen sonuçlardan en büyük değerin pH=7' de alındığı görülmektedir (Şekil 4.26).



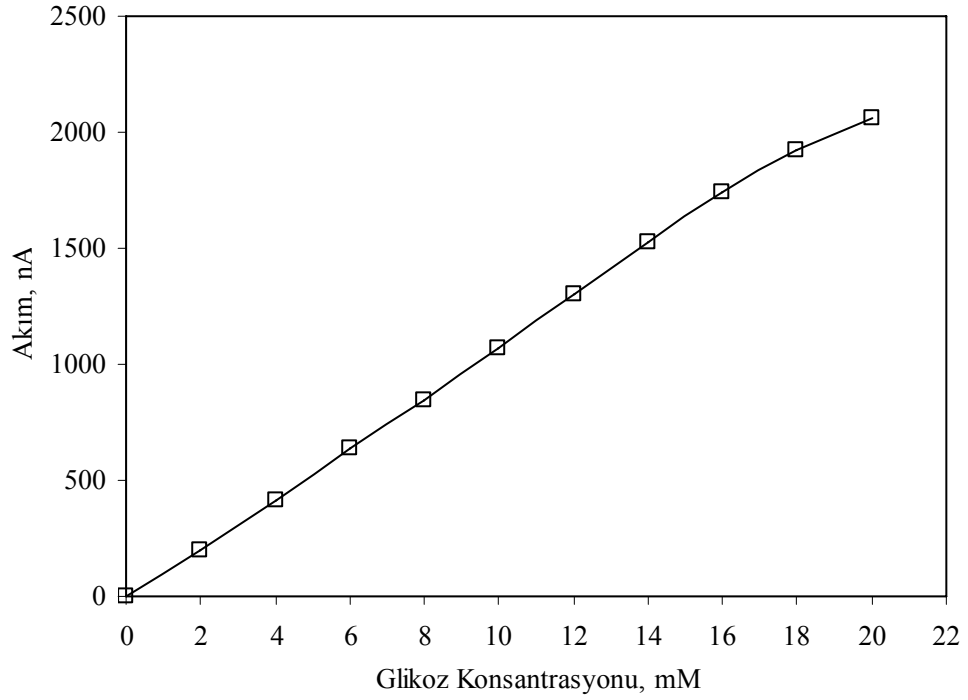
Şekil 4.26. 10 mM glikoz enjeksiyonu için alınan yanıtlar üzerine pH etkisi.

Uygun enzim miktarı, film kalınlığı, çalışma potansiyeli ve pH belirlendikten sonra seri olarak yapılan glikoz enjeksiyonlarına karşı enzim sensörün davranışı incelendi. Bu deneylerde, 300. saniyeden itibaren glikozun 100' er saniye aralıklarla her biri 2 mM olmak üzere 10 enjeksiyonu yapılmış ve sonuçlar Şekil 4.27' de verilmiştir. Bu şekilden de görüleceği gibi ardıl yapılan üç deneyin sonuçları birbirine çok yakın çıkmıştır.



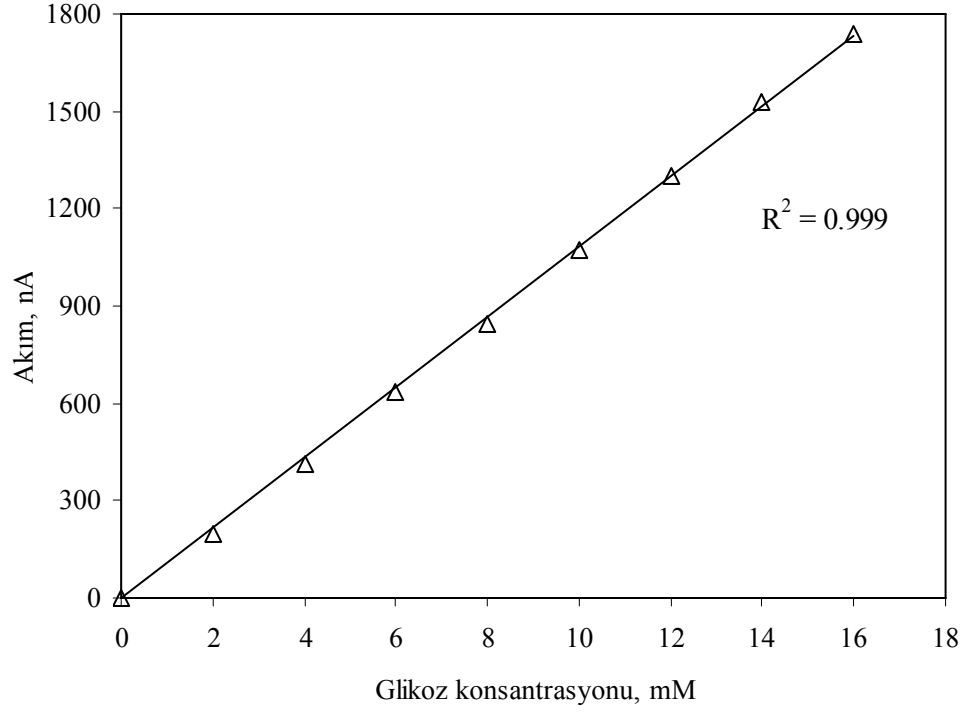
Şekil 4.27. Enzim sensörün seri glikoz enjeksiyonlarına verdiği amperometrik yanıtlar.

1. deneydeki ardıl glikoz enjeksiyonlarına karşı elde edilen amperometrik yanıtlar Şekil 4.28’ de görülmektedir.



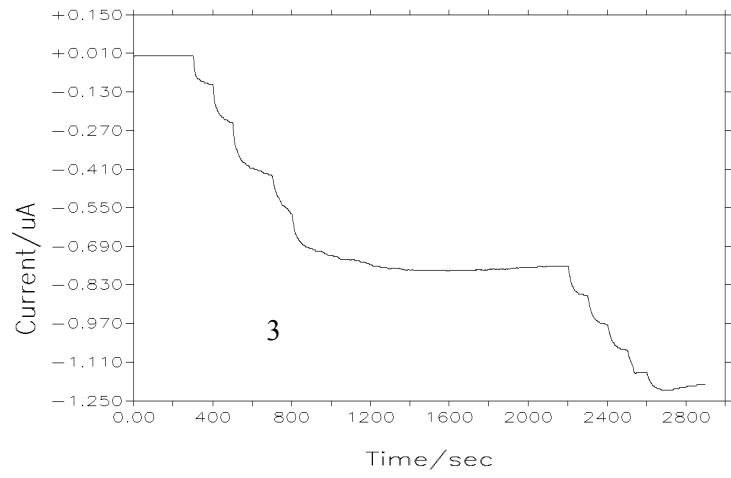
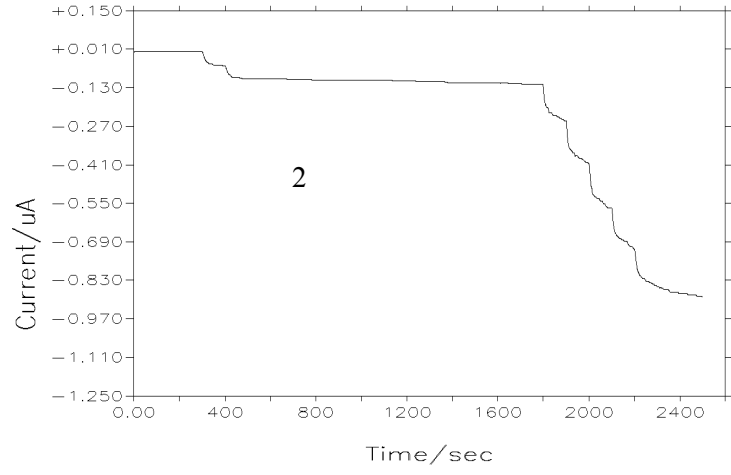
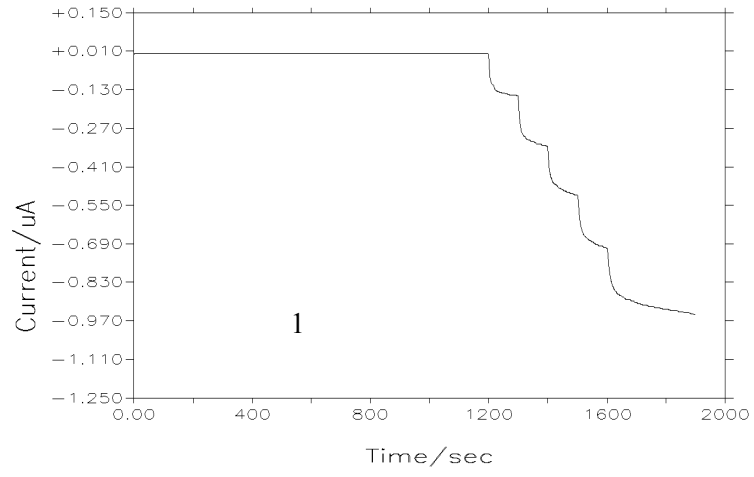
Şekil 4.28. Enzim elektrot ile glikoz için elde edilen yanıt grafiği.

Hazırlanmış olan herhangi bir enzimatik elektrodun, gerçek örneklerle uygulanabilmesi için, gerçek örnekte bulunan ilgili maddenin en yüksek derişimine kadar duyarlılık göstermesi gerekir. Bu durumda, enzim esaslı elektrodun ilgili madde için kalibrasyon grafiği çizilmelidir. Şekil 4.28’ deki değerler kullanılarak çizilmiş olan kalibrasyon grafiği Şekil 4.29’ da gösterilmiştir. Bu şekilden görüldüğü gibi glikoz derişimi ile alınan amperometrik yanıtlar arasında 16 mM’ a kadar bir doğrusal ilişki vardır. Sağlıklı bir insanda glikozun normal değerinin 3,5-5 mM aralığında olduğu düşünülürse, hazırlanan bu enzim elektrotla oldukça yüksek değerlere kadar glikozu tayin etmek mümkündür.



Şekil 4.29. GMT6-enzim elektrot ile glikoz için elde edilen kalibrasyon grafiği.

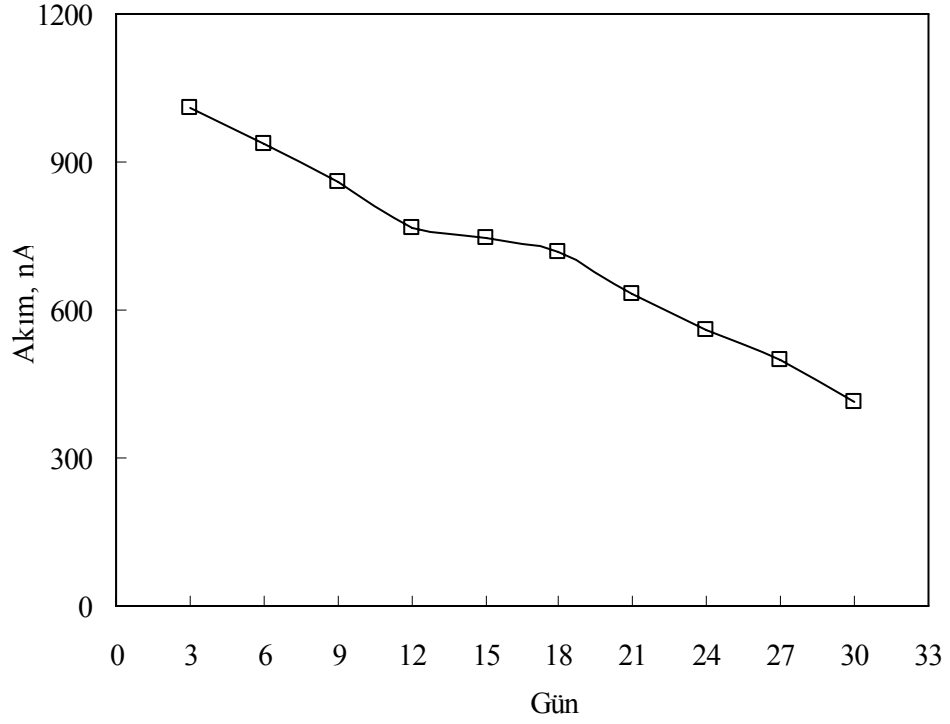
Enzim sensörün potansiyel interferans yapıcı türlere karşı olan davranışı da incelenmiştir (Şekil 4.30). Bu deneyler elektroaktif ve elektroaktif olmayan interferant türlerin varlığında ve yokluğunda gerçekleştirilmiştir. Şekil 4.30' da gösterilen 1 nolu deney, ortamda herhangi bir elektroaktif tür yok iken yapılmıştır. Bu deneyde, 300 ve 400. saniyelerde laktoz, 600 ve 700. saniyelerde sukroz, 900 ve 1000. saniyelerde üre enjeksiyonları yapıldı. 1200. saniyeden itibaren ise glikoz enjeksiyonları yapıldı. Deneyde her bir enjeksiyon ilgili türün 2 mM' ına karşılık gelmektedir.



