

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

**ENZİM İMMOBİLİZASYON ORTAMI OLARAK POLİİMİD  
MODİFİYE ELEKTROTLARIN HAZIRLANMASI,  
KARAKTERİZASYONU VE OPTİMİZASYONU**

**AZİZ PAŞAHAN**

**DOKTORA TEZİ  
KİMYA ANABİLİM DALI**

**MALATYA  
TEMMUZ 2008**

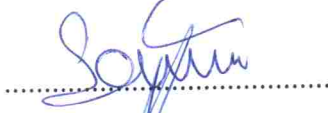
Tezin Başığı: **Enzim İmmobilizasyon Ortamı Olarak Poliimid Modifiye Elektrotların Hazırlanması, Karakterizasyonu ve Optimizasyonu**

Tezi Hazırlayan: **Aziz PAŞAHAN**


Sınav Tarihi:**31.07.2008**

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

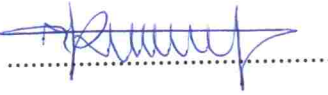
Prof. Dr.Bayram DEMİRCİ



Prof. Dr. Ergun EKİNCİ



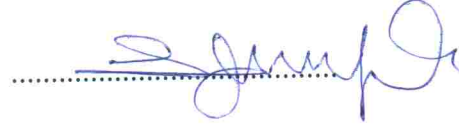
Prof. Dr. Kadir DEMİRELLİ



Prof. Dr.Turgay SEÇKİN



Doç. Dr. Gamze ERDOĞDU



İnönü Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Onayı

Prof.Dr.Ali ŞAHİN  
Enstitü Müdürü

# ÖZET

Doktora Tezi

## ENZİM İMMOBİLİZASYON ORTAMI OLARAK POLİİMİD MODİFİYE ELEKTROTLARIN HAZIRLANMASI, KARAKTERİZASYONU VE OPTİMİZASYONU

Aziz PAŞAHAN  
İnönü Üniversitesi  
Fen Bilimleri Enstitüsü  
Kimya Anabilim Dalı

108 + xii sayfa

2008

Danışman: Prof. Dr. Ergun EKİNCİ

Bu çalışmada, oksidoredüktaz enzimlerin, hazırlanan ve karakterize edilen farklı poliimid materyallerdeki immobilizasyonu incelenmiştir.

Glukoz oksidaz enziminin ilgili matrikslerde başarılı bir şekilde immobilize edildiği bulunmuştur. Polimerik matrikslerdeki immobilizasyonu etkileyen parametreler (polimerik film kalınlığı, enzim miktarı, ortam pH'sı, vb.) sistematik olarak incelenerek, poliimid-GOx esaslı biyosensörler hazırlanmıştır. Daha sonra, hazırlanan biyosensörlerin, duyarlılık, doğrusallık, seçicilik, yanıt süresi ve kararlılık gibi sensör karakteristikleri belirlenmiştir.

Sonuç olarak, değişik poliimid türevlerinin, biyosensör tasarımında alternatif immobilizasyon materyalleri olarak kullanılabilmesi iddia edilmektedir.

**Anahtar Kelimeler:** Enzim immobilizasyonu, poliimid matriks, glukoz oksidaz, biyosensör.

## ABSTARCT

Ph. D. Thesis

### THE PRAPARATION, CHARACTERIZATION AND OPTIMIZATION OF POLYIMIDE MODIFIED ELECTRODES AS ENZYME IMMOBOLIZATION MEDIA

Aziz PAŞAHAN

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

108 + xii pages

2008

Supervisor: Prof. Dr. Ergun EKİNCİ

In this study, the immobilization of oxido-reductase enzymes in the prepared and characterized various polyimide materials was investigated.

It has been found that glucose oxidase enzyme was successfully immobilized in the relevant matrices. By systematically examining the parameters (polymeric film thickness, enzyme amount, medium pH, eg.) affecting immobilization in the polymeric matrices, polyimide-GOx based biosensors have been prepared. Then, the sensor characteristics such as sensitivity, linearity, selectivity, response time and stability of the prepared biosensors have been determined.

As a result, it has been claimed that various polyimide derivatives could be used as alternative immobilization materials for the biosensor design.

**Keywords:** Enzyme immobilization, polyimide matrice, glucose oxidase, biosensor.

## TEŞEKKÜR

Bana bu alıŐma imkanını sağlayan ve alıŐmalarım boyunca bilimsel ve manevi yardımlarını esirgemeyen hocam Sayın Prof. Dr. Ergun EKİNCİ'ye;

Ayrıca poliimid sentez ve karakterizasyonu konusundaki yardımlarından dolayı, Sayın Prof. Dr. Turgay SEÇKİN ve ArŐ. Grv. Dr. Süleyman Köytepe'ye, çalıŐmalarım sırasındaki manevi desteklerinden ve sabırlarından dolayı aynı laboratuvarı paylaŐtıđım ArŐ. Grv. Dr. Bilge EMRE ve ArŐ. Grv. Nizamettin DEMİRKIRAN' a, aileme, eŐime ve değerli arkadaşım Veysi URĐATAY'a ;

Teşekkür ederim.

## İÇİNDEKİLER

ÖZET .....	i
ABSTRACT .....	ii
TEŞEKKÜR .....	iii
İÇİNDEKİLER .....	iv
ŞEKİLLER DİZİNİ .....	vii
TABLolar DİZİNİ .....	xi
SEMBOL VE KISALTMALAR .....	xii
1. GİRİŞ VE AMAÇ .....	1
2. KURAMSAL TEMELLER .....	2
2.1. Elektrotlar .....	2
2.1.1. Elektrot çeşitleri .....	2
2.1.1.1. Referans elektrotlar .....	4
2.1.1.1.1. Standart hidrojen elektrodu .....	4
2.1.1.1.2. Kalomel elektrot .....	5
2.1.1.1.3. Gümüş/gümüş klorür elektrodu .....	5
2.2. Elektrotların Kimyasal Modifikasyonu .....	5
2.2.1. Elektrotların kimyasal modifikasyonunda polimerlerin kullanımı .....	8
2.3. Biyosensörler .....	10
2.3.1. Biyosensörlerin yapısı ve çalışma prensibi .....	10
2.3.2. Biyosensörlerin uygulama alanları .....	11
2.3.3. Biyosensörlerle ölçülen maddeler .....	12
2.3.4. Enzim Sensörleri .....	13
2.3.4.1. Enzim sensörlerinin sınıflandırılması .....	15
2.3.4.2. Enzim sensörlerin performans faktörleri .....	16
2.3.4.2.1. Duyarlılık .....	16
2.3.4.2.2. Doğrusallık .....	16
2.3.4.2.3. Seçicilik .....	16
2.3.4.2.4. Yanıt süresi .....	17
2.3.4.2.5. Kararlılık .....	17
2.3.4.2.6. Diğer performans faktörleri .....	18
2.3.4.3. Enzim immobilizasyonu .....	19
2.3.4.3.1. Kovalent bağlanma .....	19
2.3.4.3.2. Tutuklanma .....	19
2.3.4.3.3. Adsorpsiyon .....	20
2.3.4.3.4. Çapraz bağlanma .....	21
2.3.4.3.5. Transduser yüzeyinin kaplanması .....	21
2.3.4.3.5.1. Daldırma yöntemi .....	21
2.3.4.3.5.2. Doğrudan bağlama yöntemi .....	21
2.3.4.3.5.3. Aeresol kullanımı .....	22
2.3.4.3.5.4. Membran kullanımı .....	22
2.3.4.3. Glukoz biyosensörü .....	22
2.3.4.4. Galaktoz biyosensörü .....	24
2.4. Poliimidler .....	25
2.4.1. Poliimidlerin genel özellikleri .....	25
2.4.2. Poliimidlerin yapısı .....	26
2.4.3. Poliimidlerin sınıflandırılması .....	27
2.4.3.1. Kondenzasyon ürünü poliimidler .....	28
2.4.3.2. Termoset poliimidler .....	28

2.4.3.3.	Katılma türü poliididler (Maleimit- bazlı poliididler).....	29
2.4.3.4.	Termoplastik poliididler.....	29
2.4.4.	Poliididlerin sentezi .....	30
2.4.4.1.	İki basamaklı poliidid sentezi.....	30
2.4.4.1.1.	Poli(amikasit) oluşumu .....	31
2.4.4.1.2.	Poli(amik asit) lerin termal imidizasyonu .....	31
2.4.4.2.	Poliididlerin tek basamaklı yüksek sıcaklık çözelti polimerizasyonu.....	32
2.4.5.	Membran materyali olarak poliididlerin kullanılması ve avantajları .....	33
3.	MATERYAL VE METOD .....	36
3.1.	Deneysel Araç ve Gereçler.....	36
3.1.1.	Elektrotlar.....	38
3.1.1.1	Elektrotların Temizliği .....	38
3.1.2.	Ölçüm çözeltisi.....	39
3.2.	Kimyasal Maddeler .....	39
4.	ARAŞTIRMA BULGULARI .....	40
4.1.	Poli[4,4'-diaminodifeniletan-piromellitimid]'in Sentezi .....	40
4.2.	Schiff Bazı Temelli Poliididler .....	42
4.2.1.	Monomer sentezi .....	42
4.2.2.	Poliidid sentezi .....	43
4.3.	Poliididlerin Çözünürlük Testleri.....	46
4.4.	Polimerlerin Viskozluk ölçümü .....	46
4.5.	Poliididlerin Molekül Ağırlığı ve Heterojenlik İndeksi Ölçümleri.....	47
4.6.	Enzim İmmobilizasyonu .....	49
4.6.1	Galaktoz oksidaz immobilizasyonu .....	49
4.6.2.	Glukoz oksidaz immobilizasyonu .....	51
4.6.2.1.	Poli[4,4'-diaminodifeniletan-benzofenontetrakarboksilik diimid] - GOx elektrodu.....	51
4.6.2.1.1.	Yanıtlar üzerine film kalınlığının etkisi .....	53
4.6.2.1.2.	Yanıtlar üzerine enzim miktarının etkisi .....	55
4.6.2.1.3.	Yanıtlar üzerine pH etkisi .....	55
4.6.2.1.4.	Poliidid ve enzim elektrodun glukoz enjeksiyonlarına yanıtı .....	56
4.6.2.1.5.	Enzim elektrodun interferans yapıcı türlere karşı davranışı.....	60
4.6.2.1.6.	Enzim elektrodun kararlılığı.....	60
4.6.2.1.7.	Poliidid ve enzim elektrodun sem fotoğrafları.....	61
4.6.2.2.	Poli [tris( <i>p</i> -aminofenoksi)fosfinoksid)-3,3',4,4'-benzofenontetrakarboksilik diimid] -GOx elektrodu .....	63
4.6.2.2.1.	Yanıtlar üzerine film kalınlığının etkisi .....	65
4.6.2.2.2.	Yanıtlar üzerine enzim miktarının etkisi .....	66
4.6.2.2.3.	Yanıtlar üzerine pH etkisi .....	67
4.6.2.2.4.	Poliidid ve enzim elektrodun glukoz enjeksiyonlarına yanıtı .....	68
4.6.2.2.5.	Enzim elektrodun interferans yapıcı türlere karşı davranışı.....	72
4.6.2.2.6.	Enzim elektrodun kararlılığı.....	72
4.6.2.2.7.	Poliidid ve enzim elektrodun sem fotoğrafları.....	73
4.6.2.3.	Poli(4,4' diaminodifeniletan piromelitimid) - GOx elektrodu .....	75
4.6.2.3.1.	Yanıtlar üzerine film kalınlığının etkisi .....	75
4.6.2.3.2.	Yanıtlar üzerine enzim miktarının etkisi .....	75
4.6.2.3.3.	Yanıtlar üzerine pH etkisi .....	76
4.6.2.3.4.	Enzim elektrodun glukoz enjeksiyonlarına yanıtı .....	77
4.6.2.3.5.	Enzim elektrodun interferans yapıcı türlere karşı davranışı.....	80
4.6.2.3.6.	Enzim elektrodun kararlılığı.....	80

4.6.2.3.7.	Poliimid ve enzim elektrodun sem fotoğrafları.....	81
4.6.2.4.	Schiff bazı temelli poliimidlerin enzim immobilizasyonunda kullanılması .....	83
4.6.2.4.1.	Poli[bis(( <i>p</i> -dimetilaminobenziliden)-1,5- naftalen)- piromelitimid] -GOx elektrodu .....	83
4.6.2.4.2.	Poli[bis(( <i>p</i> -dimetilaminobenziliden)-1,5- naftalen)-3,3',4,4'-benzofenontetra karboksilikdiimid] - GOx elektrodu .....	84
4.6.2.4.3.	Poli[bis(( <i>p</i> -dimetilaminobenziliden)-1,5-naftalen)-4,4'-oksidifitalikdiimid]-GOx elektrodu.....	86
4.6.2.4.3.1.	Yanıtlar üzerine enzim miktarının etkisi .....	86
4.6.2.4.3.2.	Enzim elektrodun glukoz enjeksiyonlarına yanıtı .....	87
4.6.2.4.3.3.	Enzim elektrodun interferans yapıcı türlere karşı davranışı .....	88
4.6.2.4.3.4.	Poliimid ve enzim elektrodun sem fotoğrafları.....	89
4.6.2.4.4.	Poli[bis(( <i>p</i> -dimetilaminobenziliden)-1,5-naftalen)-3,3',4,4'-bifeniltetrakarboksilikdiimid]-GOx elektrodu .....	91
4.6.2.4.5.	Poli[bis(( <i>p</i> -dimetilaminobenziliden)-1,5-naftalen)-4,4'-hegzafloizoizopropilidendifitalimid]- GOx elektrodu .....	92
4.6.2.5.	Diaminopiridin Schiff bazı temelli poliimidlerin enzim immobilizasyonunda kullanılması .....	94
4.6.2.5.1.	PI-7-GOx elektrodu .....	94
4.6.2.5.2.	PI-8-GOx elektrodu .....	95
4.6.2.5.3.	PI-9-GOx elektrodu.....	95
4.6.2.5.4.	PI-10-GOx elektrodu.....	96
4.6.2.5.4.1.	Poliimid ve enzim elektrodun sem fotoğrafları.....	98
5.	SONUÇ VE TARTIŞMA.....	100
	KAYNAKLAR.....	102
	ÖZGEÇMİŞ .....	108

## ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1.	Elektrokimyasal pil çeşitleri.....	2
Şekil 2.2.	Biyosensörlerin çalışmasındaki aşamalar.....	11
Şekil 2.3.	Bir enzim sensörün şematik gösterimi .....	14
Şekil 2.4.	Glukoz oksidazın atomik modeli.....	24
Şekil 2.5.	Galaktoz oksidazın yapısı.....	25
Şekil 2.6.	Poliimid yapısında donör ve akseptör gruplar.....	27
Şekil 2.7.	Genel imid yapıları .....	27
Şekil 2.8.	Asetilen uç gruplu poliimidlerin hazırlanması.....	29
Şekil 2.9.	İki basamaklı poliimid sentez şeması.....	30
Şekil 2.10.	Poliamik asidin oluşumu .....	31
Şekil 2.11.	Termal imidizasyon mekanizması.....	32
Şekil 2.12.	Tiyoanhidritten poliimid sentezi .....	33
Şekil 3.1.	BAS 100W elektrokimyasal analizör.....	37
Şekil 3.2.	Mikro hücre ve montajı .....	37
Şekil 4.1.	Poli[4,4'-diaminodifeniletan-promellitimid]'e ait sentez şeması .....	40
Şekil 4.2.	Poli[4,4'-diaminodifeniletan-piromellitimid]'e ait FT-IR spektrumu .....	41
Şekil 4.3.	Poli[4,4'-diaminodifeniletan-piromellitimid]'e ait DSC termogramı .....	41
Şekil 4.4.	Poli[4,4'-diaminodifeniletan-piromellitimid]'e ait TGA, DTA termogramları... ..	42
Şekil 4.5.	2,6-bis ( <i>p</i> -dimetilaminobenziliden)-1,5 naftalendiamin sentezi.....	43
Şekil 4.6.	Schiff bazı temelli poliimidlere ait sentez şeması.....	43
Şekil 4.7.	Schiff bazı temelli poliimidlere ait FT-IR spektrumu.....	44
Şekil 4.8.	Schiff bazı temelli poliimidlere ait DSC termogramı.....	44
Şekil 4.9.	Schiff bazı temelli poliimidlere ait DTA termogramı.....	45
Şekil 4.10.	Schiff bazı temelli poliimidlere ait TGA termogramı.....	45
Şekil 4.11.	(A) Çıplak Pt elektrodun galaktoza yanıtı (pH=6) (B) Çıplak Pt elektrodun galaktoza yanıtı (pH=7) (C) Çıplak Pt elektrodun galaktoza yanıtı (pH=8) (D) Çıplak Pt elektrodun galaktoza yanıtı (pH=9) (E) Çıplak Pt elektrodun galaktoza yanıtı (pH=10) (F) Çıplak Pt elektrodun galaktoza yanıtı (pH=11).....	50
Şekil 4.12.	1µl'lik poliimid + GOx karışımından oluşan elektrodun glukozaya yanıtı .....	51
Şekil 4.13.	2µl'lik poliimid + GOx karışımından oluşan elektrodun glukozaya yanıtı.....	52
Şekil 4.14.	3µl'lik poliimid + GOx karışımından oluşan elektrodun glukozaya yanıtı.....	52
Şekil 4.15.	(A) 2µl GOx- 4µl poli[4,4'-diaminodifeniletan-benzofenontetrakarbonsilik diimid] elektrodun glukozaya yanıtı (B) 2µl GOx - 3µl poli[4,4'-diaminodifeniletan-benzofenontetrakarbonsilik diimid] elektrodun glukozaya yanıtı (C) 2µl GOx - 2µl poli[4,4'-diaminodifeniletan-benzofenontetrakarbonsilik diimid] elektrodun glukozaya yanıtı (D) 2µl GOx - 1µl poli[4,4'-diaminodifeniletan-benzofenontetrakarbonsilik diimid] elektrodun glukozaya yanıtı.....	54
Şekil 4.16.	1µl GOx - 1µl poli[4,4'-diaminodifeniletan-benzofenontetrakarbonsilik diimid] elektrodun glukozaya yanıtı.....	55
Şekil 4.17.	2µl GOx - 1µl poli[4,4'-diaminodifeniletan-benzofenontetrakarbonsilik diimid] elektrodun amperometrik yanıtı üzerine pH etkisi .....	56
Şekil 4.18.	Poli[4,4'-diaminodifeniletan-benzofenontetrakarbonsilikdiimid] elektrodun glukozaya yanıtı .....	57
Şekil 4.19.	Poli[4,4'-diaminodifeniletan-benzofenontetrakarbonsilikdiimid]- GOx	

	elektrodun ilk kullanımında glukozaya yanıtı.....	57
<b>Şekil 4.20.</b>	Poli[4,4'-diaminodifeniletan-benzofenontetrakarbonsilikdiimid]- GOx elektrodun ikinci kullanımında glukozaya yanıtı.....	58
<b>Şekil 4.21.</b>	Poli[4,4'-diaminodifeniletan-benzofenontetrakarbonsilikdiimid]-GOx elektrodun glukozaya yanıt grafiği.....	59
<b>Şekil 4.22.</b>	Poli[4,4'-diaminodifeniletan-benzofenontetrakarbonsilikdiimid] -GOx elektrodun glukoz için kalibrasyon grafiği.....	59
<b>Şekil 4.23.</b>	Poli[4,4'-diaminodifeniletan-benzofenontetrakarbonsilikdiimid]-GOx elektrodun glukoz seçiciliği.....	60
<b>Şekil 4.24.</b>	Poli[4,4'-diaminodifeniletan-benzofenontetrakarbonsilikdiimid]-GOx elektrodun kararlılığı.....	61
<b>Şekil 4.25.</b>	SiO <sub>2</sub> camın SEM görüntüsü.....	62
<b>Şekil 4.26.</b>	Poli[4,4'-diaminodifeniletan-benzofenontetrakarbonsilikdiimid] elektrodu için SEM.....	62
<b>Şekil 4.27.</b>	Poli[4,4'-diaminodifeniletan-benzofenontetrakarbonsilikdiimid]-GOx elektrodu için SEM.....	63
<b>Şekil 4.28.</b>	1µl'lik poliimid + GOx karışımından oluşan elektrodun glukozaya yanıtı.....	64
<b>Şekil 4.29.</b>	2µl'lik poliimid + GOx karışımından oluşan elektrodun glukozaya yanıtı.....	64
<b>Şekil 4.30.</b>	3µl'lik poliimid + GOx karışımından oluşan elektrodun glukozaya yanıtı.....	65
<b>Şekil 4.31.</b>	(A) 2µl GOx- 4µl poliimid elektrodun glukozaya yanıtı (B) 2µl GOx -3µl poliimid elektrodun glukozaya yanıtı (C) 2µl GOx-2µl poliimid elektrodun glukozaya yanıtı (D) 2µl GOx -1µl poliimid elektrodun glukozaya yanıtı.....	66
<b>Şekil 4.32.</b>	1µl GOx - 1µl poli[tris((p-aminofenoksi)fosfinoksid) -3,3',4,4'-benzofenon tetrakarbonsilikdiimid] elektrodun glukozaya yanıtı.....	67
<b>Şekil 4.33.</b>	Poli[tris((p-aminofenoksi)fosfinoksid) -3,3',4,4'- benzofenontetra karbonsilik diimid]-GOx elektrodun amperometrik yanıt üzerine pH etkisi.....	68
<b>Şekil 4.34.</b>	Poli[tris((p-aminofenoksi)fosfinoksid) -3,3',4,4'- benzofenontetrakarbonsilik diimid] elektrodun glukozaya amperometrik davranışı.....	69
<b>Şekil 4.35.</b>	Poli[tris((p-aminofenoksi)fosfinoksid) -3,3',4,4'- benzofenontetrakarbonsilik diimid]-GOx elektrodun birinci kullanımında glukozaya amperometrik davranışı...	69
<b>Şekil 4.36.</b>	Poli[tris((p-aminofenoksi)fosfinoksid) -3,3',4,4'- benzofenontetrakarbonsilik diimid]-GOx elektrodun ikinci kullanımında glukozaya amperometrik davranışı.....	70
<b>Şekil 4.37.</b>	Poli[tris((p-aminofenoksi)fosfinoksid) -3,3',4,4'- benzofenontetrakarbonsilik diimid]-GOx elektrot ile glukoz için elde edilen yanıt grafiği.....	71
<b>Şekil 4.38.</b>	Poli[tris((p-aminofenoksi)fosfinoksid) -3,3',4,4'- benzofenontetrakarbonsilik diimid]- GOx elektrodun glukoz için kalibrasyon grafiği.....	71
<b>Şekil 4.39.</b>	Poli[tris((p-aminofenoksi)fosfinoksid) -3,3',4,4'- benzofenontetrakarbonsilik diimid]- GOx glukoz seçiciliği.....	72
<b>Şekil 4.40.</b>	Poli[tris(p-aminofenoksi)fosfinoksid -3,3',4,4'- benzofenontetrakarbonsilik diimid]- GOx elektrodun kararlılığı.....	73
<b>Şekil 4.41.</b>	Poli[tris((p-aminofenoksi)fosfinoksid) -3,3',4,4'- benzofenontetrakarbonsilik diimid]- elektrodu için SEM.....	74
<b>Şekil 4.42.</b>	Poli[tris((p-aminofenoksi)fosfinoksid) -3,3',4,4'- benzofenontetrakarbonsilik diimid]- GOx elektrodu için SEM.....	74
<b>Şekil 4.43.</b>	(A) 2µl GOx - 2µl poli[4,4'-diaminodifeniletan-piromellitimid] elektrodun glukozaya yanıtları (B) 2µl GOx - 1µl poli[4,4'-diaminodifeniletan-piromellitimid] elektrodun glukozaya yanıtları.....	75
<b>Şekil 4.44.</b>	1µl GOx - 1µl poli[4,4'-diaminodifeniletan-piromellitimid] elektrodun	

	glukoza yanıtları .....	76
<b>Şekil 4.45.</b>	Poli[4,4'-diaminodifeniletan-piromellitimid]-GOx elektrodun amperometrik yanıtı üzerine pH etkisi.....	77
<b>Şekil 4.46.</b>	Poli[4,4'-diaminodifeniletan-piromellitimid]-GOx elektrodun birinci kullanımda glukoza amperometrik davranışı.....	78
<b>Şekil 4.47.</b>	Poli[4,4'-diaminodifeniletan-piromellitimid]-GOx elektrodun ikinci kullanımda glukoza amperometrik davranışı .....	78
<b>Şekil 4.48.</b>	Poli[4,4'-diaminodifeniletan-piromellitimid]-GOX elektrot ile glukoz için elde edilen yanıt grafiği.....	79
<b>Şekil 4.49.</b>	Poli[4,4'-diaminodifeniletan- piromellitimid] -GOx elektrodun glukoz için kalibrasyon grafiği.....	79
<b>Şekil 4.50.</b>	Poli[4,4'-diaminodifeniletan-piromellitimid]-GOX elektrodun glukoz seçiciliği.....	80
<b>Şekil 4.51.</b>	Poli[4,4'-diaminodifeniletan-piromellitimid] -GOX elektrodun kararlılığı.....	81
<b>Şekil 4.52.</b>	Poli[4,4'-diaminodifeniletan-piromellitimid] elektrodu için SEM.....	82
<b>Şekil 4.53.</b>	Poli[4,4'-diaminodifeniletan-piromellitimid]-GOx elektrodu için SEM.....	82
<b>Şekil 4.54.</b>	2µl GOx - 1µl poli[bis(( <i>p</i> -dimetilaminobenziliden)-1,5- naftalen)-piromelitimid] elektrodun birinci kullanımda glukoza amperometrik davranışı .....	83
<b>Şekil 4.55.</b>	2µl GOx - 1µl poli[bis(( <i>p</i> -dimetilaminobenziliden)-1,5- naftalen)-piromelitimid] elektrodun ikinci kullanımda glukoza amperometrik davranışı .....	84
<b>Şekil 4.56.</b>	2µl GOx-1µl poli[bis(( <i>p</i> -dimetilaminobenziliden)-1,5-naftalen)- 3,3',4,4'-benzofenontetrakarboksilikdiimid] elektrodun ikinci kullanımda glukoza amperometrik davranışı.....	85
<b>Şekil 4.57.</b>	2µl GOx-1µl poli[bis(( <i>p</i> -dimetilaminobenziliden)-1,5-naftalen)- 3,3',4,4'-benzofenontetrakarboksilikdiimid] elektrodun ikinci kullanımda glukoza amperometrik davranışı.....	85
<b>Şekil 4.58.</b>	(A) 2µl GOx+1µl poli[bis(( <i>p</i> -dimetilaminobenziliden)-1,5-naftalen)-4,4'-oksidifitalik diimid] elektrodun glukoza yanıtları (B) 4µl GOx+1µl poli[bis(( <i>p</i> -dimetilaminobenziliden)-1,5-naftalen)-4,4'-oksidifitalik diimid] elektrodun glukoza yanıtları.....	86
<b>Şekil 4.59.</b>	4µl GOx - 1µl poli[bis(( <i>p</i> -dimetilaminobenziliden)-1,5- naftalen)-4,4'-oksidifitalik diimid] elektrodun birinci kullanımda glukoza amperometrik davranışı. ....	87
<b>Şekil 4.60.</b>	4µl GOx - 1µl poli[bis(( <i>p</i> -dimetilaminobenziliden)-1,5- naftalen)-4,4'-oksidifitalik diimid] elektrodun ikinci kullanımda glukoza amperometrik davranışı.....	88
<b>Şekil 4.61.</b>	Poli[bis(( <i>p</i> -dimetilaminobenziliden)-1,5- naftalen)-4,4'-oksidifitalik diimid]-GOX elektrodun glukoz seçiciliği .....	89
<b>Şekil 4.62.</b>	Poli[bis(( <i>p</i> -dimetilaminobenziliden)-1,5- naftalen)-4,4'-oksidifitalik diimid] elektrodu için SEM.....	90
<b>Şekil 4.63.</b>	Poli[bis(( <i>p</i> -dimetilaminobenziliden)-1,5- naftalen)-4,4'-oksidifitalik diimid]-GOX elektrodu için SEM .....	90
<b>Şekil 4.64.</b>	2µl GOx -1µl poli[bis(( <i>p</i> -dimetilaminobenziliden)-1,5-naftalen)-3,3',4,4'-bifeniltetrakarboksilikdiimid] elektrodun birinci kullanımda glukoza amperometrik davranışı .....	91
<b>Şekil 4.65.</b>	2µl GOx -1µl poli[bis(( <i>p</i> -dimetilaminobenziliden)-1,5-naftalen)-3,3',4,4'-bifeniltetrakarboksilikdiimid] elektrodun ikinci kullanımda glukoza amperometrik davranışı.....	92

<b>Şekil 4.66.</b>	2µl GOx -1µl poli[bis( <i>p</i> -dimetilaminobenziliden)-1,5-naftalen)- 4,4'-hegzafloroizopropilidendifitalimid] elektrodun birinci kullanımında glukoza amperometrik davranışı.....	93
<b>Şekil 4.67.</b>	2µl GOx -1µl poli[bis( <i>p</i> -dimetilaminobenziliden)-1,5-naftalen)- 4,4'-hegzafloroizopropilidendifitalimid] elektrodun ikinci kullanımında glukoza amperometrik davranışı.....	93
<b>Şekil 4.68.</b>	2µl GOx-1µl PI-7-GOx elektrodun glukoza amperometrik davranışı.....	94
<b>Şekil 4.69.</b>	2µl GOx -1µl PI-8-GOx elektrodun glukoza amperometrik davranışı.....	95
<b>Şekil 4.70.</b>	2µl GOx -1µl PI-9-GOx elektrodun glukoza amperometrik davranışı.....	96
<b>Şekil 4.71.</b>	2µl GOx -1µl PI-10-GPx elektrodun birinci kullanımında glukoza amperometrik davranışı.....	97
<b>Şekil 4.72.</b>	2µl GOx -1µl PI-10-GOx elektrodun ikinci kullanımında glukoza amperometrik davranışı.....	97
<b>Şekil 4.73.</b>	PI-10 elektrodu için SEM.....	98
<b>Şekil 4.74.</b>	PI-10-GOx elektrodu için SEM.....	99

## TABLolar DİZİNİ

<b>Tablo 2.1.</b>	Elektrot modifikasyon şeması .....	7
<b>Tablo 2.2.</b>	Biyosensörler için uygulama olanakları .....	12
<b>Tablo 2.3.</b>	Enzim sensörlerinin sınıflandırması .....	15
<b>Tablo 4.1.</b>	Schiff bazı temelli poliiimidlerin simgeleri, anhidritleri ve isimleri.....	42
<b>Tablo 4.2.</b>	Viskozite ölçümünde kullanılan çözelti miktarı .....	46
<b>Tablo 4.3.</b>	Viskozite türleri.....	47
<b>Tablo 4.4.</b>	Sentezlenen poliiimidlerin simge ve isimleri .....	47
<b>Tablo 4.5.</b>	Poliimidlere ait bazı temel fizikokimyasal özellikler.....	48
<b>Tablo 4.6.</b>	Poliimidlerin termal özellikleri .....	48
<b>Tablo 4.7.</b>	Poliimidlerin elementel analiz sonuçları .....	48
<b>Tablo 4.8.</b>	2,6-diaminpiridinden hazırlanan poliiimidlerin simgeleri ve anhidritleri .....	94

## SEMBOL VE KISALTMALAR

<b>PI</b>	poliimid
<b>H.I.</b>	heterojenlik indeksi
<b>DTA</b>	diferansiyel termal analiz
<b>TGA</b>	termogravimetrik analiz
<b>DSC</b>	diferansiyel taramalı kalorimetre
<b>FT-IR</b>	fourier transform infrared spektroskopisi
<b>GOx</b>	glukoz oksidaz
<b>IDT</b>	bozunma başlangıç sıcaklığı
<b>i</b>	akım
<b>J</b>	akım yoğunluğu
<b>NMP</b>	N-metilpirolidon
<b>DMF</b>	N,N-dimetilformamit
<b>DMSO</b>	dimetilsülfoksit
<b>THF</b>	tetrahidrofur
<b>DMAc</b>	N,N-dimetilasetamit
<b>M<sub>n</sub></b>	sayıca ortalama molekül ağırlığı
<b>M<sub>w</sub></b>	ağırlıkça ortalama molekül ağırlığı
<b>PBS</b>	fosfat tampon çözeltisi
<b>PMDA</b>	piromellitik dianhidrit
<b>BTDA</b>	benzofenon dianhidrit
<b>ODPA</b>	oksidifitalik anhidrit
<b>BPDA</b>	bifeniltetrakarboksilik dianhidrit
<b>6FDA</b>	hezaflorodifitalikanhidrit
<b>SEM</b>	taramalı elektron mikroskopu
<b>TB</b>	zaman temelli
<b>T<sub>g</sub></b>	camsı geçiş sıcaklığı
<b>V</b>	potansiyel
<b>μA</b>	akım (mikroamper)
<b>nA</b>	akım (nanoamper)
<b>Ω</b>	ohm

## 1. GİRİŞ VE AMAÇ

Biyosensörlerin oldukça önemli bir kısmını oluşturan enzim elektrotların yapımında biyoallicı olarak kullanılan enzimler, gerek izolasyonları gerekse de saflaştırılmaları sırasındaki maliyetleri nedeniyle oldukça pahalı maddelerdir. Bu nedenle enzimlerin sürekli analizler için analiz edilecek ortam içerisine doğrudan katılması oldukça pahalı bir yöntemdir. Bu durum, enzimlerin rutin bir şekilde kullanılabilmesi için uygun bir matriks içerisinde immobilize edilmelerini zorunlu kılmaktadır.

Değişik elektrot türlerini, iletken, yarı iletken ya da iletken olmayan polimerik filmlerle kaplamak suretiyle oluşturulan modifiye elektrotlar; bataryalar, elektrokataliz, biyosensörler ve permselektif membranlar gibi pek çok uygulama alanlarına sahiptirler. Anılan polimerik filmlerden poliimidler önemli termal / oksidatif kararlılıkları, düşük dielektrik ve iyi film oluşturma özellikleri sayesinde, elektronik endüstrisinde ilgi çekmektedir [1].

Poliimid kaplı elektrotlar kullanılarak, askorbik asit yanında dopamin ölçümü elektroaktif (askorbik asit ve okzalik asit) ve elektroinaktif (laktoz, sukroz ve üre) interferantlar varlığında başarılı bir şekilde yapılmıştır [2-6].

Bu çalışmanın amacı; poliimid modifiye elektrotların hazırlanması ve enzim immobilizasyon ortamı olarak kullanımının araştırılmasıdır. Ayrıca bazı elektrotlar için de biyosensörler hazırlanarak, bu sensörlerin karakteristiklerinin ortaya konması nihai hedefdir.

## 2. KURAMSAL TEMELLER

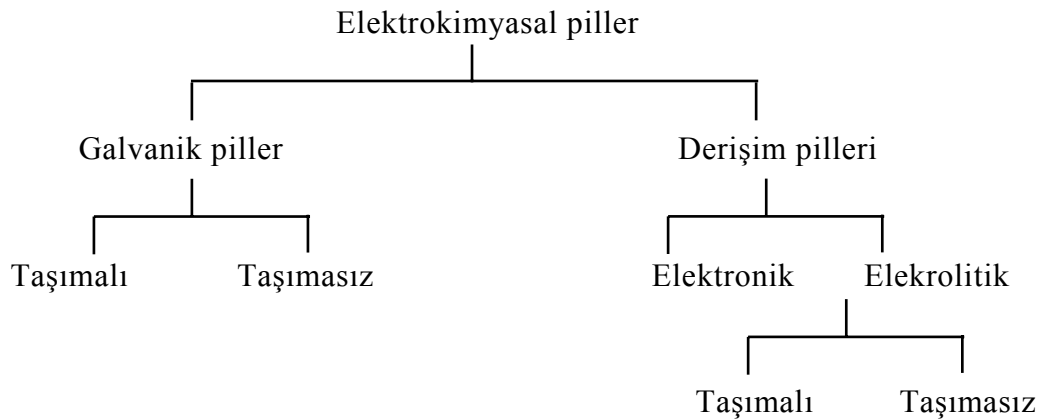
### 2.1. ELEKTROTLAR

#### 2.1.1. Elektrot çeşitleri

Elektriksel olarak bağlı iki elektrotdan yapılmış sistemlere elektrokimyasal pil denir. Elektrot tepkimesinin gerçekleştiği ortam tek bir fazdan oluşabildiği gibi iki, üç veya dört fazdan da oluşabilmektedir. Elektrotları içerdikleri faz sayısına göre dörde ayırabiliriz:

- a) Tek fazlı elektrotlar,
- b) İki fazlı elektrotlar,
- c) Üç fazlı elektrotlar,
- d) Dört fazlı elektrotlar.

Elektrotlar çok çeşitli olduğu için bunları ikişer ikişer bağlayarak pek çok elektrokimyasal pil yapılabilir. Pili oluşturmakta kullanılan elektrotların farklı türden veya aynı türden oluşuna ve elektrotların birbirine bağlanış biçimine göre pilleri çeşitli gruplara ayırmak mümkündür. Elektrokimyasal pil çeşitleri Şekil 2.1’de gösterilmiştir [7].



Şekil 2.1. Elektrokimyasal pil çeşitleri [7].

Elektrokimyasal pillerde iki elektrot kullanılırken elektroanalitik işlemlerde genellikle üç tane elektrot kullanılır. Denge olayının bulunmadığı durumlarda birbirinden farklı üç elektrot kullanılmaktadır.

İki elektrotlu hücrelerde çalışma elektrodu ile karşılaştırma elektrodu bulunur. Karşılaştırma elektrodu uygun yapılmışsa potansiyeli, kendi üzerinden büyükçe bir akım geçişiyle değişmez. Fakat bazı durumlarda çalışma elektrodunun potansiyeli çözelti direncinden dolayı değişmektedir. Bu nedenle direnci düşük çözeltinin kullanılması veya iki elektrodun birbirine çok yakın yerleştirilmesi gereklidir. Bu problemlerin ortadan kaldırılabilmesi için hücreye referans elektrot denilen üçüncü bir elektrodun dahil edilmesi gerekir [8]. Üç elektrotlu hücrelerde yapılan ölçümlerin en önemli avantajlarından biri uygulanan potansiyelden etkilenmeyen referans elektrodun direncidir. Referans elektrodun direncinin değeri  $10^4$ - $10^6$   $\Omega$  aralığında olabilir, ve voltmetre için  $10^{12}$   $\Omega$  giriş direnci ile birleştirilir. Bu ölçülen potansiyelin  $1\mu\text{V}$  veya daha az bir hatanın ortaya çıkmasını sağlar. Bu durumla ilgili düşünceler çok karışıktır ve referans elektrodun direncindeki azalmanın avantajlı olduğu bulunmuştur. Üç elektrotlu sistemde çalışma elektrodu, referans elektrot ve yardımcı elektrot bulunur [8, 9].

Çalışma elektroduna test elektrodu veya indikatör elektrodu da denilmektedir. Bu elektrot incelenen elektrokimyasal olayın gerçekleştiği elektrotdur. Potansiyeli belirlemede akımın (I) kendisinden çok akım yoğunluğu (J) etkilidir. Bu elektrotlar amaca uygun olarak inert ve inert olmayan materyallerden seçilebilir. Referans elektrot, karşılaştırma elektrodu veya polarizlenmeye uğramayan elektrot olarak da adlandırılır. Bir elektrodun referans elektrot olarak kullanılabilmesi için her şeyden önce potansiyelinin çözelti bileşiminden ve çözeltilerden geçen akımdan etkilenmeyen bir elektrot olması gerekir. Bu nedenle ideal bir referans elektrot, diğer özellikleri yanı sıra “ideal polarizlenmeyen” bir elektrot olmalıdır. Üç elektrotlu hücrede, referans elektrot devreyi tamamlayan elektrot olmadığı için üzerinden akım geçirmez ve bunun sonucu olarak da polarizlenmeye uğramaz.