Şekil 4.30. İnterferant türlerin varlığında glikoza karşı alınan amperometrik yanıtlar.

2 ve 3 nolu deneylerde ise elektroaktif türler de bulunmaktadır. 2 nolu deneyde 300 ve 400. saniyelerde askorbik asit, 600 ve 700. saniyelerde ürik asit, 900 ve 1000. saniyelerde okzalik asit, 1200, 1400 ve 1600. saniyelerde sırasıyla laktoz, sükroz ve üre enjeksiyonları yapıldıktan sonra 1800. saniyeden itibaren glikozun seri enjeksiyonları yapılmıştır. 3 numaralı deneyde de benzer bir yol izlenmekle birlikte önce 300, 400 ve 500. saniyelerde glikoz enjekte edilmiş, daha sonra 700 ve 800. saniyelerde askorbik asit, 1000 ve 1100. saniyelerde ürik asit, 1300 ve 1400. saniyelerde okzalik asit, 1600, 1800 ve 2000. saniyelerde laktoz, sukroz ve üre enjeksiyonları yapıldıktan sonra 2200. saniyeden itibaren tekrar glikoz enjeksiyonları yapılmıştır. Bu deneylerden görüldüğü kadarıyla interfereant türlerden sadece askorbik aside yanıt alınmış, ürik asit ise ihmal edilebilecek kadar küçük bir yanıt vermiş, diğer türlere karşı yanıt alınmamıştır. Bu sonuçlara göre çeşitli interfereant türlerin varlığında bile glikoz tayinleri iyi bir şekilde yapılabilir.

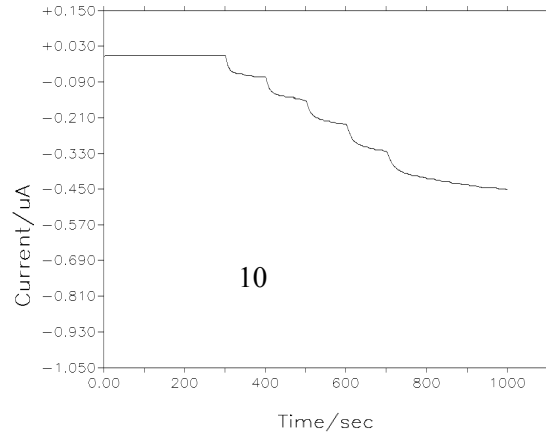
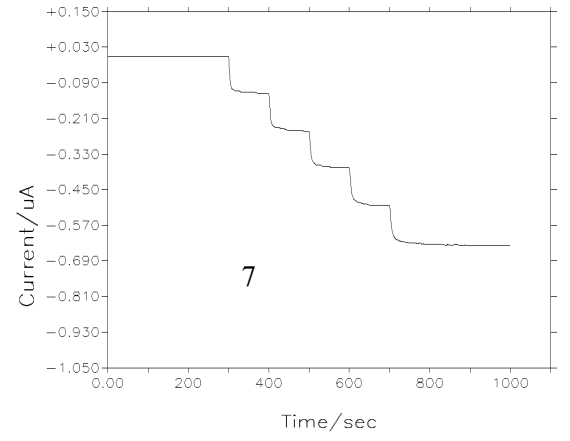
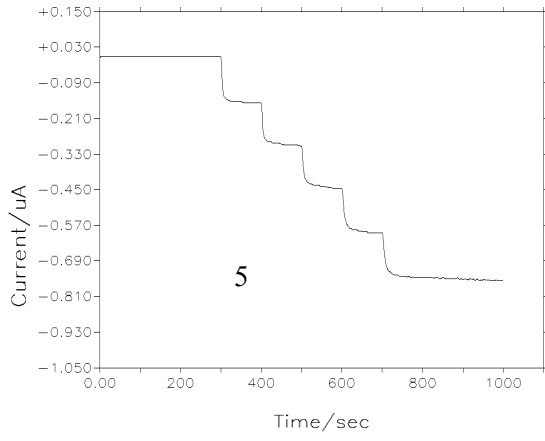
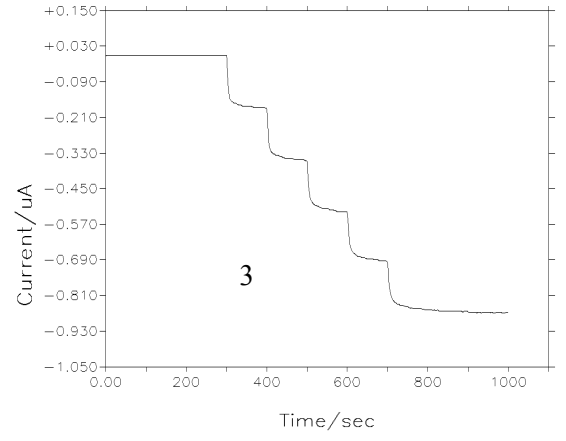
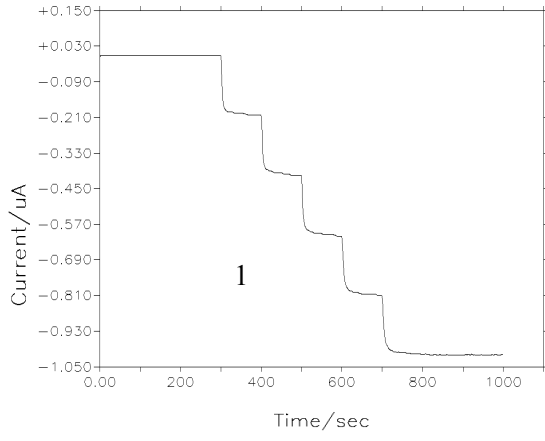
Enzim sensörün kararlılığı kullanım ömrünün belirlemesi bakımından önemlidir. Bu amaçla, üçer gün aralıklarla on deney yapılmış, elektrot kullanılmadığı zamanlarda buzdolabında saklanmıştır. Şekil 4.31' de enzim elektrot ile yapılan her bir ölçüm sonucunda alınmış olan yanıtlar verilmiştir. Bu yanıtlar toplam olarak 10 mM glikoza karşılık gelen akım değerlerini göstermektedir. Bu grafikten görüleceği gibi akımlar 4. kullanıma kadar azalmış, 4, 5 ve 6. kullanımlarda yapılan ölçümlerde birbirine yakın sonuçlar alınmış ve daha sonra yanıtlar tekrar azalmaya başlamıştır. Elektrotun ilk kullanımı ile son kullanımı arasında akım değerinde % 59 luk bir azalma gözlenmiştir. Yanıtlardaki bu azalma enzimin zamanla aktivitesini kaybetmesine ve filmde oluşabilecek bozulmalara atfedilebilir.



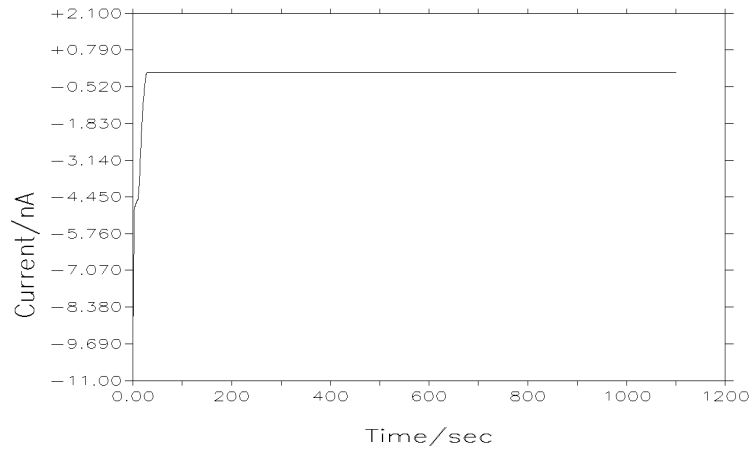
Şekil 4.31. GMT6 kaplamadan hazırlanan enzim elektrodun kararlılığı.

Şekil 4.32’ de kararlılık ölçümlerinde 1, 3, 5, 7 ve 10. kullanım sonunda alınan amperometrik yanıtlar gösterilmiştir.

Enzim elektrotla ilgili olarak yapılan bu deneylerden alınan amperometrik yanıtların, glikoz oksidaz enziminden kaynaklanıp kaynaklanmadığını incelemek için enzim içermeyen sadece sol-jel filmle kaplanmış bir elektrotla glikoz tayini yapılmaya çalışılmıştır. Şekil 4.33’ de gösterilen bu deneyde herhangi bir akım değişimi gözlenmemiştir. Buna göre enzim elektrotla ilgili deneysel bulguların, enzim ile glikoz arasındaki etkileşimden kaynaklandığı anlaşılmaktadır.



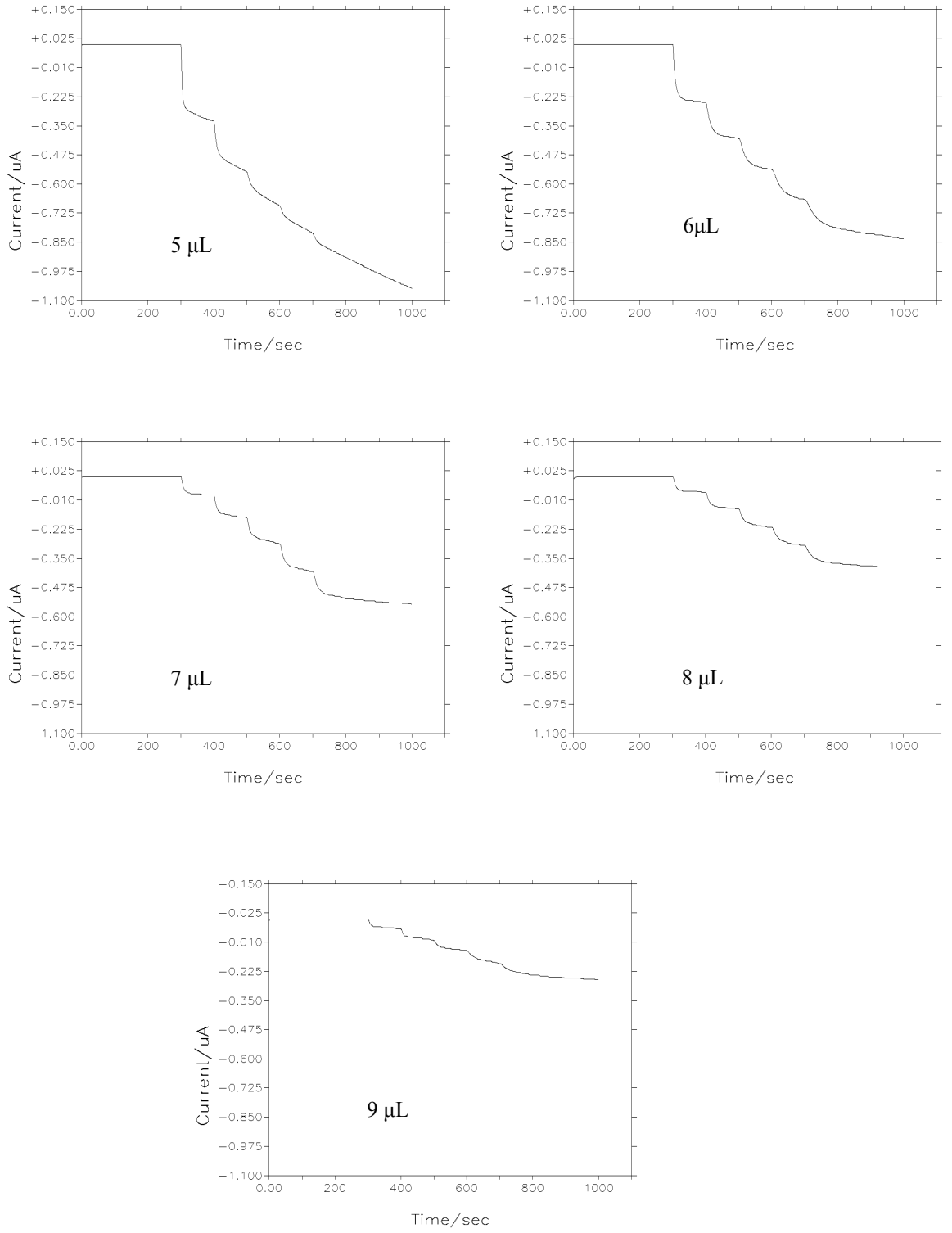
Şekil 4.32. Kararlılık deneylerinde glikoza karşı alınan amperometrik yanıtlar.