Yardımcı elektrot, karşı elektrot olarak da bilinir. Görevi elektronlar için kaynak veya havuz oluşturmaktır. Böylece pilden akımın geçmesi sağlanmaktadır. Çoğunlukla potansiyeli ölçülmez ve bilinmez. Genellikle soy materyallerden seçilir [10].

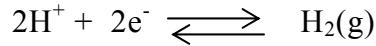
### 2.1.1.1. Referans elektrotlar

Birçok elektroanalitik uygulamada, elektrotlardan birinin yarı hücre potansiyelinin sabit, çalışılan çözeltinin bileşiminden bağımsız olması ve değerinin bilinmesi istenir. Bu tanıma uyan elektrot referans elektrot olarak adlandırılır. İdeal bir referans elektrot:

- 1- Tersinirdir ve Nernst eşitliğine uyar.
- 2- Zamanla değişmeyen bir potansiyeli vardır.
- 3- Küçük bir akıma maruz kaldıktan sonra orjinal potansiyele döner.
- 4- Sıcaklık değişimi ile küçük bir histerisis gösterir.

#### 2.1.1.1.1. Standart hidrojen elektrodu

25 °C'da hidrojen gazı basıncı 1 atm ve çözeltisindeki hidrojen iyonu aktifliği 1 olan elektrotur. İletken, platinleşmiş bir tel levhadır. Platinleme işlemi  $H_2PtCl_6$ 'nın kimyasal veya elektrokimyasal indirgenmesi ile oluşan ince parçacıklar halinde platin tabakası ile metalin kaplanması işlemidir. Elektrotun yüzeyindeki ince parçacıklı platin tabakası, parlatılmış platin gibi ışığı yansıtmaz; dolayısıyla elektrot siyah görünür. Bu nedenle ince parçacıklı platin siyahı olarak isimlendirilir. Platin siyahı,

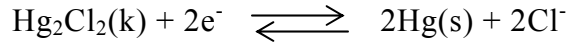


reaksiyonunun elektrot yüzeyinde hızla yürümesi için geniş bir yüzey alanı sağlar. Genel olarak standart hidrojen elektrodun potansiyeli tüm sıcaklıklarda tam sıfır volt olarak kabul edilir.

Standart hidrojen elektrot temelde çok önemli olmasına rağmen, elektrot yüzeyinin hazırlanmasında ve reaktif aktivitelerinin kontrolünde karşılaşılan güçlük, elektrodun yeteri kadar pratik olmadığını gösterir. Bu nedenle hazırlanması daha kolay, daha sağlam ve kullanımı daha kolay referans elektrotlar hidrojen gaz elektrodun yerini almıştır [11].

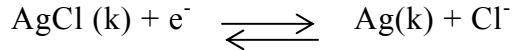
### 2.1.1.1.2. Kalomel elektrot

Kalomel referans elektrot doymuş civa (I) klorür (kalomel) ile temasta olan civadan oluşur ve ayrıca bilinen derişimde potasyum klorür içerir. Potasyum klorürün 0,1 M, 1.0 M ve doymuş (yaklaşık 4.6 M) olmak üzere üç konsantrasyonu yaygın şekilde kullanılır. KCl çözeltisinin 0,1 M, 1 M ve doymuş oluşuna göre kalomel elektrot; desinormal, normal ve doymuş kalomel elektrot olarak adlandırılır. Doymuş kalomel elektrot (DKE), oldukça kolay hazırlandığından dolayı en çok kullanılan elektrottur. Başlıca sakıncası ise diğer iki elektroda göre oldukça büyük sıcaklık katsayısına sahip olmasıdır. Ancak bu durum, ölçümler esnasında sıcaklık değişmelerinin çok olduğu nadir hallerde önemlidir. Doymuş kalomel elektrodun 25 °C'deki potansiyeli 0,2444 V'dur [12]. Kalomel elektrodun elektrot tepkimesi aşağıdaki gibidir:



### 2.1.1.1.3. Gümüş/gümüş klorür elektrodu

Gümüş–gümüş klorür referans elektrotlar en çok kullanılan referans elektrotlardır. Gümüş elektrodun gümüş klorürle doymuş potasyum klorür çözeltisine daldırılmasıyla elde edilir. Elektrot potansiyeli,



yarı reaksiyonuyla verilir. Bu yarı reaksiyonun potansiyeli ortamda bulunan klorür iyonu potansiyeline bağlı olarak değişir.

Gümüş elektrotlar 60 °C'nin üzerinde bile kullanılabilirler. Buna karşılık, gümüş iyonu çözeltilerin temas yüzeylerindeki maddelerle örneğin proteinlerle, civa(I) iyonundan daha kolay reaksiyona girer ve çözeltilerin temas yüzeylerini kapatır ve elektrot kullanılmaz hale gelir [13].

## 2.2. Elektrotların Kimyasal Modifikasyonu

Elektrokimyasal yöntemlerin organik ve inorganik maddelerin sentezi ve analizinde önemli uygulama alanları vardır. Elektrokimyacılar, elektrot gerilimini kontrol ederek değişik serbest enerji değerine sahip bir elektron kaynağı elde edebilmektedirler. Ayrıca elektrik akımının ölçülmesiyle elektrot-çözelti ara

yüzeyini geçen elektronlar büyük bir duyarlılıkla gözlenebilir. Ancak aşırı gerilimlerin uygulanmasını gerektiren yavaş elektrokimyasal olaylar ve adsorpsiyon olayları elektroanalizde bazı önemli kısıtlamalara yol açar. Bu olaylar elektrot yüzeyinin hazırlanması ve yavaş elektrokimyasal olayların hızlandırılması ile kısmen kontrol edilebilir. Elektroanalizde, 1975'lere kadar sadece C, Au, Hg ve Pt elektrotları kullanılırken, sonraları bu yüzeylerin polimerlerle kaplanarak kullanılması elektroanalitik kimyada ilginç uygulamalara yol açmıştır.

İmmobilize ajan olarak genellikle elektroaktif maddeler seçilir. Polimerik filmler halindeyken elektroaktivite gerekli olmayabilir. Zira, bu tür filmler ön deriştirme amacıyla veya substratın polimerik filmin permselektif özelliklerinden faydalanılarak elektroda taşınması amacıyla kullanılır. Elektrot modifikasyonu alanındaki çalışmalar elektroaktif ajanların monomoleküler katman halinde yüzeye adsorpsiyonu araştırmalarıyla başlamıştır. Bu ilk kemisorpsiyon çalışmalarını, ajanların belli kovalent bağlarla elektrot yüzeyindeki fonksiyonel gruplara tutturulması deneyleri izlemiştir. Örneğin C veya Pt yüzeyleri kolaylıkla oksitlenerek yüzeyde zengin hidroksil grupları oluşur. Bu gruplarla da amid bağları oluşabilir [14].

Elektrokimyada modifiye elektrot yaklaşımı elektrokimyacının elektrot yüzeyini kontrol edebilme arzusundan kaynaklanmıştır. Elektrot yüzeyine bilinçli olarak bazı kimyasal ajanların tutturulması ile elektrot yüzeyinin tutturulan ajanın kimyasal özelliklerine sahip olacağı düşünülmüştür. Böylece elektrokimyasal reaksiyonların hızlarının ve seçiciliklerinin kontrolü (elektrokataliz) sağlanmış; olumsuz adsorpsiyon engellenmiş ve bazı durumlarda istenen optik özellikler kazandırılmış olabilecektir. Modifiye elektrotlar beş farklı amaç için kullanılır.

- 1) Elektrokataliz,
- 2) Membran engeli (permselektivite),
- 3) Deriştirme (ön biriktirme),
- 4) Elektro-salma (elektrot yüzeyinden kontrollü salınım),
- 5) Mikroelektrotlar.

Kimyasal ajanların yüzeye immobilizasyonu için çeşitli teknikler mevcut olup bunlar Tablo 2.1'de gösterilmektedir.

**Tablo 2.1.** Elektrot modifikasyon şeması

Monomoleküler Tabakalar

Ajanın Kemisorpsiyonu,

Platin yüzeyine,

Karbon yüzeyine,

Civa yüzeyine,

Altın yüzeyine.

Elektrot-elektroaktif ajan arasında kovalent bağ oluşumu

Metal oksit yüzeylerde,

Karbon yüzeylerde,

Yarıiletken yüzeylerde,

Elektroaktif kiral maddelerde.

Elektrot üzerine polimer film kaplanmış multimoleküler tabakalar.

Redoks polimerleri,

Elektrostatik olarak kurulmuş tuzaklarda iyon değişimi,

Elektronik iletken polimerler,

İyonik iletken polimerler,

Taç eter veya kompleksleşme ajanı,

Elektroaktif kiral polimerler.

Heterojen multimoleküler tabakalar

Karbon pastası ile karıştırılmış modifiye ajanlar,

Modifiye edilmiş kil,

Modifiye edilmiş zeolit,

Elektroaktif polimerlerdeki elektroaktif türler.

### 2.2.1. Elektrotların kimyasal modifikasyonunda polimerlerin kullanımı

Polimer film ile kaplanmış elektrot yapımında ya monomer doğrudan elektrot yüzeyinde polimerleştirilir ya da önceden kimyasal polimerizasyon ile elde edilmiş olan polimerler uygun bir yöntemle elektrot yüzeyine kaplanır.

Polimer filmler elektrot yüzeyine polimer çözeltisinin buharlaştırılmasıyla, polimerin elektrokimyasal çökeltmesiyle veya elektroaktif monomerin elektrokimyasal polimerizasyonu ile uygulanır. Bu filmler yüzeye kemisorpsiyon kuvvetleri ile tutunurlar. Genel olarak, polimer filmlerin kararlılığı mono katmanlarından çok daha iyidir, bu nedenle elektroanalitik kimya uygulamasında, özellikle sensör geliştirme çabalarında oldukça önemlidir [10, 14].

Monomerlerin elektrot yüzeyinde doğrudan polimerik film oluşturulmasında kullanılan üç yöntem vardır:

- 1) Elektrokimyasal polimerizasyon,
- 2) Organosilan kondenzasyonu,
- 3) Plazma polimerizasyonu.

Elektrokimyasal yöntemle elde edilen seçici geçirgen poli(*o*-toludin), poliindolin, poli(1,3-fenilendiamin), poli(*o*-fenilendiamin) modifiye elektrotlar dopamin tayininde [15-18], poliindolin, polibenzidin, poli(*o*-toludin) modifiye elektrotlar ise hidrojen peroksit tayininde başarılı bir şekilde kullanılmıştır [19-21].

Kimyasal polimerizasyonla elde edilen polimerlerin elektrot yüzeyine kaplanmasında ise polimer çözeltilerinden,

- a) Elektrokimyasal çöktürme,
- b) Daldırıp kurutma,
- c) Damlatma, döndürerek buharlaştırma yöntemleri kullanılabilir.

Elektrokimyasal çöktürme yönteminde polimer çözeltisine daldırılan elektroda uygun bir gerilim uygulanarak kaplama yapılır. Daldırıp kurutma oldukça kolay bir prosedürdür. Bu yöntemde elektrot bir veya birkaç kez polimer çözeltisine daldırılır ve bir süre bekletilerek kurutulur. Damlatma-döndürerek buharlaştırma yönteminde ise elektrot yüzeyine polimer çözeltisi damlatılıp elektrodun döndürülmesi yoluyla çözücü buharlaştırılır. Ancak dönme hızı yüksek olduğu takdirde yüzeye damlatılan maddenin saçılabilmesinden dolayı madde kaybı olabilir.

Elektroaktif polimer filmler kendiliğinden hem iyonik hem de elektronik iletkenlik gösterirler. Bu filmler üç sınıfta ele alınabilir:

- 1) Redoks polimerleri,
- 2) İletken polimerler,
- 3) İyon değiştirme polimerleri.

Redoks merkezleri içeren polimer filmler, indirgenmiş ve yükseltgenmiş redoks merkezlerinden elektron sıçraması (hopping) ile elektriği iletirler. Bu polimerlerin en belirgin örnekleri o-kinon, pirol, sübtitüe porfirm, ferrosen, vinilpiridin, vinilimidazol, eter amin kinon polimerleridir [10, 22, 23].

İletken polimerler elektrik akımını ileten polimerlerdir. Bu polimerler monomerlerin elektrotta yükseltgenmesiyle oluşur. İletkenlik konusunda en önemli adım 1979'da Diaz'ın pirolü elektrokimyasal yöntemle yükseltgeyerek polipirolü elde etmesiyle atılmış oldu. Polipirol anot üzerinde üretilerek güçlü bir film olarak yüzeyden çıkarıldığında iletkenliği 100 S/cm'ye ulaşabilmektedir. Anilinin elektroyükseltgenmesiyle anot yüzeyinde toz halde polianilin üretilmiştir[24]. 1980'de ilk kez Fould ve Lowe tarafından tanımlanan iletken polimerler, polimerik enzim sensörlerde enzim tutuklamak için geliştirilmiştir [23]. Son yıllarda anilin, 3-metiltiyofen ve pirol gibi monomerlerden elde edilen iletken polimerlerle modifiye edilmiş elektrotlar katekol, askorbik asit, hidrokinon, dopamin, epinefrin, asetaminofen ve *p*-aminofenol gibi organik ve biyolojik moleküllerin belirlenmesi için kimyasal sensör olarak kullanılmıştır [25-27]. Poliindol, poli(fenol) bilinen diğer iletken polimerlerdir [23].

Kimyasal yöntemlerle de iletken polimerler üretilabilmektedir. Pirol, Br<sub>2</sub> veya AsF<sub>5</sub> ile yükseltgendiğinde iletken polipirol elde edilmiştir. İletken polimerlerin atmosferde hızla iletkenliklerini kaybetmeleri ve şekillendirilmelerinin zorluğu kullanım alanlarını kısıtlamaktadır. İletken polimerlerin mekanik özelliklerini iyileştirebilmek için bazı dayanıklı yalıtkan polimerlerle kompozitler veya kopolimerler üretilmektedir. Örneğin, polistirene graft kopolimerizasyonla polipirol zincirleri bağlanabilmektedir.

İyon değiştirme polimer filmleri ise, istenen türe yanıt karakteristiklerini sağlayabilen bileşenleri içeren polimerik bir yapıdır. Anyonik gruplar içeren polimerlerle katyona duyarlı elektrotlar yapılmıştır. Elektroaktif olmayan iyon değiştirme polimer filmleri yük dengeleyen karşıt iyonların elektroaktif bir iyon ile değişimi yoluyla elektroaktif yapılabilir. Polianyonik nafyon film bu türe örnek verilebilir [14]. Nagy ve arkadaşları nafyon filmlerle kaplanmış minyatür elektrotların dopamin, norepinefrin, ve 5-hidroksitriptamin belirlemede

kullanılabileceğini gösterdiler [28]. Nafyon ve polipirolin kompozit filmleri birkaç grup tarafından hazırlanmıştır. Bu filmler nafyonun yüksek iyonik iletkenliği ile polipirolün yüksek elektronik iletkenliğini birleştirmektedir [29].

### **2.3. Biyosensörler**

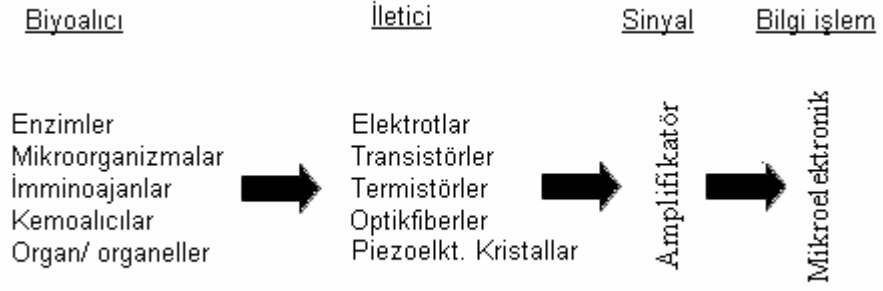
Biyosensörler fiziko-kimyasal transduser ile biyolojik komponentin kombinasyonuna dayalı araçlar olarak tanımlanabilir [30]. Biyosensörlerin görevi biyolojik veriyi elektriksel sinyale dönüştürmektir.

Biyosensörlerin tarihi 1950'li yılların ortalarında L.C.Clark'ın Cincinnati Hastanesinde (Ohio, ABD) ameliyat sırasında kanın O<sub>2</sub> miktarını bir elektrot ile izlemesiyle başlar. 1962 yılında Clark ve Lyons glukoz oksidaz enzimini O<sub>2</sub> elektrodu ile kombine ederek kanın glukoz düzeyini ölçmeyi başardılar. Böylece yeni bir analitik sistem oluşturuldu [31].

#### **2.3.1. Biyosensörlerin yapısı ve çalışma prensibi**

Biyosensörlerin yapısında görev alan biyokomponentler çoğu kez biyoreseptör (biyoalıcı) olarak da adlandırılırlar. Bunların içerisinde en yaygın olarak kullanılanlar enzimler ve antikorlardır. Biyoreseptör, örnek ile doğrudan temas halinde olup biyosensörün en hasas bileşenini oluşturur. Biyoreseptör, analiz edilecek örneği tanıyan özel bir seçici bölgeye sahiptir [31, 32]. Polimer ve sol-jel materyal gibi malzemeler biyosensörlerdeki biyomoleküllerin kararlılığını arttırmak için kullanılmaktadır [33].

Biyosensörün diğer bileşeni olan transduserler, reseptörlerin biyolojik reaksiyonunu ölçülebilir bir sinyale dönüştürürler. Transduserin görevini bir enerjinin diğerine dönüşümünü sağlayan bir eleman olarak düşünebiliriz. Transduserin seçimi biyokimyasal modifikasyonun tipine bağlıdır [31, 32]. Şekil 2.2'de biyosensörlerin çalışma prensibi görülmektedir.



**Şekil 2.2.** Biyosensörlerin çalışmasındaki aşamalar [32].

Teorik olarak reseptör ve transduserlerin birçok kombinasyonu olası olmasına rağmen, bu kombinasyonlar bir tek elektrik sinyali oluşturamaz iseler, biyosensör fonksiyonunu gösteremez. Örneğin; transduser olarak bir termistörün kullanılması durumunda substratın dönüşüm reaksiyonu sonucu entalpide bir değişim olmaz ise biyosensör çalışmaz [31].

Eğer bir biyosensör, üzerinde inceleme yapılan büyüklük ile doğru orantılı bir sinyal verebilir ise olay hakkında tüm bilgi elde edilebilir demektir [32].

### **2.3.2. Biyosensörlerin uygulama alanları**

Biyosensörlerin çok geniş bir uygulama alanı vardır. Ancak, yaygın olarak, tıp, çevre koruma, genetik, güvenlik, savunma, gıda endüstrisi, klinik kimya ve tarım analizlerinde kullanılmaktadır [34, 35]. Biyosensörler için olası uygulama alanları Tablo 2.2’de verilmiştir.

**Tablo 2.2.** Biyosensörlerin uygulama alanları [31].

- 1-Klinik diagnostik, biyomedikal sektör
- 2-Proses kontrolü
  - Biyoreaktör kontrol ve analitiği
  - Gıda üretimi ve analizi
- 3- Tarla tarımı, bağ– bahçe tarımı ve veterinerlik
- 4- Bakteriyel ve viral diagnostik
- 5- İlaç analizi
- 6- Endüstriyel atık su kontrolü
- 7- Çevre koruma ve kirlilik kontrolü
- 8- Maden işletmelerinde toksik gaz analizi
- 9- Askeri uygulamalar ve savunma sanayi

### 2.3.3. Biyosensörlerle ölçülen maddeler

**1-Amino asitler:**D-alanin, L-arjinin, L-asparajin, L-aspartikasit, L-sistein, L-glutamin ,L-glutamat, glutation, L-ve D-metionin, *N*-asetilmetionin, L-histidin, L-lisin, L-ve D-fenilalanin, sarkosin, L-trozin, L-triptofan ve D-valin.

**2-Gazlar:** Amonyak, hidrojen, metan, kükürtdioksit, azotmanoksit, oksijen, karbon monoksit ve karbondioksit.

**3-Kofaktörler:** Adenozin monofosfat (AMP), adenozin trifosfat (ATP), piridin nükleotidleri (NADPH), pridoksalfosfat (PLP), tiamin pirofosfat (TPP), flavin adenin dinükleotid (FAD), hidrojen peroksit, tiamin pirofosfat (TPP) ve fosfofenolpiruvat (PEP).

**4-Karbonhidratlar:** Laktoz, galaktoz, maltoz, glukoz, sukroz, glukoz 6-fosfat, nişasta ve fruktoz.

**5-Aminler, amidler ve heterosiklik bileşikler :** Adenozin, aminopirin, anilin, aromatik aminler, asetilkolin, kolin, kreatin, kreatinin, guanidin, guanosin, penisilin, spermin, ürik asit, üre, ksantin ve hipoksantin.

**6-Organik asit ve tuzları:** Asetat, format, malat, glukonat, gluokzalat, D-izositrat, L- ve D-laktat, maleik asit, glukolat, nitrilotriasetik asit, okzalat, okzaloasetat ve piruvat.

**7-Alkol ve fenoller:** Bilirubin, katekol, kolesterol, kolesterol ester, etanol, gliserol gliserol ester, metanol, fenol ve 2,4 dinitrofenol.

**8-İnorganik iyonlar:** Florid, nitrit, nitrat, fosfat, sülfat, sülfid,  $Hg^{+2}$ ,  $Zn^{+2}$ ,  $Cu^{+2}$ .

**9-Enzim ve proteinler:**Troksin, insan albumini, immunoglobulin G,  $\alpha$ -feroprotein, peroksidaz,  $\alpha$ -amilaz, glukoamilaz, kolinesteraz, kreatin kinaz, pruvat kinaz, laktat dehidrogenaz ve transminazlar.

**10-Diğerleri:**Antibiotikler,virüsler, hormonlar, kan grupları, et tazeliği, peptidler, vitaminler, teofilin, testesteron [36].

#### **2.3.4. Enzim sensörleri**

Enzimin reaksiyon ortamına katılarak analizin yapılması maliyeti çok arttırdığından, rutin olarak kullanımları imkansız gibidir. Bu durum enzimlerin immobilize edilerek analizlerde tekrar tekrar kullanılma tekniğinin geliştirilmesine sebep olmuş ve sonuçta da enzim elektrotları kavramı ortaya çıkmıştır [37] .

Biyosensör teknolojisinde kullanılan biyolojik materyaller artan kompleksliklerine göre sıralandıklarında; iyonoforlar, antikorlar, enzimler, lipozomlar, biyomembran parçaları (reseptör), hücre organelleri (mitokondri), doku veya tüm hücreler ve organlar (görme ve koklama ) şeklinde sınıflandırılabilirler.

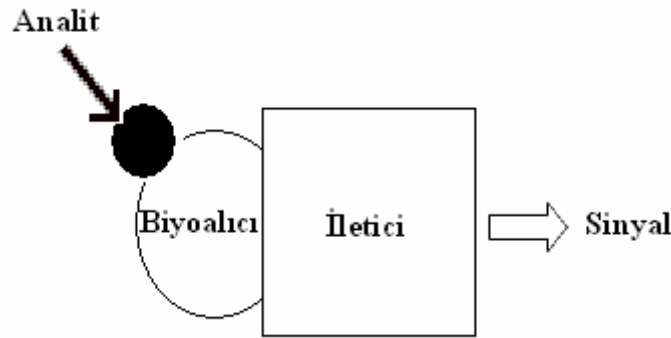
1960'lı yıllarda biyoloji ve biyokimya bilimlerindeki tarihsel gelişme paralelinde, tüm bu yapılar içinde fonksiyonları nispeten daha ayrıntılı bir biçimde tanımlanan en önemli grubu enzimler oluşturmaktaydı [38]. Enzimler canlı sistemlerde ki kimyasal reaksiyonları katalizleyen proteinlerdir. Bu katalizörler sadece etkili değil aynı zamanda oldukça seçicidirler [39].

Bunun yanı sıra elektrokimya alanındaki gelişmeler özellikle, amperometrik ve potansiyometrik esaslı sensörlerin pratik uygulamalarda rahatlıkla kullanılabilceği fikrini oluşturmuştu. Çeşitli maddelerin duyarlı ve pratik analizlerine duyulan gereksiniminde artmasıyla ilk enzim elektrotlarıyla ilgili bilimsel çalışmalar başlamış oldu. 1960'lardan bu yana iletim ve ölçüm teknolojilerindeki gelişmeler elektrokimyasal esasların yanı sıra kalorimetrik, optik ve akustik temelli sistemlerde de çok önemli gelişmelere yol açmıştır. Bugün bakıldığında hangi temel iletim sistemi söz konusu olursa olsun elektrokimyasal esaslı olanların tartışılmaz bir ağırlığı söz konusudur. Pratik ve ticari uygulamalarda enzim elektrotların büyük bir üstünlüğü göze çarpmaktadır. Burada en büyük etmen canlı sistemlerle ilgili hemen hemen her türlü maddenin doğrudan veya dolaylı olarak analizinde kullanılabilcek binlerce enzimin varlığıdır.

Son yıllarda organik faz enzimolojisi konusundaki bulgular sayesinde enzimler ile organik fazda oldukça farklı analizlerin yapılabileceği ortaya konmuştur. Söz konusu bulgular, hem tasarlanabilecek enzim sensörlerinin sayısında artışa hem de uygulama alanlarının yaygınlaşmasına katkı sağlayacak niteliktedir [38].

Bir enzim sensör, bir iletici ve ince bir enzim tabakası kombinasyonundan oluşmaktadır. Enzimatik reaksiyon, analiti bir iletici ile tayin edilebilen bir ürüne dönüştürür. Bir enzim sensörün şematik gösterimi Şekil 2.3’ de verilmiştir İleticinin hassas yüzeyi, enzim tabakası ile temas halindedir. Bu yüzey içerisinde kütle iletiminin gerçekleşmediği kabul edilir. Enzim tabakasının dış yüzeyi analiti içeren bir çözeltinin içine daldırılır. Analit tabakanın içine doğru göç eder. Aktivite edilmiş enzim ile reaksiyona girdiğinde ürüne dönüşür. Hızlı bir konsantrasyon dengesi sağlamak için enzimatik membran mümkün olduğu kadar ince tutulmalıdır. Ayrıca çözelti iyice karıştırılmalıdır. Özetle bir enzim sensörün kullanımı esnasındaki adımlar şunlardır:

- 1- Çözelti içinden enzim tabakasına doğru analitin iletimi
- 2- Bu tabaka içinde analitin difüzyonu (reaksiyon ürünlerine analitin enzimatik transformasyonu ile birlikte)
- 3- Ürünün ileticiye göçü
- 4- Ara yüzeyde bir iletici vasıtasıyla ürün konsantrasyonunun bir elektrik sinyaline dönüşümü



**Şekil 2.3.** Bir enzim sensörün şematik gösterimi

Enzim, bir enzimatik sensörün en önemli bileşenidir. Enzimin protein yapısı sıcaklık ve pH ile kolayca bozunabilir. Enzim sensörün kararlılığı aktif membranın yükleme kapasitesi ile ilgilidir. Membran daha fazla aktif enzim içerdiğinde, biyosensör daha kararlı olur. [32].

### 2.3.4.1. Enzim sensörlerinin sınıflandırılması

Enzim sensörlerinin sınıflandırılması yaygın şekilde, enzimatik reaksiyon uyarınca oluşan sinyalin belirlenme ilkesine göre yapılmaktadır. Tablo 2.3’de bu sınıflandırma gösterilmektedir [38].

**Tablo 2.3.** Enzim sensörlerinin sınıflandırması

- 1- Elektrokimyasal Enzim Sensörleri;
  - Amperometrik Enzim Sensörleri;
    - Birincil Nesil Amperometrik Enzim Sensörleri
    - İkincil Nesil Amperometrik Enzim Sensörleri
    - Üçüncü Nesil Amperometrik Enzim Sensörleri
  - Potansiyometrik Enzim Sensörleri;
    - Proton Duyar Potansiyometrik Enzim Sensörleri
    - Amonyak Duyar Potansiyometrik Enzim Sensörleri
    - Karbondioksit Duyar Potansiyometrik Enzim Sensörleri
    - Diğer İyon Duyar Potansiyometrik Enzim Sensörleri
  - Yarı İletkenleri Esas Alan Enzim Sensörleri;
    - Enzim Alan Etki Transistörler (ENFET)
- 2- Optik Enzim Sensörleri;
  - Absorpsiyon Optik Sensörleri
  - Flouresans Optik Sensörleri
  - Biyoluminesans Optik Sensörleri
- 3- Kalorimetrik Enzim Sensörleri
- 4- Piezoelektrik Enzim Sensörleri

### **2.3.4.2. Enzim sensörlerin performans faktörleri**

Bir enzim esaslı elektrokimyasal biyosensörü karakterize eden, onun çalışma niteliklerini ve verimini belirleyen beş temel performans faktörü vardır. Bunlar;

- 1- Duyarlılık
- 2- Doğrusallık
- 3- Seçicilik
- 4- Yanıt Süresi
- 5- Kararlılık

#### **2.3.4.2.1. Duyarlılık**

Tayini yapılacak maddenin bulunduğu ortamda yapılan ölçümde kullanılacak olan enzim elektrodun küçük derişimlere karşı yanıt verebilmesi analiz açısından son derece önemlidir. Elektrokimyasal biyosensörler özellikle kimyasal sensörlere oranla daha yüksek duyarlılığa sahiptirler. Enzim elektrotlarla  $10^{-6}$  M konsantrasyonlara kadar inilebilmektedir [10].

#### **2.3.4.2.2. Doğrusallık**

Kalibrasyon grafiğinde substrat konsantrasyonu ile sensör yanıtı arasındaki ilişkinin doğrusal olduğu bölgeye “doğrusal aralık” denir. Bu doğrusal aralığın en alt sınırı da tayin sınırı olarak tanımlanır. Potansiyometrik enzim sensörlerinde kalibrasyon grafiği, substrat (ya da ürün) konsantrasyonunun logaritması ile potansiyel arasında çizilir. Buna karşılık amperometrik esaslı enzim sensörlerinde ise ürün konsantrasyonu ile akım arasında doğrusal grafikler elde edilir. Genelde tayin sınırının  $10^{-5}$  M’den daha düşük bir değer olmasının önemi vurgulanır. Amperometrik esaslı enzim sensörlerinde diğerlerine nazaran oldukça yüksek duyarlılıklara erişebilmek mümkündür.

### 2.3.4.2.3. Seçicilik

Diğer analiz sistemleri ile kıyaslandığında biyosensörler için en önemli özelliktir. Kullanılan biyomateryal açısından bakıldığında enzimler genel anlamda seçimlilik sıralamasında antikor ve nükleik asitlerden sonra gelir. Ancak bu genel yaklaşım mutlak spesifik enzimler söz konusu olduğunda geçersizdir. Dolayısıyla mutlak spesifik bir enzim söz konusu olduğunda seçimlilik de en üst düzeye yükselir. Buna karşılık spesifikliği düşük enzimler, grup spesifik enzimler, kısmi saflaştırılmış enzim prepatları, dokular ve organizmalar seçimlilik açısından bir takım dezavantajlar oluşturur.

Bir biyosensörün seçimliliği üzerine başlıca, sensörle girişimler, biyokatalizörle girişimler ve pH etkili olmaktadır. Sensörde meydana gelebilecek girişimleri önlemenin en iyi yolu örnekteki diğer maddelere yanıt vermeyen ve sadece ilgilenilen biyokatalitik reaksiyonu izleyebilecek bir sensör kullanmaktır [38].

### 2.3.4.2.4. Yanıt süresi

Biyosensörlerin hızlı bir gelişim göstermesinin en önemli nedenlerinden biri, ideal bir biyosensörün de temel niteliklerinden olan pratik bir işleme kısa sürede sonuç verebilmesidir. Bir biyosensörün yanıt süresi üç temel aşamada meydana gelen olaylar tarafından etkilenir.

- i. Substratın analiz ortamından membran yüzeyine difüzyon hızı,
- ii. Substratın membran içine ne kadar hızlı difüzlendiği ve biyokatalizörün aktif merkezi ile ne kadar hızlı reaksiyon verdiği,
- iii. Elde edilen ürünün sensör yüzeyine ne kadar hızlı difüzlendiğidir [40].

Sandviç tipi biyosensörlerin yanıt süresi birçok faktörden etkilenir. Belirli şartlar altında indikatör elektrot yüzeyindeki substrat veya ürünün konsantrasyonu Michaelis sabitlerine, membran içindeki biyolojik olarak aktif olan bileşiğin aktivitesine, membran kalınlığına, ürün ve substratın difüzyon katsayılarına bağlıdır. Enzim elektrodun yanıt süresi  $d^2 / D$  oranı ile belirlenir ( $d$ =tabaka kalınlığı,  $D$ =etkin difüzyon katsayısı) [41].

#### **2.3.4.2.5. Kararlılık**

Kararlılık, biyosensörün kullanım ömrü hakkında bilgi verir. Aynı bir sensör ile çok sayıda ölçüm yapılabilmesi iş gücü ve maliyet açısından çok önemli avantajlar sağlar. Biyosensörlerin ömrü; biyosensörün kendisine, saklanma ve çalışma koşullarına bağlıdır.

Bir biyosensörün kullanım ömrü biyolojik olarak aktif olan bileşenin kararlılığına bağlıdır. Uygun immobilizasyon ve saklanma koşulları biyosensörün kullanım ömrünü arttırılabilir. Enzim elektrotların kullanım ömrü bakteriyel bozunma ile de kısalabilir. Belli aktivatörler (ürez ile fosfat, kollerolesterhidrolaz ile sodyum kolat) bu elektrotların kullanım ömrünü oldukça uzatır.

Hibrit bir yapıya sahip olmaları nedeniyle enzim sensörlerini, hem sensör hem de enzim kararlılığı açısından değerlendirmek gerekir. Amperometrik sensörlerde özellikle yüksek potansiyelde çalışıldığında, reaksiyon ürünleri tarafından yüzeyin bozulması problemi ile karşılaşılabilir.

Enzimin saflık düzeyi, kaynağı ve immobilizasyon yöntemi enzim sensörünün kararlılığını önemli ölçüde etkilemektedir. Saflık düzeyi ile kararlılık arasında doğrusal bir ilişki yoktur. Safsızlığın artması durumunda ise, ilgili enzimatik reaksiyonda girişim yapacak türlerin olumsuz etkileri düşünülmelidir. Hazırlanan bir biyosensör ile rutin uygulamalara geçmeden önce çalışma ve depolama kararlılığının spesifik olarak belirlenmesi gereklidir [32, 40, 41].

#### **2.3.4.2.6. Diğer performans faktörleri**

Biyosensörün performansını etkileyen diğer önemli bir faktörde maliyettir. Maliyet genelde biyosensörün hazırlanma giderleri ile söz konusu biyosensörle yapılan bir analizin giderlerinin bileşkesini ifade eder. Bir biyosensörle ne kadar çok analiz yapılabilirse, hazırlanma giderlerinden analiz başına düşen pay azalacaktır.

Bir biyosensörün ekonomik açıdan kullanılabilir olmasındaki en önemli faktör, analiz maliyetlerinin diğer analitik yöntemlerden az olmasıdır. Fakat insan gücü açısından avantaj sağlayan ön işlem gerektirmeme gibi niteliklere sahip olma, örnek almanın sakıncalı olduğu bazı fermentasyon proseslerine adaptasyon veya bir analizin başka herhangi bir yöntemle yapılamama durumlarında maliyet ikinci plana itilebilmektedir.

Özellikle çevre ve savunma gibi alanlarda kullanılacak bir biyosensör için taşınabilir olması da büyük önem taşımaktadır [38].

### **2.3.4.3. Enzim immobilizasyonu**

Enzimlerin immobilizasyonu genelde iki nedenden dolayı zorunludur. Birincisi kararlılığını geliştirme ve böylece kullanım ömrünü artırmak, ikincisi ise enzimlerin sızmasını engelleyerek sürekli kullanımını sağlamaktır [42].

#### **2.3.4.3.1. Kovalent bağlanma**

Enzimlerin elektrotlara kovalent bağlanması metaller, grafit ve iletken polimerler üzerinde yapılabilir. Bu materyaller, bağlanma öncesinde aktive edilmelidir.

Enzimler doğrudan transdusere veya önceden uygun bir film veya tabaka ile kaplanmış transdusere kovalent olarak bağlanabilirler. Kovalent bağlanmada dikkat edilecek önemli nokta, bağlanmanın enzim aktivitesi için esas olan amino asitler üzerinden gerçekleşmemesi ve bu grupların bağlanma sırasında sterik olarak rahatsız edilmemesidir. Kovalent bağlanma enzim molekülü üzerindeki fonksiyonel gruplar üzerinden gerçekleşir.

Enzim immobilizasyonu genelde oda sıcaklığı, nötral pH gibi koşullarda yapılmalıdır [43, 44] .

#### **2.3.4.3.2. Tutuklanma**

Eğer bir polimerik jel biyomoleküller içeren bir çözeltide hazırlanır, biyomoleküller jel matriks içerisine tutuklanmış olur.

Enzimler makromoleküler proteinler olup polimer jel matrikslerde ve daha basit olarak diyaliz membranlarında tutuklanabilirler. Bu yöntem enzimler yanında organeller, hücreler ve antikolar için de uygulanabilir. Uptike ve Hicks tarafından hazırlanan ilk enzim elektrodunda glukoz oksidaz poliakrilamid jelinde tutuklanmıştır. Enzim aktivitesi çözeltide hızlı bir şekilde düştüğünden fiziksel tutuklama yerine kimyasal bağlanma tercih edilir. Tutuklama için en yaygın kullanılan matriksler nişasta, poliakrilamid, silikon lastiği, polivinil klorür, polivinil alkol, naylon ve siliastik jel dir.

Elektrokimyasal polimerizasyon diğer bir tutuklama yöntemidir. Örneğin; altın kaplanmış cam slaytlarda potansiyometrik elektropolimerizasyon ile *m*-fenilendiamin polimerleştirilmesiyle oluşan film içinde GOx immobilize edilmiştir [44, 45].

Son yıllarda özellikle biyosensör alanında iletken veya iyonik polimerler içinde fiziksel tutuklama vasıtasıyla oksidaz tipi enzimlerin immobilizasyonuna olan ilgi artmıştır [42].

#### **2.3.4.3.3. Adsorpsiyon**

Adsorpsiyon immobilizasyonda kullanılan en eski ve en basit yöntemdir. Örneğin; glukoz oksidaz adsorbe edilmiş polietilen membran 1962 yılında glukoz biyosensörü için önerilmiştir. Genelde, enzim veya biyoreseptör çözeltisine yüzeyi membran / film ile kaplanmış transduser daldırılır ve belirli bir süre beklenir. Membran veya film immobilize edilecek reseptöre göre hidrofilik veya hidrofobik karakterde seçilebilir. Enzimler için daha çok hidrofilik membranlar kullanılır. Selüloz, kolodyum, silika jel, cam, kollagen, selüloz asetat membranları, polistiren, polivinil klorür gibi bir çok madde enzim adsorpsiyonunda kullanılır [44, 45].

Adsorpsiyon yöntemi ile immobilize edilmiş enzimlerin özellikleri (aktivite, pH, Michealis sabiti, spesifiklik, kararlılık vb.) doğal enzim ile kıyaslandığında, taşıyıcının doğasına, enzime ve substrata bağlı olarak pek çok değişikliğin olabileceği kanıtlanmıştır.

Adsorpsiyon yönteminin yararları; enzim immobilizasyon işleminin basit oluşu, değişik biçim ve yükteki taşıyıcıları seçme olanağı vermesi ve bir yandan immobilizasyon gerçekleştirilirken diğer yandan enzim saflaştırılmasına olanak sağlamasıdır [46].

Sorpsiyon tersinir bir olay olduğundan adsorpsiyon ile immobilizasyon güvenilir bir yöntem değildir ama yine de biyosensörlerde başarılı uygulamaları vardır. Bu yöntemin en büyük dezavantajı enzim ile destek arasındaki bağlayıcı kuvvetinin kolayca kontrol edilememesidir. Bu kuvvetler çok zayıf ise pH, iyonik güç, sıcaklık ve çözücünün türüne bağlı olarak adsorplanmış enzim desorpsiyona uğrayabilir. Bu kuvvetler çok güçlü ise immobilizasyon sırasında enzimin önemli bir kısmı denature olur [43, 44].

#### **2.3.4.3.4. Çapraz bağlanma**

Tutuklama yöntemi ile kimyasal bağlanmanın bir kombinasyonudur. Tutuklanmış enzim glutaraldehit, hegzametilen diizosiyanat, diflorodinitrobenzen, disksinil sberat gibi bifonksiyonel reaktiflerle film veya tabakaya kovalent bağlanır. Bifonksiyonel reaktifler, enzimlerin yanı sıra organeller, hücreler ve antijenlerin immobilizasyonunda da uygulanır. Glutaraldehit en sık kullanılan biyofonksiyonel reaktiftir.

#### **2.3.4.3.5. Transduser yüzeyinin kaplanması**

Bu işlem değişik şekillerde uygulanabilir. Ya polimerizasyon doğrudan transduser yüzeyinde gerçekleştirilip bir film elde edilir ya da önceden hazırlanan polimer ile transduser yüzeyi kaplanır. Polimer transduser yüzeyine adsorpsiyon veya kovalent bağlanma ile tutturulur.

- a) Daldırma yöntemi
- b) Doğrudan bağlama yöntemi
- c) Aerosol kullanımı
- d) Membran kullanımı

##### **2.3.4.3.5.1. Daldırma yöntemi**

Elektrot önce enzim ve reaktif polimeri veya enzim, albumin ve jelatin gibi inert bir protein ve çapraz bağlayıcı reaktifi içeren karışıma daldırılır. Daha sonra elektrot kendi ekseni etrafında homojen bir enzim tabakası elde edilecek şekilde döndürülür. Elektrot yüzeyinde oluşan film bir O-ring ile tutturulur. Son adımda elektrot glisin çözeltisine daldırılarak nötralleştirilir ve çapraz bağlayıcının fazlası uzaklaştırılır. Yöntem çok kolay ve özellikle küçük transduserler için çok uygundur.

##### **2.3.4.3.5.2. Doğrudan bağlama yöntemi**

Daldırma yönteminde enzim ve transduser yüzeyinde film oluşturacak maddenin bir çözeltisi hazırlanır. Kullanılan enzim çok pahalı ise bu durumda daldırma

yöntemi ile transduser yüzeyinde önce bir membran oluşturulabileceği gibi hazır membranlarla da kaplama yapılabilir ve yaklaşık 10 µl enzim çözeltisi bir kapiler yardımı ile ince bir tabaka oluşturacak şekilde damlatılır. Daha sonra aynı şekilde çapraz bağlayıcı reaktif ilave edilir.

#### **2.3.4.3.5.3. Aeresol kullanımı**

Biyosensörün cevap süresi transduser yüzeyindeki biyokomponenet tabakasının kalınlığı ile doğru orantılıdır. Transduser 20 dakika enzim çözeltisine daldırılıp enzim adsorpsiyonu sağlanır ve 4 °C’ de kurutulduktan sonra çapraz bağlayıcı reaktif püskürtülürse enzimin transduser yüzeyine çok ince bir tabaka halinde daha sağlam tutunması gerçekleştirilir.

#### **2.3.4.3.5.4. Membran kullanımı**

Bu yöntemde önce enzimi immobilize formda içeren membran hazırlanır ve bu membran ile transduser yüzeyi kaplanır. Böylece aynı karakterli membrandan bol miktarda hazırlanabilir ve bu membranlar biyosensör fabrikasyonu için çok uygundur [44].

#### **2.3.4.3. Glukoz biyosensörü**

İnsan kanındaki glukoz konsantrasyonunun belirlenmesi diabet hastalığının teşhisi ve tedavisi için önemli bir analizdir [47]. Ayrıca glukoz fermantasyon endüstrisinin en önemli bileşenidir

İlk olarak Clark ve Lyons 1962’de bir pH elektrodu üzerine glukoz oksidaz enzim tabakasını sabitleştirerek glukozun saptanmasına ilişkin bir yöntem ileri sürmüşlerdir. pH elektrodu reaksiyon sonucu üretilen glikonik asiti saptar. O<sub>2</sub> elektrodu ise enzim vasıtasıyla tüketilen oksijeni ölçer. 1967’de Uptike ve Hicks fiziksel olarak tutuklanmış glukoz oksidaz içeren poliakrilamidle oksijen elektrodu kaplayarak bir enzim elektrot hazırladılar. Bu elektrot O<sub>2</sub> içeren biyolojik bir çözeltiyle temas haline getirildiğinde iki bileşen enzimatik membrana difüze olur. Bu elektrot çözeltide bulunan O<sub>2</sub>’ yi kullanarak glukozu, glikonik asite yükseltger böylece glukoz konsantrasyonu ile orantılı olan oksijenin kısmi basıncındaki

azalmayı ölçer. Bu elektrodun yanıt süresi bir dakikadan daha azdı.1970’de Clark; 1978’de Fogt ve arkadaşları bir platin elektrot ile enzimatik reaksiyonda tüketilen hidrojen peroksiti ölçmeyi önerdi [32, 48, 49].

Polimer filmler, polimer jeller ve iletken polimerler gibi farklı matrisler glukoz oksidaz immobilizasyonu ve glukoz biyosensörleri geliştirmek için denenmiştir [50, 51].

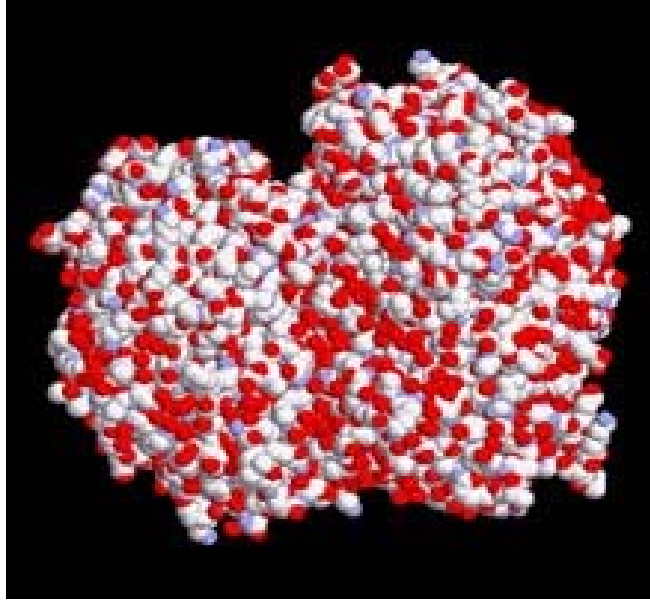
Elektrokimyasal glukoz sensörünün hazırlanmasıyla ilgili çok sayıda makale yayınlanmıştır. Glukoz biyosensörünün hazırlanması sırasında elektrot yüzeyinde glukoz oksidaz’ın immobilizasyonu yüksek performanslı biyosensör yapımına olanak sağlar [52]. Elektrokimyasal polimerizasyon elektrot yüzeyinde glukoz oksidaz immobilizasyonu için basit ve etkili bir yaklaşımdır. Bu proses film kalınlığının ve dolayısıyla imobilize olmuş enzimin miktarınının kontrol edilebilmesine imkan tanımaktadır [53, 54].

Glukoz oksidaz son yıllarda başarılı bir şekilde polipirol, poli(*N*-metilpirol), polifenilen, poliindol, polianilin, politiyofen, poli(*p*-klorofenol), poli(*p*-klorofenil ve poli(*p*-aminofenol) gibi polimerlerde immobilize edilmiştir [55-58].

Glukozun oksidasyonu oksijen varlığında glukoz oksidaz enzimi tarafından katalizlenir. Elektron akseptör olarak kullanılan O<sub>2</sub> varlığında glukoz ve glukoz oksidaz arasındaki enzimatik reaksiyon aşağıda gösterilmektedir.



Reaksiyon sonucunda oluşan hidrojen peroksit polimerik matris içerisinden elektrot yüzeyine difüzenmekte ve orada yaklaşık 0,7 V civarında (Ag/AgCl) elektrokimyasal oksidasyon ile amperometrik olarak tayin edilmektedir [58].

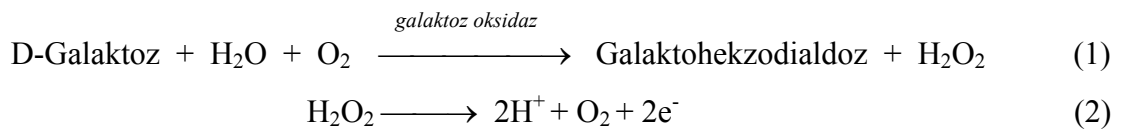


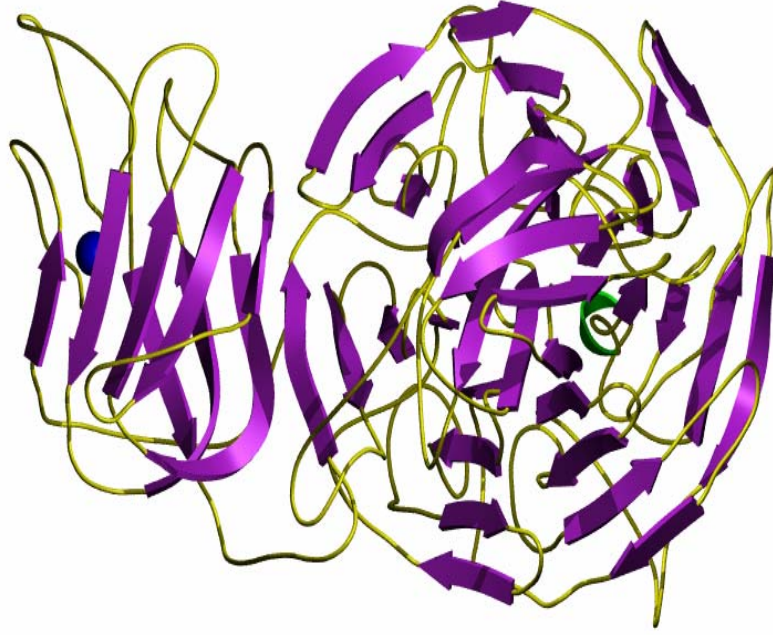
Şekil 2.4. Glukoz oksidazın atomik modeli [59]

#### 2.3 .4.4. Galaktoz biyosensörü

Gıda ve fermantasyon endüstrisinde, klinik kimyada galaktozun belirlenmesi önemlidir. Galaktosemia ve galaktoz intolerans insan kanındaki galaktoz seviyesiyle doğrudan ilişkili olduğu için katalizlenmiş galaktoz reaksiyonunun çalışması ve insan kanındaki galaktozun belirlenmesi çok önemlidir. Galaktoz analizi için genellikle polarimetrik, florometrik, spektrofotometrik ve kromatografik metodlar kullanılır. Bu metodlar yorucu, pahalı ve zaman alıcıdır. İmmobilizasyon tekniklerindeki ilerlemelerden sonra hızlı, basit, güvenli, duyarlı ve ucuz enzim elektrotlar bu analizler için geliştirildi. Galaktoz analizi için immobilize edilmiş galaktoz oksidaz kullanılarak amperometrik sensörler üretildi. Bu enzim asetil selüloz ve kollogen membranların, gözenekli naylon veya nafyon filmlerin yüzeyleri üzerine immobilize edildi veya bir membran ile bir elektrot arasına sıkıştırıldı [60, 61].

Galaktozun oksidasyon reaksiyonunu galaktoz oksidaz enzimi katalizler. Bu enzimatik reaksiyon aşağıdaki gibi yazılabilir.





Şekil 2.5. Galaktoz oksidazın yapısı [62]

## 2.4. Poliimidler

### 2.4.1. Poliimidlerin genel özellikleri

Poliimidler, kimyasal açıdan inert, ısıya ve çevre koşullarına dayanıklı, sağlam polimerlerdir. Bu üstün özellikleri nedeniyle elektronik ve otomobil endüstrisinde cam, metal türü malzemeler yerine kullanılır. İlk defa Dupont tarafından sentezlendi ve şu an piyasada film, fiber ve saf polimer olarak satılmaktadır. Özellikle uzay ve havacılık endüstrisinde, ısı kararlı ve hafif malzeme olarak saf poliimidler oldukça fazla uygulama alanı bulmuştur. Ayrıca poliimidler ile yapılmış kopolimerler de ticari değer taşımaktadır. Poliimidler yüksek sıcaklıklarda kullanılacak en uygun materyal olarak bilinirler. [63, 64].

Aromatik monomerlerden sentezlenen aromatik poliimidler yüksek performanslı polimerlerin en önemli sınıflarından biridir. Aromatik poliimidler mükemmel elektriksel, termal ve yüksek sıcaklıklardaki mekanik özelliklerinden dolayı yüksek sıcaklıklarda izolatör, kaplama, yapışkan ve yüksek performanslı kompozitler için matriks olarak çok sayıda uygulama alanı bulmaktadır. Bununla beraber bu

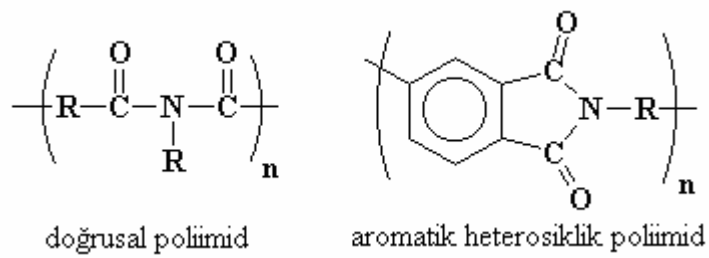
polimerlerin çoğunun çözünmez ve eritilemez oluşu büyük bir dezavantajdır. Kim ve arkadaşları çözünürlüğü ve işlenebilirliği geliştirilmiş çok sayıda poliimidi başarılı bir şekilde sentezlemişlerdir [65, 66].

Poliimidler ışındandırmaya ve mekanik biçim değıştirmelerine ve çözücü etkilerine karşı büyük bir direnç gösterirler. Poliimidler:

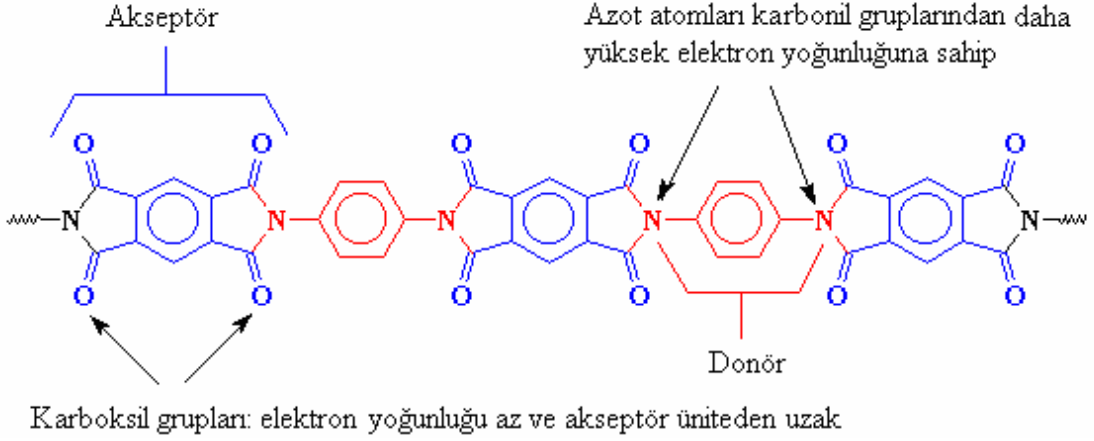
- a) Isıya karşı dayanıklıdırlar.
- b) Havaya ve oksijene (oksidasyona) karşı dayanıklıdırlar.
- c) Kolay çözünmezler.
- d) Mekanik etkilere (vurma, çarpma, basma, germe vb.) karşı dayanıklıdırlar.
- e) Asidik hidrolize uğramazlar.
- f) Bakterilere karşı dayanıklıdırlar.
- g) Elektriksel iletkenlik gösterirler [64].

#### 2.4.2. Poliimidlerin yapısı

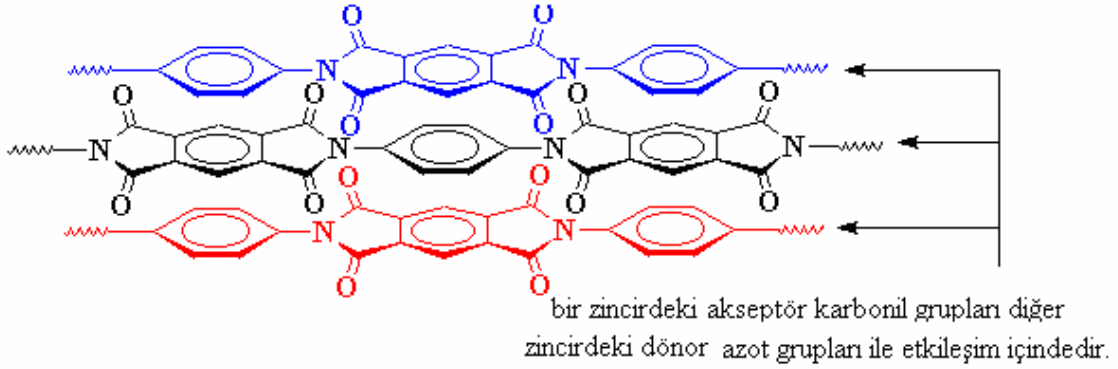
Poliimidler iki gruba ayrılır. Birinci grup, imid grubunun ana zincirde yer aldığı doğrusal poliimidler, ikincisi ise halkalı imit gruplarının ana zincirdeki yapının bir parçası olduğu aromatik heterosiklik poliimidlerdir [63].



Poliimid yapısındaki donör ve akseptör gruplar Şekil 2.6 ve genel imid yapıları Şekil 2.7'de gösterildiği gibidir.



Şekil 2.6. Poliimid yapısında donör ve akseptör gruplar



Şekil 2.7. Genel imid yapıları [67].

Yani donör azot atomundan aynı zincirdeki akseptör karbonil gruplarına elektron sağlanarak bir yük transfer kompleksi oluşur ve aradaki bağ kuvvetlenir. Bu da zincirin gücünü artırarak poliimidi kuvvetli kılar. Yük transfer kompleksi sadece yakın atomlar arasında kurulmaz. Zincirler arasında da gözlenir. Bir zincirdeki donör atom diğer zincirdeki akseptör atoma da elektron sağlayabilir. Böylece zincirler arası bir etkileşim oluşur.

### 2.4.3. Poliimidlerin sınıflandırılması

Poliimidler üstün özellikleri sayesinde çok ilgi görmüş ve pek çok araştırmanın konusu olmuştur. Bu nedenle pek çok yeni poliimid türü sentezlenmiştir. Bu çeşitlilik poliimidlerin sınıflandırılmasını güçleştirmektedir.

Poliimidler ticari özelliklerine ve işleme kolaylıklarına göre dört ana sınıfa ayrılırlar.

- a) Kondenzasyon ürünü poliimidler.
- b) Termoset poliimidler.
- c) Katılma türü poliimidler (maleimit bazlı poliimidler).
- d) Termoplastik poliimidler.

#### **2.4.3.1. Kondenzasyon ürünü poliimidler**

a) Gökkuşığı reçineleri: 3,3',4,4'- benzofenon tetrakarbonsilik dianhidrit (BTDA) ile çeşitli diaminlerden polikondenzasyon reaksiyonları ile elde edilir.

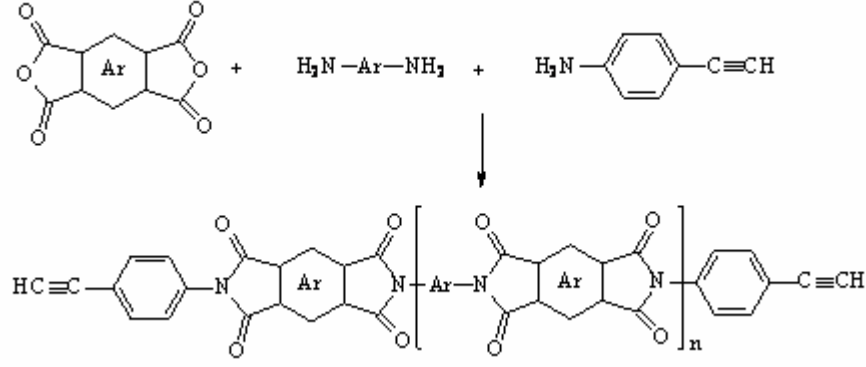
b) Piralin reçineleri: Hazırlanmalarında gökkuşığı reçinelerine benzemekle birlikte bu tür reçineler de piromellitik dianhidritlere dayanır.

#### **2.4.3.2. Termoset poliimidler**

Bu grupta yer alan aromatik poliimidler üstün özellikleri nedeni ile fiber kompozitlerin hazırlanmasında matris reçine olarak kullanılır. N-metil piperidon, dimetil formamit gibi polar çözücülerde hazırlanan bu reçinelerden çözücüyü uzaklaştırma imkanı bulunmaz. Plastikleştirici etkisi yapan çözücü molekülleri materyalin yüksek sıcaklıkta, fiziksel özelliklerini bozar. Bu nedenle bu tür materyal, polimerleşebilir son gruplar içeren, halkalı, düşük molekül ağırlıklı imitler halinde hazırlanırlar. İkinci aşamada, son gruplar üzerinden tam bir pişirme işlemine uğrattılır. Termid-600 adlı poliimid yüksek termal kararlılık gösteren polimer olarak bilinir. [68].

a) Norbornen son-gruplu poliimidler: Yapı içindeki aril ve alkil grupları değiştikçe poliimidin özellikleri de değişir. Son grup olarak norbornen katmak polimerizasyon sırasında istenilen molekül ağırlığında polimer elde etmek için kullanılır.

b) Asetilen son gruplu poliimidler: Polimer zincir uçlarında etinil (asetilen) takıntılı poliimid reçineleridir. [69].



**Şekil 2.8.** Asetilen uç gruplu poliimidlerin hazırlanması

#### 2.4.3.3. Katılma türü poliimidler (Maleimit- bazlı poliimidler)

Bismaleimit monomerine dayanan yüksek sıcaklık termosetlerinin çıkış maddeleri maleik anhidrit ile aromatik dianhidritlerdir.

Ara ürün olarak elde edilen bismaleamik asit siklodehidrasyona uğrayarak bis-maleimide dönüştürülür. Maleimittteki çift bağ çok reaktiftir. 150-400°C sıcaklıkta polimerizasyona ve kopolimerizasyona uğrar. Birincil ve ikincil aminlere Michael katılması yaparak zincir uzaması reaksiyonları verebilir.

#### 2.4.3.4. Termoplastik poliimidler

Bu poliimidlerin işlenebilirlik değeri yüksektir. Yani poliimid ısı ile yumuşatılıp tekrar tekrar kalıplanabilir. Son yıllarda tümü ile imidleştirilmiş üç aromatik poliimid aşağıda sunulmuştur.

1-Polimid 2080, benzofenon trikarboksilik dianhidrit (BTDA)'nın uygun çözücü içinde polikondensasyonu ile elde edilir.

2- XU-218, bir aromatik sikloalifatik diamin monomerin BTDA ile reaksiyona uğratılması ile elde edilir.

3-Lark-TPI(NASA), BTDA ile 3,3'diaminobenzofenon'un uygun çözücünde reaksiyonu ile elde edilir [68].

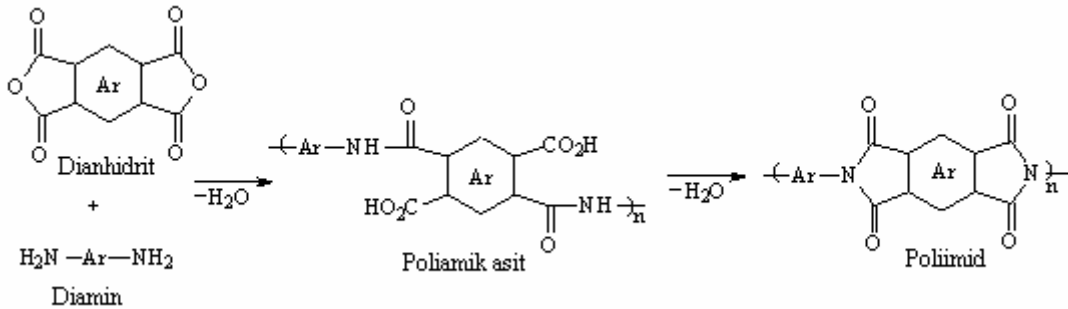
#### 2.4.4. Poliimidlerin sentezi

Poliimidler genellikle basamaklı veya kondensasyon tepkimeleri ile hazırlanırlar. Organik diaminler ile tetrakarboksilik anhidritlerin polikondenzasyonu ile sentezlenen polimidlerin sentez metotları çeşitlilik göstermektedir. Bu yöntemler arasında genel olanları:

- İki basamaklı poliimid sentezi
- Tek basamaklı poliimid sentezi

##### 2.4.4.1. İki basamaklı poliimid sentezi

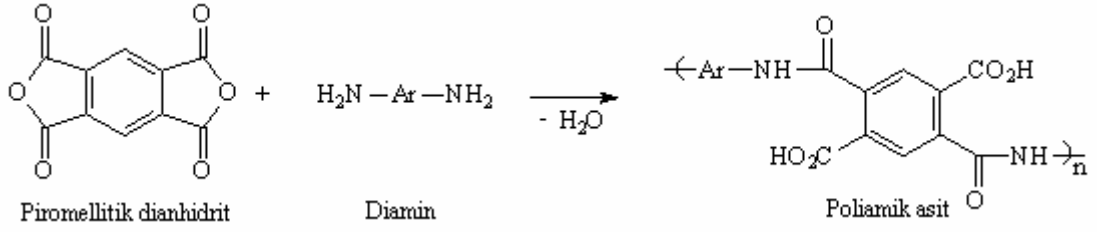
Poliimid sentezi iki basamakta gerçekleştirilir. İlk basamakta dimetilformamit (DMF), dimetilasetamit (DMAc) ya da dimetilsülfoksit (DMSO) gibi polar çözücüler içerisinde dimin çözünür ve imidizasyondan kaçınmak için düşük sıcaklıklarda (50°C) çözeltiye dianhidrit eklenir. Reaksiyon hızlı ve egzotermiktir ve bu reaksiyon poli(amik asit)'in viskoz bir çözeltisinin oluşmasıyla sonlanır. İkinci basamak ise poli(amik asit) imidizasyonudur [70].



Şekil 2.9. İki basamaklı poliimid sentez şeması

Bu yöntem doğrudan bir poliimid sentezine girmediği için iki basamaklı olarak adlandırılmıştır. Yöntemde önce bir poliamik asit elde edilir ve ikinci basamakta poliimid oluşturulur. Bu yöntem ticari öneme sahip olan Kapton'un sentezinde de yaygın olarak kullanılmaktadır. İki basamaklı yöntemde gerçekleşen iki ana basamak vardır.

#### 2.4.4.1.1. Poli(amik asit) oluşumu



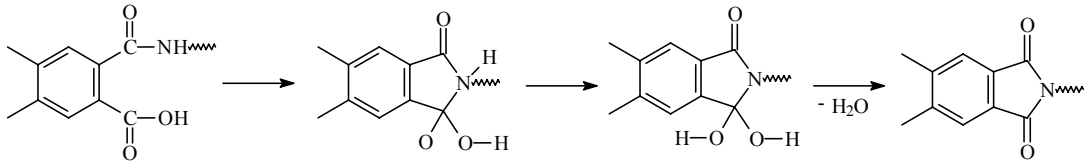
Şekil 2.10. Poliamik asidin oluşumu

Bir diamin ile bir dianhidrit *N,N* dimetil asetamid gibi dipolar aprotik bir çözücü içerisinde eklendiği zaman uygun sıcaklıkta poli(amik asit) hızlı bir şekilde oluşmaktadır. Amino grubu anhidrit üzerindeki karbonil karbonuna nükleofilik saldırınca anhidrit halkası açılarak amik asit oluşmaktadır. Bu denge tepkimesinde ileri tepkime geri tepkimeden daha hızlıdır. Aminlerin açilasyon tepkimeleri ekzotermiktir. İleri tepkime dipolar çözücüler içerisinde ikinci dereceden ve geri tepkime ise birinci derecedendir. Bu nedenle denge hali düşük sıcaklıklarda ve yüksek monomer derişimlerinde yüksek molekül ağırlıklı PAA oluşturur [71].

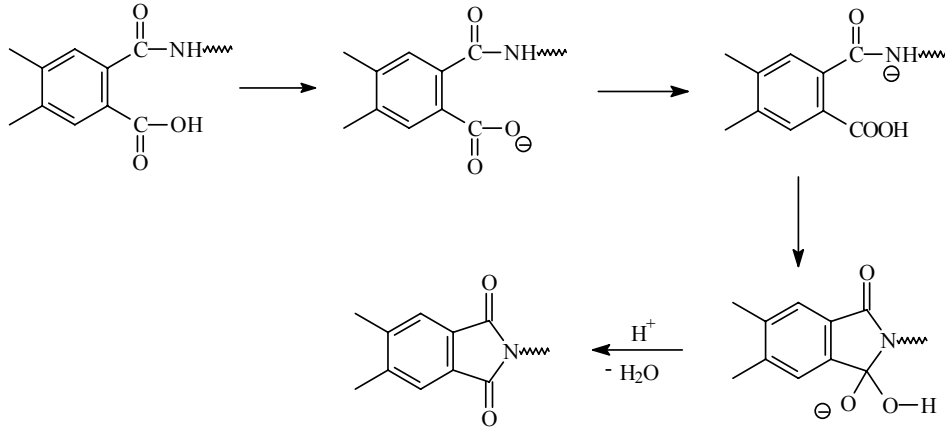
#### 2.4.4.1.2. Poli (amik asit)'lerin termal imidizasyonu

Poliimid sentezinin ikinci aşamasında kullanılan en yaygın yöntem poliamik asidin termal imidizasyonudur. Bu yöntemde poliamik asit çözeltisi bir yüzeye uygulanarak ya da direkt olarak 250-400°C'ye ısıtılarak halkanın kapanması ile poliimid elde edilir. Termal imidizasyon üzerine iki farklı mekanizma önerilmiştir.

### Mekanizma 1



### Mekanizma 2



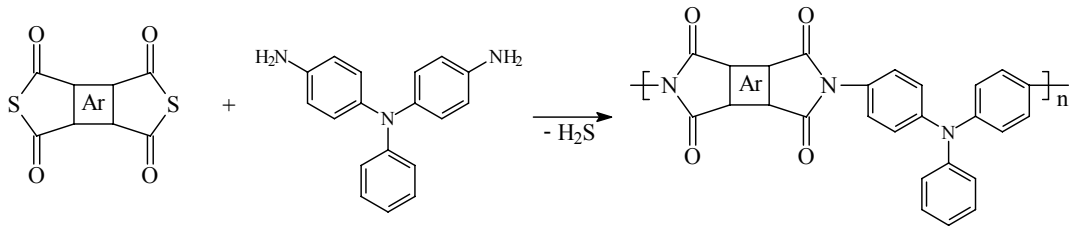
Şekil 2.11. Termal imidizasyon mekanizması

Bu işlemde ısı ile poliamik asit yapısından su eliminasyonu gerçekleştirilir ve poliimid elde edilir. Termal imidizasyon üzerine gerçekleştirilen çalışmalarda bu işlemin iki aşamalı olarak gerçekleştiği ve birinci aşamada özellikle 150°C’ da çok yüksek tepkime hızına ulaşıldığı diğer aşamada ise bu hızın düştüğü görülmüştür.

#### 2.4.4.2. Poliimidlerin tek basamaklı yüksek sıcaklık çözelti polimerizasyonu

Organik çözülerde çözünebilen poliimidler tek aşamalı yöntemle sentezlenebilirler. Bu yöntemle, dianhidrit ve daimin, kaynama noktası yüksek bir çözücüde 180-200 °C’de ısıtılarak poliimid elde edilir. Bu şartlar altında, zincir büyümesi ve imidizasyon aynı anda olmaktadır. İmidizasyon reaksiyonundan çıkan su çözültiden destillenecek uzaklaştırılır. En yaygın olarak kullanılan çözücüler nitrobenzen,  $\alpha$ -kloronaftalen, m-kresol veya diğer fenollerdir. Tek aşamalı sentez metodu özellikle reaktivitesi düşük dianhidritlerin ve diamminlerin polimerizasyonunda etkili olmaktadır [72].

Oishi ve arkadaşları, çözünebilir poliimid hazırlamada 1992 yılında yeni bir yöntem önermişlerdir. 4,4'-Diamino trifenilamin ve onunla tepkimeye girmek üzere PMDA, BTDA, DSDA ve BPDA' nın tiyoanhidrit analogunu kullanarak azot atmosferi altında 140°C' de poliimidleri hazırlamışlardır. Bu yöntem ile hazırlanan poliimidler çözüdür olduklarından ve tek basamaklı polimerizasyonla elde edildikleri için bu konudaki ilk çalışmalardır. Ayrıca bu yöntemle hazırlanan poliimidler 300°C' nin üzerine ısıtıldıklarında daha az çözüdür olmakta ve mekanik dayanımları artmaktadır.[69]



**Şekil 2.12.** Tiyoanhidritten poliimid sentezi [69]

2002 yılında dimetilamino eliminasyonuna dayanan yeni bir tek basamaklı poliimid sentezi Seçkin ve arkadaşları tarafından gerçekleştirilmiştir. Bu yöntemde poliimid sentezinde diamino bileşikleri yerine dimetilamino grupları kullanılarak su eliminasyonu engellenmiş ve istenilen molekül ağırlığına ulaşılmıştır [73-75].

#### 2.4.5. Membran materyali olarak poliimidlerin kullanılması ve avantajları

Aromatik poliimidler ilk olarak 4-aminofthalik asitin anhidridi veya eterlerin polikondensasyonu vasıtasıyla 1908'de Marston Bogert tarafından üretildi. 1955'de diaminler ile piromelitik dianhidridin iki-safhalı polikondensasyonu ile yüksek molekül ağırlıklı ürünler sentezlendi. Poliimidlerin önemli fiziko-mekanik ve kimyasal özelliklere sahip olmalarından dolayı polimerlerin bu sınıfına araştırmacıların ilgisi gittikçe artmıştır. Poliimidler eşsiz fizikokimyasal özelliklere sahiptir. Yüksek sıcaklıklara karşı güçlü direnç, radyasyon ve kimyasal direnç, iyi mekanik güç, üstün izolasyon özellikleri vb. Bu özellikler poliimidleri,

endüstrinin farklı alanlarında yaygın olarak kullanılabilen önemli materyaller yapar. Poliimidler süper termal kararlılığa sahiptirler. 200°C üzerindeki sıcaklıklara kadar poliimidlerin kullanımına devam edilebilir ve kısa zamanda 480°C nin üzerindeki sıcaklıklara kadar ısıtılmaları mümkündür. Poliimidler yanmaz, oda koşullarında organik çözücülere, sülfürik ve nitrik asit dışındaki güçlü asitlere karşı kararlıdır. Poliimidler geniş bir sıcaklık aralığında mükemmel fiziko-mekanik özellikler, olağanüstü yüksek radyasyon direnci ve süper yarı iletkenlik gösterirler.

Son yıllarda membran bilimi ve teknolojilerinin gelişimi poliimid membran alanında önemli yeniliklere yol açtı. Poliimidler moleküler elekler için mükemmel materyallerdir. Onların ayırma özellikleri özellikle de basit gazlarla ilgili gaz ayırma özellikleri diğer polimerlerden çok daha iyidir ve onların zengin potansiyelleri henüz tam olarak araştırılmamaştır. Poliimidler yüksek kimyasal dirençlerinden dolayı ultra ve mikrofiltrasyon için ümit verici materyallerdir ve membranların modifikasyonu için kullanılabilirler. Yüksek termo ve kimyasal kararlılık ve mükemmel fiziko-mekanik özelliklerinden dolayı poliimid membranlar farklı fonksiyonel amaçlar için avantajlıdır [76].

Poliimid membranlar kimyasallara karşı özellikle de çeşitli çözücülere ve organik buharlara karşı yüksek direnç gösterdiklerinden dolayı onlar geleneksel polimerik membranların uygulanamadığı organik sıvı ve gaz karışımlarını ayırmak için kullanılabilir. Poliimid membranlar metanol, eter, benzen, toluen, ksilen, benzin gibi çözümlere karşı mükemmel dirence sahiptirler. Poliimidler uzun bir zaman periyodunda 300 °C kadar yüksek sıcaklıklara çok iyi bir ısı direnci gösteren materyallerdir. Ayrıca gaz ayırmada poliimidlerin yüksek seçici geçirgenlik özellikleri söz konusudur. Ana zincir üzerinde hegzaflo-ro-izopropilidin grupları içeren poliimidler iyi gaz geçirgenliği gösterir. Bununla beraber uygun membran materyalinin seçimi polimerin fiziko-kimyasal ve mekanik özelliklerinin optimizasyonuna bağlıdır. Poliimid membranlar bu özelliklerinden faydalanılarak gaz karışımlarından yüksek saflıkta hidrojen elde etmede hava ile kirlenmiş bir karışımdan veya doğal gazdan Helyum ayırmada, biyogazdan karbondioksit çıkarmada, metandan karbondioksit ayırmada kullanılır. [76-78]. Son zamanlarda poliimidler yüksek duyarlılıkta, kararlı ve güvenilir bağıl nem sensörlerinin üretiminde kullanılmaktadır [79, 80].

Poliimidlerin membran teknolojisindeki bir diğer önemli uygulaması da yakıt pili membranlarıdır. Özellikle sülfonat grupları taşıyan poliimidler yakıt pillerinde membran olarak yaygın bir şekilde kullanılmaktadır [69].

### 3. MATERYAL VE METOD

#### 3.1. Deneysel Araç ve Gereçler

Çalışma kapsamında sentezlenen monomerlerin ve poliimidlerin yapısal karakterizasyonu Matson 1000 model FT-IR, Leco CHNS-932 Elementel Analiz ve Agilent 1100 HPLC-GPC ile gerçekleştirildi. Termal analizler için ise Shimadzu 50 Diferansiyel Termal Analizör, Shimadzu 60 Diferansiyel Taramalı Kalorimetre ve Shimadzu 50 Termogravimetrik Analizör kullanıldı.

Bu analizler esnasında FT-IR çekimleri 400 - 4000  $\text{cm}^{-1}$  aralığında ve KBr peletler ile gerçekleştirildi.