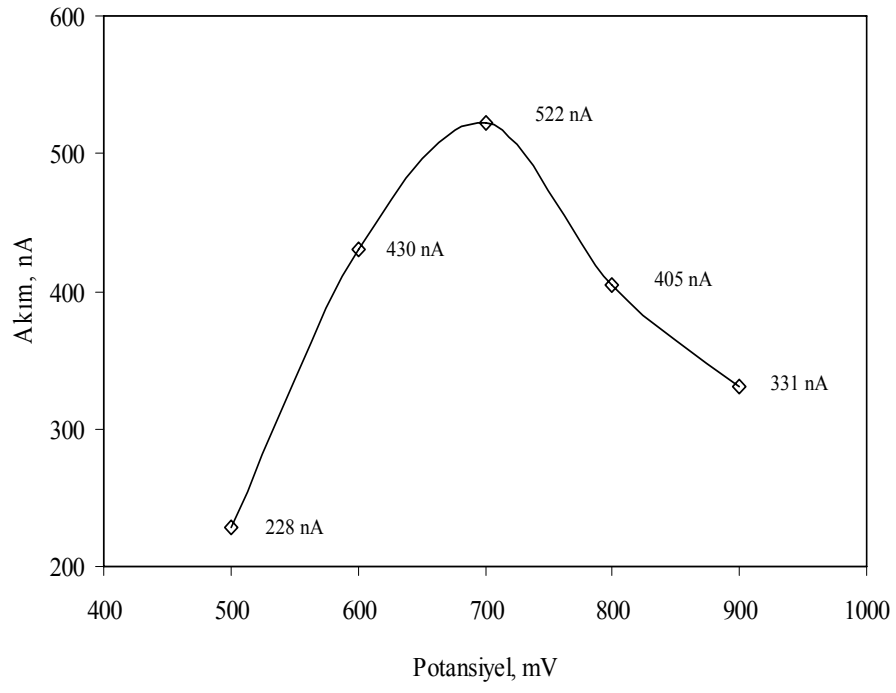
Şekil 4.33. Enzimsiz elektrodun glikoza karşı amperometrik davranışı.

İkinci bir glikoz sensör çalışması, GLYMO + MTEOS çözeltilerinden GM5 kullanılarak yapılmıştır. Bu çalışmada da yukarıda verilmiş olan çalışmaya benzer bir yol izlenmiştir. Çizelge 4.5’ de gösterildiği gibi bu deneylerde, 2 μ L enzimin farklı miktarlarda sol-jel kaplama çözeltisi damlatılıp tutuklanmasıyla hazırlanan enzim elektrotlar kullanılmıştır. Çizelgedeki değerlerden görüleceği üzere bu filmlerle alınan yanıtlar GMT6 çözeltisinden elde edilen filmlerden alınan yanıtlardan küçüktür. Şekil 4.34’ de çeşitli film kalınlıklarındaki elektrotlar ile glikoza karşı alınan amperometrik yanıtlar gösterilmiştir. Yanıtların 7 μ L film kalınlığına kadar düzenli olmadığı, bu film kalınlığından sonra ise küçüldüğü gözlenmektedir. Bu deneyler 700 mV’ da ve pH=7’ de yapılmıştır. Daha düzenli yanıtların alındığı 7 μ L’ lik film kalınlığı diğer deneysel parametrelerin incelenmesinde kullanılmıştır.

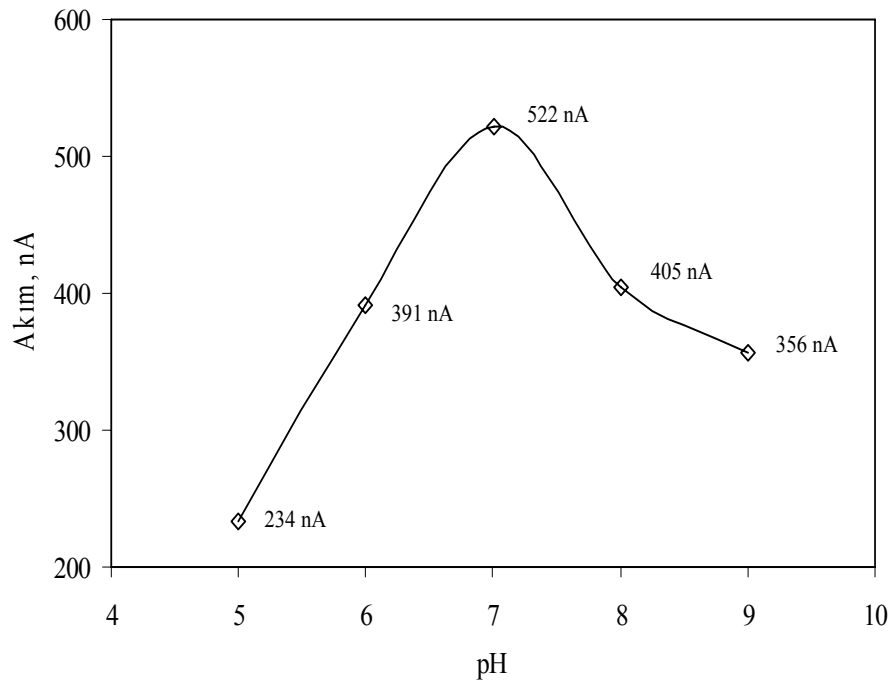
10 mM glikoza karşı en yüksek akım değerinin elde edildiği potansiyel ve pH deneylerinin sonuçları Şekil 4.35 ve 4.36’ da gösterilmiştir. Bu şekillerden görüleceği gibi GMT6 deneyinden alınan ve Şekil 4.25 ile 4.26’ da gösterilen sonuçlara benzer olarak GM5 deneylerinde de en uygun pH’ nın 7 ve potansiyelin ise 700 mV olduğu görülmektedir.



Şekil 4.34. Farklı film kalınlıklarında GM5 kaplamayla 2 μL enzim varlığında glikoza karşı alınan amperometrik yanıtlar.

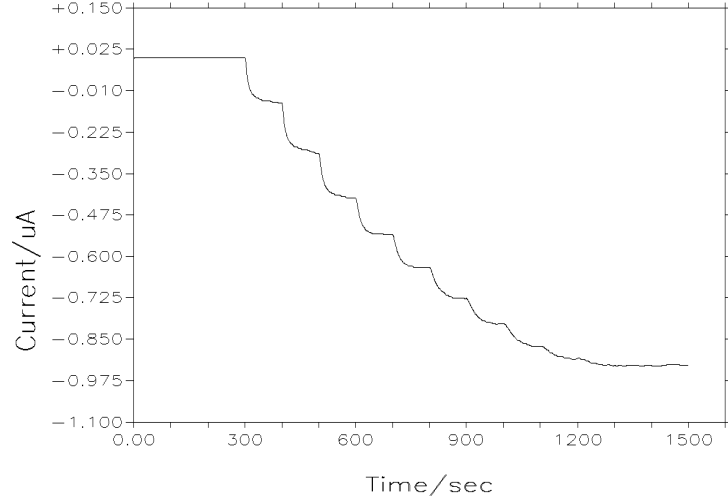


Şekil 4.35. GM5-enzim filmi için 10 mM glikoz enjeksiyonuna alınan yanıtlar üzerine potansiyel etkisi.



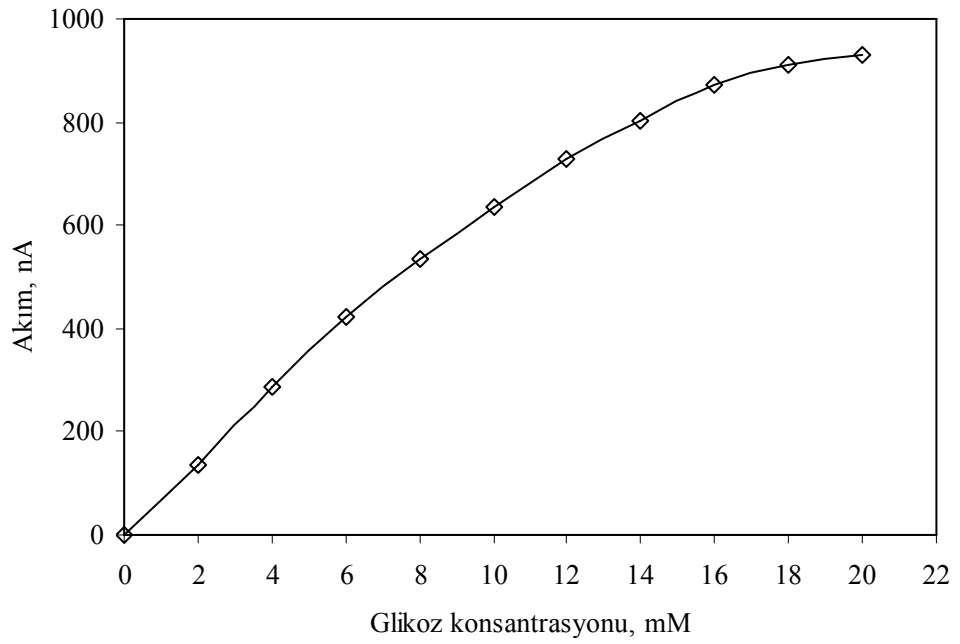
Şekil 4.36. GM5-enzim filmi için 10 mM glikoz enjeksiyonuna alınan yanıtlar üzerine pH etkisi.

GM5 filmden hazırlanan enzim elektrodun seri glikoz enjeksiyonlarına karşı yanıtı yukarıdaki deneylerden bulunan optimal şartlarda incelendi. Bu deney sonuçları Şekil 4.37’ de gösterilmiştir.