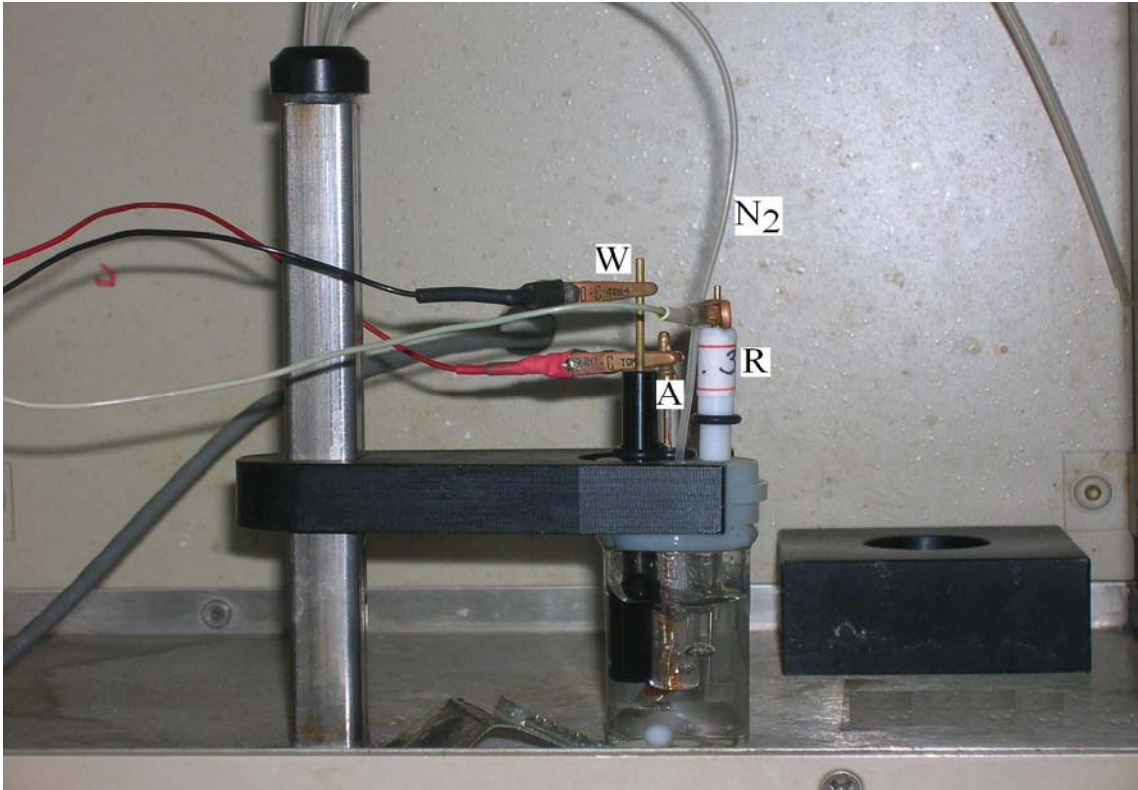
Termal analizler hava atmosferinde 10  $^{\circ}\text{C}/\text{dak}$  ısıtma hızı ile gerçekleştirildi. Tüm numunelerde % 10'luk kütle kaybı değerleri ve 800 $^{\circ}\text{C}$ ' de kalıntı değerleri TGA ile belirlendi. Ayrıca bozunma sıcaklıkları başlangıç değerleri ve termal bozunma sıcaklıkları DTA ile saptandı. Poliimidlere ait  $T_g$  değerleri DSC ile belirlendi. DSC analizleri diğer termal analizlerden farklı olarak 5  $^{\circ}\text{C}/\text{dak}$  ısıtma hızında gerçekleştirildi. DSC kalibrasyonu indiyum ve çinko standartları ile yapıldı. DTA ve DSC analizlerinde referans olarak  $\alpha\text{-Al}_2\text{O}_3$  kullanıldı. Örnek miktarı DTA ve TGA' da 10 mg, DSC analizlerinde ise 5 mg olarak alındı.

Voltametik deneyler, menüsünde 28 farklı elektrokimyasal teknik bulunan BAS 100W (Bionalytical Systems, Inc.) elektrokimyasal analizör ile gerçekleştirilmiştir. Analizör kişisel bir bilgisayara bağlanarak aygıtın kontrolü, veri depolaması ve işlenmesi bilgisayara yüklenmiş, MS-Windows altında çalışan bir program ile gerçekleştirilmiştir. Analizör, çözeltinin karıştırılmasına ve hücreden gaz geçirilmesine imkân tanımaktadır.



Şekil 3.1. BAS 100W elektrokimyasal analizör

Deneylerde yaklaşık 15 mL hacimli pyrex cam hücreler kullanılmıştır.



Şekil 3.2. Mikro hücre ve montajı R: referans elektrot, W: çalışma elektrodu, A: yardımcı elektrot.

Deneylerde kullanılan elektrokimyasal hücre, aynı firmanın C2 (cell stand) hücre kafesi içine yerleştirilmiştir. Faraday kafesi görevi gören bu düzenek sayesinde dış elektrik ve manyetik etkilerden yalıtılmıştır.

Çözeltilerin hazırlanmasında ve elektrotların temizlenmesinde Sonorex marka RX 100 model ultrasonik banyo kullanılmıştır.

Çözelti pH'ları Jenway 3010 pH metre ile ayarlanmıştır.

Hücrelerin ve diğer cam malzemelerin kurutulmasında Nüve marka EN 400 model etüv kullanılmıştır.

Kimyasalların tartımı için Mettler Toledo Ab204-S terazi kullanılmıştır.

Çözeltilerin hazırlanmasında, seyreltilmesinde ve elektrotların temizlenmesinde kullanılan saf su Milli Pore Milli- Q Water Purification System distile saf su cihazı ile elde edilmiştir.

### **3.1.1. Elektrotlar**

Deneylerde referans elektrot olarak 3 M KCl içindeki Ag/AgCl elektrodu (BAS, MF-2063), çalışma elektrodu olarak poliimidlerle modifiye edilmiş Pt (BAS, MF-2013, 2,00 mm<sup>2</sup>) elektrodu ve yardımcı elektrot olarak da spiral disk şeklindeki platin elektrot kullanılmıştır.

#### **3.1.1.1. Elektrotların Temizliği**

Referans elektrotlar distile su ile yıkandıktan sonra sürekli olarak 3 M KCl çözeltisi içinde saklanmıştır.

Yardımcı elektrot olarak kullanılan platin elektrotlar zaman zaman çıplak ateşte ısıtılarak distile su ile yıkanmıştır.

Çalışma elektrodunun temizlenmesinde, üzerine birkaç damla sulu alümina pastası damlatılmış olan kadife bir disk üzerinde elektrot "8" çizdirilecek şekilde 1-2 dakika hareket ettirerek 90° döndürülmek suretiyle aynı işlem tekrarlanır ve distile su ile yıkanır.

### 3.1.2. Ölçüm çözeltisi

Ölçüm çözeltisi olarak 100 mM'lık PBS çözeltisi kullanıldı. Deney öncesi, PBS çözeltisi 15 dakika boyunca oksijen doyuruldu.

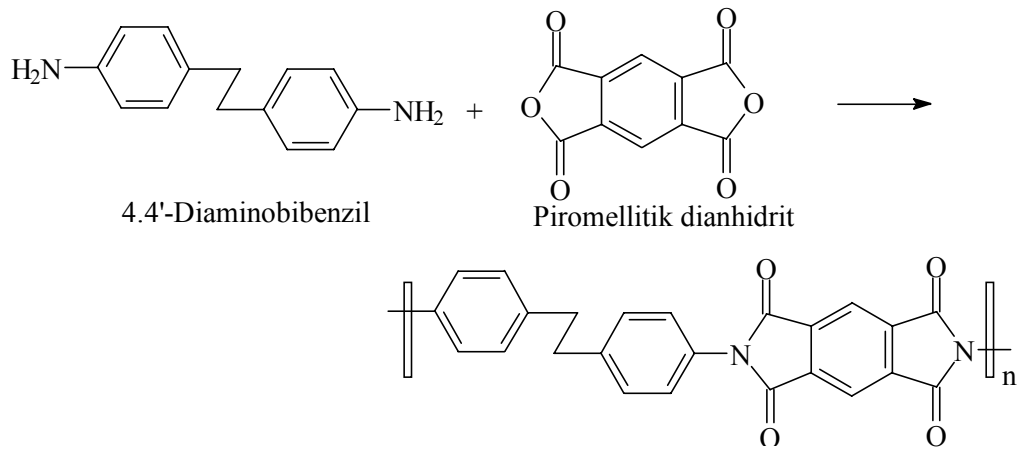
### 3.2. Kimyasal Maddeler

Glukoz oksidaz (from *Aspergillus Niger*), galaktoz oksidaz (from *dactylium dendroides*), D-(+)-glukoz ve D(+)-galaktoz Sigma'dan temin edildi. Laktoz, sukroz, üre, askorbik asit, okzalik asit, ürik asit, NaCl, KCl,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  ve  $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  doğrudan kullanıldı.

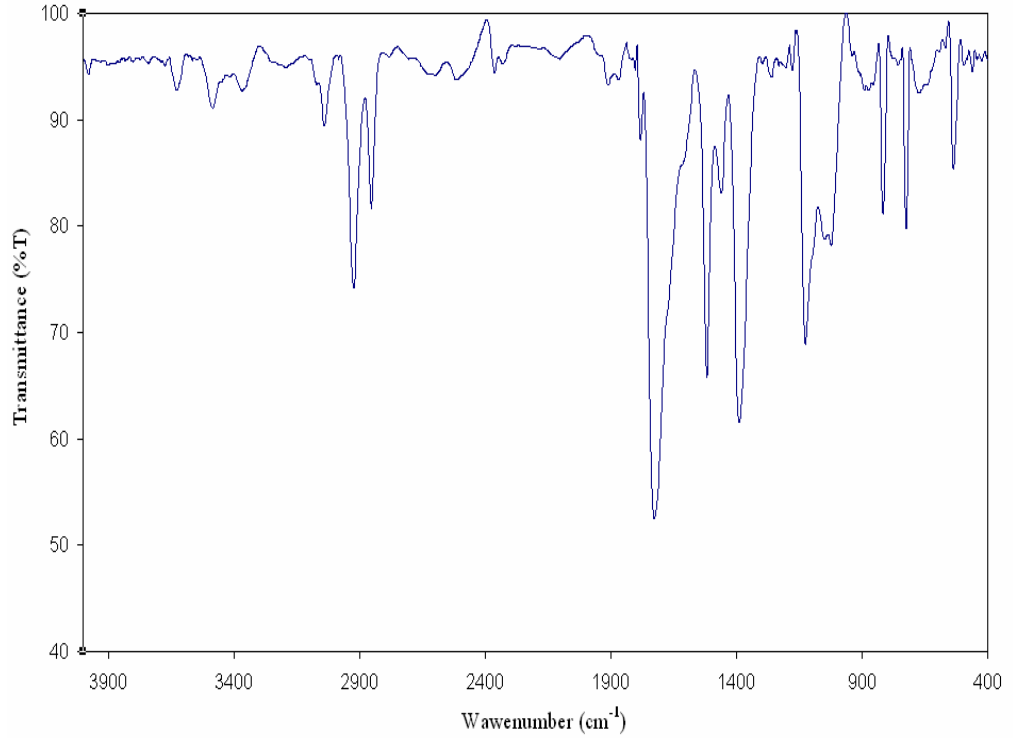
## 4. ARAŞTIRMA VE BULGULAR

### 4.1. Poli[4,4'-diaminodifeniletan-piromellitimid] Sentezi

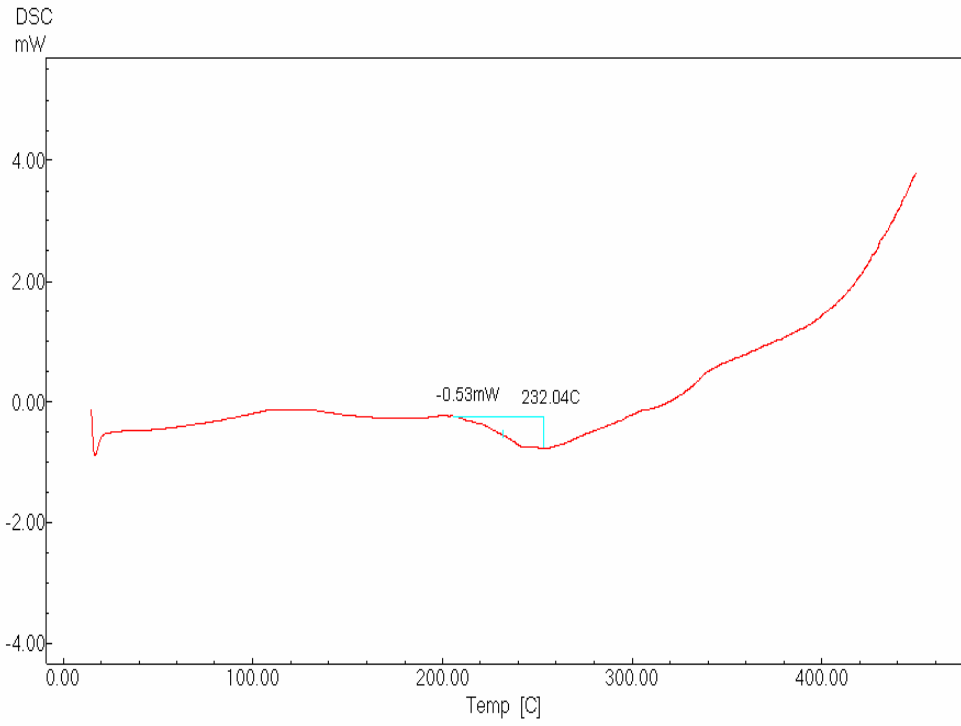
Önce schlenk içine azot gazı gönderilerek inert ortam sağlandı sonra piromellitik dianhidrit (2.20 g; 0.010 mol ) konuldu ve 15 mL *N*-metilpirolidon içinde çözülerek içine 4,4'-diaminobenzil (2.12 g; 0.010 mol) konuldu ve 15°C'de 1 saat karıştırıldı. Renk bal rengine döndü. Rengin değişmesi poliamik asit oluşumunu göstermektedir. Daha sonra poliamik asitten, poliimidin oluşması için termal imidizasyon reaksiyonu yapıldı, yani çözelti 185-190°C'ye ısıtılarak 15-18 saat karıştırıldı. Sonra da su ilavesi ile polimer çöktürüldü. Çöken poliimid süzülerek ayrıldı. Geniş bir behere alınan ürün su ile defalarca yıkandı. Sonra monomerin fazlası *N,N*-dimetilformamit eklenerek ortamdaki çözülerek ayrıldı. Sonra poliimid etüvde kurutuldu, öğütüldü ve karakterize edildi.



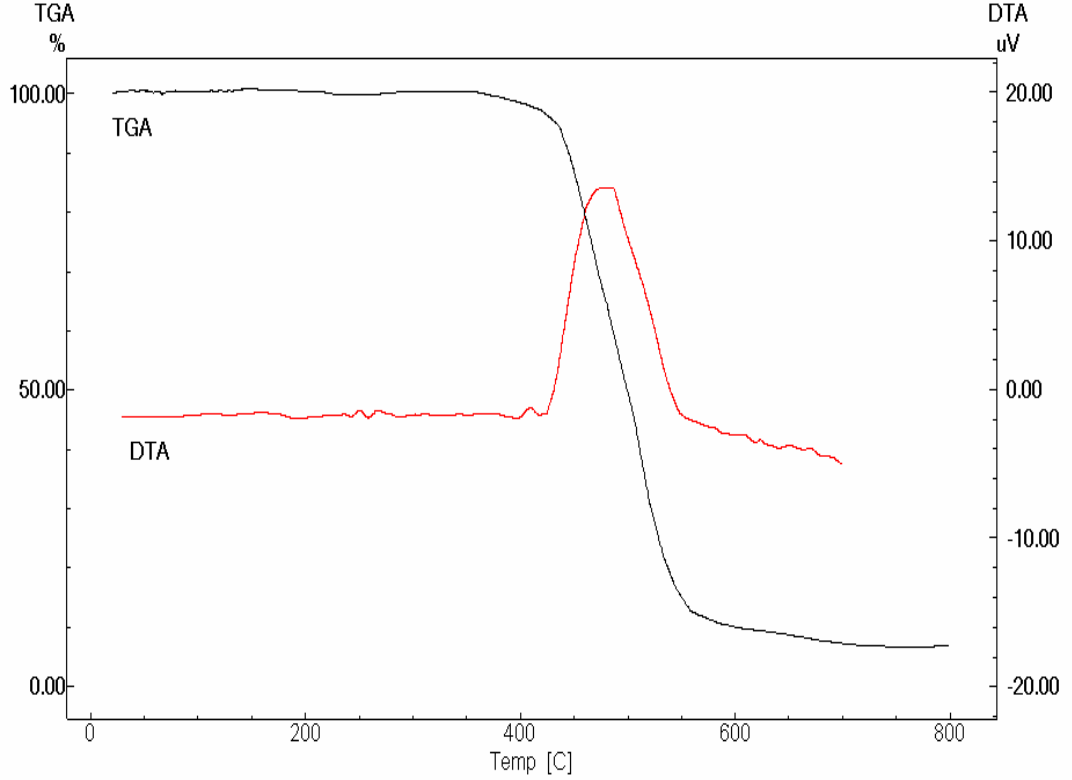
Şekil 4.1. Poli[4,4'-diaminodifeniletan-piromellitimid]'e ait sentez şeması



**Şekil 4.2.** Poli[4,4'-diaminodifeniletan-piromellitimid]'e ait FT-IR spektrumu



**Şekil 4.3.** Poli[4,4'-diaminodifeniletan-piromellitimid]'e ait DSC termogramı



Şekil 4.4. Poli[4,4'-diaminodifeniletan-piromellitimid]'e ait TGA, DTA termogramları

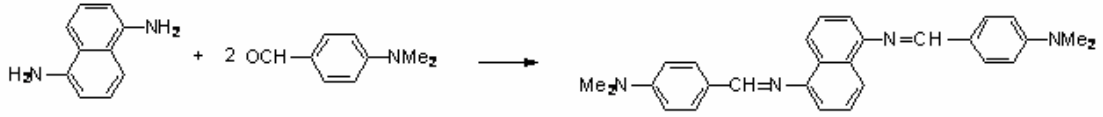
## 4.2. Schiff Bazı Temelli Poliimidlerin Sentezi

Tablo 4.1. Schiff bazı temelli poliimidlerin simgeleri, anhidritleri ve adları

Simge	Anhidrit	Adı
PI-1	PMDA	poli[bis(( <i>p</i> -dimetilaminobenziliden)-1,5- naftalen)- piromelitimid]
PI-2	BPDA	poli[bis(( <i>p</i> -dimetilaminobenziliden)-1,5- naftalen)-3,3',4,4'-benzofenontetrakarboksilikdiimid]
PI-3	ODPA	poli[bis(( <i>p</i> -dimetilaminobenziliden)-1,5-naftalen)-4,4'-oksidifitalikdiimid]
PI-4	BTDA	poli[bis(( <i>p</i> -dimetilaminobenziliden)-1,5-naftalen)-3,3',4,4'-bifeniltetrakarboksilikdiimid]
PI-5	6FDA	poli[bis(( <i>p</i> -dimetilaminobenziliden)-1,5-naftalen)- 4,4'-hegzaflorozopropilidendifitalimid]

### 4.2.1. Monomer sentezi

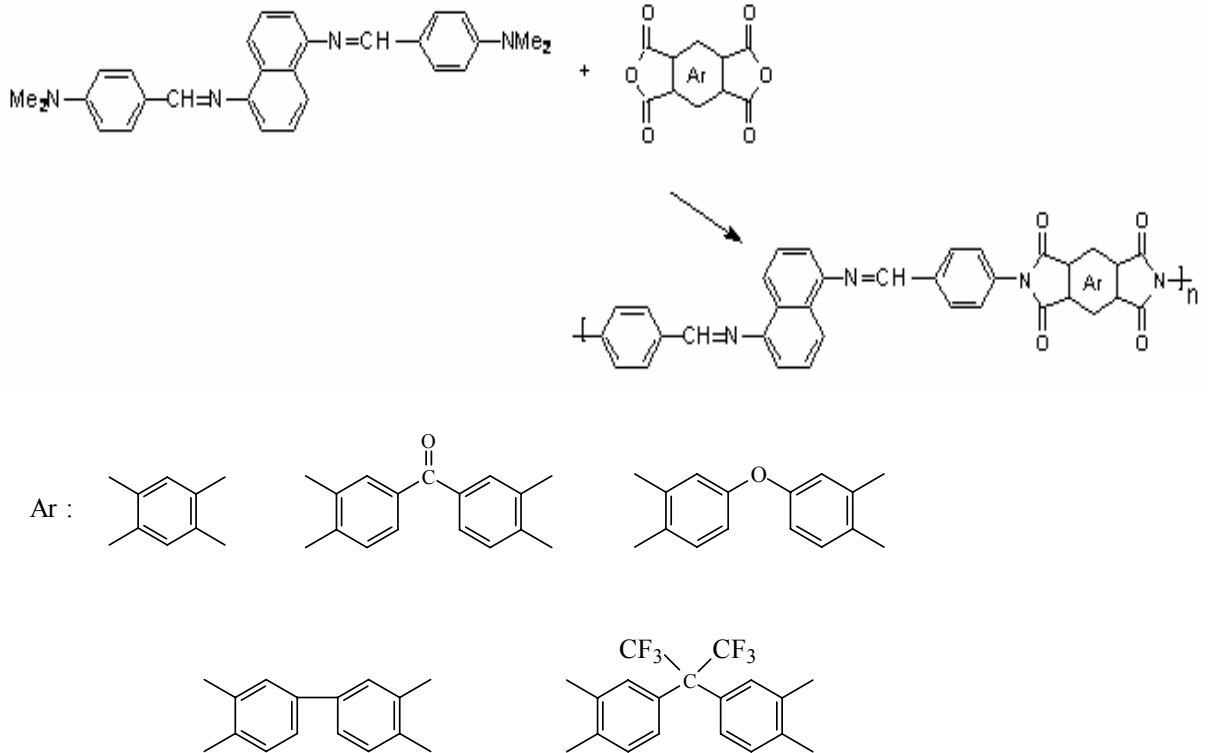
*p*-dimetilaminobenzaldehit (20 gr; 134 mmol) alkol içinde çözüldü. Stokiyometrik oranda diaminonaftalen (75 mmol) eklenmesi ile elde edilen karışım azot atmosfer altında reflux edildi. 1 saat sonra çöken ürün süzülerek ayrıldı. Etilalkol/dietileter içinde tekrar kristallendirildi.



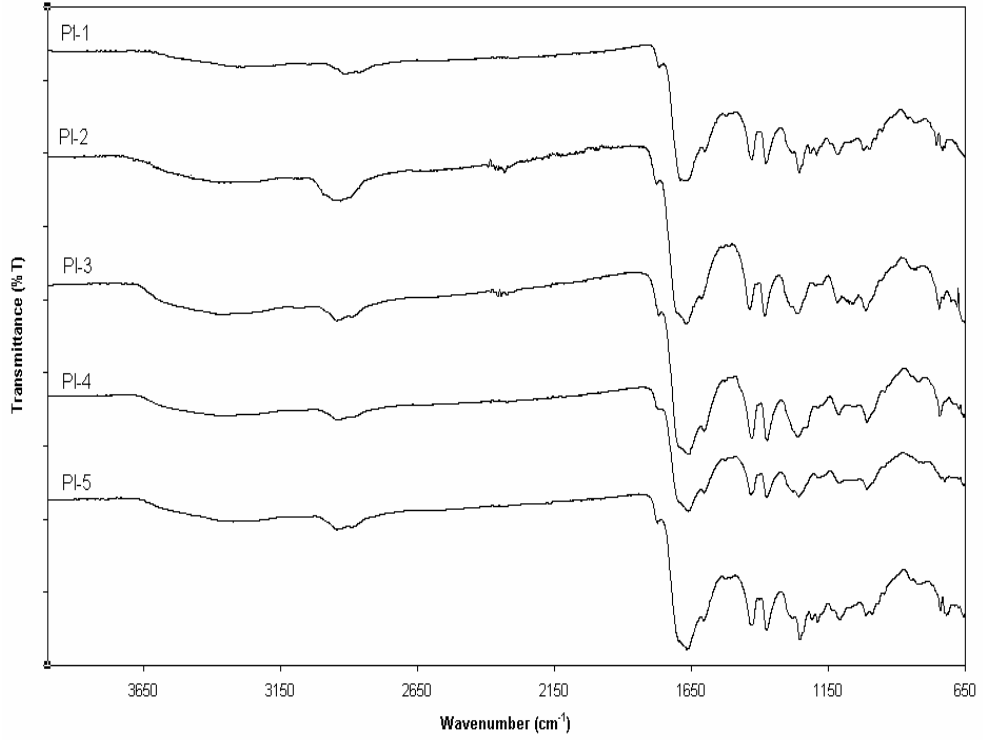
**Şekil 4.5.** 2,6-bis (*p*-dimetilaminobenziliden)-1,5 naftalendiamin sentezi

#### 4.2.2. Poliimid sentezi

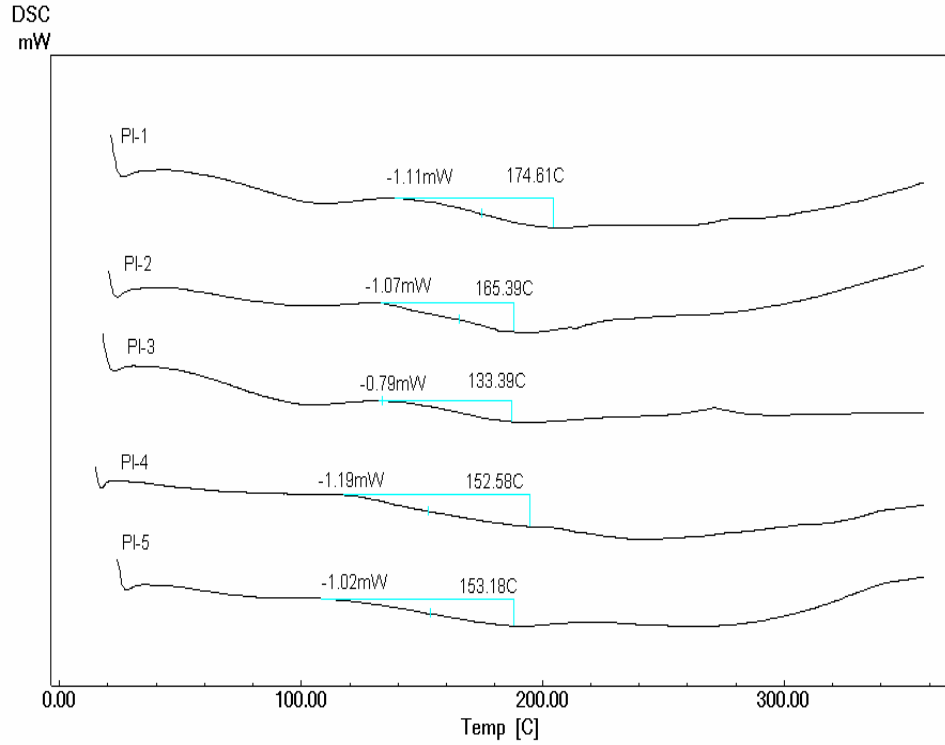
Üç ağızlı bir deney balonuna bir soğutucu, bir karıştırıcı ve bir damlatma hunisi bağlandı. Daha sonra dianhidrit (0.020 mol) konuldu ve 30 mL NMP içinde çözüldü. Sonra damlatma hunisinden 10 mL NMP içinde çözülmüş dimetil amin bileşiği (0.020 mol) damla damla ilave edildi. Homojen çözelti oluştuktan sonra 30°C' de yarım saat karıştırıldı. Daha sonra sıcaklık kademeli olarak 180-190°C'ye çıkarıldı ve ürün çökene kadar karıştırmaya devam edildi. Elde edilen ürün su ilavesi ile tam olarak çöktürüldü ve süzüldü.



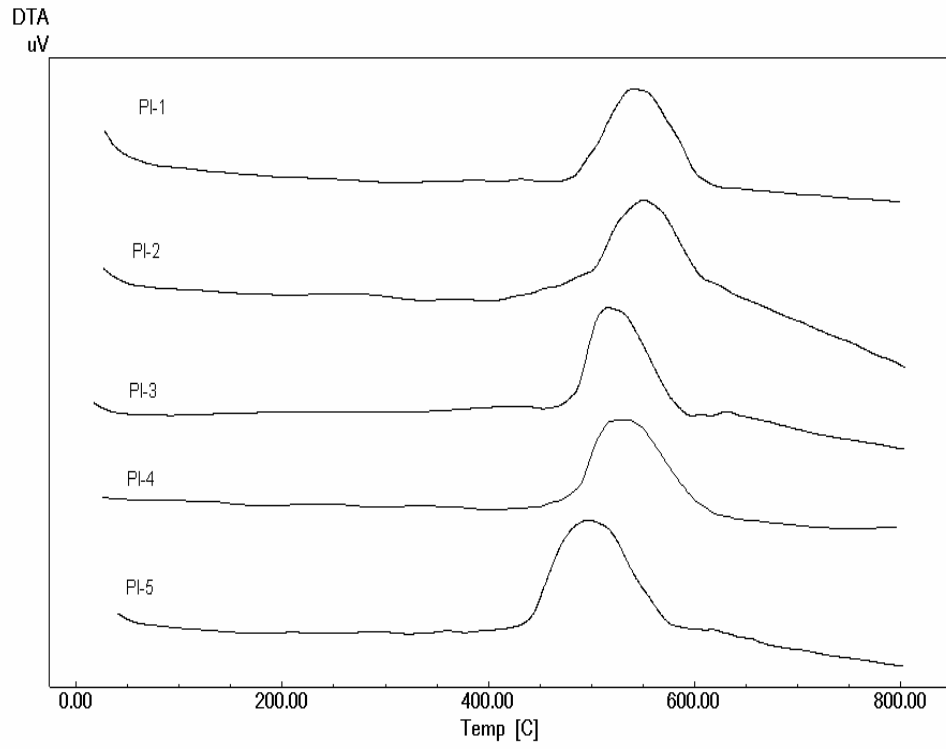
**Şekil 4.6.** Schiff bazı temelli poliimidlere ait sentez şeması



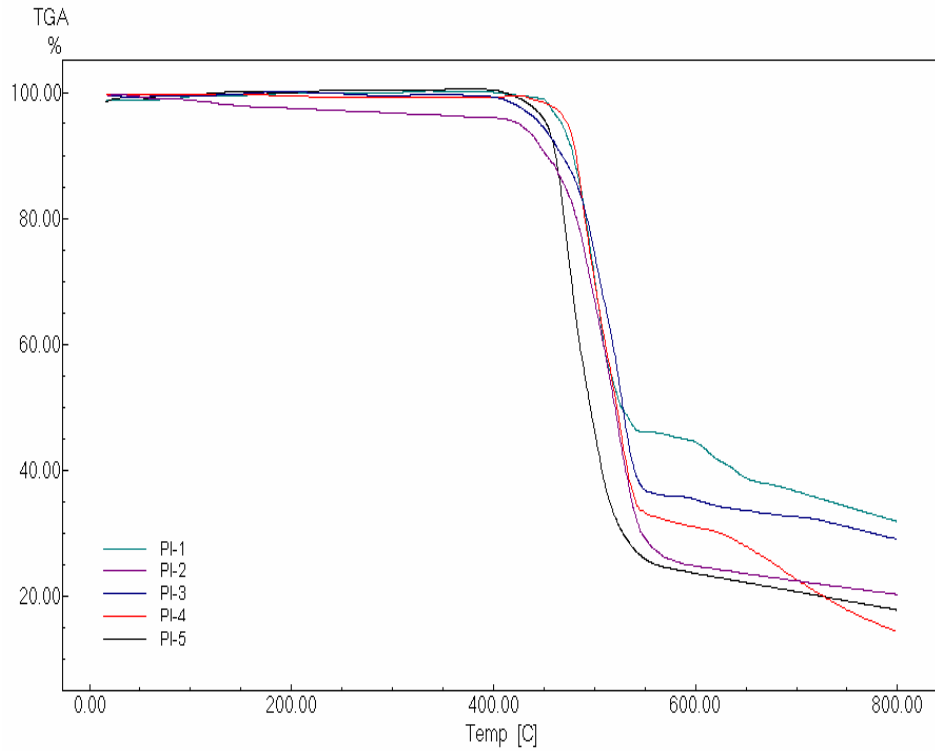
Şekil 4.7. Schiff bazı temelli poliimidlere ait FT-IR spektrumu.



Şekil 4.8. Schiff bazı temelli poliimidlere ait DSC termogramı



**Şeki l 4.9.** Schiff bazı temelli poliimidlere ait DTA termogramı



**Şekil 4.10.** Schiff bazı temelli poliimidlere ait TGA termogramı

### 4.3. Poliimidlerin Çözünürlük Testleri

Çalışmada çözügen olarak, NMP, DMF, DMAc, THF, DMSO kullanıldı. Sentezlenen poliimidden 0.2 g alınarak 10 mL çözügende oda sıcaklığında ki çözünürlüğü kontrol edildi. Çözünüyorsa (+) şeklinde işaretlendi. Çözünme yoksa (-) şeklinde işaretlendi. Çözünmenin olmadığı durumlarda sıcaklık artırılarak çözünmenin olup olmadığı denendi. Eğer çözünme oluyorsa ( $\pm$ ) şeklinde işaretlendi.

### 4.4. Polimerlerin Viskozluk Ölçümü

Sentezlenen poliimidlerin viskozitesinin belirlenmesinde Ubbelohde viskozimetresi kullanıldı. Viskozite ölçümü sırasında viskozimetre önce kromik asitle, sonra saf su ile yıkanarak etüvde kurutuldu. Daha sonra her poliimidden 0,5g alınarak 50 mL çözügen içinde çözüldü. Viskozimetre 25°C’de su banyosuna yerleştirildi. 10 mL çözücü viskozimetreye dolduruldu ve sıcaklık dengesinin kurulması için 5-10 dakika beklenerek ölçümler yapıldı.

**Tablo 4.2.** Viskozite ölçümünde kullanılan çözelti miktarları

Poliimid çözeltisi Derişimi / g (100mL) <sup>-1</sup>	Eklene Çözücü miktarı / mL	Viskozimetre içindeki Çözelti miktarı / mL
1	8	8
0.8	2	10
0.6	3	13
0.5	3	16
0.4	4	20

Çözücünün akış süresi  $t_0$  ve çözeltilerin akış süreleri ise  $t_1$ ,  $t_2$ ,  $t_3$ , ve  $t_4$  olarak belirlendi. İyi bir karışma sağlayabilmek için viskozimetrenin hava borusu kapatılarak puar yardımı ile hava verildi. Deney bittikten sonra polimerin bağıl ( $\eta_r$ ) ve spesifik ( $\eta_{sp}$ ) viskoziteleri aşağıdaki formüllerden hesaplandı. Bulunan  $\eta_{sp} / c$  değerlerine karşı  $c$  (derişim) grafiğe geçirildi. Sıfır derişimine ekstrapole edilerek ordinattan  $[\eta]$  değeri bulundu.

**Tablo 4.3.** Viskozite türleri

Viskozite türü	Simgesi	Formülü
Bağıl viskozite	$\eta_r$	$\eta_r = \eta/\eta_0 = t/t_0$
Spesifik viskozite	$\eta_{sp}$	$\eta_{sp} = \eta_r - 1$
Limit viskozite	$[\eta]$	$[\eta] = (\eta_{sp}/c)_{c \rightarrow 0}$

#### 4.5. Poliimidlerin Molekül Ağırlığı ve Heterojenlik İndeksi Ölçümleri

Çalışma kapsamında sentezlenen poliimidlere ait molekül ağırlığı dağılımı ve heterojenlik indeksi değerleri için jel geçirgenlik kromatografisinden (GPC) faydalanıldı. Elde edilen poliimidlerin molekül ağırlığı ya da zincir büyüklüğü analiz öncesinde bilinmediğinden geniş aralıklı standart kalibrasyon tekniği kullanıldı. Kolon olarak 7,5 mm ID kolon kullanıldı. Buna en uygun akış hızı 1,0 mL/dakika olarak belirlendi. Çözgen ve taşıyıcı faz olarak HPLC saflıktaki NMP kullanıldı. Optimum örnek miktarı her bir örnek için yapılacak analize ve örneğin molekül ağırlığına bağlı olarak ayrı ayrı belirlendi. Fakat genellikle 10 mg/mL olarak tercih edildi. Analizlere başlamadan önce akış hızı istenilen değere 0,1-0,2-0,5 ve 1,0 mL/dk olarak kademeli bir şekilde çıkarıldı. Kolon gözeneklerinin tıkanmasını önlemek amacıyla her bir enjeksiyondan önce 0,5-0,2  $\mu\text{m}$ 'lik filtre ile örnek çözeltisi filtre edildi. Kolon sıcaklığı örneğin viskozitesinin fazla olması sebebiyle 35°C olarak çalışıldı. Örnek viskozitesi düşürülerek kolon basıncındaki artış engellendi ve böylece daha iyi bir akış sağlanmış oldu [69].

**Tablo 4.4.** Sentezlenen poliimidlerin simgeleri ve adları

Simgesi	Adı
PI-1	poli[bis(( <i>p</i> -dimetilaminobenziliden)-1,5- naftalen)- piromelitimid]
PI-2	poli[bis(( <i>p</i> -dimetilaminobenziliden)-1,5- naftalen)-3,3',4,4'-benzofenontetrakarboksilikdiimid]
PI-3	poli[bis(( <i>p</i> -dimetilaminobenziliden)-1,5-naftalen)-4,4'-oksidifitalikdiimid]
PI-4	poli[bis(( <i>p</i> -dimetilaminobenziliden)-1,5-naftalen)-3,3',4,4'-bifeniltetrakarboksilikdiimid]
PI-5	poli[bis(( <i>p</i> -dimetilaminobenziliden)-1,5-naftalen)- 4,4'-hegzafloroizopropilidendifitalimid]
PI-6	poli[4,4'-diaminodifeniletan-piromellitimid]

**Tablo 4.5.** Poliimidlere ait bazı temel fizikokimyasal özellikler

Poliimid	Temel Özellikler			Çözünürlük					$M_n \times 10^{-5}$	$M_w \times 10^{-5}$	H.I.
	Verim (%)	d (g/cm <sup>3</sup> )	$\eta$ (dL/g)	NMP	DMF	DMAc	THF	DMSO			
PI-1	87	1,55	2,18	+	±	±	-	+	2,61	8,48	3,25
PI-2	92	1,48	1,93	+	+	+	-	+	1,43	4,13	2,89
PI-3	95	1,23	2,02	+	+	+	-	+	2,64	9,36	3,55
PI-4	93	1,44	2,14	+	±	±	-	±	2,25	7,77	3,45
PI-5	91	1,67	2,22	+	±	+	-	+	2,51	9,48	3,78
PI-6	83	1,27	0,96	+	±	±	-	±	4,26	14,83	3,48

**Tablo 4.6.** Poliimidlerin termal özellikleri

Poliimid	TGA			DTA		DSC	
	% 10	Kalıntı	IDT	TDP	Isı (kJ/g)	T <sub>g</sub> (°C)	T <sub>g</sub> geçişi (mW)
PI-1	478	33	444	541	0.88	175	-1,11
PI-2	470	30	370	550	0.85	165	-1,07
PI-3	481	15	433	515	0.84	133	-0,79
PI-4	452	21	348	526	0.95	153	-1,19
PI-5	463	19	407	496	1.12	153	-1,02
PI-6	424	6.6	359	479	2.88	232	-0,53

**Tablo 4.7.** Poliimidlerin elementel analiz sonuçları

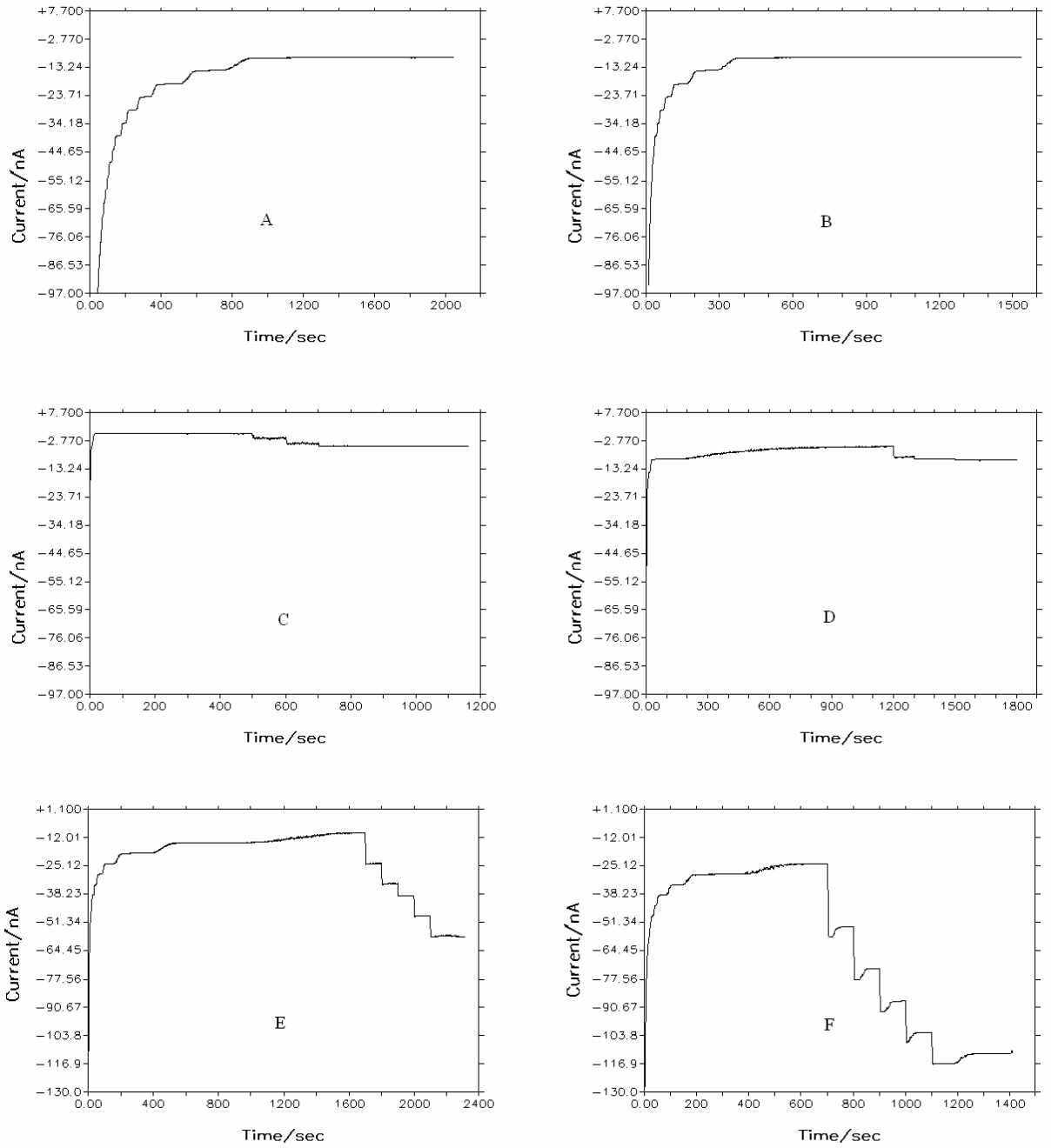
Poliimid	Formül		Hesaplanan			Bulunan		
			C	H	N	C	H	N
PI-1	(C <sub>34</sub> H <sub>18</sub> O <sub>4</sub> N <sub>4</sub> ) <sub>n</sub>	(546,51) <sub>n</sub>	74,71	3,32	10,25	74,25	3,88	10,41
PI-2	(C <sub>41</sub> H <sub>22</sub> O <sub>5</sub> N <sub>4</sub> ) <sub>n</sub>	(650,61) <sub>n</sub>	75,68	3,41	8,61	75,27	3,11	8,88
PI-3	(C <sub>40</sub> H <sub>22</sub> O <sub>5</sub> N <sub>4</sub> ) <sub>n</sub>	(638,60) <sub>n</sub>	75,23	3,47	8,77	74,98	3,17	8,73
PI-4	(C <sub>40</sub> H <sub>22</sub> O <sub>4</sub> N <sub>4</sub> ) <sub>n</sub>	(622,60) <sub>n</sub>	77,16	3,56	8,99	77,34	3,47	9,09
PI-5	(C <sub>43</sub> H <sub>22</sub> O <sub>4</sub> N <sub>4</sub> F <sub>6</sub> ) <sub>n</sub>	(658,63) <sub>n</sub>	78,41	3,37	8,50	78,88	3,11	8,82
PI-6	(C <sub>24</sub> H <sub>14</sub> O <sub>4</sub> N <sub>2</sub> ) <sub>n</sub>	(394,36) <sub>n</sub>	73,09	3,58	7,10	73,49	3,67	7,31

## 4.6. Enzim İmmobilizasyonu

Poliimid çözeltileri ilgili poliimidlerin 70 mg'ının 2 mL NMP içinde çözünmesiyle elde edildi. Glukoz oksidaz çözeltisi 5.1mg glukoz oksidazın 50 µl PBS (pH=7) tamponu içinde, galaktoz oksidaz çözeltisi ise 16,9 mg galaktoz oksidazın 100 µl PBS (pH=6.1) tamponu içinde çözünmesiyle hazırlandı. Enzim elektrotların hazırlanması için iki temel yaklaşım kullanıldı. Birinci yaklaşımda poliiimid ve enzim çözeltileri 1'e 1 oranında (5 µl poliimid -5 µl enzim) karıştırıldıktan sonra elektrot yüzeylerine belli hacimlerde damlatılarak, ikinci yaklaşımda ise elektrot yüzeylerine enzim çözeltileri damlatılarak oda sıcaklığında kurutulduktan sonra, üzerlerine poliiimid çözeltileri damlatılmak suretiyle oda sıcaklığında 18-24 saat süre ile kurutularak enzim immobilizasyonu yapıldı.

### 4.6.1. Galaktoz oksidaz immobilizasyonu

Şekil 4.11, çıplak platin elektrodun pH=6-11 PBS tamponunda yaklaşık 2 mM'lık galaktoz enjeksiyonlarına verdiği yanıtları göstermektedir. Şekilden görüldüğü gibi pH=8-11 arasında galaktoz çözeltisi elektroaktivite göstermiş ve amperometrik yanıtlar elde edilmiştir. Bu nedenle, galaktoz çalışmaları pH=6'da yapılmıştır.



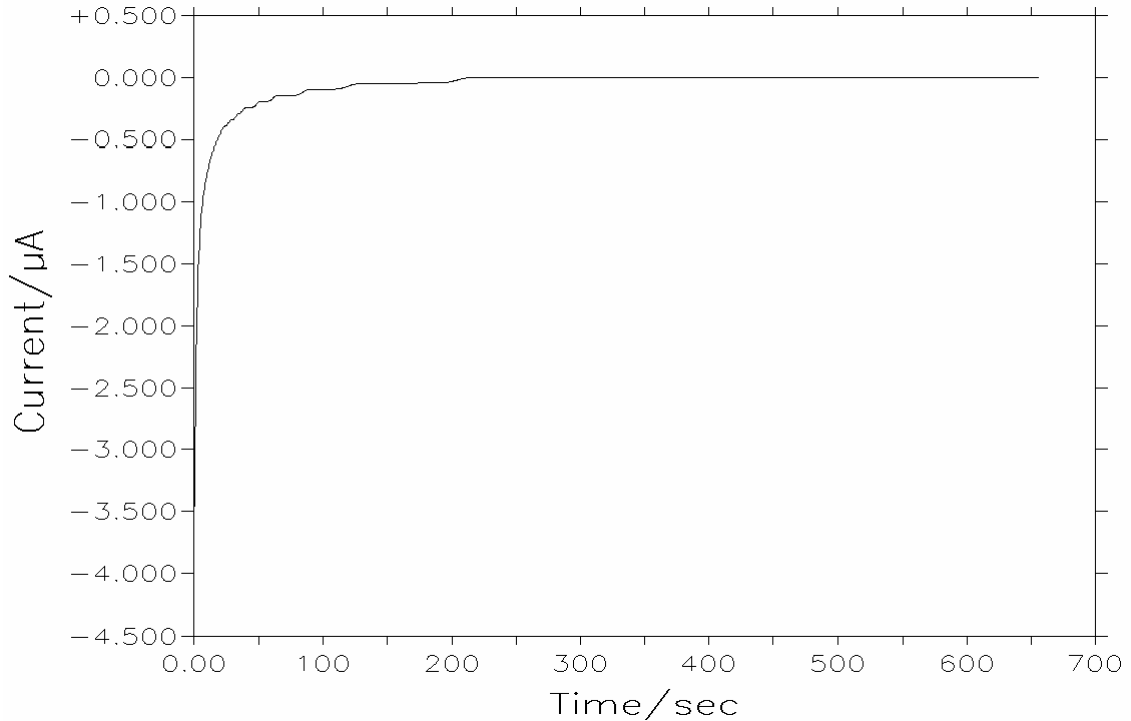
**Şekil 4.11.** (A) Çıplak Pt elektrodun galaktoz enjeksiyonlarına yanıtı (pH=6) (1400- 1800.sn)  
 (B) Çıplak Pt elektrodun galaktoz enjeksiyonlarına yanıtı (pH=7) (800-1200.sn)  
 (C) Çıplak Pt elektrodun galaktoz enjeksiyonlarına yanıtı (pH=8) (300-700.sn)  
 (D) Çıplak Pt elektrodun galaktoz enjeksiyonlarına yanıtı (pH=9) (1200-1600.sn)  
 (E) Çıplak Pt elektrodun galaktoz enjeksiyonlarına yanıtı (pH=10) (1700-2100.sn)  
 (F) Çıplak Pt elektrodun galaktoz enjeksiyonlarına yanıtı (pH=11) (700-1100.sn)

Galaktoz oksidaz ile yapılan immobilizasyon çalışmalarından galaktoz oksidazın elektrot yüzeyine iyi tutunmadığı ve ölçüm esnasında ortamdan ayrılarak çözeltiliye difüzlendiği gözlemlendi.

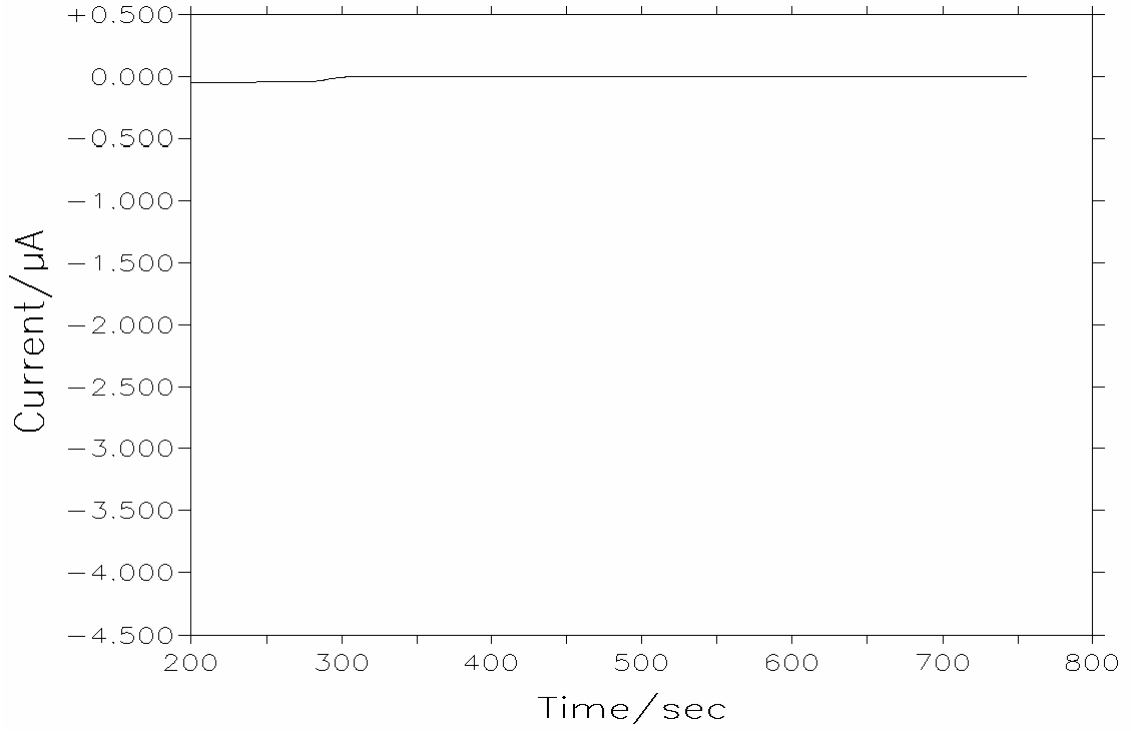
#### 4.6.2. Glukoz oksidaz immobilizasyonu

##### 4.6.2.1. Poli[4,4'-diaminodifeniletan-benzofenontetrakarboksilikdiimid]-GOx elektrodu

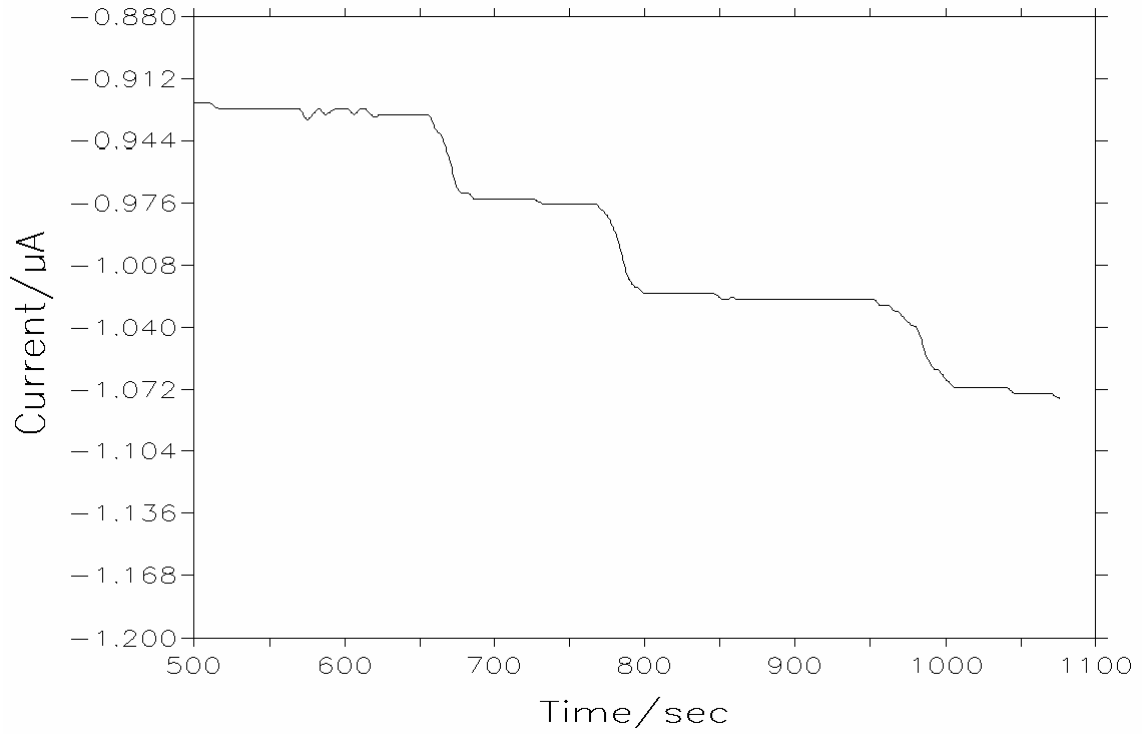
Hazırlanan poliimid ve enzim çözeltisi 1'e 1 oranında (5 µl poli[4,4'-diaminodifeniletan-benzofenontetrakarboksilikdiimid]-5µl enzim) karıştırıldıktan sonra elektrot yüzeylerine belli hacimlerde (1 µl, 2 µl, 3 µl) damlatılarak oda sıcaklığında kurutuldu. Elde edilen filmlerin homojen olmadığı gözlemlendi. Şekil 4.12, 1µl'lik poliimid + GOx karışımından oluşan elektrodun, Şekil 4.13, 2µl'lik poliimid + GOx karışımından oluşan elektrodun, Şekil 4.14 ise, 3µl'lik poliimid + GOx karışımından oluşan elektrodun yaklaşık 2 mM'lık glukoz enjeksiyonlarına verdiği yanıtları göstermektedir.



Şekil 4.12. 1µl'lik poliimid + GOx karışımından oluşan elektrodun 400, 500, 600. sn'lerdeki yaklaşık 2 mM'lık glukoz enjeksiyonlarına yanıtı



**Şekil 4.13.** 2µl'lik poliimid + GOx karışımından oluşan elektrodun 400, 500, 600. sn'lerdeki yaklaşık 2 mM'lık glukoz enjeksiyonlarına yanıtı

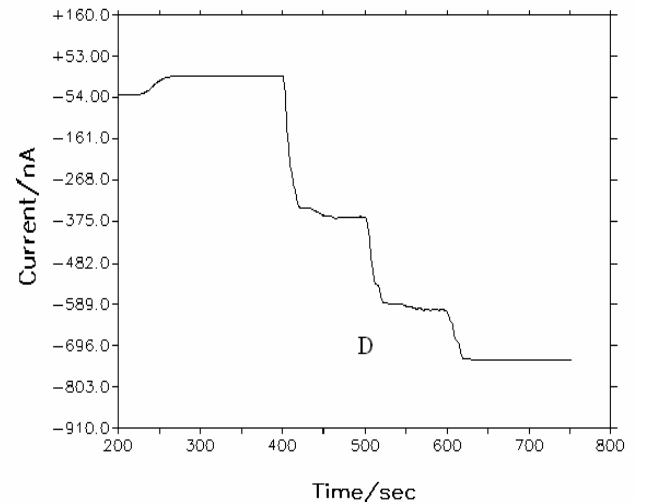
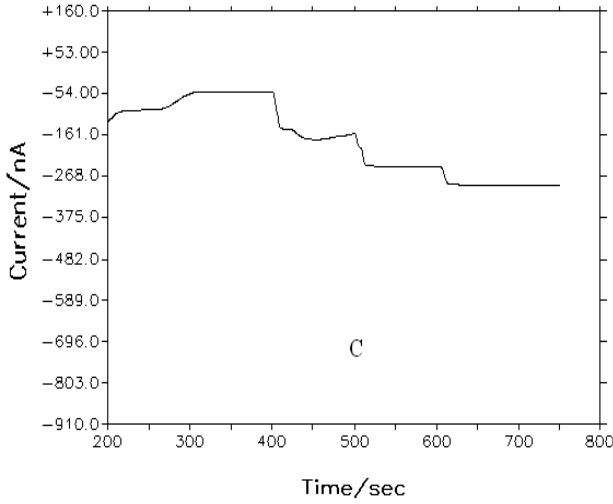
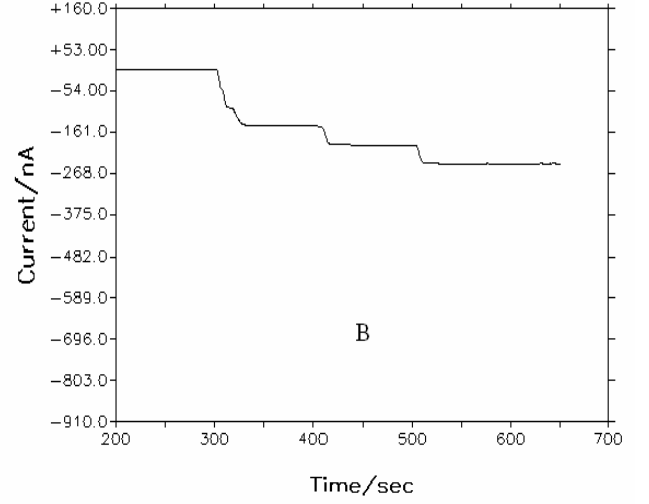
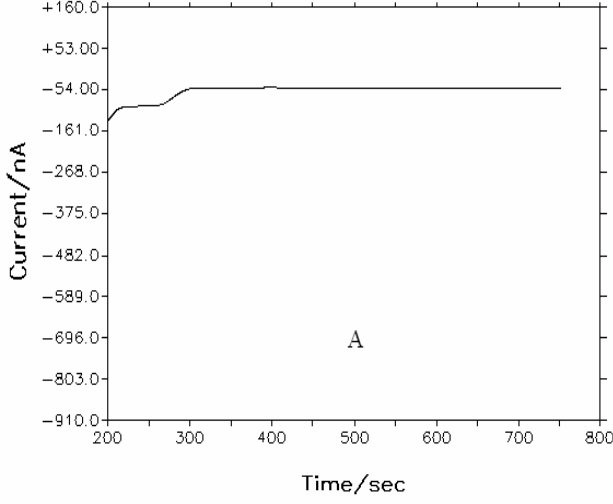


**Şekil 4.14.** 3µl'lik poliimid + GOx karışımından oluşan elektrodun 600, 700,800. sn'lerdeki yaklaşık 2 mM'lık glukoz enjeksiyonlarına yanıtı

Şekillerden açıkça görüldüğü gibi bu yolla hazırlanan enzim elektrotlardan 3µl'lik poliiimid + GOx karışımından oluşan elektrodun glukoz enjeksiyonlarına düzensiz yanıtlar verdiği gözlenmektedir. Ayrıca oluşan filmlerin kısmen deforme olduğu gözlemlendi. Bu yüzden enzim immobilizasyonu için ikinci yaklaşıma geçilmiştir. Bu yaklaşımda ise elektrot yüzeylerine enzim çözeltileri damlatılarak oda sıcaklığında kurutulduktan sonra, poliiimid çözeltileri damlatılarak oda sıcaklığında 18-24 saat süre ile kurutulmak suretiyle enzim immobilizasyonu yapıldı.

#### **4.6.2.1.1.Yanıtlar üzerine film kalınlığının etkisi**

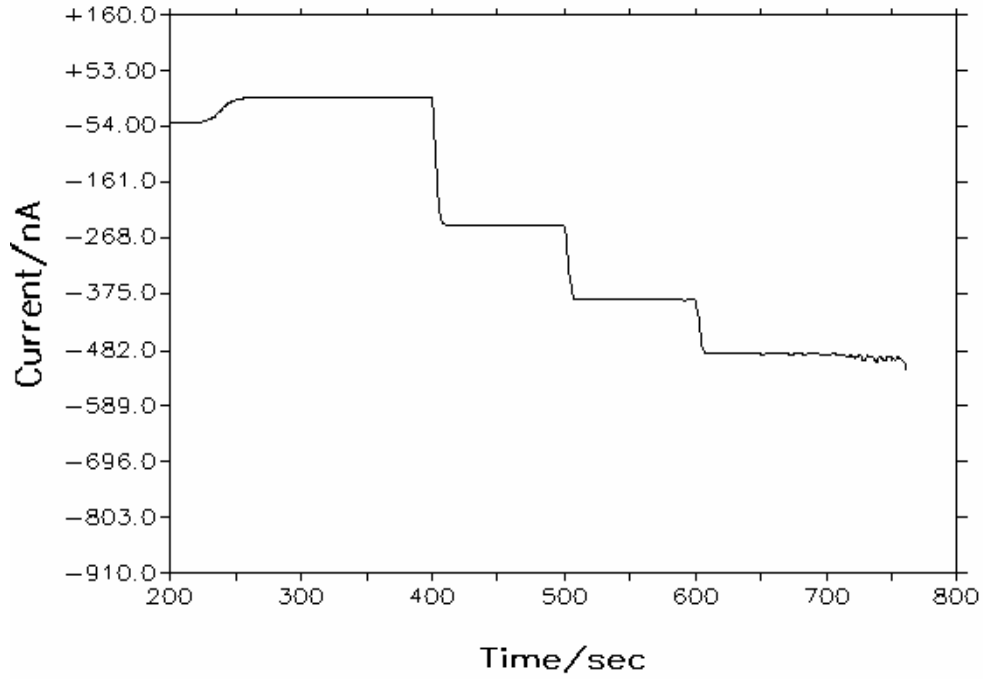
Platin elektrot yüzeyine 2µl glukoz oksidaz damlatılarak oda sıcaklığında kurutuldu. Üzerine farklı miktarlarda (4µl, 3µl, 2µl, 1µl) poli[4,4'-diaminodifeniletan-benzofenontetrakarbonsilikdiimid] damlatıldı ve kurutuldu. Bu elektrotların glukoz enjeksiyonlarına verdiği yanıtlar incelendi. Şekil 4.15, 2µl GOx - 1µl [4,4'-diaminodifeniletan-benzofenontetrakarbonsilikdiimid] elektrottan elde edilen amperometrik yanıtların en yüksek olduğunu açıkça göstermektedir.



**Şekil 4.15.** (A) 2 $\mu$ l GOx-4 $\mu$ l poli[4,4'-diaminodifeniletan-benzofenontetrakarboksilik diimid] elektrodun yaklaşık 2 mM'lık glukoz enjeksiyonlarına yanıtı (400, 500, 600.sn)  
 (B) 2 $\mu$ l GOx-3 $\mu$ l poli[4,4'-diaminodifeniletan-benzofenontetrakarboksilik diimid] elektrodun yaklaşık 2 mM'lık glukoz enjeksiyonlarına yanıtı (300, 400, 500.sn)  
 (C) 2 $\mu$ l GOx-2 $\mu$ l poli[4,4'-diaminodifeniletan-benzofenontetrakarboksilik diimid] elektrodun yaklaşık 2 mM'lık glukoz enjeksiyonlarına yanıtı (400, 500, 600.sn)  
 (D) 2 $\mu$ l GOx-1 $\mu$ l poli[4,4'-diaminodifeniletan-benzofenontetrakarboksilik diimid] elektrodun yaklaşık 2 mM'lık glukoz enjeksiyonlarına yanıtı (400, 500, 600.sn)

#### 4.6.2.1.2.Yanıtlar üzerine enzim miktarının etkisi

Platin elektrot yüzeyine 1 $\mu$ l glukoz oksidaz damlatılarak oda sıcaklığında kurutulduktan sonra bu elektrot üzerine 1  $\mu$ l poli[4,4' - diaminodifeniletan-benzofenontetrakarbonsilikdiimid] damlatıldı ve kurutuldu. Bu elektrodun glukoz enjeksiyonlarına verdiği yanıtlar incelendi.

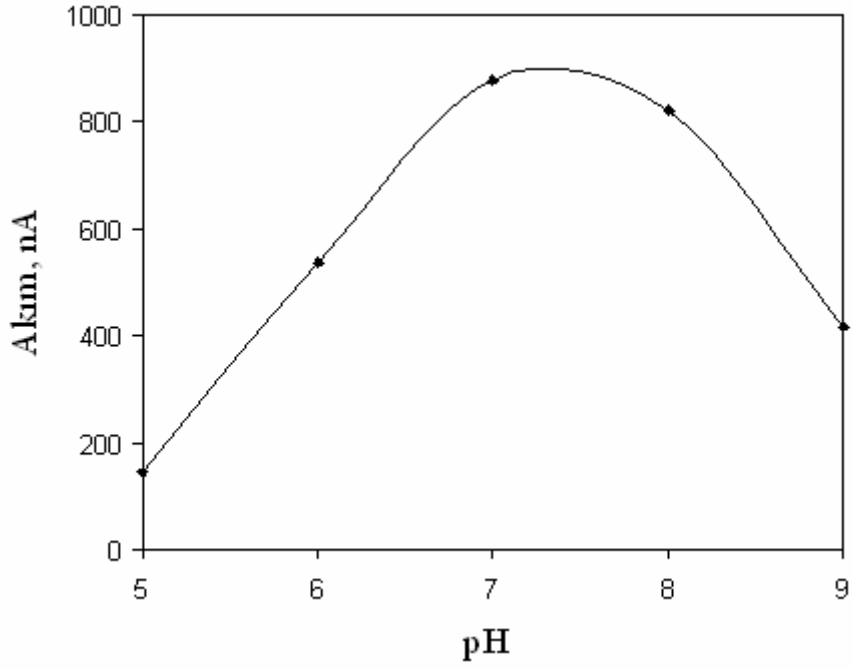


**Şekil 4.16.** 1 $\mu$ l GOx - 1 $\mu$ l poli[4,4'-diaminodifeniletan-benzofenontetrakarbonsilik diimid] elektrodun glukozu yanıtı( 400, 500, 600. sn)

Şekil 4.16, 1 $\mu$ lGOx-1 $\mu$ l poliiimid damlatılarak hazırlanan enzim elektrotdan elde edilen amperometrik yanıtları göstermektedir. Bu elektrotdan elde edilen yanıtlar Şekil 4.15' deki 2 $\mu$ l GOx - 1 $\mu$ l poliiimidden elde edilen yanıtlarla karşılaştırıldığında 2 $\mu$ l GOx damlatılarak hazırlanan elektrodun amperometrik yanıtlarının daha büyük olduğu görülmektedir.Bu yüzden sonraki çalışmalar 2 $\mu$ l GOx- 1 $\mu$ l poliiimid elektrotları ile yapıldı.

#### 4.6.2.1.3.Yanıtlar üzerine pH etkisi

Poli[4,4' - diaminodifeniletan - benzofenontetrakarbonsilikdiimid] - GOx elektrodun yaklaşık 2 mM'lık üç glukoz enjeksiyonu için elde edilen amperometrik yanıtı üzerine pH etkisi pH=5-9 aralığında incelendi. Şekil 4.17, enzim elektrodun amperometrik yanıtının pH bağımlılığını göstermektedir.

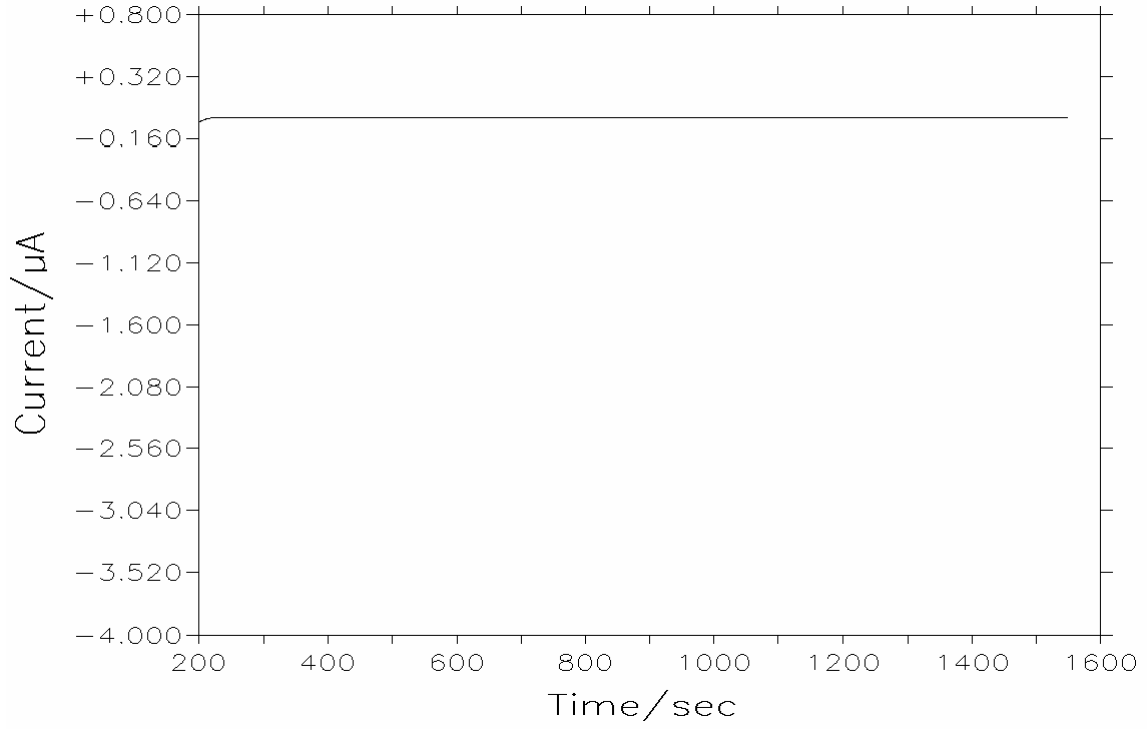


**Şekil 4 .17.** 2µl GOx-1µl poli[4,4'-diaminodifeniletan-benzofenontetrakarboksilikdiimid] elektrodun yaklaşık 6 mM glukoz enjeksiyonu için elde edilen amperometrik yanıtı üzerine pH etkisi

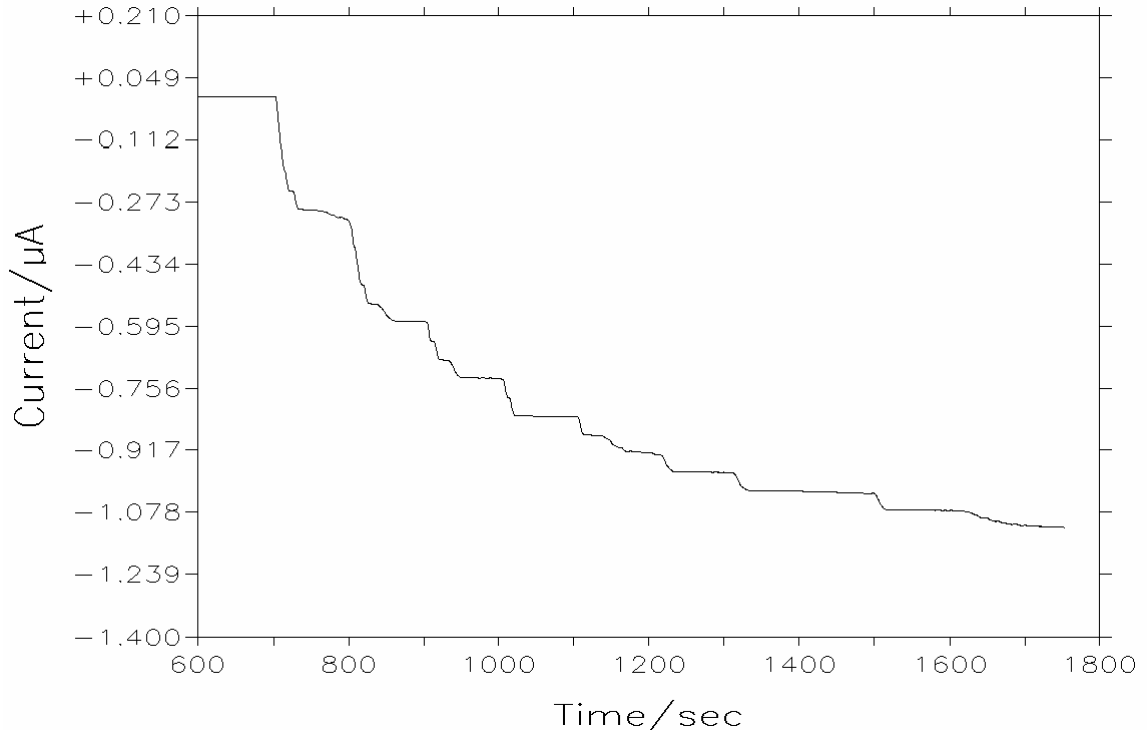
Şekilden maksimum amperometrik yanıtların pH 7'de elde edildiği görülmektedir.

#### 4.6.2.1.4. Poliimid ve enzim elektrodun glukoz enjeksiyonlarına yanıtı

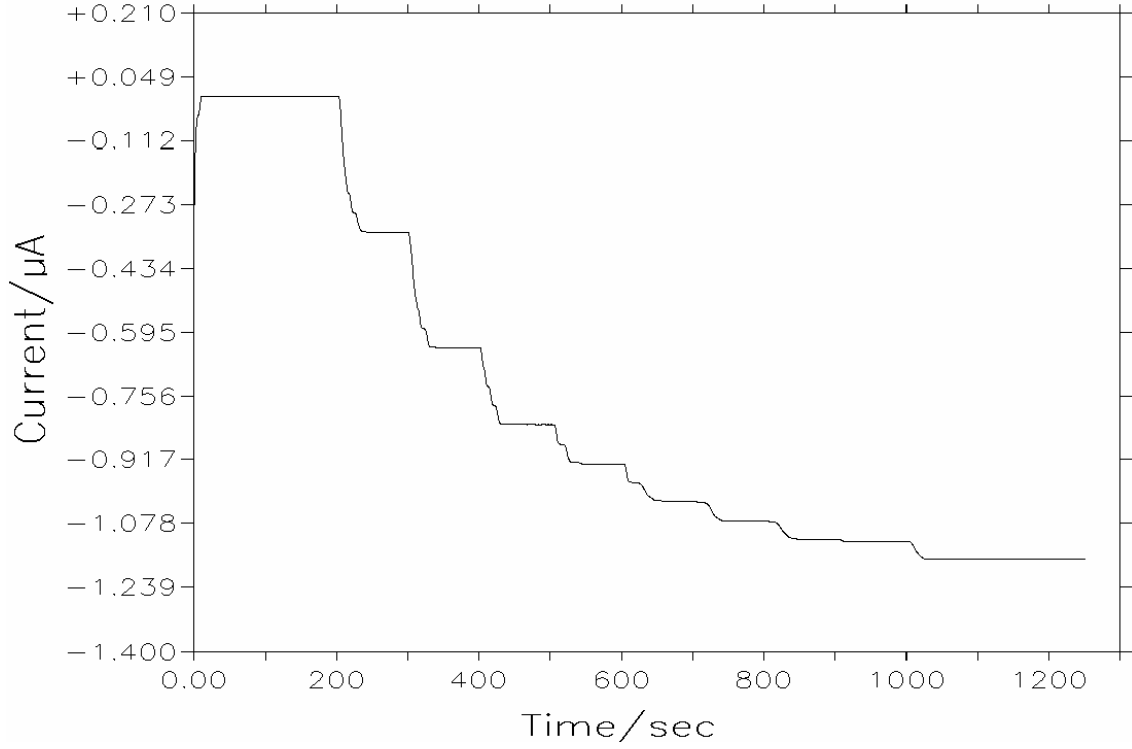
Şekil 4.18, poli[4,4'-diaminodifeniletan-benzofenontetrakarboksilikdiimid] elektrodun ve Şekil 4.19 birinci kullanımdaki, Şekil 4.20 ise ikinci kullanımdaki poli[4,4' - diaminodifeniletan -benzofenontetrakarboksilikdiimid]-GOx elektrodun PBS çözeltisindeki (pH=7) yaklaşık 2 mM'lık seri glukoz enjeksiyonlarına karşı verdiği amperometrik yanıtları göstermektedir.



**Şekil 4.18.** Poli[4,4'-diaminodifeniletan - benzofenontetrakarboxilikdiimid] elektrodun 100 sn ara ile yapılan yaklaşık 2 mM'lık 10 glukoz enjeksiyonuna yanıtı (400-1300sn)



**Şekil 4.19.** Poli[4,4'-diaminodifeniletan-benzofenontetrakarboxilikdiimid]-GOx elektrodun ilk kullanımında 100 sn ara ile yapılan yaklaşık 2 mM'lık 10 glukoz enjeksiyonuna yanıtı (700-1600sn)

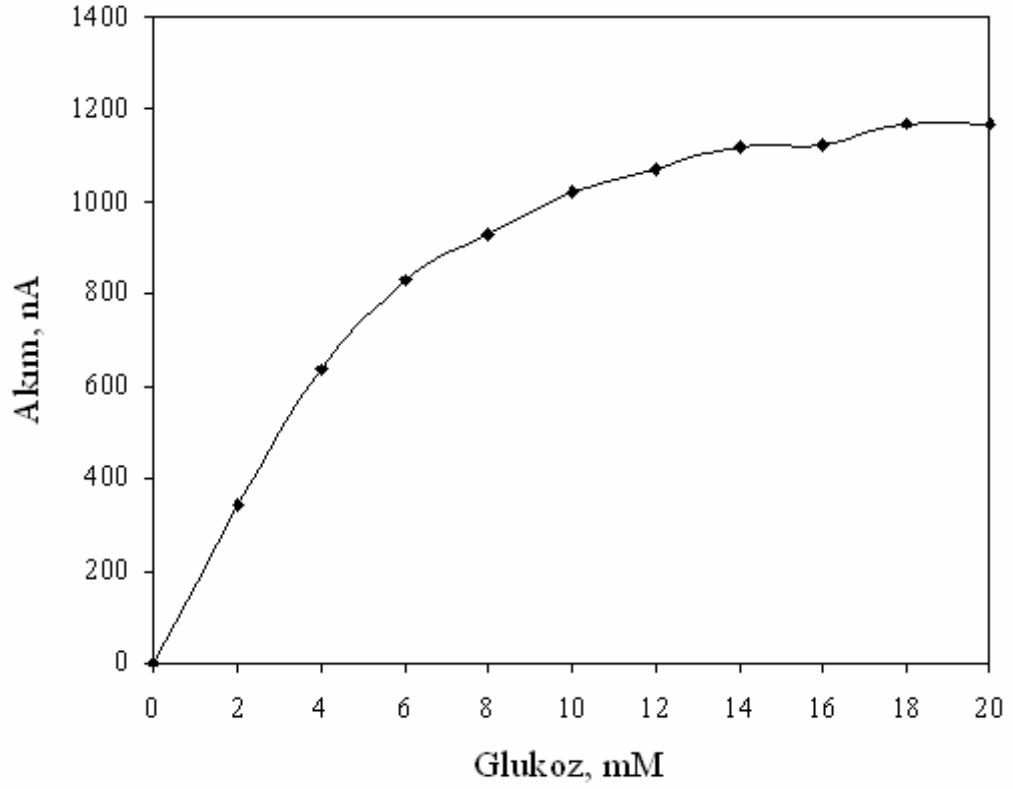


**Şekil 4.20.** Poli[4,4'-diaminodifeniletan-benzofenontetrakarboksilikdiimid]-GOx elektrodun ikinci kullanımdaki 100 sn ara ile yapılan yaklaşık 2 mM'lık 10 glukoz enjeksiyonuna yanıtı (200-1100 sn)

Şekil 4.18'den, enzim içermeyen elektrodun glukoz enjeksiyonlarına yanıt vermediği Şekil 4.19 ve Şekil 4.20' de ise enzim içeren elektrodun glukoz enjeksiyonlarına yanıt verdiği açıkça görülmektedir.