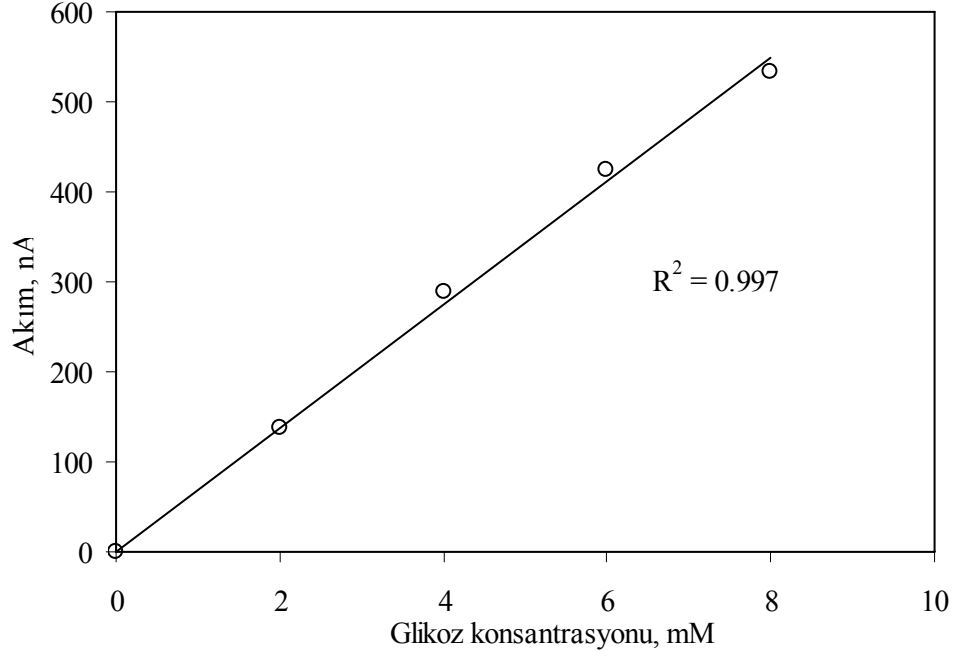
Şekil 4.37. GM5 kaplı enzim sensörün seri glikoz enjeksiyonlarına verdiği amperometrik yanıtlar.

Şekil 4.37’ deki akım değerleri kullanılarak glikoz konsantrasyonlarına karşı Şekil 4.38’ de bir yanıt grafiği oluşturulmuştur.



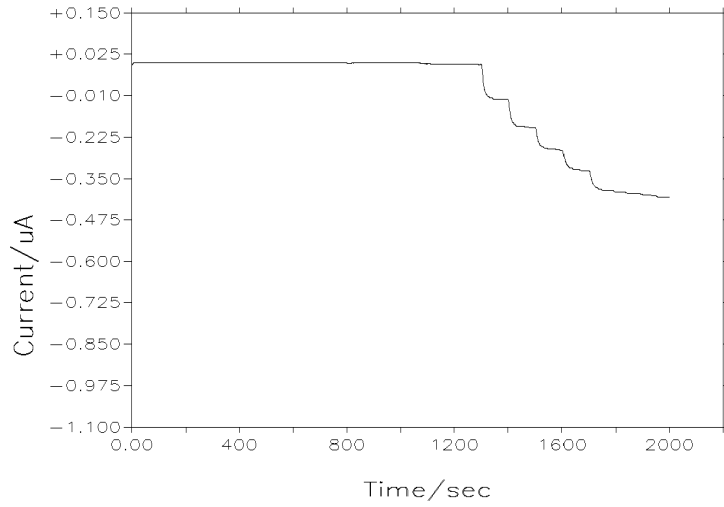
Şekil 4.38. GM5-enzim elektrot ile glikoz için elde edilen yanıt grafiği.

GM5-enzim sensörü içinde bir kalibrasyon grafiği Şekil 4.39’ da oluşturulmuştur. Glikoz derişimi ile alınan amperometrik yanıtlar arasında 8 mM’ a kadar doğrusal bir ilişki olduğu bu şekilden görülmektedir.



Şekil 4.39. GM5-enzim elektrot ile glikoz için elde edilen kalibrasyon grafiği.

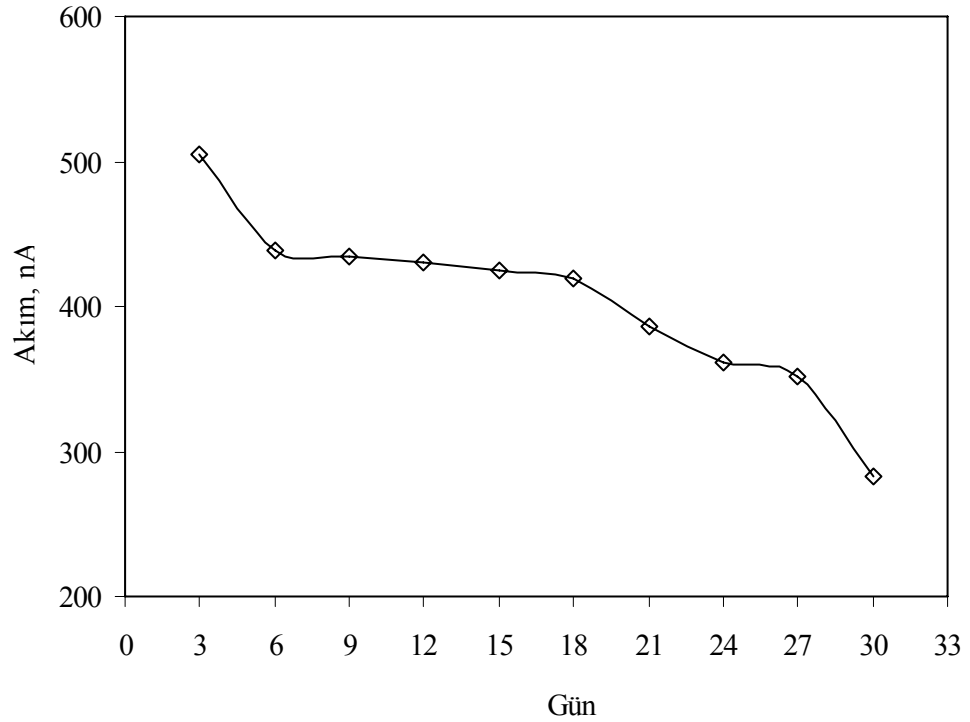
Bu enzim sensörün interferant türlere karşı olan davranışı incelenmiş ve alınan sonuçlar Şekil 4.40’ da verilmiştir.



Şekil 4.40. GM5-enzim filmi için interferant türlerin varlığında glikoza karşı alınan amperometrik yanıtlar.

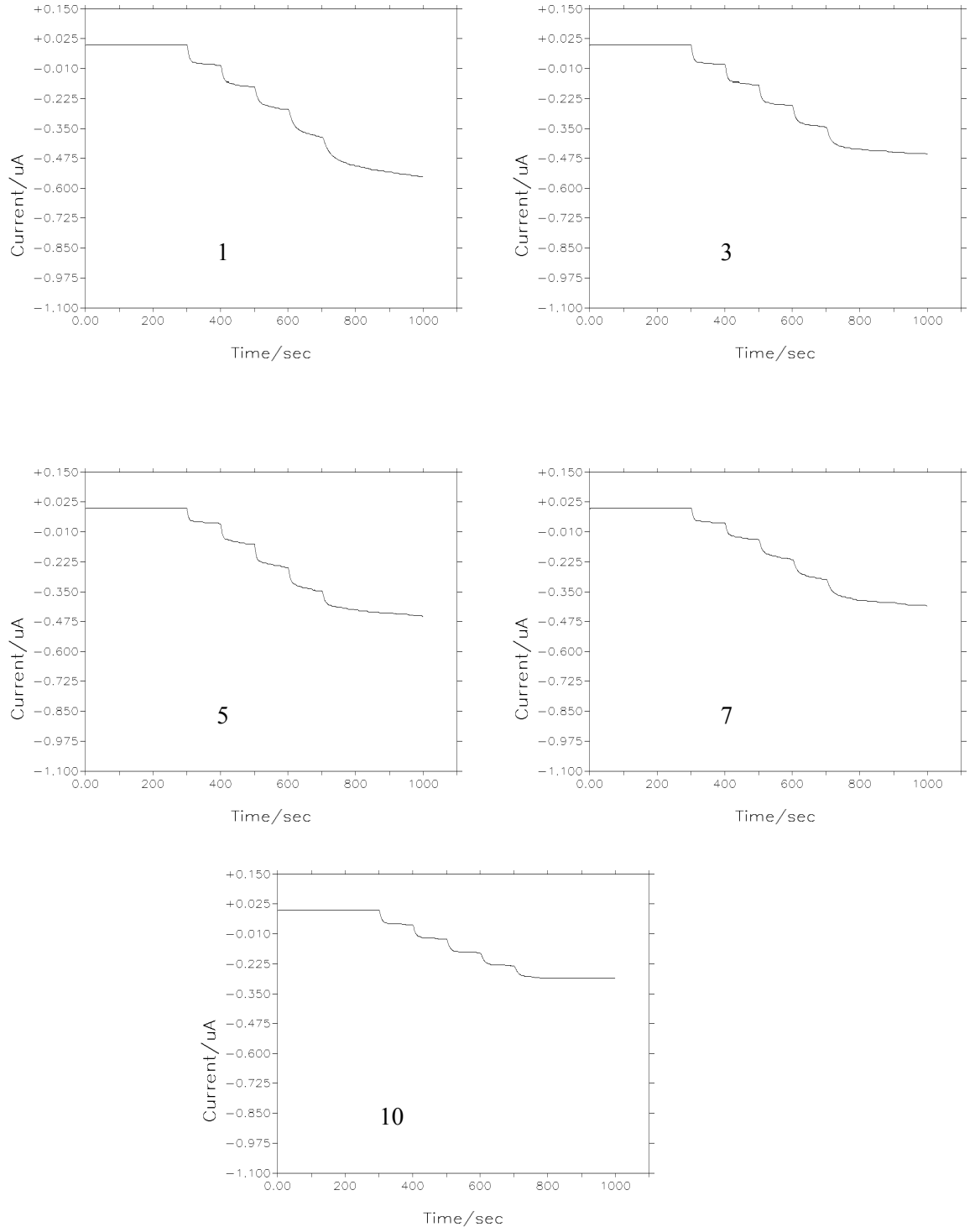
Burada 300, 400 ve 500. saniyelerde sırasıyla laktoz, süktroz ve üre, 700, 900 ve 1100. saniyelerde ise sırasıyla askorbik asit, okzalik asit ve ürik asit enjeksiyonları yapıldıktan sonra 1300. saniyeden itibaren ise glikoz enjeksiyonları yapılmıştır. Deneydeki her bir enjeksiyon ilgili türün 2 mM' ına karşılık gelmektedir. Şekil 4. 40' dan görüleceği gibi interferant türlere karşı bir yanıt alınmazken glikoz enjeksiyonlarına yanıt alınmaktadır.

GM5 filmlerden hazırlanan enzim sensörün kararlılığının incelendiği deney sonuçları Şekil 4.41' de gösterilmiştir. Bu deneyler üçer gün aralıklarla on kez yapılmıştır. Bu şekilden görüldüğü gibi, 2-6. kullanımlarda birbirine yakın yanıtlar alınmış, daha sonra azalma olmuştur. Elektrodun ilk kullanımı ile son kullanımı arasında akım değerinde % 44 lük bir azalma vardır.



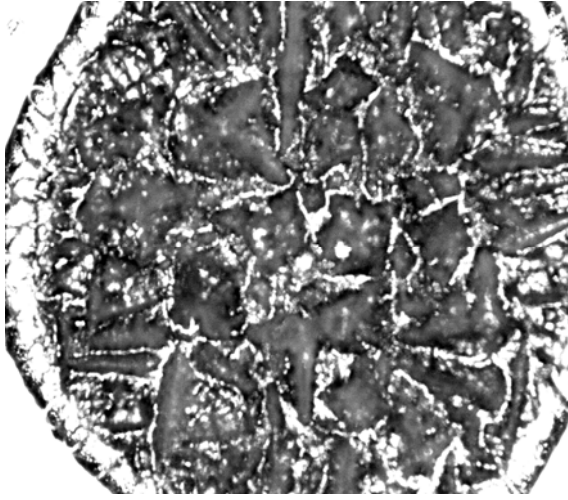
Şekil 4.41. GM5 kaplamadan hazırlanan enzim elektrodun kararlılığı.