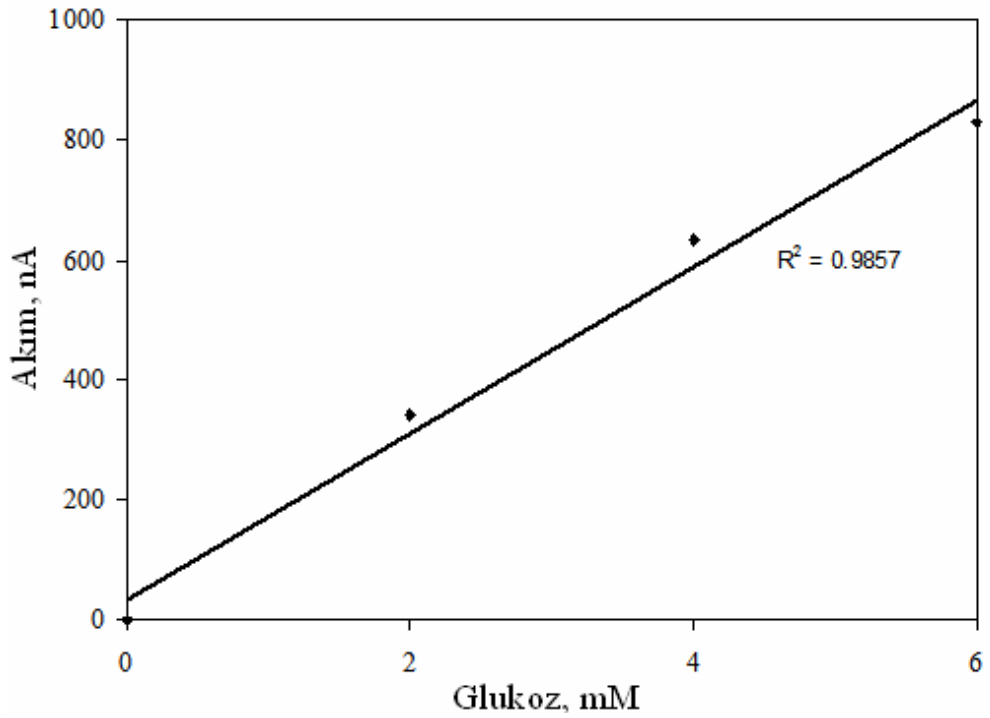
Poli[4,4'-diaminodifeniletan-benzofenontetrakarboksilikdiimid]-GOx elektrodu için, glukoz enjeksiyonlarına yanıt süresi (enjeksiyon yapılan an ile yanıtın alındığı an arasındaki süre) yaklaşık 3-5 sn.dir.

Poli[4,4'-diaminodifeniletan - benzofenontetrakarboksilikdiimid] - GOx elektrodun seri glukoz enjeksiyonlarına karşı verdiği amperometrik yanıtlardan elde edilen yanıt grafiği Şekil 4.21' de görülmektedir.



**Şekil 4 .21.** Poli[4,4'-diaminodifeniletan-benzofenontetrakarboksilikdiimid]-GOx elektrodun glukozu yanıt grafiği

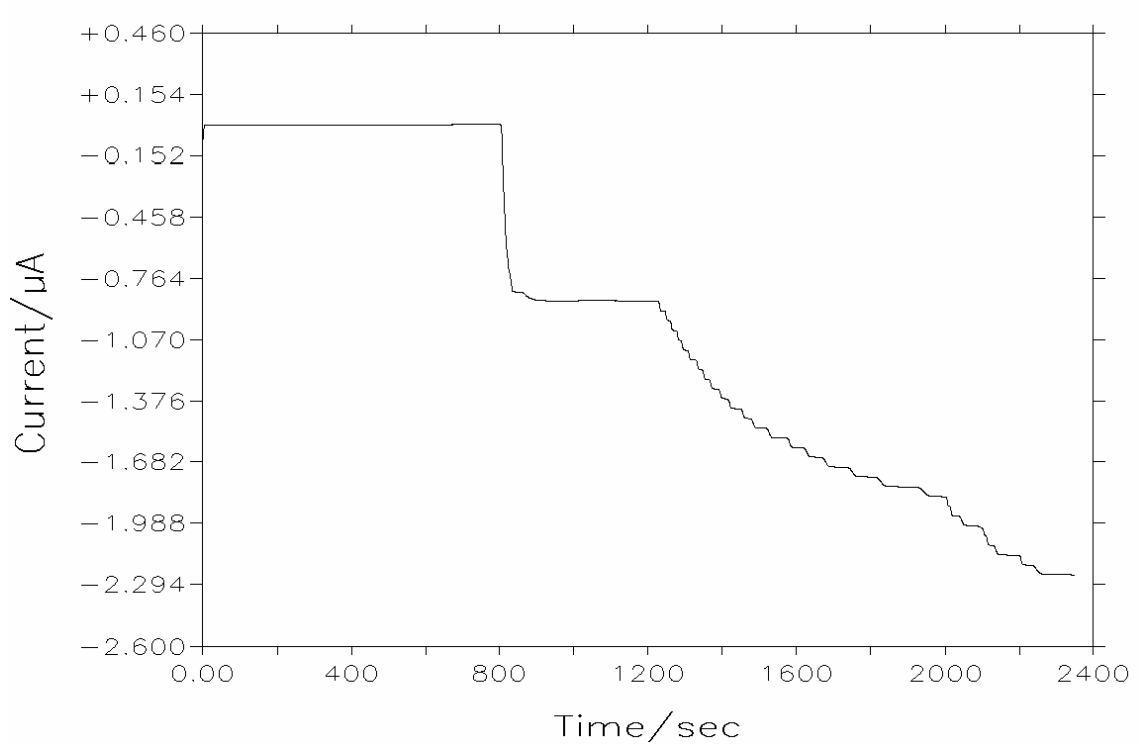
Enzim elektrot için glukozu karşı amperometrik yanıtlardan elde edilen kalibrasyon grafiği Şekil 4.22' de görülmektedir.



**Şekil 4 .22.** Poli[4,4'-diaminodifeniletan-benzofenontetrakarboksilikdiimid]-GOx elektrodun glukoz için kalibrasyon grafiği

#### 4.6.2.1.5. Enzim elektrodun interferans yapıcı türlere karşı davranışı

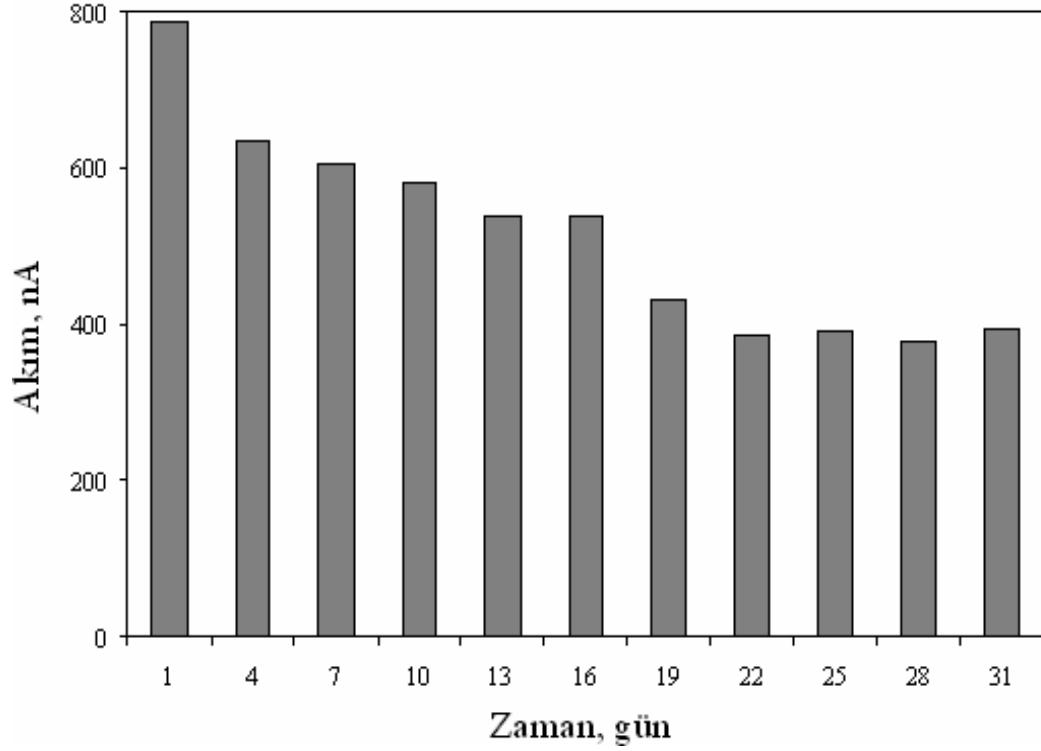
Aşağıdaki şekilde, enzim elektrodun aynı derişimlerdeki (2mM) 200. sn'de laktoz, 400. sn'de sukroz, 600. sn'de üre 800. sn'de askorbik asit, 1000. sn'de okzalik asit, 1200. sn'de ürik asit, 2000, 2100 ve 2200. sn'lerde ise glukoz enjeksiyonlarına karşı amperometrik yanıtı görölmektedir. Şekilden enzim elektrodun anılan interferant türlerden askorbik asit ve ürik aside yanıt verdiği görölmektedir. Tüm bu interferantların varlığında gukoz enjeksiyonlarına karşı yanıt alınabilmiştir.



Şekil 4.23. Poli[4,4'-diaminodifeniletan-benzofenontetrakarboksilikdiimid]-GOx elektrodun interferant türlere karşı davranışı

#### 4.6.2.1.6. Enzim elektrodun kararlılığı

Enzim elektrodun kararlılık testi, 2 mM'lık 3 glukoz enjeksiyonuna karşı alınan yanıtın periyodik olarak ölçülmesiyle incelendi. Şekil 4.24, enzim elektrodun kararlılığını göstermektedir. Şekilden göröldüğü gibi, enzim elektrodun amperometrik yanıtı 31. gün sonunda başlangıç değerinin yaklaşık % 50'sine inmektedir.

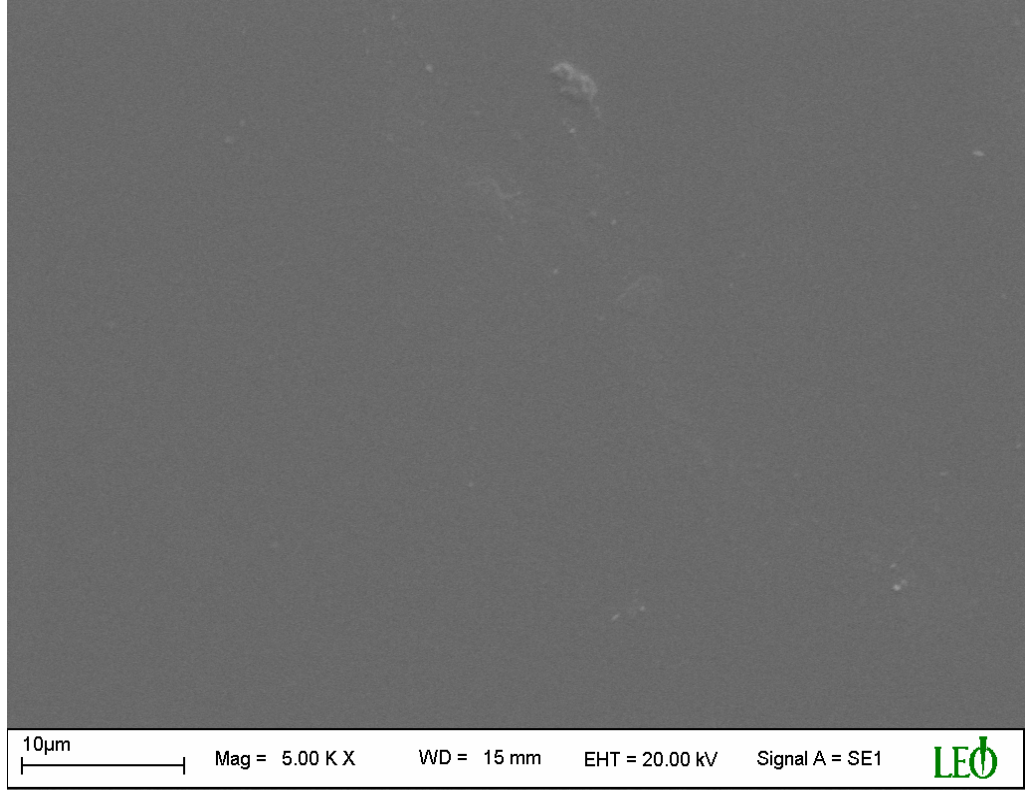


**Şekil 4.24.** Poli[4,4'-diaminodifeniletan-benzofenontetrakarboksilikdiimid]-GOx elektrodun kararlılığı

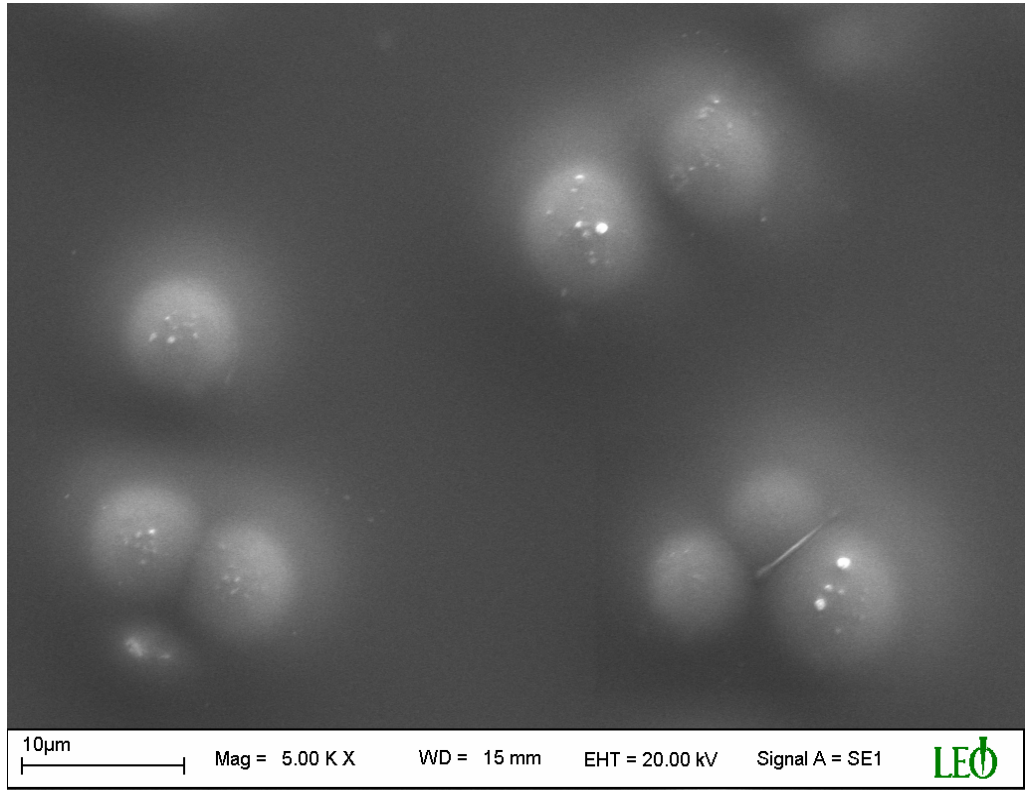
#### 4.6.2.1.7. Poliimid ve enzim elektrodun SEM fotoğrafları

Şekil 4.25'de  $\text{SiO}_2$  camın , Şekil 4.26'da  $\text{SiO}_2$  cam üzerindeki poliimidin, Şekil 4.27'de ise  $\text{SiO}_2$  cam üzerindeki enzim elektrodun SEM görüntüleri verilmiştir.

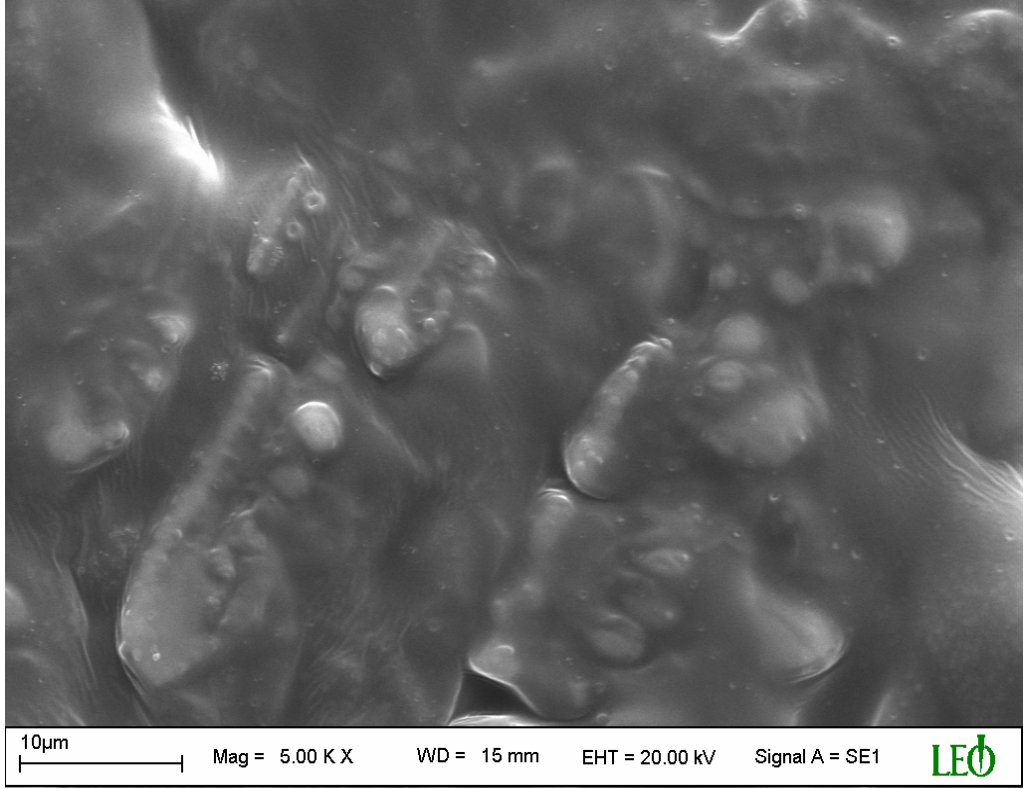
Poli[4,4' - diaminodifeniletan - benzofenontetrakarboksilikdiimid] ve poli[4,4'-diaminodifeniletan - benzofenontetrakarboksilikdiimid] - GOx elektrotların SEM görüntülerinden enzimsiz poliimid elektrot ile enzimli poliimid elektrot arasındaki farklılık açıkça görülmektedir.



Şekil 4.25. SiO<sub>2</sub> camın SEM görüntüsü



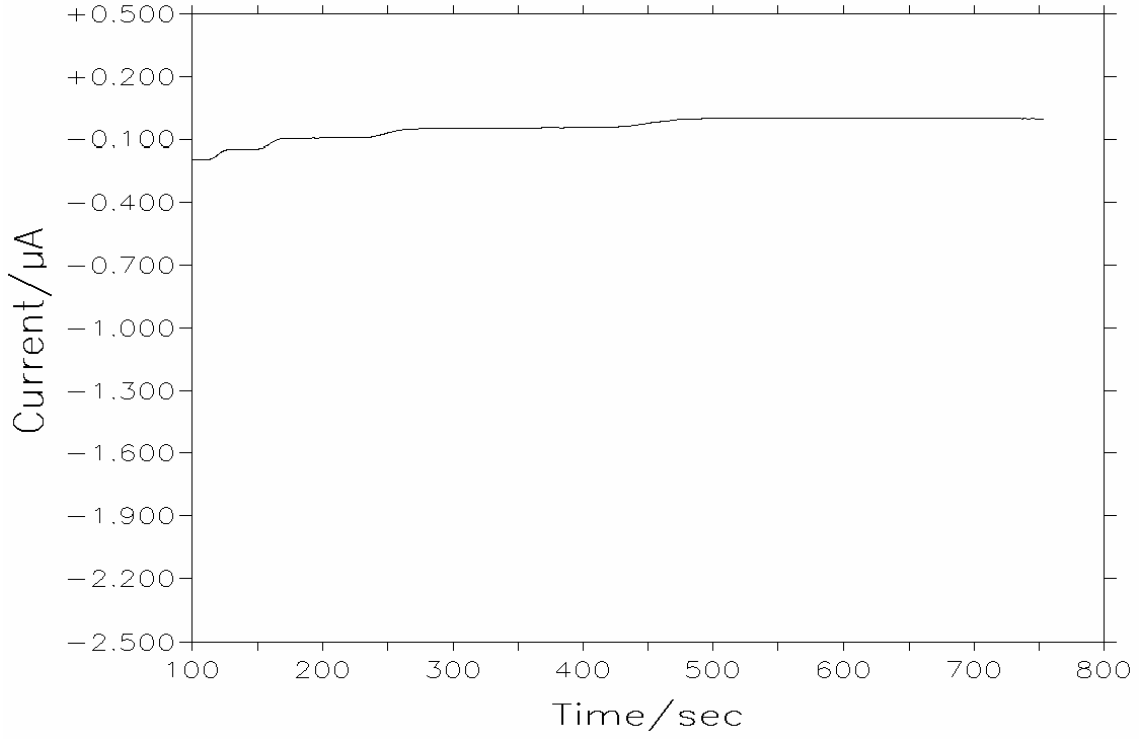
Şekil 4.26. Poli[4,4'-diaminodifeniletan-benzofenontetrakarboksilikdiimid] elektrodu için SEM.



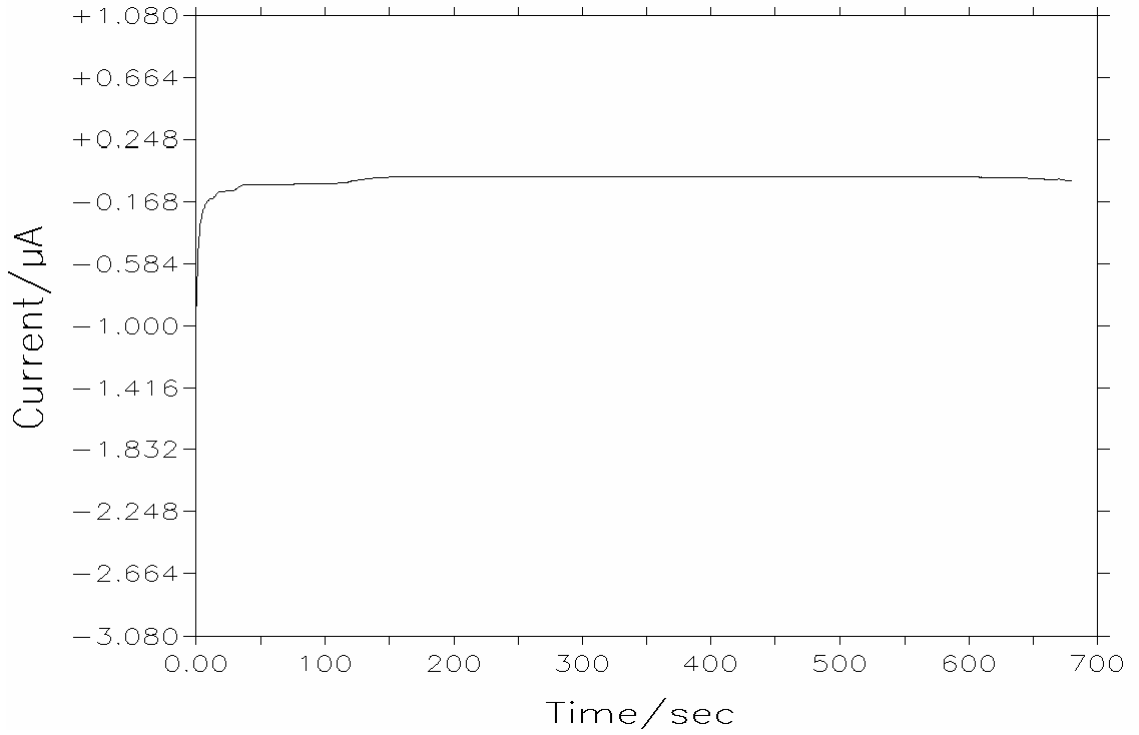
**Şekil 4.27.** Poli[4,4'-diaminodifeniletan-benzofenontetrakarboksilikdiimid]-GOx elektrodu için SEM.

#### **4.6.2.2. Poli[tris(*p*-aminofenoksi)fosfinoksid)-3,3',4,4'-benzofenontetrakarboksilikdiimid] –GOx elektrodu**

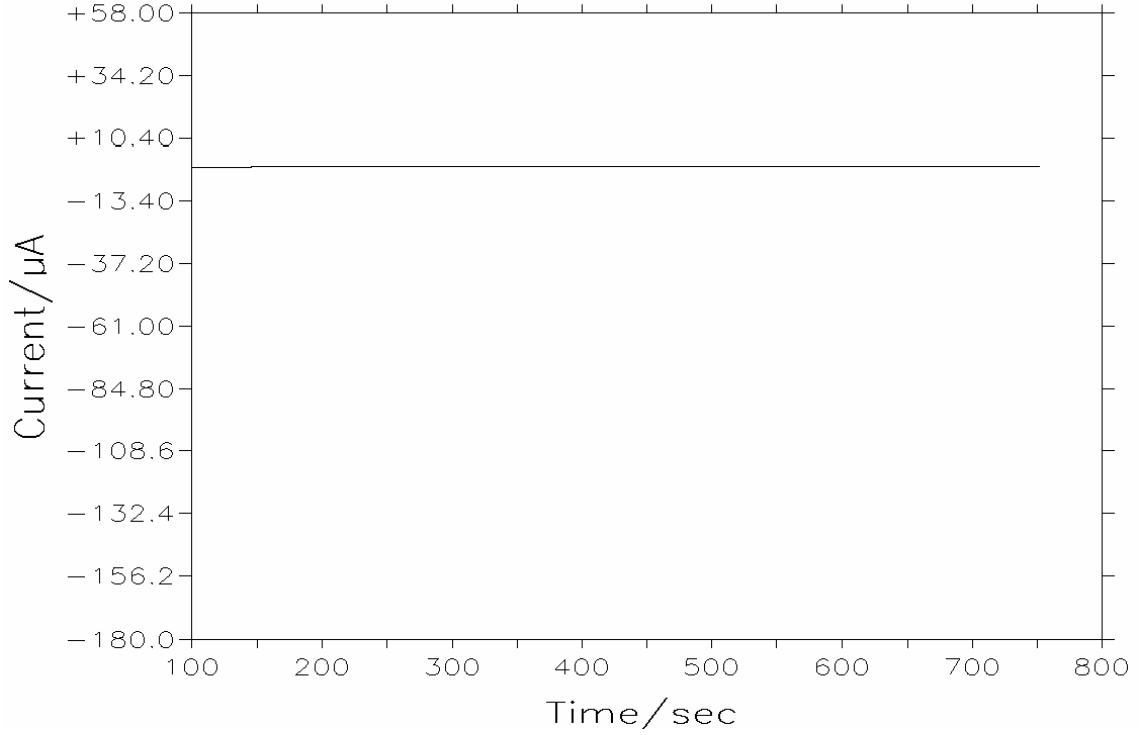
Daha önceden sentezlenen poli[tris(*p*-aminofenoksi)fosfinoksid)-3,3',4,4'-benzofenontetrakarboksilikdiimid] [2] ve enzim çözeltisi 1'e 1 oranında (5 µl poliimid + 5µl enzim) karıştırıldıktan sonra elektrot yüzeylerine belli hacimlerde (1,2,3 µl) damlatılarak oda sıcaklığında kurutuldu. Elde edilen filmlerin homojen olmadığı gözlemlendi. Şekil 4.28 1µl'lik poliimid + GOx karışımından oluşan elektrodun, Şekil 4.29 2µl'lik poliimid + GOx karışımından oluşan elektrodun, Şekil 4.30 3µl'lik poliimid + GOx karışımından oluşan elektrodun yaklaşık 2 mM'lık glukoz enjeksiyonlarına verdiği yanıtı göstermektedir.



**Şekil 4.28.** 1µl'lik poliimid + GOx karışımından oluşan elektrodun 400, 500, 600.sn'lerdeki yaklaşık 2 mM'lık glukoz enjeksiyonlarına yanıtı



**Şekil 4.29.** 2 µl'lik poliimid + GOx karışımından oluşan elektrodun 300, 400, 500.sn'lerdeki yaklaşık 2 mM'lık glukoz enjeksiyonlarına yanıtı

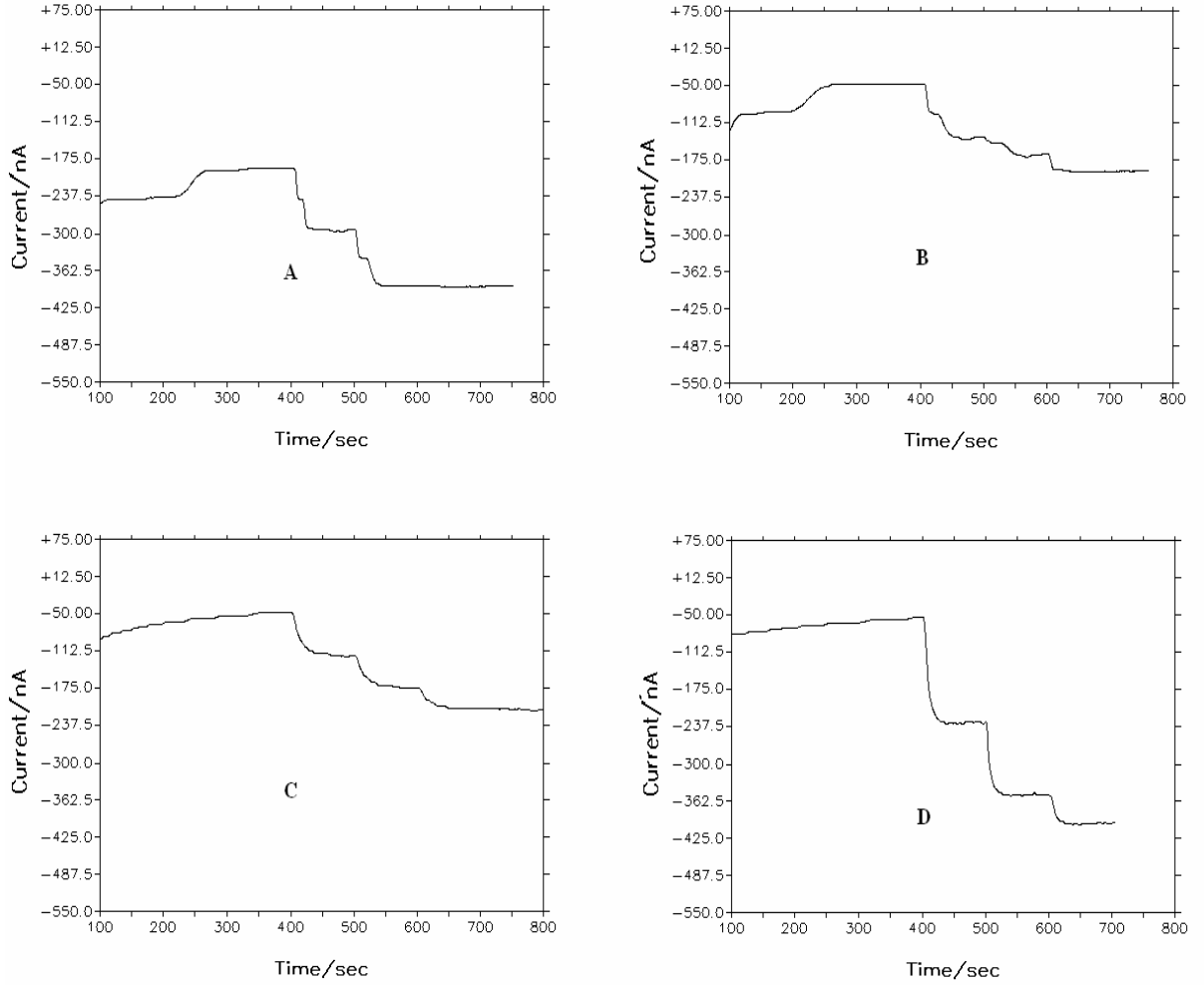


**Şekil 4.30.** 3 µl'lik poliimid + GOx karışımından oluşan elektrodun 400, 500, 600.sn'lerdeki yaklaşık 2 mM'lık glukoz enjeksiyonlarına yanıtı

Şekillerden görüldüğü gibi bu yolla hazırlanan enzim elektrotlar glukoz enjeksiyonlarına yanıt vermemektedir. Bu yüzden enzim immobilizasyonu için ikinci yaklaşıma geçilmiştir.

#### 4.6.2.2.1.Yanıtlar üzerine film kalınlığının etkisi

Platin elektot yüzeylerine 2µl glukoz oksidaz damlatılarak oda sıcaklığında kurutulan elektrotların üzerine farklı miktarlarda (4 µl, 3 µl, 2 µl, 1 µl) poliimid damlatıldı ve kurutuldu. Bu elektrotların glukoz enjeksiyonlarına verdiği yanıtlar incelendi.

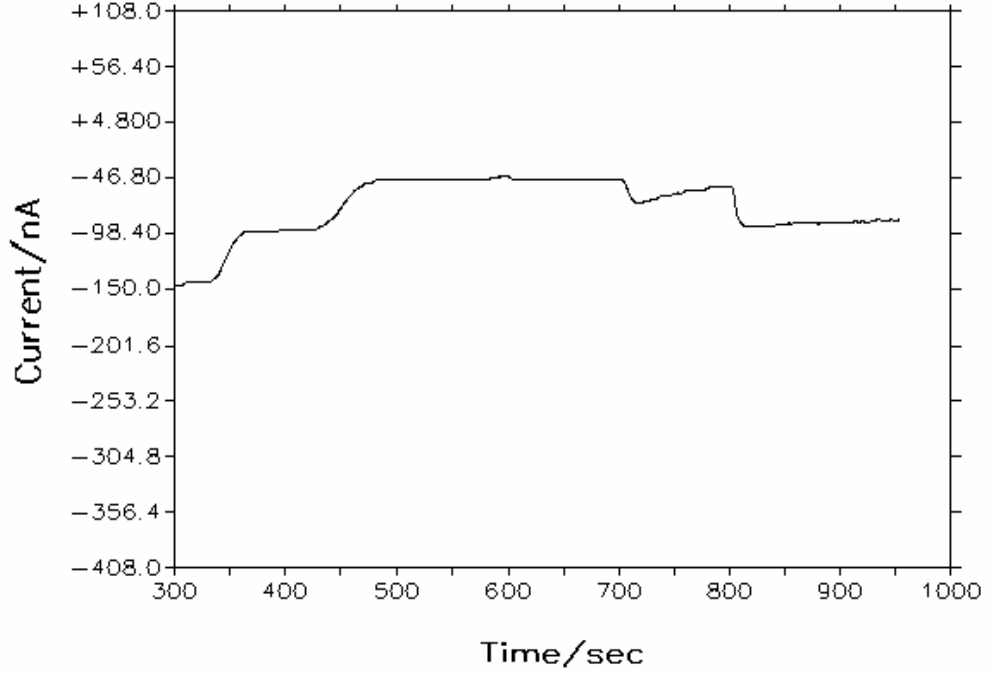


**Şekil 4.31.** (A) 2  $\mu$ l GOx-4  $\mu$ l poliimid elektrodun 400.,500.,600.sn  
 (B) 2  $\mu$ l GOx-3  $\mu$ l poliimid elektrodun 400.,600.,700.sn  
 (C) 2  $\mu$ l GOx-2  $\mu$ l poliimid elektrodun 400.,500.,600.sn  
 (D) 2  $\mu$ l GOx-1  $\mu$ l poliimid elektrodun 400.,500.,600.sn lerdeki glukoz enjeksiyonlarına yanıtı

Şekil 4.31'den 2  $\mu$ l GOx - 1  $\mu$ l poliimid elektrodan alınan sonuçların tatminkar olduğu gözlenmektedir.

#### 4.6.2.2.2. Yanıtlar üzerine enzim miktarının etkisi

Platin elektot yüzeyine 1  $\mu$ l glukoz oksidaz damlatılarak oda sıcaklığında kurutulduktan sonra, üzerine 1  $\mu$ l poliimid damlatıldı ve kurutuldu. Bu elektrodun glukoz enjeksiyonlarına verdiği yanıtlar incelendi.

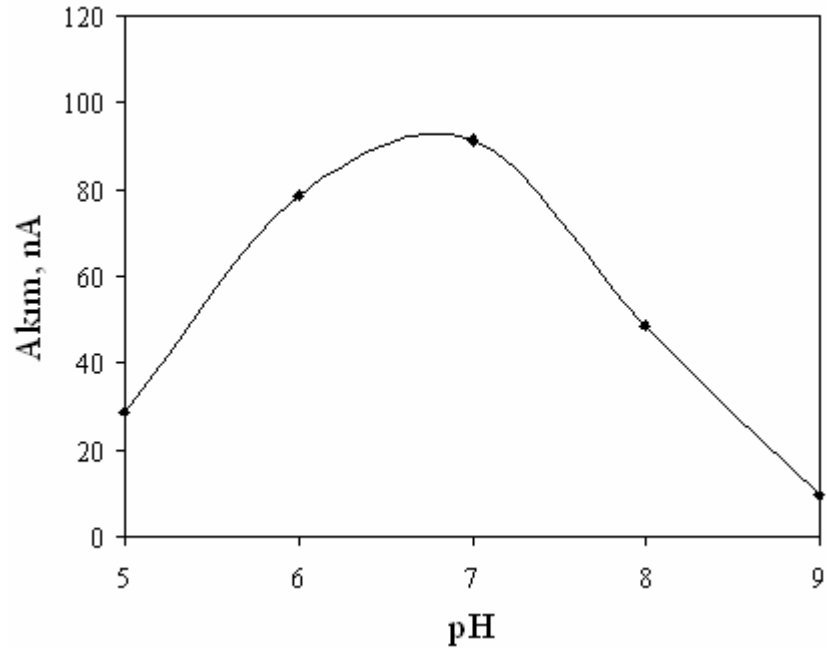


**Şekil 4.32.** 1µl GOx-1µl poli[tris(( *p*-aminofenoksi)fosfinoksid)-3,3',4,4'-benzofenontetrakarbonsilikdiimid] elektrodun glukoz enjeksiyonlarına yanıtı (700, 800,900.sn)

Şekil 4.32 1µl GOx - 1µl poliiimid damlatılarak hazırlanan enzim elektrodan elde edilen amperometrik yanıtları göstermektedir. Bu yanıtlar Şekil 4.31 deki 2µl GOx-1µl poliiimidden elde edilen yanıtlarla karşılaştırıldığında 2µl GOx damlatılarak hazırlanan elektrodun yanıtlarının daha düzenli ve tatminkar olduğu görülmektedir. Bu yüzden sonraki çalışmalar 2µl GOx- 1µl poliiimid elektrotları ile yapıldı.

#### 4.6.2.2.3.Yanıt üzerine pH etkisi

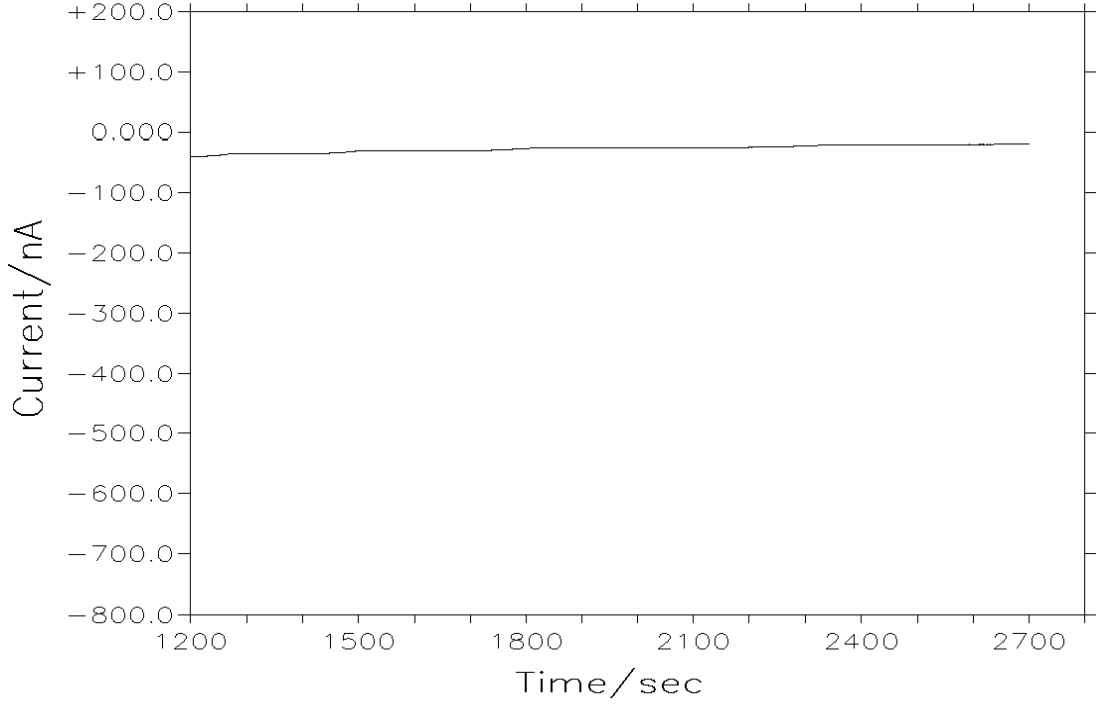
Poli[tris((*p*-aminofenoksi)fosfinoksid)-3,3',4,4'-benzofenontetrakarbonsilikdiimid]-GOx elektrodun yaklaşık 2 mM'lık üç glukoz enjeksiyonu için elde edilen amperometrik yanıtı üzerine pH etkisi pH =5-9 aralığında incelendi. Şekil 4.33, enzim elektrodun amperometrik yanıtının pH bağımlılığını göstermektedir. Şekilden maksimum amperometrik yanıtların pH 7'de elde edildiği görülmektedir.



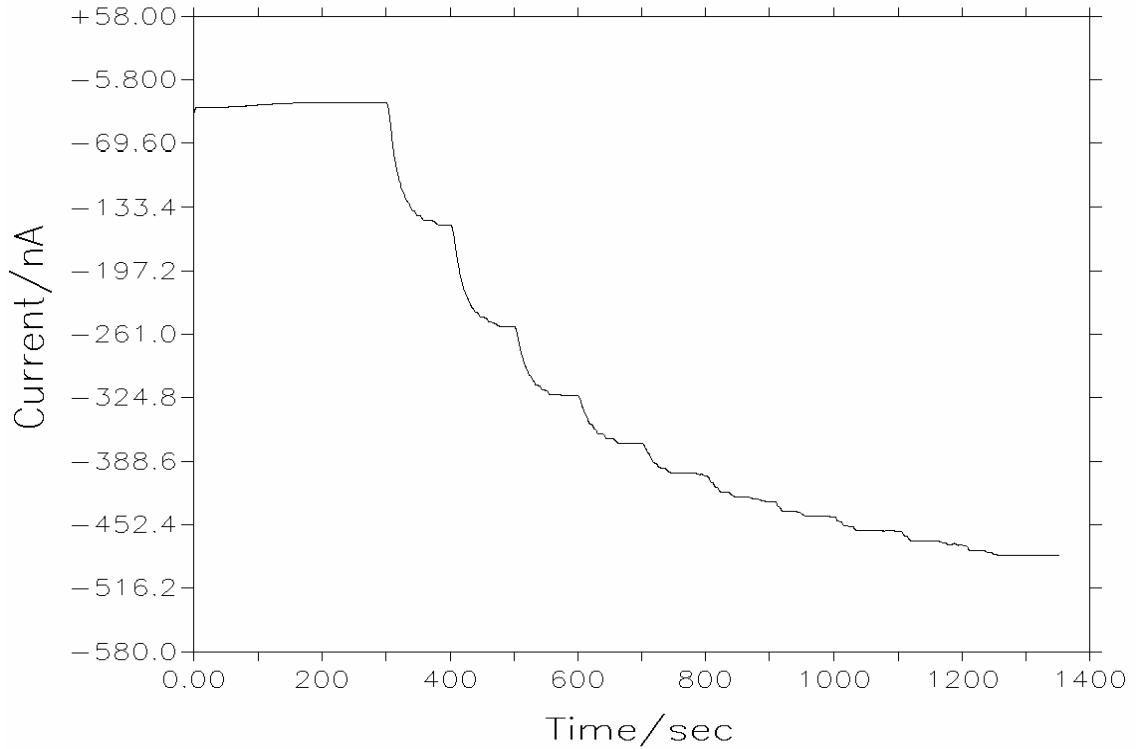
**Şekil 4.33.** Poli[tris(( *p*-aminofenoksi)fosfinoksid)-3,3',4,4'- benzofenontetra karboksilikdiimid] - GOx elektrodun yaklaşık 6 mM glukoz enjeksiyonu için elde edilen amperometrik yanıt üzerine pH etkisi

#### 4.6.2.2.4. Poliimid ve enzim elektrodun glukoz enjeksiyonlarına yanıtı

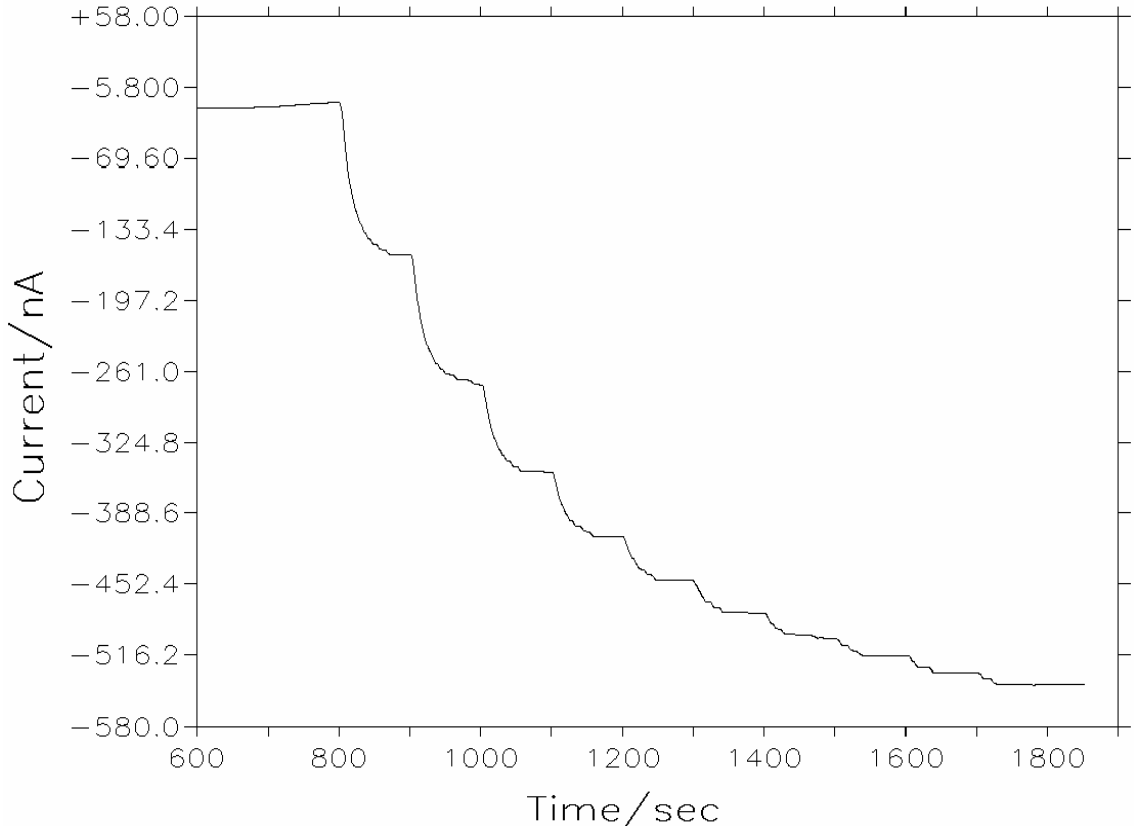
Şekil 4.34, poli[tris((*p*-aminofenoksi)fosfinoksid)-3,3',4,4'-benzofenontetra karboksilikdiimid], Şekil 4.35 poli[tris(( *p*-aminofenoksi)fosfinoksid) - 3,3',4,4'- benzofenontetrakarbonsilikdiimid]–GOx elektrodun birinci kullanımdaki, Şekil 4.36 ise ikinci kullanımdaki (pH=7) 2mM'lık seri glukoz enjeksiyonlarına karşı verdiği amperometrik yanıtları göstermektedir.



**Şekil 4.34.** Poli[tris(( *p*-aminofenoksi)fosfinoksid)-3,3',4,4'- benzofenontetrakarbok silikdiimid] elektrodun 100 sn ara ile yapılan yaklaşık 2 mM'lık 10 glukoz enjeksiyonuna amperometrik davranışı (1600-2500sn)



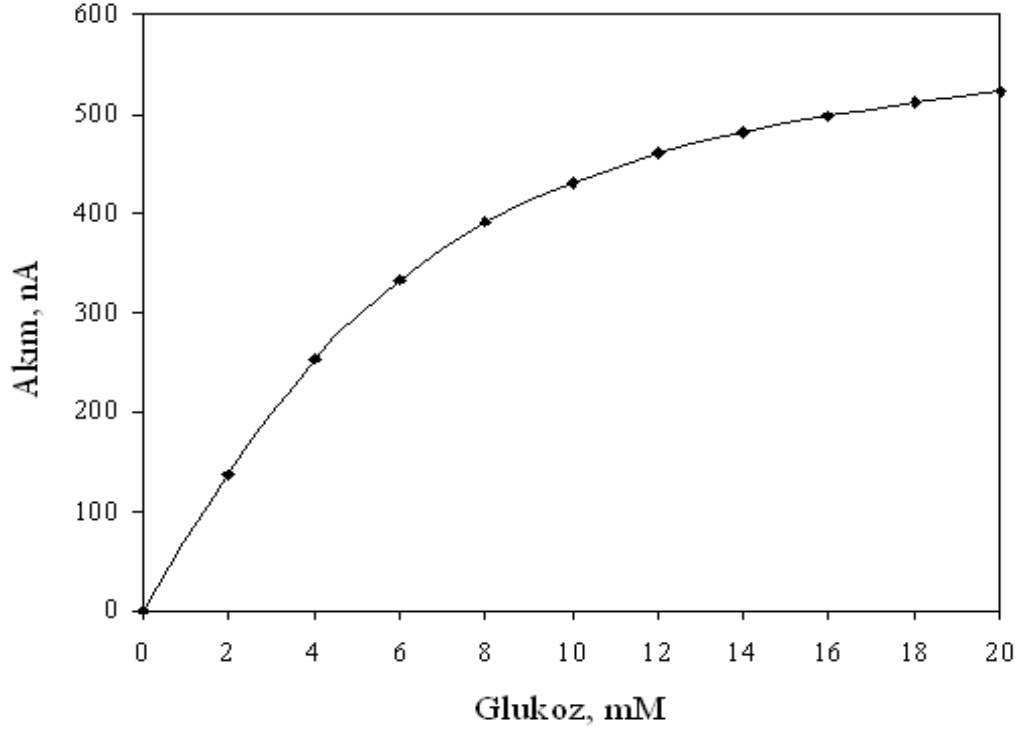
**Şekil 4.35.** Poli[tris(( *p*-aminofenoksi)fosfinoksid)- 3,3',4,4'- benzofenontetrakarbok silikdiimid ]- GOx elektrodun birinci kullanımındaki 100 sn ara ile yapılan yaklaşık 2 mM'lık 10 glukoz enjeksiyonuna amperometrik davranışı (300-1200sn)



**Şekil 4.36.** Poli[tris((*p*-aminofenoksi)fosfinoksid)-3,3',4,4'-benzofenontetrakarboksilik diimid]-GOx elektrodun ikinci kullanımdaki 100 sn ara ile yapılan yaklaşık 2 mM'lık 10 glukoz enjeksiyonuna amperometrik davranışı (800-1700sn)

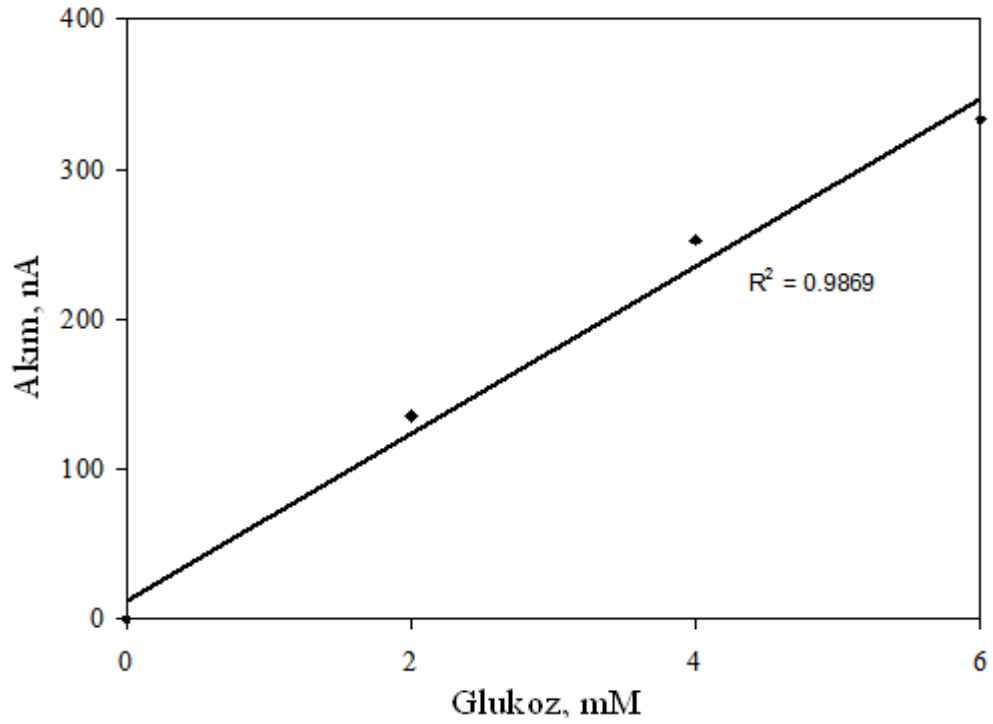
Poli[tris((*p*-aminofenoksi)fosfinoksid) -3,3',4,4'-benzofenontetrakarboksilik diimid] - GOx elektrodu için, glukoz enjeksiyonlarına yanıt süresi yaklaşık 2-4 sn bulundu.

Enzim elektrodun seri glukoz enjeksiyonlarına karşı verdiği amperometrik yanıtlardan elde edilen yanıt grafiği Şekil 4.37' de görülmektedir.



**Şekil 4.37.** Poli[tris((*p*-aminofenoksi)fosfinoksid)-3,3',4,4'- benzofenontetrakarboksilikdiimid]-GOx elektrot ile glukoz için elde edilen yanıt grafiği

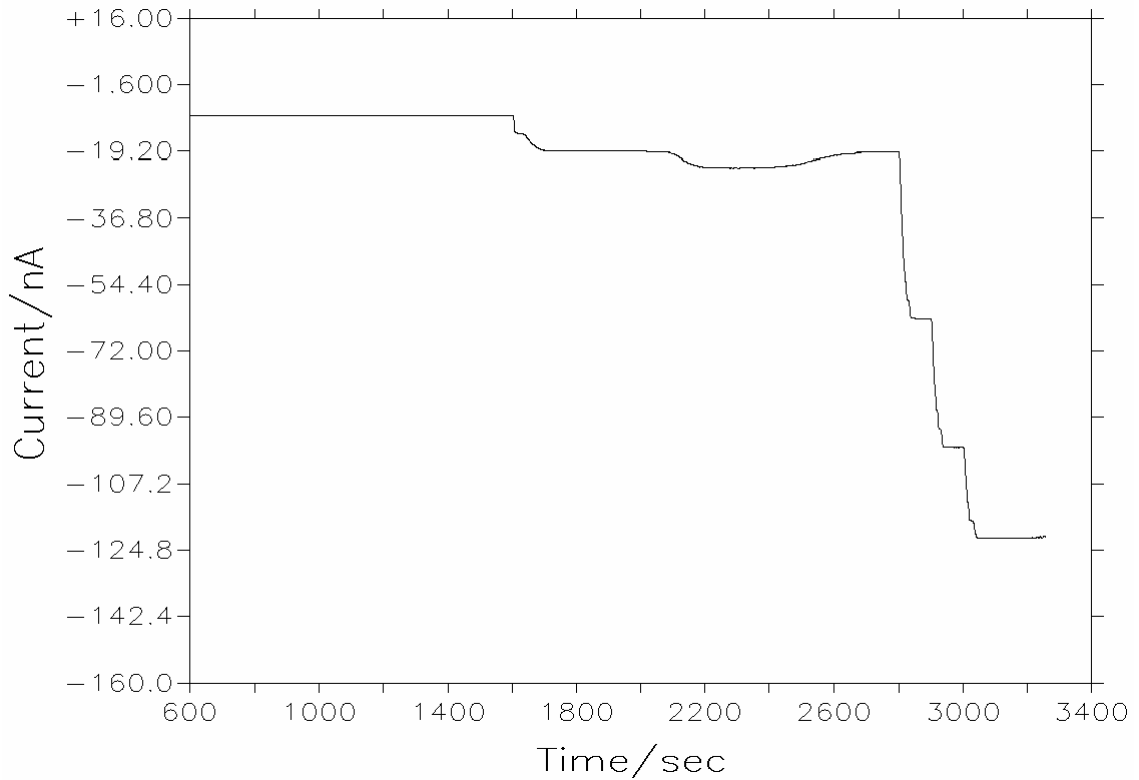
Enzim elektrot için glukozu karşı amperometrik yanıtlardan elde edilen kalibrasyon grafiği Şekil 4.38' de görülmektedir.



**Şekil 4.38.** Poli[tris((*p*-aminofenoksi)fosfinoksid) - 3,3',4,4'- benzofenontetrakarboksilikdiimid]-GOx elektrodun glukoz için kalibrasyon grafiği

#### 4.6.2.2.5. Enzim elektrodun interferans yapıcı türlere karşı davranışı

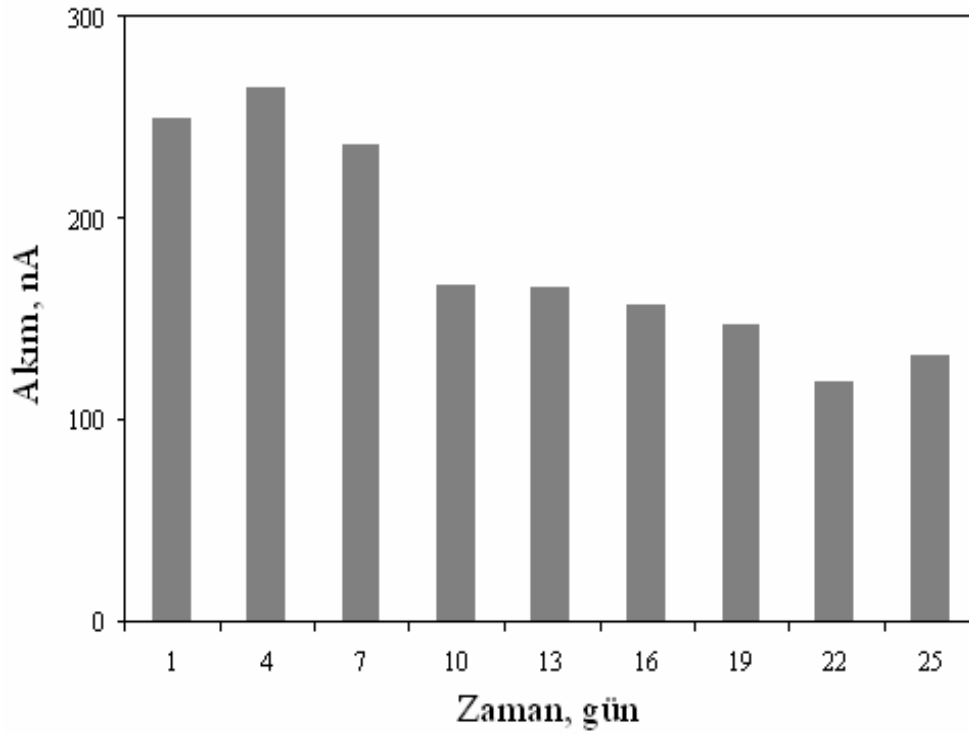
Aşağıdaki şekilde enzim elektrodun aynı derişimlerde (2mM), 1000.sn'de laktoz, 1200. sn'de sukroz, 1400. sn'de üre 1600. sn'de askorbik asit, 1800. sn'de okzalik asit, 2000. sn'de ürik asit, 2800, 2900 ve 3000.sn'lerde glukoz enjeksiyonlarına karşı amperometrik yanıtı görölmektedir. Şekilden enzim elektrodun interferant türlerden askorbik asit ve ürik aside küçük yanıtlar verdiği görölmektedir. Tüm bu interferantların varlığındaki gukoz enjeksiyonlarına yanıt alınmıştır.



**Şekil 4.39.** Poli[tris((*p*-aminofenoksi)fosfinoksid)- 3,3',4,4'- benzofenontetrakarboksilikdiimid]- GOx elektrodun interferant türlere karşı davranışı

#### 4.6.2.2.6. Enzim elektrodun kararlılığı

Enzim elektrodun kararlılık testi, 2 mM'lık 3 glukoz enjeksiyonuna alınan yanıtların periyodik olarak izlenmesiyle incelendi. Şekil 4.40, enzim elektrodun kararlılığını göstermektedir. Şekilden göröldüğü gibi, enzim elektrodun amperometrik yanıtı 25. gün sonunda başlangıç değerinin yaklaşık % 53'üne inmektedir.

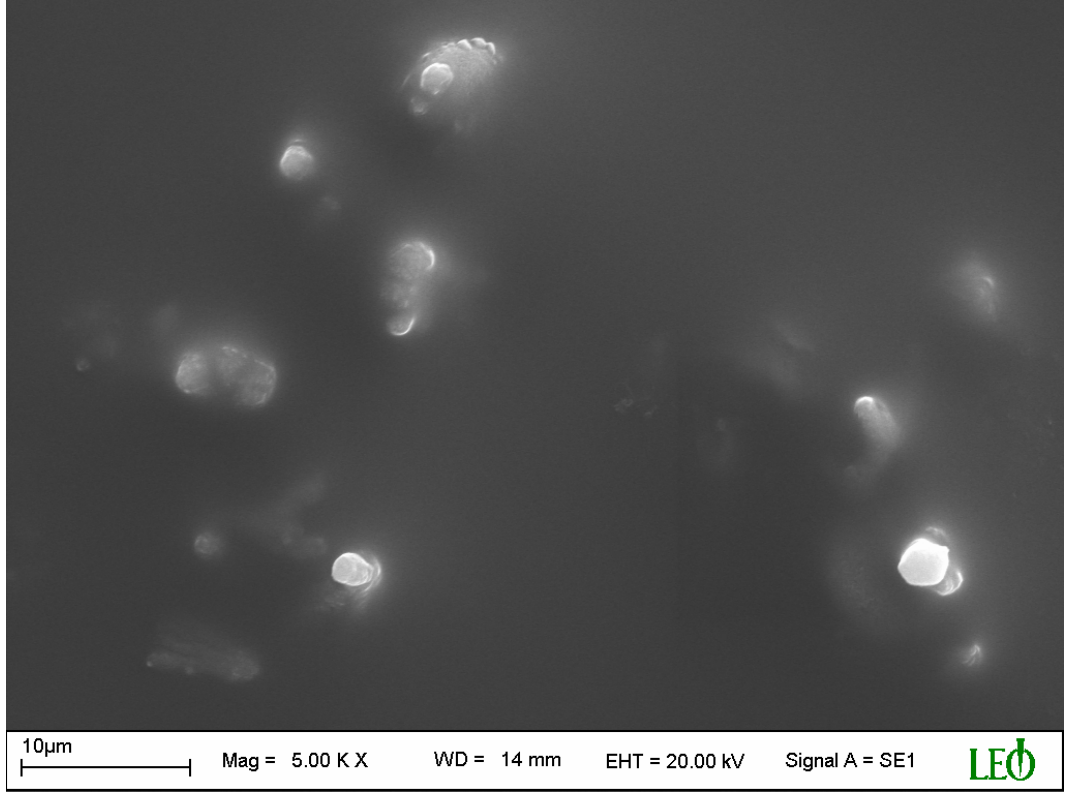


**Şekil 4.40.** Poli [tris((*p*-aminofenoksi)fosfinoksid)-3,3',4,4'- benzofenontetrakarboksilikdiimid]-GOx elektrodun kararlılığı

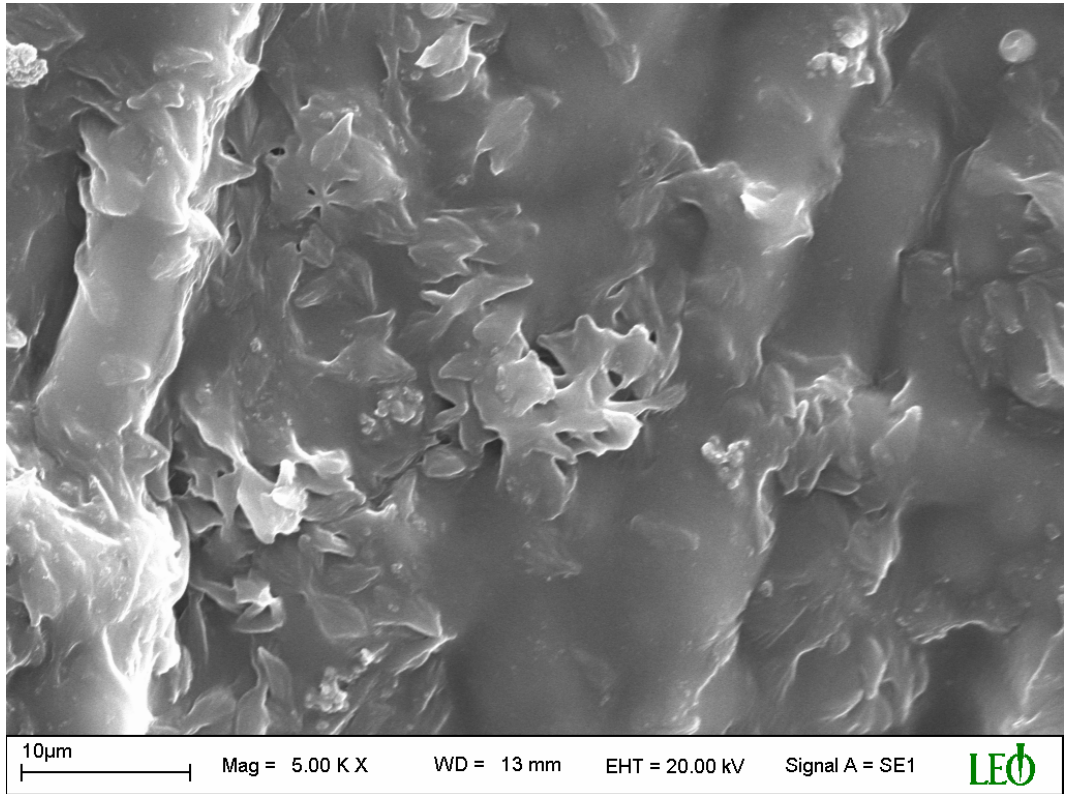
#### 4.6.2.2.7. Poliimid ve enzim elektrodun SEM fotoğrafları

Şekil 4.41'de SiO<sub>2</sub> cam üzerindeki poliimidin, Şekil 4.42'de SiO<sub>2</sub> cam üzerindeki enzim elektrodun SEM görüntüleri verilmiştir.

Poli[tris((*p*-aminofenoksi)fosfinoksid)- 3,3',4,4'- benzofenontetrakarboksilikdiimid] ve poli[tris((*p*-aminofenoksi)fosfinoksid)- 3,3',4,4'-benzofenontetrakarboksilikdiimid]-GOx elektrotların SEM görüntülerinden enzimsiz poliimid elektrot ile enzimli poliimid elektrot arasındaki farklılık açıkça görülmektedir.



Şekil 4.41. Poli [tris((*p*-aminofenoksi)fosfinoksid)-3,3',4,4'- benzofenontetrakarbok silikdiimid] elektrodu için SEM.



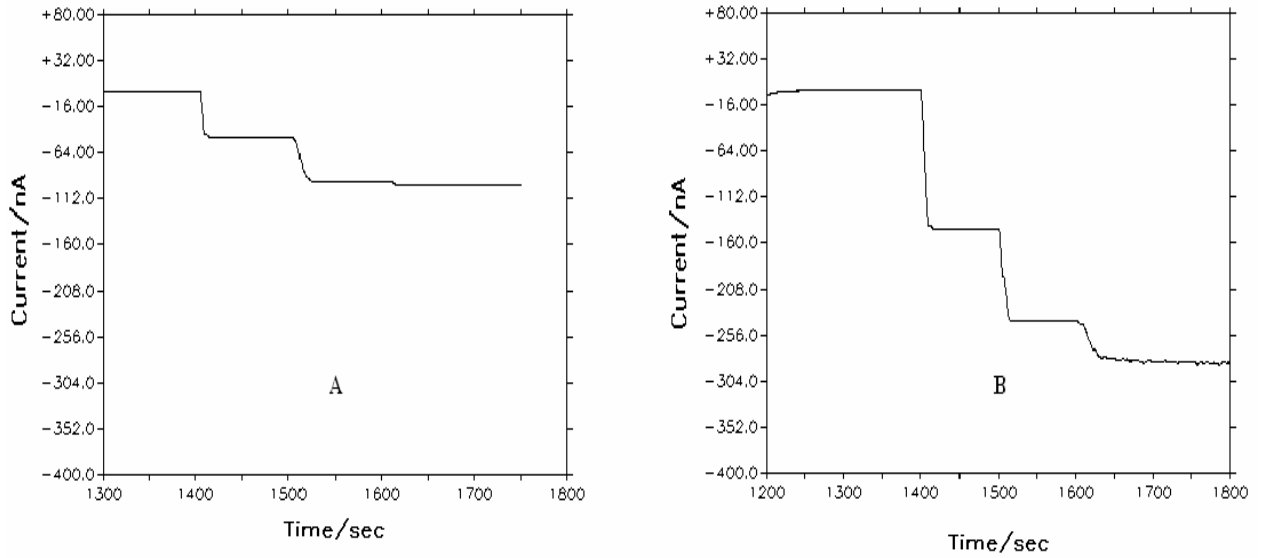
Şekil 4.42. Poli [tris((*p*-aminofenoksi)fosfinoksid)-3,3',4,4'- benzofenontetrakarbok silikdiimid]-GOx elektrodu için SEM

### 4.6.2.3. Poli(4,4'-diaminodifeniletan-piromellitimid)-GOx elektrodu

#### 4.6.2.3.1. Yanıtlar üzerine film kalınlığının etkisi

Platin elektot yüzeyine 2 $\mu$ l glukoz oksidaz damlatılıp oda sıcaklığında kurutulurak üzerine farklı miktarlarda (2  $\mu$ l, 1  $\mu$ l) poli[4,4' - diaminodifeniletan-piromellitimid] damlatıldı ve kurutuldu. Bu elektrotların glukoz enjeksiyonlarına verdiği yanıtlar incelendi.

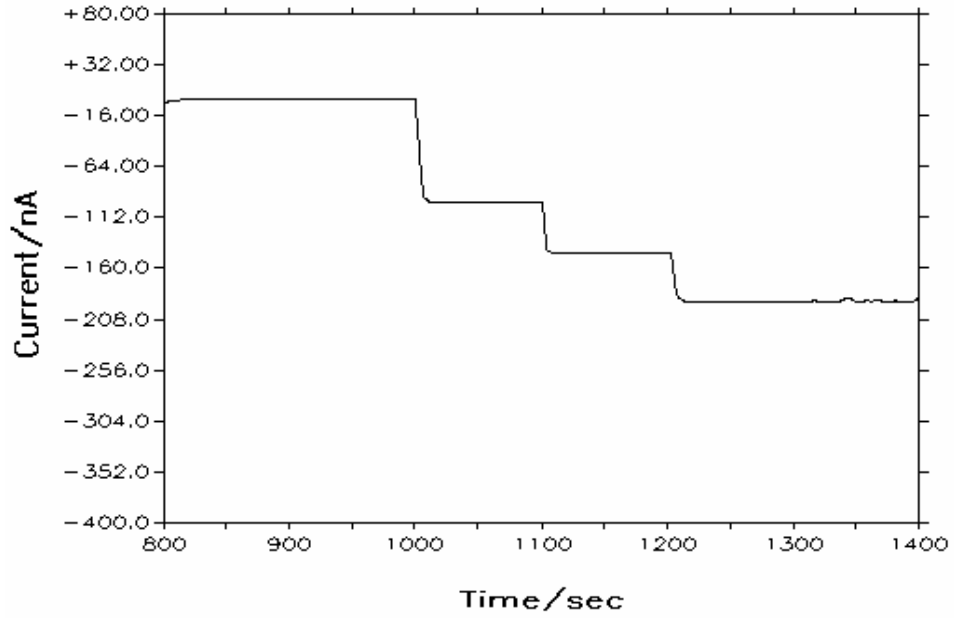
Şekil 4.43'den 2 $\mu$ l GOx-1 $\mu$ l poli[4,4'-diaminodifeniletan-piromellitimid] elektrotndan elde edilen amperometrik sonuçların daha iyi olduğu görülmektedir.



**Şekil 4.43.** (A) 2 $\mu$ l GOx-2 $\mu$ l poli[4,4'-diaminodifeniletan-piromellitimid] elektrodun glukoz yanıtı (1400,1500,1600.sn)  
(B) 2 $\mu$ l GOx-1 $\mu$ l poli[4,4'-diaminodifeniletan-piromellitimid] elektrodun glukoz yanıtı (1400,1500,1600.sn)

#### 4.6.2.3.2. Yanıtlar üzerine enzim miktarının etkisi

Platin elektot yüzeyine 1 $\mu$ l glukoz oksidaz damlatılarak oda sıcaklığında kurutulduktan sonra, üzerine 1 $\mu$ l poliimid damlatıldı ve kurutuldu. Bu elektrodun glukoz enjeksiyonlarına verdiği yanıtlar incelendi.

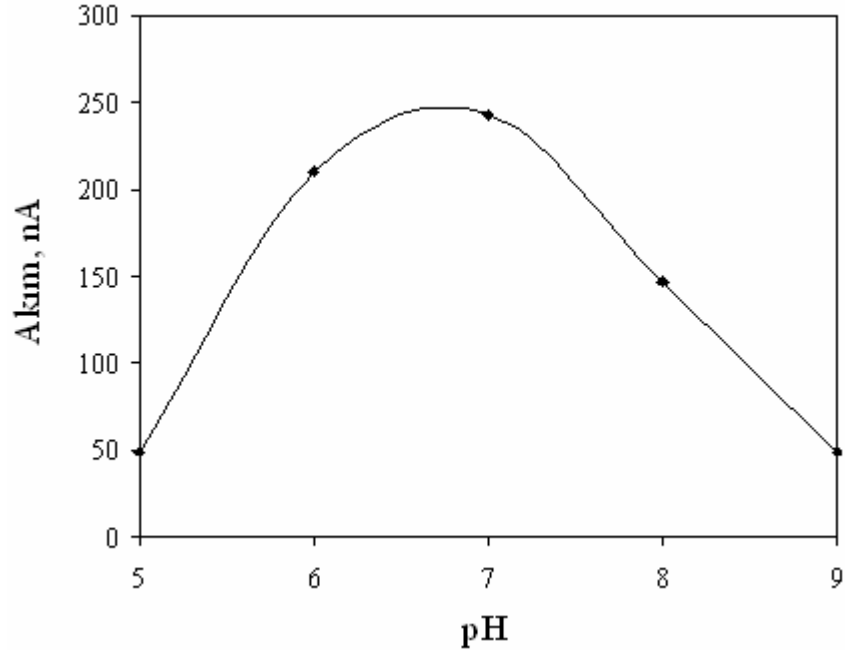


**Şekil 4.44.** 1µl GOx-1µl poli[4,4'-diaminodifeniletan-piromellitimid] elektrodun glukozu yanıtı (1000,1100,1200.sn)

Şekil 4.44, 1µl GOx - 1µl poliiimid damlatılarak hazırlanan enzim elektrodan elde edilen amperometrik yanıtı göstermektedir. Bu yanıt Şekil 4.43' deki 2µl GOx- 1µl poliiimidden elde edilen yanıtla karşılaştırıldığında 2µl GOx damlatılarak hazırlanan elektrodun yanıtının daha büyük olduğu görülmektedir. Bu yüzden sonraki çalışmalar 2µl GOx-1µl poliiimid elektrotlar hazırlanarak yapıldı.

#### 4.6.2.3.3. Yanıtlar üzerine pH etkisi

Poli[4,4'-diaminodifeniletan-piromellitimid]-GOx elektrodun yaklaşık 2 mM'lık üç glukoz enjeksiyonu için elde edilen amperometrik yanıtı üzerine pH etkisi pH=5-9 aralığında incelendi. Şekil 4.45, enzim elektrodun amperometrik yanıtının pH bağımlılığını göstermektedir.