Şekil 4.42’ de, kararlılık ölçümlerindeki 1, 3, 5, 7 ve 10. kullanım sonunda alınan amperometrik yanıtlar gösterilmiştir.

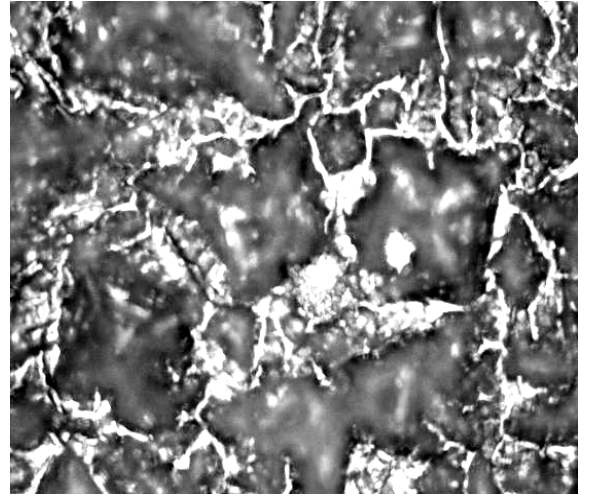


Şekil 4.42. Kararlılık deneylerinde glikoza karşı alınan amperometrik yanıtlar.

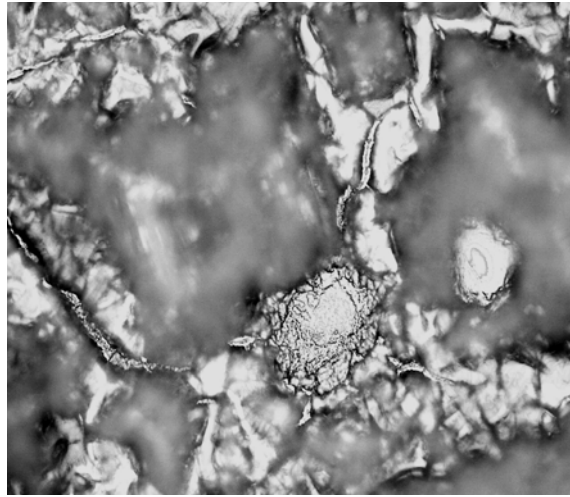
Yukarıda iki farklı enzim elektrot için elde edilen deneysel bulgulara göre, her iki enzim elektrot ile de glikoz tayini yapılabilmektedir. Enzim elektrotlara ilişkin mikroskop görüntüleri Şekil 4.43 ve 4.44’ de gösterilmektedir. Şekil 4.43’ de silisyum cam yüzeyine damlatılıp kurutulmuş ve kaplanmamış enzim görüntüleri verilmiştir. Şekil 4.44’ de ise GMT6 çözeltisinin yanı sıra GM5 ve GT4 çözeltisiyle de kaplanmış olan enzim görüntüleri de verilmiştir.



A

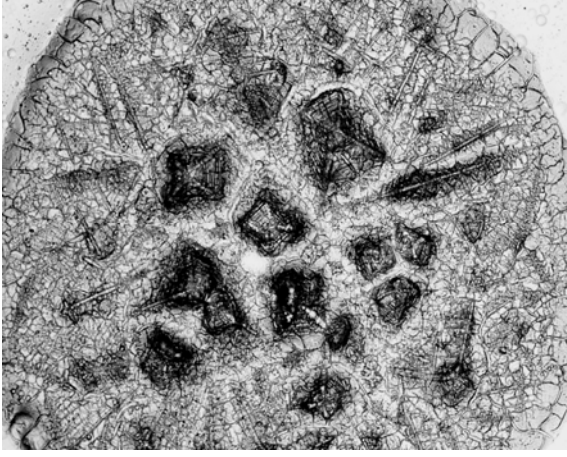


B

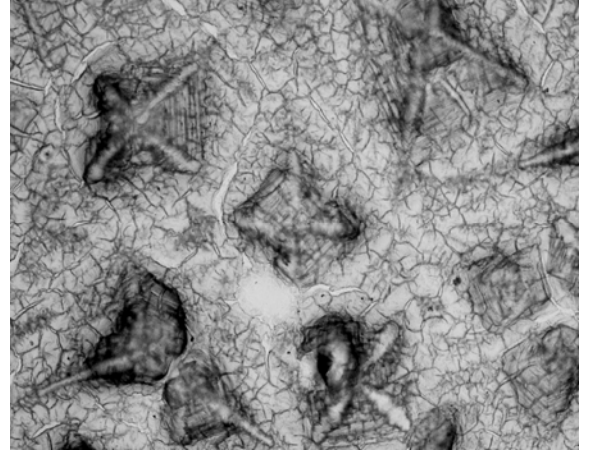


C

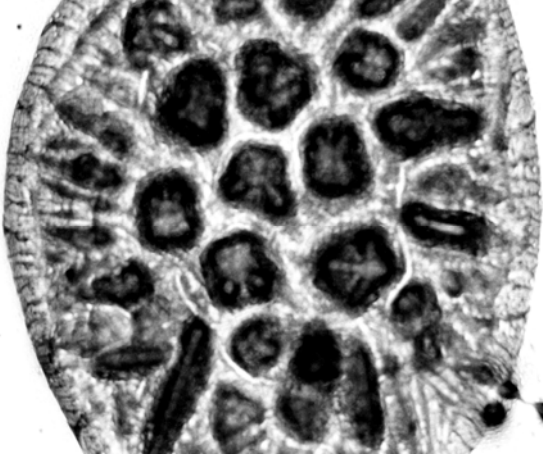
Şekil 4.43. Cam yüzeyde kurutulanan, kaplanmamış enzimin mikroskop görüntüleri (A = 5000 kat, B = 10000 kat, C = 20000 kat büyütülmüş görüntüler).



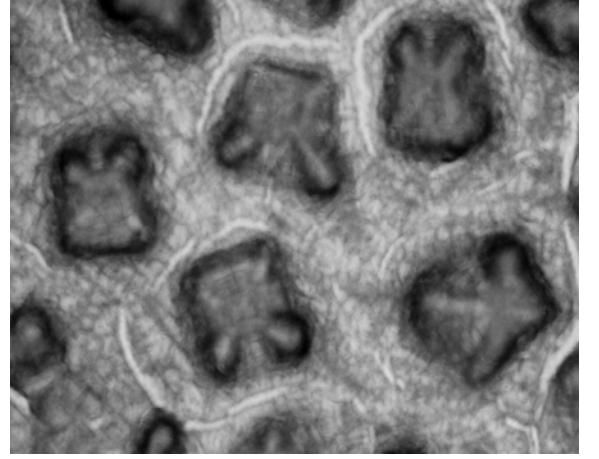
A (GT4)



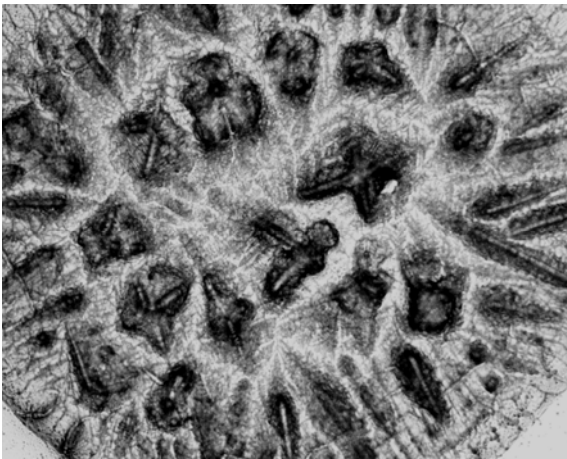
B (GT4)



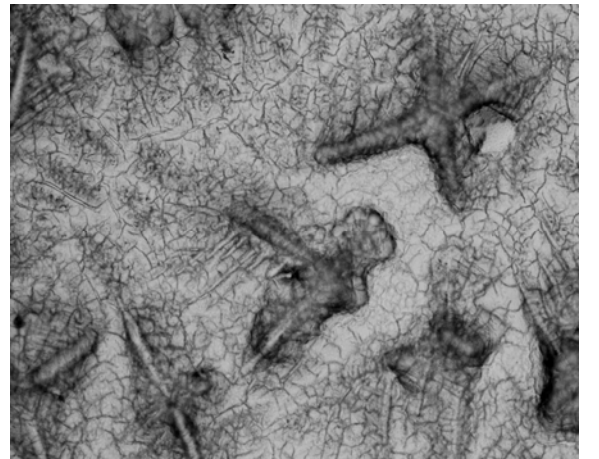
C (GM5)



D (GM5)



E (GMT6)

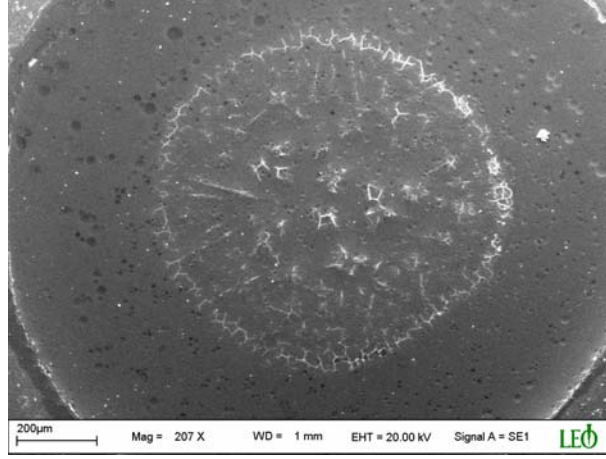


F (GMT6)

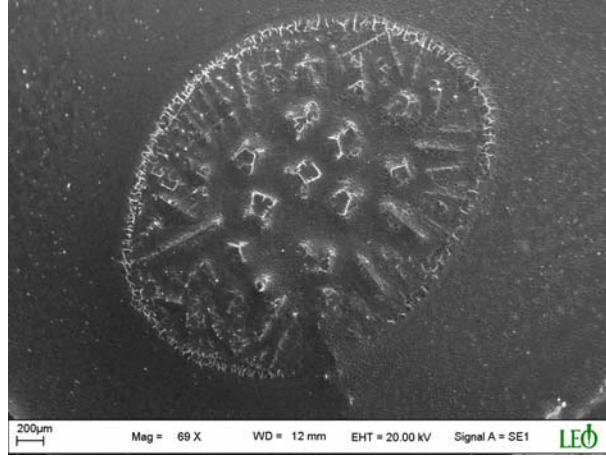
Şekil 4.44. Sol-jel kaplama çözeltileri ile tutuklanmış enzimin mikroskop görüntüleri.

Şekil 4.44’ deki A, C ve E görüntüleri 5000 kat, B, D ve F görüntüleri ise 10000 kat büyütülmüş hali ile gösterilmiştir. Bu şekilden görüleceği gibi sol-jel filmin içeriğinin değişmesi tutuklanmış olan enzim görüntüsünde de değişikliklere sebep olmaktadır. Bu, muhtemelen enzim ile film arasında oluşan bağlanmalardan kaynaklanabilir. 10000 kat büyütülmüş olan filmlerde çatlaklar gözlenmektedir. Elektrot yüzeyi, enzim ve kaplama çözeltisi arasındaki etkileşimler, kuruma esnasındaki gerilmeler, filmin enzim olmadığı duruma göre direkt elektrot yüzeyi ile değil hem enzimle hem de enzimin kurumasından sonra kalan boşluklara yerleşmesi, bunun sonucunda da bazı bölgelerde daha ince bazı bölgelerde daha kalın film tabakasının oluşmasına sebep olabilir. Hidrojen peroksit deneylerinde kullanılan aynı kaplamalar, arada herhangi başka bir madde olmadan doğrudan elektrot yüzeyi ile temas halindedir. Enzim varlığında ise enzimin kurumasından sonra, Şekil 4.43’ de özellikle B ve C resimlerinde görüldüğü gibi enzim tabakası bir bütün halinde değil aralarda boşluklar bulundurmaktadır. Bunun üzerine kaplama çözeltisi damlatılınca, bu çözelti bir taraftan enzimin üzerini örtecek, bir taraftan da oluşan bu boşluklara yerleşecektir. Dolayısıyla enzim varlığında çok homojen bir film oluşumu meydana gelmez. Bu durum, Şekil 4.45’ de verilmiş olan SEM resimlerinde de gözlenmektedir.

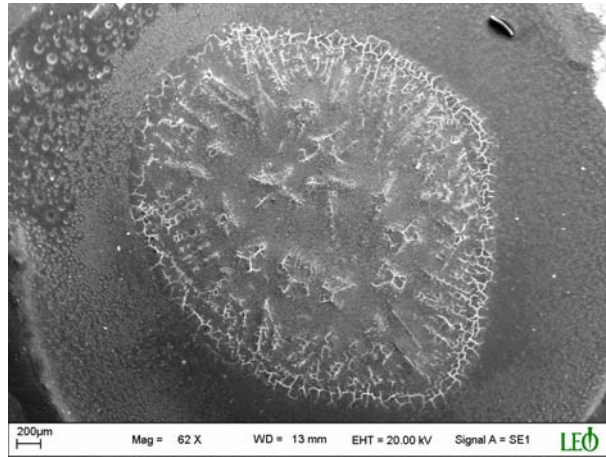
Deneylerde incelenen iki enzim elektrot arasında bir karşılaştırma yapıldığında bazı farklılıklar görülmektedir. İlk olarak, GMT6 filmden hazırlanan enzim Sensör için daha yüksek yanıtlar alınmıştır. Bu durum, iki filmin gözenek yapısının veya gözenek boyutunun farklı olmasından kaynaklanabilir. Şekil 4.44’ deki resimlerden görüldüğü gibi GM5 filmler kullanıldığı zaman enzim daha düzgün bir şekilde kaplamanın altında kalmakta, GMT6 filmlerde ise enzim bir miktar yayılmakta ve enzim parçacıkları arasında boşluklar bulunmaktadır.



GT4



GM5



GMT6

Şekil 4.45. Sol-jel film ile kaplanmış enzim elektrotlara ait SEM görüntüleri

Bu durumda damlatılan çözeltinin daha fazla bir kısmı bu boşluklara gelecektir ve enzimi örten film daha ince olacak, GM5 filmlerde ise enzimi örten kaplama daha kalın kalacaktır. İkinci bir farklılık yanıtlardaki doğrusallıkta gözlenmektedir. GMT6 filmle hazırlanan enzim sensörden 16 mM' a kadar yanıtlar doğrusalken, GM5-enzim sensörden 8 mM' a kadar doğrusal yanıt alınmıştır. Üçüncü olarak enzim sensörlerin kararlılıklarında bir farklılık gözlenmektedir. GMT6 filmlerle yapılan ölçümlerde sensörün kullanılmasıyla yanıtlardaki azalmalar daha fazla olmaktadır. Her iki enzim sensörle 10 kullanım sonunda yapılan ölçümlerde ilk kullanımda alınan yanıtlara göre GMT6 sensörde %59' luk bir azalma varken, GM5 sensörde % 44' lük bir azalma olmuştur. İki sensör arasındaki bu farklılık yine filmlerin gözenekliliğinden kaynaklanabilir. Gözlenen bir diğer farklılık interferantlara karşı sensörlerin göstermiş olduğu davranıştır. GMT6 filmlerde elektroaktif türlerden askorbik aside karşı yanıt alınırken, ürik aside karşı ise çok küçük bir yanıt alınmaktadır. GM5 filmlerde ise bu türlere yanıt alınmamıştır. Bir diğer önemli fark, biyosensörlerin önemli bir karakteristiği olan cevap süresinde gözlenmektedir. Her iki film için de yanıt süreleri film kalınlığına bağlı olarak değişmektedir. GMT6 filmlerle yapılan ölçümlerde yanıt süresi GM5 filmlere nazaran daha kısadır.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışmada, çeşitli silan bileşiklerinin değişik oranlarda karıştırılmasıyla elde edilen sol-jel kaplama çözeltilerinin platin elektrot yüzeylerine damlatılması suretiyle sol-jel modifiye elektrotlar hazırlanmıştır. Bu çözeltilerin bileşiminin, seyreltme oranının ve kurutma sıcaklığı ile kurutma süresinin oluşan filmleri nasıl etkilediği incelenmiştir. Modifiye elektrotlar vasıtasıyla sol-jel filmlerin hidrojen peroksit ve dopamine karşı permselektif davranışları incelenerek, elektrokimyasal deney şartlarının sonuçları nasıl etkilediği belirlenmiş ve optimum değerleri tespit edilmiştir. Ayrıca, bu filmlerin enzim immobilizasyonunda kullanılabilirlikleri ile ilgili çalışmalar yapılmıştır. Hidrojen peroksit deneylerinde en iyi sonuçların alındığı iki farklı filmde glikoz oksidaz enzimi tutuklanarak glikoz sensör uygulaması yapılmış ve elektrokimyasal deney parametreleri optimize edilmiştir.

Çalışmadan elde edilen bulgulara göre, kurutma sıcaklığının oluşan filmleri önemli ölçüde etkilediği, yüksek sıcaklıklarda kurutmanın olumsuz sonuçlar verdiği ve filmlerin yüzeyden düştüğü, oda sıcaklığında yapılan kurutmada ise daha iyi filmlerin oluştuğu tespit edilmiştir. Filmlerin kuruma süresinin kullanılan alkole bağlı olarak değiştiği, bunun da oluşan filmlerin görünümünü etkilediği gözlenmiştir. Sol-jel film bileşiminin de oluşan filmler üzerinde etkili olduğu, birim hacminde fazla miktarda silan içeren filmlerde difüzyonun zorlaşması sebebiyle amperometrik yanıtların azaldığı tespit edilmiştir. MTEOS içeren filmlerin TEOS içeren filmlere göre daha sağlam olmasına rağmen yanıtlarının daha küçük olduğu belirlenmiş, bu iki bileşeni değişik oranlarda içeren filmlerde ise yanıtların TEOS içeriğinin artmasıyla arttığı, filmlerin çok daha düzgün olduğu gözlenmiştir. Kullanılan bütün filmler için hidrojen peroksit ölçümlerinde alınan yanıtların dopamin ölçümlerinden alınan yanıtlardan çok

daha büyük olduğu belirlenmiştir. Böylece bu filmlerin hidrojen peroksit için permselektif membran olarak kullanılmasının daha uygun olabileceği sonucuna varılmıştır. Enzim elektrot çalışmaları sonucunda, bu filmlere enzimin oldukça iyi bir şekilde immobilize edilebileceği ve glikoz sensör olarak kullanılabileceği belirlenmiştir. Denenmiş olan enzim elektrotlar içerisinde, GLYMO+MTEOS içeren GM5-enzim sensörün GLYMO+MTEOS+TEOS içeren GMT6-enzim sensörden daha kararlı olduğunun belirlenmesine karşın, daha küçük yanıtlar verdiği gözlenmiştir. Yine GM5 filmlerin interferantları engellemede daha etkili olduğu belirlenmiştir.

Bu bulguların sonucunda, çalışmada kullanılan sol-jel filmlerin hidrojen peroksit ve glikoz tayininde daha başarılı olduğu tespit edilmiştir. Birkaçı hariç olmak üzere, aynı filmlerle dopamin tayininin de yapılabilmesi ortaya konmuştur.

Yapılan bu çalışma çerçevesinde sol-jel filmlerin elektrot modifikasyonunda başarılı bir şekilde kullanılabileceği belirlenmiştir. Bu çalışmanın en önemli sonuçlarından birisi, kullanılan silan bileşiklerinin miktarının oluşan filmi birçok yönden etkilediğinin belirlenmiş olmasıdır. Literatürde buna yönelik çalışmalar neredeyse yok denecek kadar azdır. Bu yönüyle değerlendirildiği zaman bu çalışma, bundan sonra yapılacak olan çalışmalara bir ışık tutabilir.

Böyle bir çalışmada kullanılabilecek alternatif çıkış maddeleri göz önüne alındığında, bu çalışmanın literatüre önemli katkılarda bulunabileceği düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

- [1] D. T. Sawyer, A. Sobkowiak, J. L. Roberts, *Electrochemistry for chemists*, Wiley, New York, 1995.
- [2] C. M. A. Brett, A. M. O. Brett, *Electrochemistry principles, methods, and applications*, Oxford University Press, New York, 1998.
- [3] A. J. Bard, L. R. Faulkner, *Electrochemical methods, fundamentals and applications*, Wiley, New York, 2001.
- [4] J. A. Plambeck, *Electroanalytical chemistry*, Wiley, New York, 1982.
- [5] J. Wang, *Analytical electrochemistry*, Wiley, New York, 2000.
- [6] P. Monk, *Fundamentals of electroanalytical chemistry*, Wiley, Chichester, 2001.
- [7] A. Yıldız, Ö. Genç, *Enstrümental analiz*, Hacettepe Üniversitesi Yayınları (A-64), Ankara, 1993.
- [8] D. A. Skoog, F. J. Holler, T. A. Nieman, *Enstrümental analiz ilkeleri*, (Çeviri Ed. E. Kılıç, F. Köseoğlu, H. Yılmaz), Bilim Yayıncılık, Ankara, 2000.
- [9] T. Gündüz, *Instrümental analiz*, Gazi Kitabevi, Ankara, 2002.
- [10] P. H. Rieger, *Electrochemistry*, Chapman and Hall Inc., New York, 1994.
- [11] D. A. Skoog, D. M. West, F. J. Holler, *Analitik kimya temelleri I*, (Çeviri Ed. E. Kılıç, F. Köseoğlu), Bilim Yayıncılık, Ankara, 1999.
- [12] E. Gileadi, *Electrode kinetics for chemists, chemical engineers and material scientists*, Wiley, New York, 1993.
- [13] H. D. Abruna, *Coordination chemistry in two dimensions: Chemically modified electrodes*, **Coordination Chem. Rev.**, 86 (1988) 135-189.
- [14] G. K. Budnikov, J. Labuda, *Chemically modified electrodes as amperometric sensors in eletroanalysis*, **Russian Chem. Rev.**, 61 (1992) 816-829.
- [15] D. Diamond, *Principles of chemical and biological sensors*, Wiley, New York, 1998.
- [16] J. Wang, *Modified electrodes for electrochemical sensors*, **Electroanalysis**, 3 (1991) 255-259.
- [17] M. E. G. Lyons, *Electroactive polymer electrochemistry. Part 2: Methods and applications*, Plenum Press, New York, 1996.
- [18] J. M. Zen, A. S. Kumar, D. M. Tsai, *Recent updates of chemically modified electrodes in analytical chemistry*, **Electroanalysis**, 15 (2003) 1073-1087.
- [19] O. Lev, Z. Wu, S. Bharathi, V. Glezer, A. Modestov, J. Gun, L. Rabinovic, S. Sampath, *Sol-gel materials in electrochemistry*, **Chem. Mater.**, 9 (1997) 2354-2375.
- [20] F. Sayılkan, *Organik kirliliği önlemede kullanılabilecek adsorban sentezi ve uygulanması*, Yüksek Lisans Tezi, İnönü Üniversitesi Türkiye, 2003.
- [21] M. G. İçduygu, *Ormoser nanokompozitlerin in-situ polimerizasyonu yöntemiyle hazırlanması ve fizikokimyasal karakterizasyonu*, Doktora Tezi, İnönü Üniversitesi, Türkiye, 2005.
- [22] M. Asiltürk, *Metal alkoksit temelli kompozit materyal sentezi ve boya adsorpsiyonunda kullanımı*, Doktora Tezi, İnönü Üniversitesi, Türkiye, 2007.
- [23] H. Sayılkan, *Sol-jel prosesinin Ti, Zr ve Al alkolatlara uygulanması ve oluşan ürünlerin yapısının aydınlatılması*, Doktora Tezi, İnönü Üniversitesi, Türkiye, 1992.
- [24] C. J. Brinker, G. W. Scherer, *Sol-gel science*, Academic Press, New York, 1989.

- [25] A. C. Pierre, *Introduction to sol-gel processing*, Kluwer Academic Publisher, Boston, 2002.
- [26] M. M. Collinson, *Analytical applications of organically modified silicates*, **Mikrochim. Acta**, 129 (1998) 149-165.
- [27] J. Wen and G. L. Wilkes, *Organic/inorganic hybrid network materials by the sol-gel approach*, **Chem. Mater.**, 8 (1996) 1667-1681.
- [28] H. Haryadi, *Porous hybrid organic-inorganic silica materials: preparation, structural and transport properties*, PhD Thesis, The University of New South Wales Australia, 2005.
- [29] V. S. Tripathi, V. B. Kandimalla, H. Ju, *Preparation of ormosil and its application in the immobilizing biomolecules*, **Sens. Actuators B**, 114 (2006) 1071-1082.
- [30] S. Dash, S. Mishra, S. Patel, B. K. Mishra, *Organically modified silica: Synthesis and applications due to its surface interaction with organic molecules*, **Adv. Colloid Interface Sci.**, 140 (2008) 77-94.
- [31] M. M. Collinson, *Sol-gel strategies for the preparation of selective materials for chemical analysis*, **Critical Rev. Anal. Chem.**, 29 (1999) 289-311.
- [32] J. D. Mackenzie, E. P. Bescher, *Physical properties of sol-gel coatings*, **J. Sol-Gel Sci. Technol.**, 19 (2000) 23-29.
- [33] M. Guglielmi, *Sol-gel coatings on metals*, **J. Sol-Gel Sci. Technol.**, 8 (1997) 443-449.
- [34] M. M. Collinson, *Recent trends in analytical application of organically modified silicate materials*, **Trends Anal. Chem.**, 21 (2002) 30-38.
- [35] T. P. Chou, C. Chandrasekaran, G. Z. Cao, *Sol-gel-derived hybrid coatings for corrosion protection*, **J. Sol-Gel Sci. Technol.**, 26 (2003) 321-327.
- [36] H. Sayilkan, Ş. Şener, E. Şener, M. Sülü, *The sol-gel synthesis and application of some anticorrosive coating materials*, **Mater. Sci.**, 39, (2003), 733-739.
- [37] M. Uyanık, E. Arpaç, H. Schmidt, M. Akarsu, F. Sayilkan, H. Sayilkan, *Heat-resistant hydrophobic-oleophobic coating*, **J. Appl. Poly. Sci.**, 100 (2006) 2386-2392.
- [38] P. Tatar, N. Kiraz, M. Asiltürk, F. Sayilkan, H. Sayilkan, E. Arpaç, *Antibacterial thin films on glass substrate by sol-gel process*, **J. Inorg. Organomet. Poly. Met.**, 17 (2007) 525-533.
- [39] J. Macan, H. Ivankovic, M. Ivankovic, H. J. Mencer, *Synthesis and characterization of organic-inorganic hybrids based on epoxy resin and 3-glycidyloxypropyltrimethoxysilane*, **J. Appl. Poly. Sci.**, 92 (2004) 498-505.
- [40] L. Matejka, O. Dukh, J. Brus, W. J. Simonssick Jr., B. Meissner, *Cage-like structure formation during sol-gel polymerization of glycidyloxypropyltrimethoxy silane*, **J. Non-Cryst. Solids**, 270 (2000) 34-47.
- [41] J. Wu, J. Suls, W. Sansen, *Amperometric glucose with enzyme covalently immobilized by sol-gel technology*, **Anal. Sci.**, 15 (1999) 1029-1032.
- [42] R. Pauliukaite, A. M. C. Paquim, A. M. O. Brett, C. M. A. Brett, *Electrochemical, EIS and AFM characterization of biosensors: Trioxysilane sol-gel encapsulated glucose oxidase with two different redox mediators*, **Electrochim. Acta**, 52 (2006) 1-8.
- [43] K. Wojtach, M. Laczka, K. C. Kowalska, Z. Olejniczak, J. Sokolowska, *Characteristics of colored inorganic-organic hybrid materials*, **J. Non-Cryst. Solids**, 353 (2007) 2099-2103.

- [44] T. L. Metroke, O. Kachurina, E. T. Knobbe, *Spectroscopic and corrosion resistance characterization of GLYMO-TEOS ormosil coating for aluminum alloy corrosion inhibition*, **Prog. Org. Coat.**, 44 (2002) 295-305.
- [45] A. Walcarius, *Electroanalysis with pure, chemically modified and sol-gel derived silica-based materials*, **Electroanalysis**, 13 (2001) 701-718.
- [46] C. McDonagh, F. Sheridan, T. Butler, B. D. MacCraith, *Characterisation of sol-gel-derived silica films*, **J. Non-Cryst. Solids**, 194 (1996) 72-77.
- [47] M. M. Collinson, A. R. Howells, *Sol-gels and electrochemistry: Research at the intersection*, **Anal. Chem.**, (2000) 702A-709A.
- [48] W. Dan, B. Dum, "Sol-Gel Modified Electrode Films", in A.J. Bard and M. Stratmann (Ed.), *Encyclopedia of Electrochemistry*, Vol. 10, Wiley, Weinheim, 2007, 449-460.
- [49] Y. F. Tu, J. W. Di, X. J. Chen, *Study of the nano-size silica sol-gel film as the matrix of chemically modified electrode*, **J. Sol-Gel Sci. Technol.**, 33 (2005) 187-191.
- [50] A. Walcarius, D. Mandler, J. A. Cox, M. Collinson, O. Lev, *Exciting new directions in the intersection of functionalized sol-gel materials with electrochemistry*, **J. Mater. Chem.**, 15 (2005) 3663-3689.
- [51] K. Thenmozhi, S. S. Narayanan, *Electrochemical sensor for H₂O₂ based on thionin immobilized 3-aminopropyltrimethoxy silane derived sol-gel thin film electrode*, **Sens. Actuators B**, 125 (2007) 195-201.
- [52] E. Ekinci, M. Özden, M. H. Türkdemir, A. E. Karagözler, *Preparation and properties of polybenzidine film-coated electrode as an H₂O₂ selective polymeric material*, **J. Appl. Poly. Sci.**, 70 (1998) 2227- 2234.
- [53] F. Ricci, G. Pallesci, *Sensor and biosensors preparation, optimization and applications of prussian blue modified electrodes*, **Biosens. Bioelectron.**, 21 (2005) 389-407.
- [54] S. V. Sasso, R. Pierce, R. Walla, A. Yacynych, *Electropolymerized 1,2-diaminobenzene as a means to prevent interferences and fouling and to stabilize immobilized enzyme in electrochemical biosensors*, **Anal. Chem.**, 62 (1990) 1111-1117.
- [55] M. Özden, E. Ekinci, E. Karagözler, *Electrochemical preparation of poly(o-toluidine) film and its application as a permselective membrane*, **J. Appl. Poly. Sci.**, 71 (1999) 2141-2146.
- [56] S. Köytepe, A. Paşahan, E. Ekinci, T. Seçkin, *Synthesis, characterization and H₂O₂-sensing properties of pyrimidine-based hyperbranched polyimides*, **Europ. Poly. J.**, 41 (2005) 121-127.
- [57] J. Li, S. N. Tan, J. T. Oh, *Silica sol-gel immobilized amperometric enzyme electrode for peroxide determination in the organic phase*, **J. Electroanal. Chem.**, 448 (1998) 69-77.
- [58] C. Sun, W. Li, Y. Sun, X. Zhang, J. Shen, *Fabrication of multilayer films containing horseradish peroxidase based on electrostatic interaction and their application as a hydrogen peroxide sensor*, **Electrochim. Acta**, 44 (1999) 3401-3407.
- [59] X. Chen, B. Wang, S. Dong, *Amperometric biosensor for hydrogen peroxide based on sol-gel/hydrogel composite thin film*, **Electroanalysis**, 13 (2001) 1149-1152.

- [60] P. C. Pandey, S. Upadhyay, I. Tiwari, V. S. Tripathi, *An ormosil-based peroxide biosensor- a comparative study on direct electron transport from horseradish peroxide*, **Sens. Actuators B**, 72 (2001) 224-232.
- [61] D. R. Shankaran, N. Uehera, T. Kato, *Determination of hydrogen peroxide on a metal dispersed sol-gel derived ceramic-graphite composite electrode*, **Anal. Bioanal. Chem.**, 374 (2002) 412-415.
- [62] G. Wang, J. J. Xu, H.Y. Chen, Z. H. Lu, *Amperometric hydrogen peroxide biosensor with sol-gel/chitosan network-like film as immobilization matrix*, **Biosens. Bioelectron.**, 18 (2003) 335-343.
- [63] P. C. Pandey, B. C. Upadhyay, A. K. Upadhyay, *Differential selectivity in electrochemical oxidation of ascorbic acid and hydrogen peroxide at the surface of functionalized Ormosil-modified electrodes*, **Anal. Chim. Acta**, 523 (2004) 219-223.
- [64] T. Selvaraju, R. Ramaraj, *Electrochemically deposited nanostructured platinum on nafion coated electrode for sensor applications*, **J. Electroanal. Chem.**, 585 (2005) 290-300.
- [65] R. E. Sabzi, S. Zare, K. Farhadi, G. Tabrizvand, *Electrocatalytic oxidation of dopamine at so-gel carbon composite electrode chemically modified with copper hexacyanoferrate*, **J. Chinese Chem. Soc.**, 52 (2005) 1079-1084.
- [66] D. R. Shankaran, K. Iimura, T. Kato, *Simultaneous determination of ascorbic acid and dopamine at a sol-gel composite electrode*, **Sens. Actuators B**, 94 (2003) 73-80.
- [67] Z. Chen, K. Hayashi, Y. Iwasaki, R. Kurita, O. Niwa, K. Sunaawa, *On-line monolithic enzyme reactor fabricated by sol-gel process for elimination of ascorbic acid while monitoring dopamine*, **Electroanalysis**, 17 (2005) 231-238.
- [68] G. Erdoğdu, E. Ekinici, A. E. Karagözler, *Preparation and electrochemical behavior of dopamine-selective polymeric membrane*, **Polymer Bull.**, 44 (2000) 195-201.
- [69] E. Ekinici, G. Erdoğdu, A. E. Karagözler, *Investigation of polymerization parameters affecting dopamine selectivity of a polymeric membrane*, **Polymer Bull.**, 44 (2000) 547-553.
- [70] E. Ekinici, G. Erdoğdu, A. E. Karagözler, *Preparation, optimization, and voltametric characteristics of poly(o-phenylenediamine) film as a dopamine-selective polymeric membrane*, **J. Appl. Poly. Sci.**, 79 (2001) 327-332.
- [71] A. Paşahan, S. Köytepe, E. Ekinici, T. Seçkin, *Synthesis, characterization and dopamine selectivity of 1,4-bis(3-aminopropyl)piperazine-containing polyimide*, **Polymer Bull.**, 51 (2004) 351-358.
- [72] A. Salimi, H. MamKhezri, R. Hallaj, *Simultaneous determination of ascorbic acid, uric acid and neurotransmitters with a carbon-ceramic electrode prepared by sol-gel technique*, **Talanta**, 70 (2006) 823-832.
- [73] P. C. Pandey, B. C. Upadhyay, *Studies on differential sensing of dopamine at the surface of chemically sensitized ormosil-modified electrodes*, **Talanta**, 67 (2005) 997-1006.
- [74] R. Makote, M. M. Collison, *Dopamine recognition in templated silicate films*, **Chem. Mater.**, 10 (1998) 425-426.
- [75] B. R. Eggins, *Chemical sensors and biosensors*, Wiley, New York, 2002.
- [76] R. Kellner, J. M. Mermet, M. Otto, M. Valcarcel, H. M. Widmer, *Analytical chemistry: A modern approach to analytical science*, Wiley, Weinheim, 2004.

- [77] M. V. Deshpande and D. P. Amalnerkar, *Biosensors prepared from electrochemically-synthesized conducting polymers*, **Prog. Polym. Sci.**, 18 (1993) 623-649.
- [78] R. S. Freire, C. A. Pessoa, L. D. Mello, L. T. Kubota, *Direct electron transfer: An approach for electrochemical biosensors with higher selectivity and sensitivity*, **J. Braz. Chem. Soc.**, 14 (2003) 230-243.
- [79] A. Chaubey, B. D. Malhotra, *Mediated biosensors*, **Biosens. Bioelectron.**, 17 (2002) 441-456.
- [80] G. Özyılmaz, *Glikoz oksidaz ve katalazın ayrı ayrı ve birlikte immobilizasyonu ve karakterizasyonu*, Doktora Tezi, Çukurova Üniversitesi, Türkiye, (2005).
- [81] S. M. Muhammet, *Kolesterol tayini için biyosensör hazırlanması*, Doktora Tezi, Gazi Üniversitesi, Türkiye, 2008.
- [82] B. C. Dave, J. M. Miller, B. Dunn, J. S. Valentine and J. I. Zink, *Encapsulation of protein in bulk and thin film sol-gel matrices*, **J. Sol-Gel Sci. Technol.**, 8 (1997) 629-634.
- [83] W. Jin and J. D. Brennan, *Properties and application of proteins encapsulated within sol-gel derived materials*, **Anal. Chim. Acta**, 461 (2002) 1-36.
- [84] S. Dong and X. Chen, *Some new aspects in biosensors*, **Rev. Molecular Biotechn.**, 82 (2002) 303-323.
- [85] M. T. Reetz, A. Zonta, J. Simpelkamp, A. Rufinska, B. Tesche, *Characterization of hydrophobic sol-gel materials containing entrapped lipases*, **J. Sol-Gel Sci. Technol.**, 7 (1996) 35-43.
- [86] T. Park, E. Iwuoha, M. R. Smyth, R. Freaney, A. J. MacShane, *Sol-gel based amperometric biosensor incorporating an osmium redox polymer as mediator for detection of L-lactate*, **Talanta**, 44 (1997) 973-978.
- [87] T. Park, E. Iwuoha, M. R. Smyth, *Development of a sol-gel enzyme inhibition-based amperometric biosensor for cyanide*, **Electroanalysis**, 9 (1997) 1120-1123.
- [88] P. C. Pandey, S. Upadhyay, I. Tiwari and V. S. Tripathi, *A novel ormosil based electrocatalytic biosensor for glucose/ethanol based dehydrogenase modified electrode*, **Electroanalysis**, 13 (2001) 820-825.
- [89] P. C. Pandey, G. Singh, *Tetraphenylborate doped polyaniline based novel pH sensor and solid-state urea biosensor*, **Talanta**, 55 (2001) 773-782.
- [90] J. Li, T. Peng and Y. Peng, *A cholesterol biosensor based on entrapment of cholesterol oxidase in silica sol-gel matrix at a prussian blue modified electrode*, **Electroanalysis**, 15 (2003) 1031-1037.
- [91] B. Wang, B. Li, Q. Deng, S. Dong, *Amperometric glucose biosensor based on sol-gel organic-inorganic hybrid material*, **Anal. Chem.**, 70 (1998) 3170-3174.
- [92] R. Pauliukaite and C. M. A. Brett, *Characterization of novel glucose oxysilane sol-gel electrochemical biosensors with copper hexacyanoferrate mediator*, **Electrochim. Acta**, 50 (2005) 4973-4980.
- [93] W. W. Linstromberger, *Modern organik kimya*, (Çev:T. Uyar), Palme Yayınları, Ankara, 1991.
- [94] E. Ekinci, *Elektrokimyasal sensor materyali olarak polimerlerin sentezi ve fizikokimyasal özelliklerinin incelenmesi*, Doktora Tezi, İnönü Üniversitesi Türkiye, 1995.
- [95] İ. Becerik, *Biyosensörler prensip ve uygulamaları (ders notları)*, İTÜ, 1997.

- [96] E. Ekinçi, S. T. Ögünç and A. E. Karagözler, *Electrochemical poly(1,3-phenylenediamine) synthesis as enzyme immobilization media*, **J. Appl. Poly. Sci.**, 68 (1998) 145-152.
- [97] M. Özden, E. Ekinçi and A. E. Karagözler, *Electrochemical synthesis and optimization of poly(4-methoxyphenol) film as a sensor material*, **J. Appl. Poly. Sci.**, 68 (1998) 1941-1947.
- [98] E. Ekinçi, *Preparation and sensor properties of poly(o-toluidine) film*, **Poly. Bull.**, 42 (1999) 693-699.
- [99] J. Li, L. S. Chia, N. K. Goh, S. N. Tan and H. Ge, *Mediated amperometric glucose sensor modified by the sol-gel method*, **Sens. Actuators B**, 40 (1997) 135-141.
- [100] P. C. Pandey, S. Upadhyay, H. C. Pathak, *A new glucose biosensor on sandwich configuration of organically modified sol-gel glass*, **Electroanalysis**, 11 (1999) 59-64.
- [101] P. C. Pandey, S. Upadhyay, H. C. Pathak, *A new glucose sensor based on encapsulated glucose oxidase within organically modified sol-gel glass*, **Sens. Actuators B**, 60 (1999) 83-89.
- [102] S. Liu and Y. Sun, *Co-immobilization of glucose oxidase and hexokinase on silicate hybrid sol-gel membrane for glucose and ATP detections*, **Biosens. Bioelectron.**, 22 (2007) 905-911.
- [103] A. Bertoluzza, C. Fagnano, M. A. Moreli, V. Gottaradi and M. Guglielmi, *Raman and infrared spectra on silica gel evolving toward glass* **J. Non-Cryst. Solids**, 48 (1982) 117-128.
- [104] Y. J. Eo, D. J. Kim, B. S. Bae, K. C. Song, T. Y. Lee and S. W. Song, *Coating of tetraethylorthosilicate(TEOS)/vinyltriethoxysilane(VTES) hybrid solution on polymer films*, **J. Sol-Gel Sci. Technol.**, 13 (1998) 409-413.
- [105] E. Mei, A. M. Bardo, M. M. Collinson and D. A. Higgins, *Single-molecule studies of sol-gel-derived silicate films. Microenvironments and film-drying conditions*, **J. Phys. Chem. B**, 104 (2000) 9973-9980.
- [106] A. Jitianu, A. Britchi, C. Deleanu, V. Badescu and M. Zaharescu, *Comparative study of the sol-gel processes starting with different substituted Si-alkoxides*, **J. Non-Cryst. Solids**, 319 (2003) 263-279.
- [107] E. Vinogradova, M. Estrada and A. Moreno, *Colloidal aggregation phenomena: Spatial structuring of TEOS-derived silica aerogels*, **J. Colloid. Interface Sci.**, 298 (2006) 209-212.
- [108] R. K. Sharma, S. Das and A. Maitra, *Surface modified Ormosil nanoparticle*, **J. Colloid. Interface Sci.**, 277 (2004) 342-346.
- [109] A. Fidalgo, R. Ciriminna, L. M. Ilharco and M. Pagliaro, *Role of the alkyl-alkoxide precursor on the structure and catalytic properties of hybrid sol-gel catalysts*, **Chem. Mater.**, 17 (2005) 6686-6694.
- [110] Z. Chan, L. Ai'mei, Z. Xiao, F. Miao, H. Juan and Z. Hongbing, *Microstructures and properties of ORMOSIL comprising methyl, vinyl, and γ -glycidoxypopyl-substitued silica*, **Opt. Mater.**, 29 (2007) 1543-1547.
- [111] P. Innocenzi, A. Sassi, G. Brustain, M. Guglielmi, D. Favretto, R. Bertani, A. Venzo and F. Babonneau, *A novel synthesis of sol-gel hybrid materials by a nonhydrolytic/hydrolytic reaction of (3-glycidoxypopyl)trimethoxysilane with $TiCl_4$* , **Chem. Mater.**, 13 (2001) 3635-3643.

- [112] B. Z. Zhan, M. A. White and M. Lumsden, *Bonding of organic amino, vinyl, and acryl groups to nanometer-sized NaX zeolite crystal surfaces*, **Langmuir**, 19 (2003) 4205-4210.
- [113] S. Jana, M. A. Lim, I. C. Back, C. H. Kim and S. I. Seok, *Non-hydrolytic sol-gel synthesis of epoxysilane-based inorganic-organic hybrid resins*, **Mater. Chem. Phys.**, 112 (2008) 1008-1014.
- [114] K. Chakrabarti, S. M. Kim, E. O. Oh and C. M. Whay, *Thermal analysis of poly(dimethylsiloxane)-modified silica xerogels*, **Mater. Lett.**, 57 (2002) 192-197.
- [115] M. Nocun, S. Siwulski, E. Leja and J. Jedlinski, *Structural studies of TEOS-tetraethoxytitanate based hybrids*, **Opt. Mater.**, 27 (2005) 1523-1528.
- [116] M. T. Laranjo, V. Stefani, E. V. Benvenutti, T. M. H. Costa, G. O. Ramminger and M. R. Gallas, *Synthesis of ORMOSIL silica/rhodamine 6G: Powders and compacts*, **J. Non-Cryst. Solids**, 353 (2007) 24-30.
- [117] D. K. Chattopadhyay, A. D. Zakula and D. C. Webster, *Organic-inorganic hybrid coatings prepared from glycidyl carbamate resin, 3-aminopropyltrimethoxysilane and tetraethoxyorthosilicate*, **Prog. Org. Coat.**, 64 (2009) 128-137.
- [118] A. Matsuda, Y. Matsuno, M. Tatsumisago and T. Minami, *Changes in porosity and amounts of adsorbed water in sol-gel derived porous silica films with heat treatment*, **J. Sol-Gel Sci. Technol.**, 20 (2001) 129-134.
- [119] M. M. Collinson, H. Wang, R. Makote and A. Khramov, *The effects of drying time and relative humidity on the stability of sol-gel derived silicate films in solution*, **J. Electroanal. Chem.**, 519 (2002) 65-71.
- [120] R. Gupta, S. Mozumdar and N. K. Chaudhury, *Effect of ethanol variation on the internal environment of sol-gel bulk and thin films with aging*, **Biosens. Bioelectron.**, 21 (2005) 549-556.
- [121] J. H. Harreld, T. Ebina, N. Tsubo and G. Stucky, *Manipulation of pore size distributions in silica and ormosil gels dried under ambient pressure conditions*, **J. Non-Cryst. Solids**, 298 (2002) 241-251.

ÖZGEÇMİŞ

1973 Elazığ-Palu doğumlu olan Nizamettin Demirkıran, ilk ve ortaokulu Diyarbakır'da, liseyi ise Malatya' da tamamladıktan sonra, 1996 yılında İnönü Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Kimya Mühendisliği Bölümünden mezun olmuştur. Askerlik hizmetini yerine getirdikten sonra mezun olduğu bölümde 1998 yılında Araştırma Görevlisi olarak çalışmaya başlamıştır. İnönü Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Mühendisliği Anabilim Dalında Yüksek Lisansını 2002' de tamamladıktan sonra 2003 yılında Kimya Anabilim Dalında Doktora'ya başlamıştır. SCI kapsamındaki çeşitli dergilerde yayınlanmış 9 çalışması bulunmaktadır. Evli olup, 2 çocuk sahibidir.