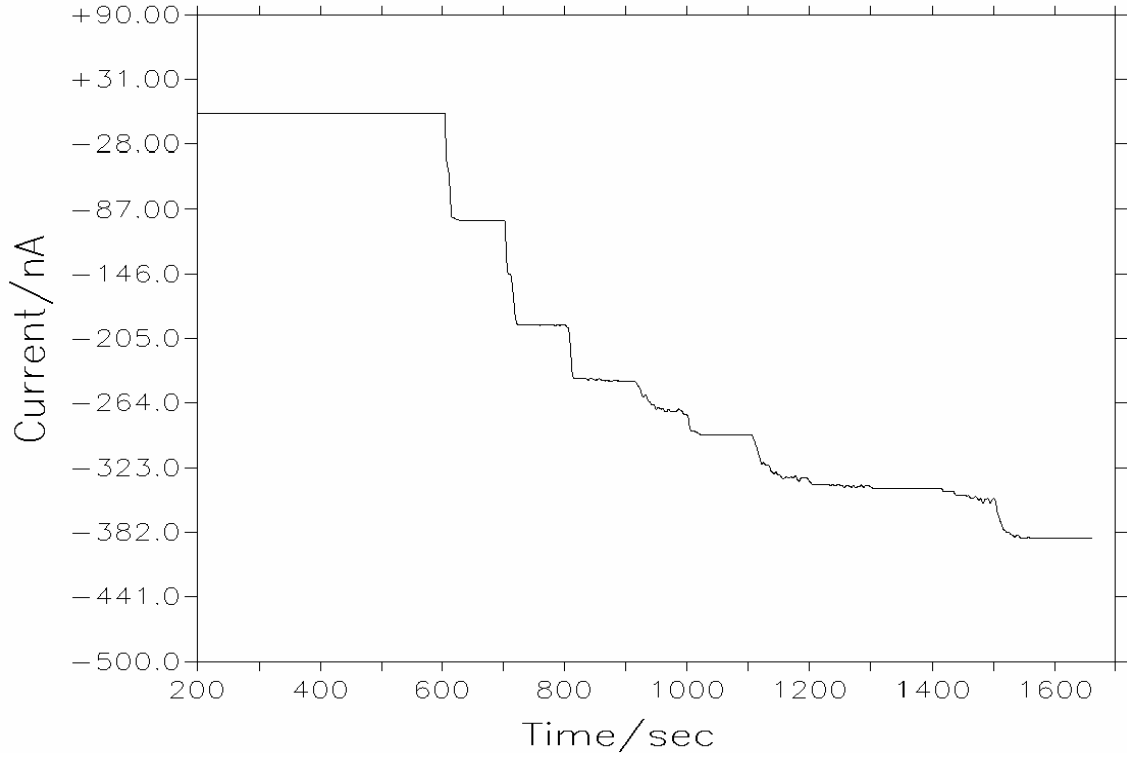


**Şekil 4.45.** Poli[4,4'-diaminodifeniletan-piromellitimid]-GOx elektrodun yaklaşık 6 mM glukoz enjeksiyonu için elde edilen amperometrik yanıt üzerine pH etkisi

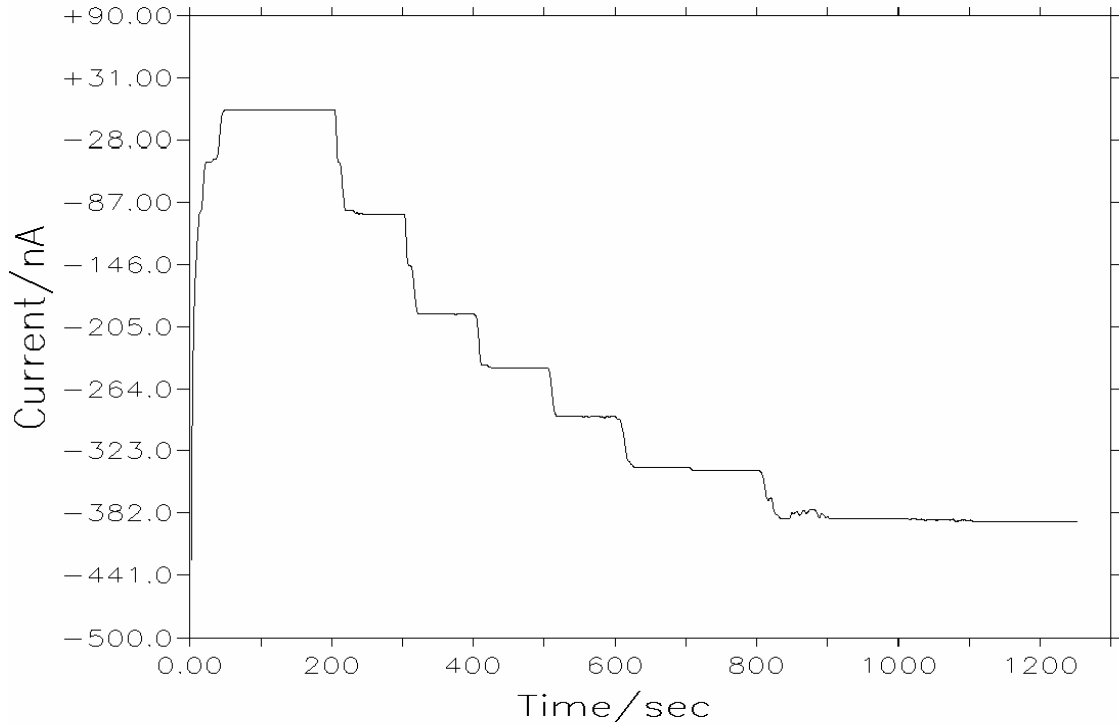
Şekilden maksimum amperometrik yanıtların pH 7'de elde edildiği görülmektedir.

#### 4.6.2.3.4. Enzim elektrodun glukoz enjeksiyonlarına yanıtı

Şekil 4.46, 2µl GOx - 1µl poli[4,4'-diaminodifeniletan-piromelitimid] elektrodun birinci kullanımdaki, Şekil 4.47 ise ikinci kullanımdaki PBS çözeltisindeki (pH=7) 2mM'lık seri glukoz enjeksiyonlarına karşı verdiği amperometrik yanıtları göstermektedir.



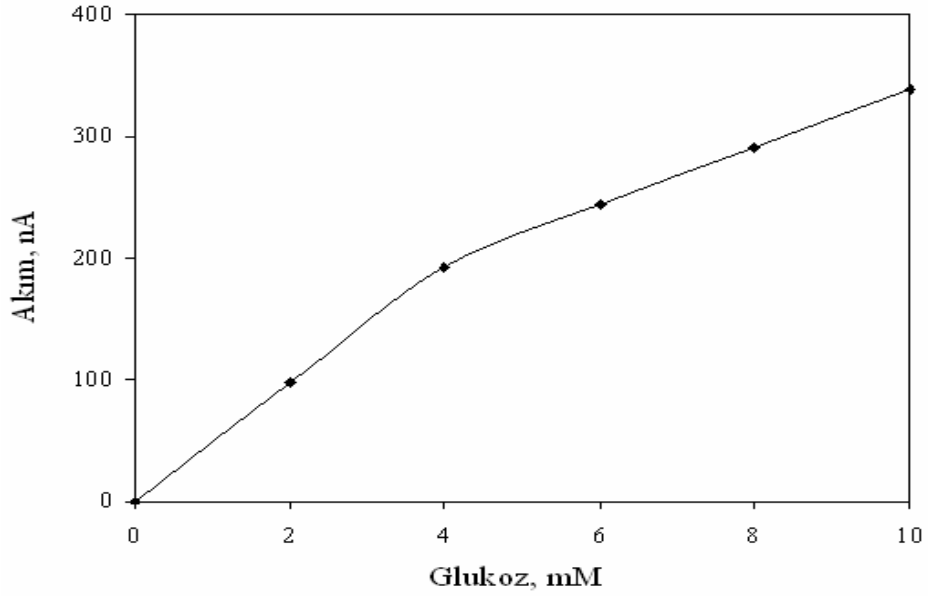
**Şekil 4.46.** Poli[4,4' - diaminodifeniletan - piromellitimid] -GOx elektrodun birinci kullanımdaki yaklaşık 2 mM'lık 10 glukoz enjeksiyonuna amperometrik davranışı (600-1500sn)



**Şekil 4.47.** Poli[4,4' - diaminodifeniletan - piromellitimid]-GOx elektrodun ikinci kullanımdaki yaklaşık 2 mM'lık 10 glukoz enjeksiyonuna amperometrik davranışı (200-1100sn)

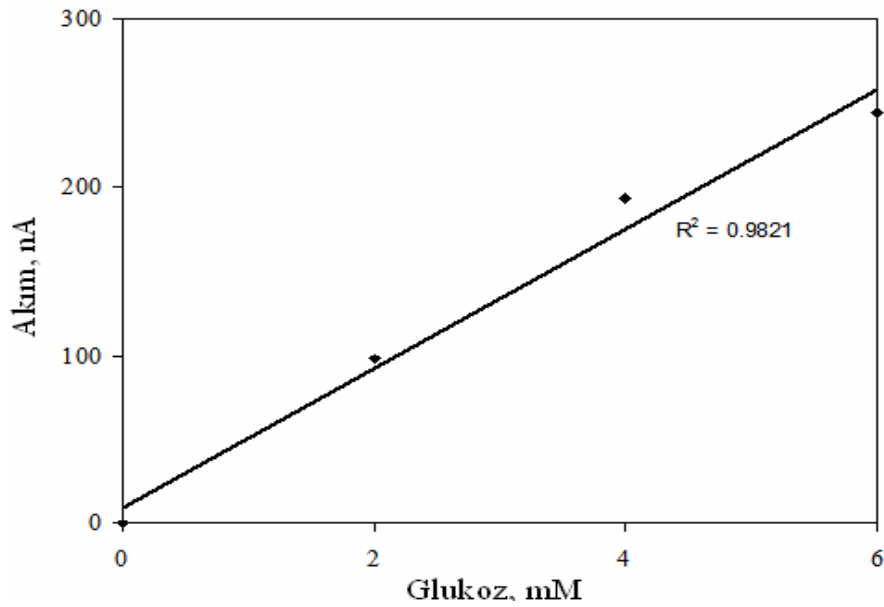
Poli[4,4' – diaminodifeniletan - piromellitimid] - GOx elektrodu için, glukoz enjeksiyonlarına yanıt süresi yaklaşık 3-4 sn olarak bulundu.

Poli[4,4'-diaminodifeniletan-piromellitimid]-GOx elektrodun seri glukoz enjeksiyonlarına karşı verdiği amperometrik yanıtlardan elde edilen yanıt grafiği Şekil 4.48' de görülmektedir.



Şekil 4.48. Poli[4,4'-diaminodifeniletan-piromellitimid]- GOx elektrot ile glukoz için elde edilen yanıt grafiği

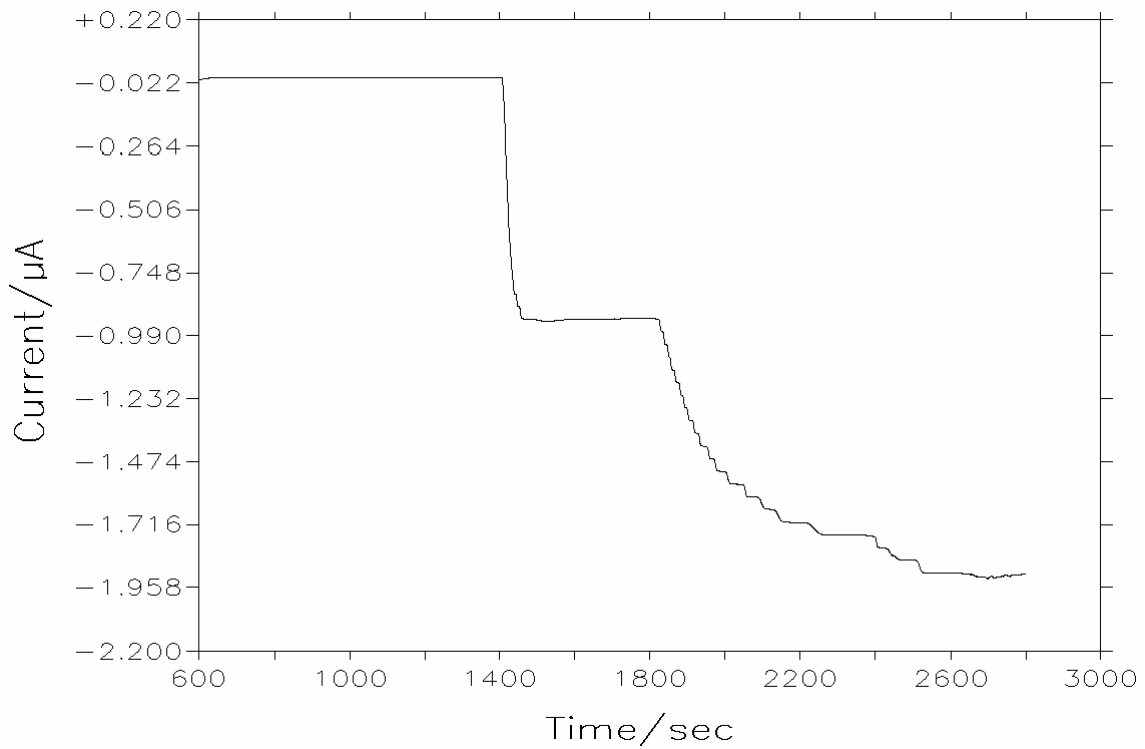
Enzim elektrot için glukozu karşı amperometrik yanıtlardan elde edilen kalibrasyon grafiği Şekil 4.49' da görülmektedir.



Şekil 4.49. Poli[4,4'-diaminodifeniletan-piromellitimid]-GOx elektrodun glukoz için kalibrasyon grafiği

#### 4.6.2.3.5. Enzim elektrodun interferans yapıcı türlere karşı davranışı

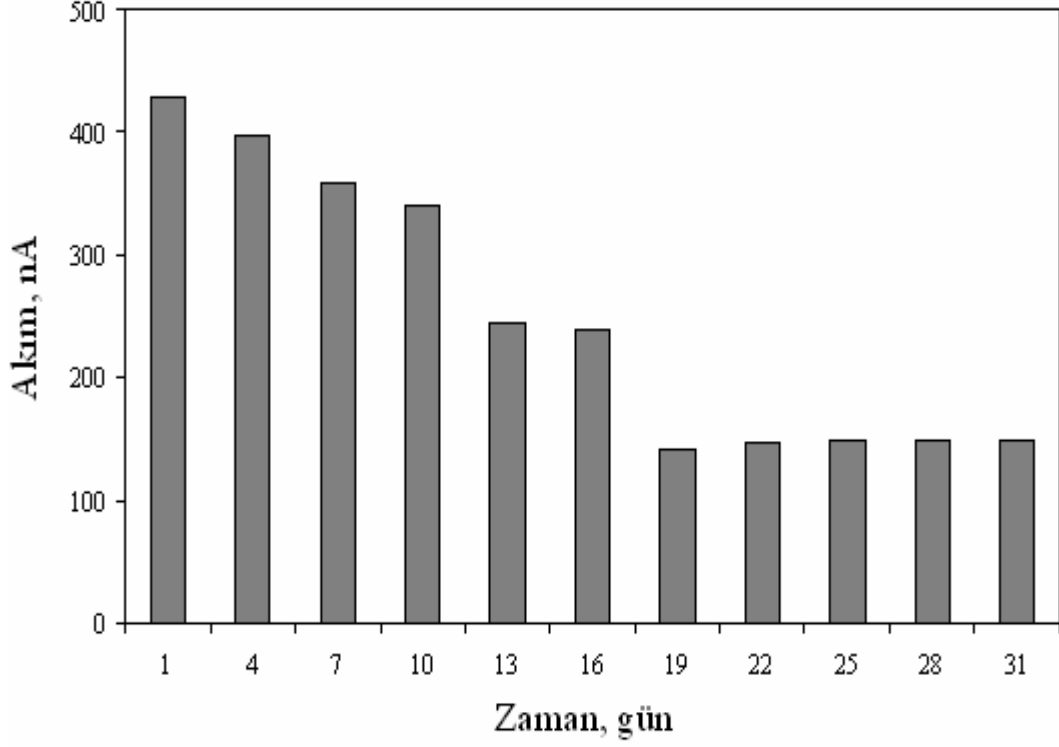
Aşağıdaki şekilde enzim elektrodun aynı derişimlerde (2mM), 800.sn'de laktoz, 1000. sn'de sukroz, 1200. sn'üre 1400. sn'de askorbik asit, 1600. sn'de okzalik asit, 1800. sn'de ürik asit, 2400, 2500 ve 2600. sn'lerde glukoz enjeksiyonlarına karşı amperometrik yanıtı görölmektedir. Şekilden enzim elektrodun anılan girişim yapıcı türlerden askorbik asit ve ürik aside yanıt verdiği görölmektedir. Tüm bu interferantlar varlığında gukoz enjeksiyonlarına karşı yanıt alınmıştır.



Şekil 4.50. Poli[4,4'-diaminodifeniletan-piromellitimid]-GOx elektrodun interferant türlere karşı davranışı

#### 4.6.2.3.6. Enzim elektrodun kararlılığı

Enzim elektrodun kararlılık testi, 2mM'lık 3 glukoz enjeksiyonuna karşı alınan yanıtların periyodik olarak izlenmesiyle incelendi. Şekil 4.51, enzim elektrodun kararlılığını göstermektedir. Şekilden göröldüğü gibi, enzim elektrodun amperometrik yanıtı 31. gün sonunda başlangıç değerinin % yaklaşık 35'ine inmektedir.

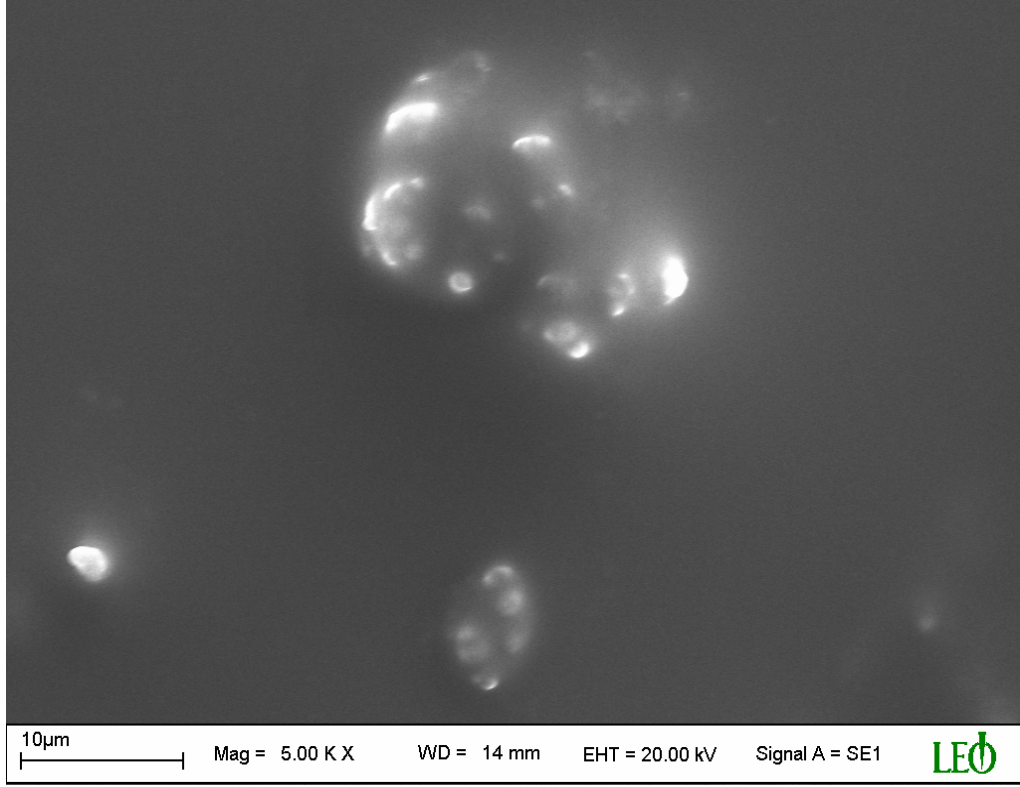


**Şekil 4.51.** Poli[4,4'-diaminodifeniletan-piromellitimid]-GOx elektrodun kararlılığı

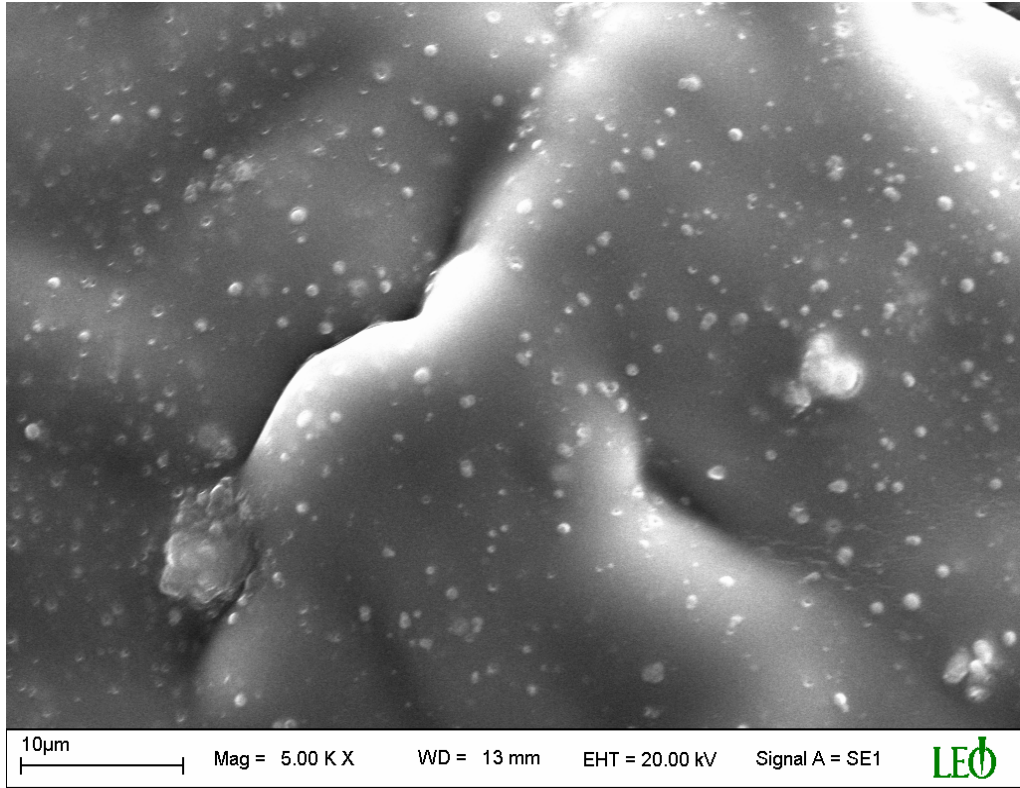
#### 4.6.2.3.7. Poliimid ve enzim elektrodun SEM fotoğrafları

Şekil 4.52'de SiO<sub>2</sub> cam üzerindeki poliimidin, Şekil 4.53'de SiO<sub>2</sub> cam üzerindeki enzim elektrodun SEM görüntüleri verilmiştir.

Poli[4,4'-diaminodifeniletan-piromellitimid ] ve poli[4,4'-diaminodifeniletan-piromellitimid]-GOx elektrotların SEM görüntüleri karşılaştırıldığında enzimsiz poliimid elektrot ile enzimli poliimid elektrot arasındaki fark görülmektedir.



Şekil 4.52. Poli[4,4'-diaminodifeniletan-piromellitimid] elektrodu için SEM



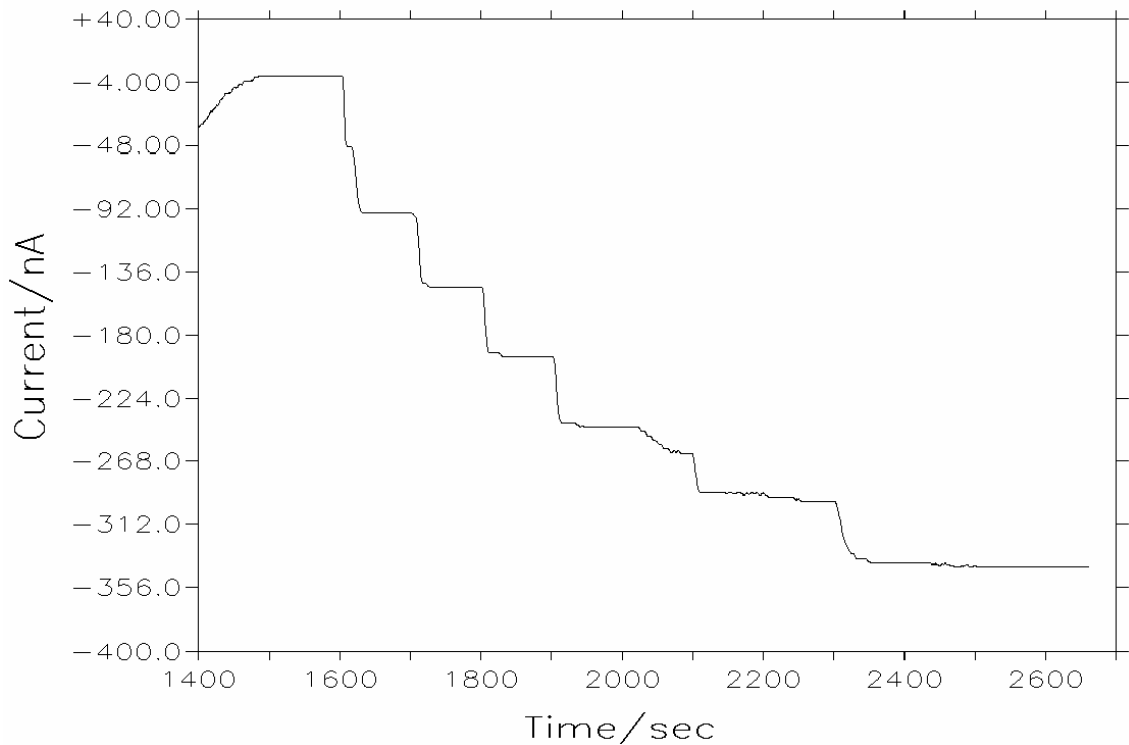
Şekil 4.53. Poli[4,4'-diaminodifeniletan-piromellitimid]-GOx elektrodu için SEM

#### 4.6.2.4. Schiff bazı temelli poliimidlerin enzim immobilizasyonunda kullanımı

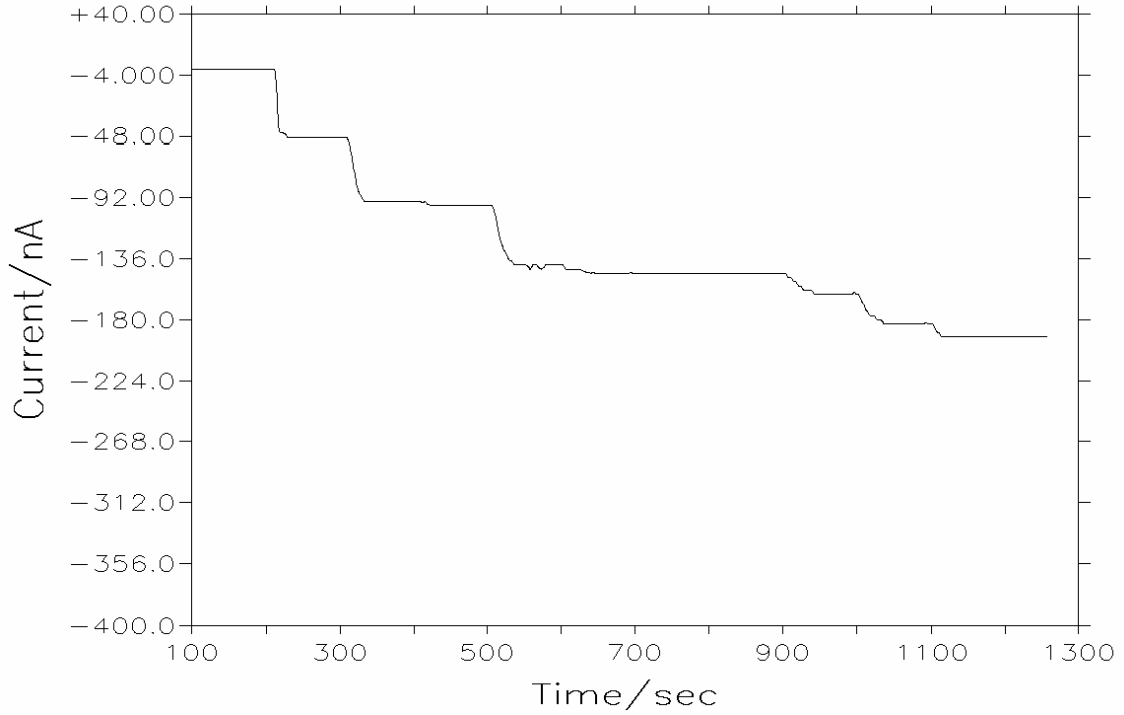
Enzim immobilizasyonu deneyleri ikinci yaklaşımın daha uygun olduğunu göstermektedir. Bu nedenle bundan sonraki enzim immobilizasyonlarında platin elektrotlar yüzeyine önce enzim damlatılıp kurutulmuş daha sonra üzerlerine poliimid damlatılarak kurutulmuştur.

##### 4.6.2.4.1. Poli[bis((*p*-dimetilaminobenziliden)-1,5- naftalen)- piromelitimid]-GOx elektrodu

Şekil 4.54, 2µl GOx-1µl poli[bis((*p*-dimetilaminobenziliden)-1,5- naftalen)- piromelitimid] elektrodun birinci kullanımdaki, Şekil 4.55, ise ikinci kullanımdaki PBS çözeltisindeki (pH=7) 2 mM'lık seri glukoz enjeksiyonlarına karşı verdiği amperometrik yanıtları göstermektedir.



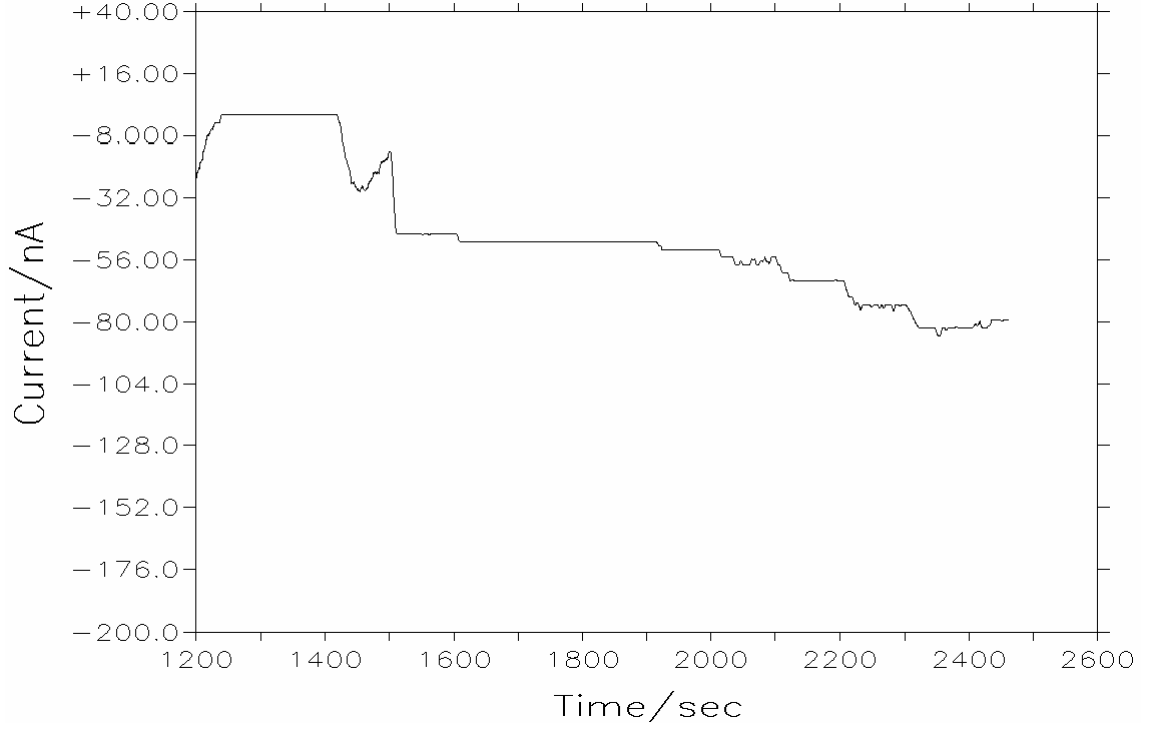
Şekil 4.54. 2µl GOx-1µl poli[bis((*p*-dimetilaminobenziliden)-1,5 - naftalen)- piromelitimid] elektrodun birinci kullanımdaki yaklaşık 2 mM'lık 10 glukoz enjeksiyonuna amperometrik davranışı (1600- 2500sn)



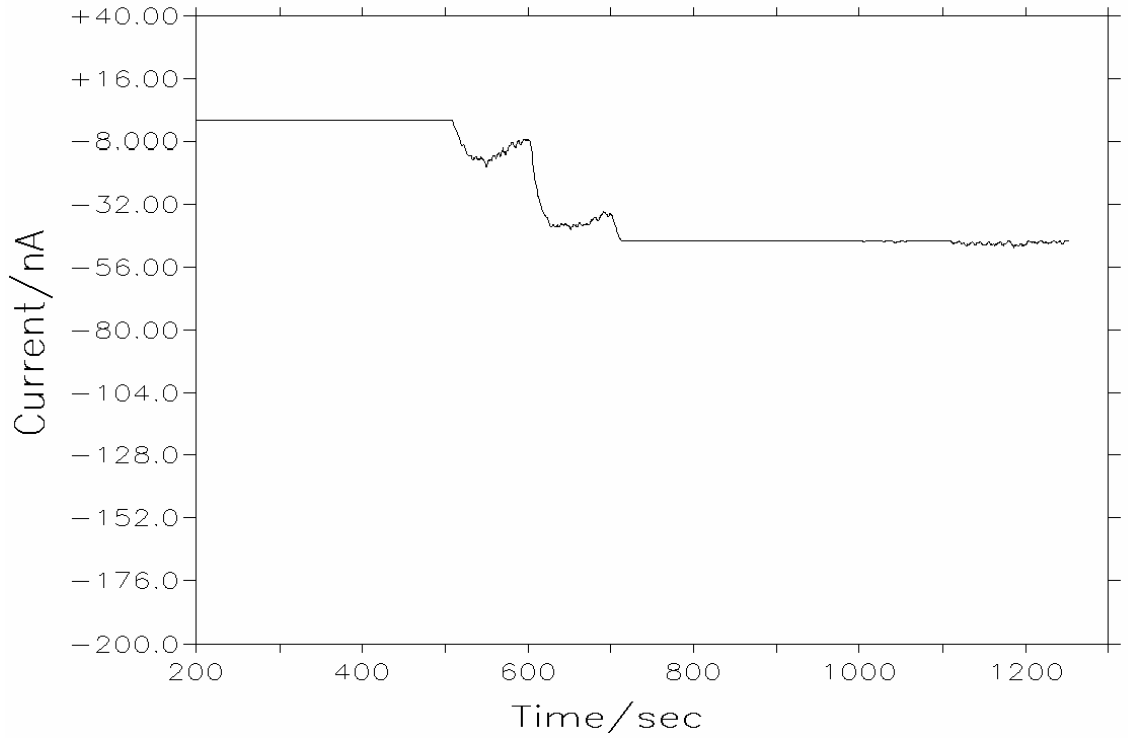
**Şekil 4.55.** 2µl GOx-1µl poli[bis(( *p*-dimetilaminobenziliden) -1,5- naftalen)-piromelitimid] elektrodun ikinci kullanımdaki yaklaşık 2 mM'lık 10 glukoz enjeksiyonuna amperometrik davranışı (200-1100 sn)

#### 4.6.2.4.2. Poli[bis(( *p*-dimetilaminobenziliden)-1,5- naftalen)-3,3',4,4'- benzo fenontetrakarboxilikdiimid] - GOx elektrodu

Şekil 4.56, 2µl GOx-1µl poli[bis(( *p*-dimetilaminobenziliden)-1,5-naftalen)-3,3',4,4'-benzofenontetrakarboxilikdiimid] elektrodun birinci kullanımdaki, Şekil 4.57 ise ikinci kullanımdaki PBS çözeltisindeki (pH=7) 2 mM'lık seri glukoz enjeksiyonlarına karşı verdiği amperometrik yanıtları göstermektedir.



**Şekil 4.56.** 2µl GOx-1µl poli[bis((*p*-dimetilaminobenziliden)-1,5-naftalen)-3,3',4,4'- benzofenontetrakarboxilikdiimid] elektrodun birinci kullanımdaki yaklaşık 2 mM'lık 10 glukoz enjeksiyonuna amperometrik davranışı (1400-2300sn)



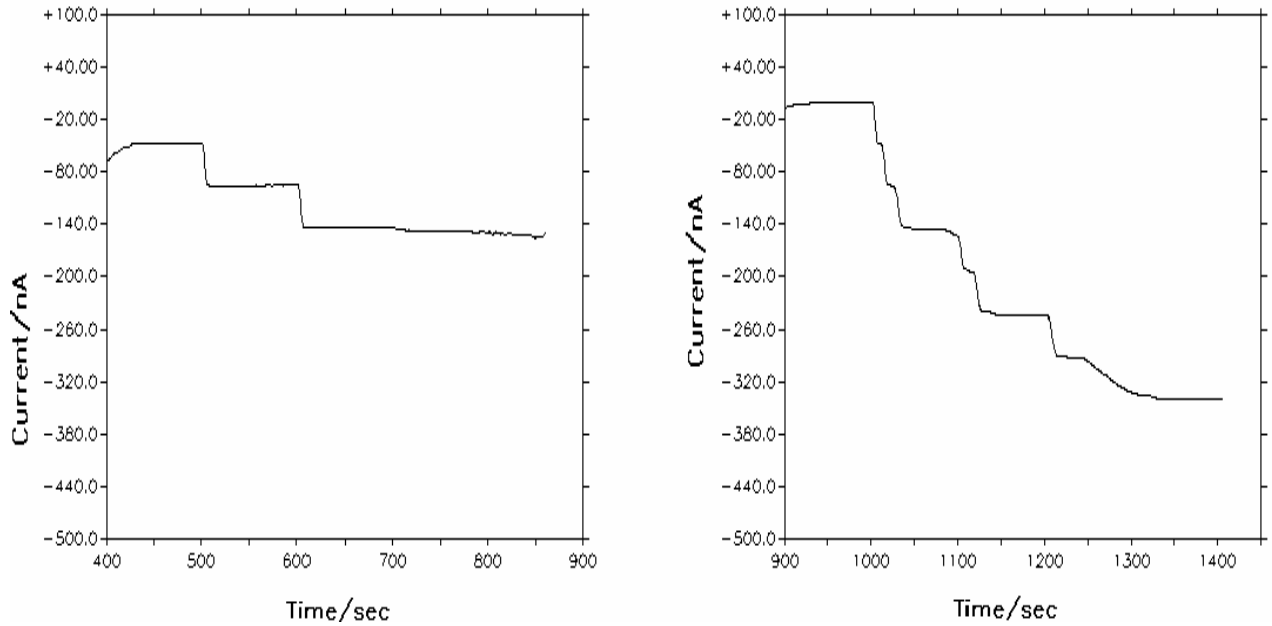
**Şekil 4.57.** 2µl GOx-1µl poli[bis((*p*-dimetilaminobenziliden)-1,5-naftalen)-3,3',4,4'- benzofenontetrakarboxilikdiimid] elektrodun ikinci kullanımdaki yaklaşık 2 mM'lık 10 glukoz enjeksiyonuna amperometrik davranışı (200-1100 sn)

#### 4.6.2.4.3. Poli[bis((*p*-dimetilaminobenziliden)-1,5-naftalen)-4,4'-oksidifitalikdiimid]-GOx elektrodu

##### 4.6.2.4.3.1. Yanıtlar üzerine enzim miktarının etkisi

Platin elektrot yüzeylerine 2 $\mu$ l ve 4 $\mu$ l glukoz oksidaz damlatılarak oda sıcaklığında kurutulan elektrotların üzerlerine 1'er  $\mu$ l poliimid damlatıldı ve kurutuldu. Bu elektrotların glukoz enjeksiyonlarına verdiği yanıtlar Şekil 4.58' de gösterilmektedir.

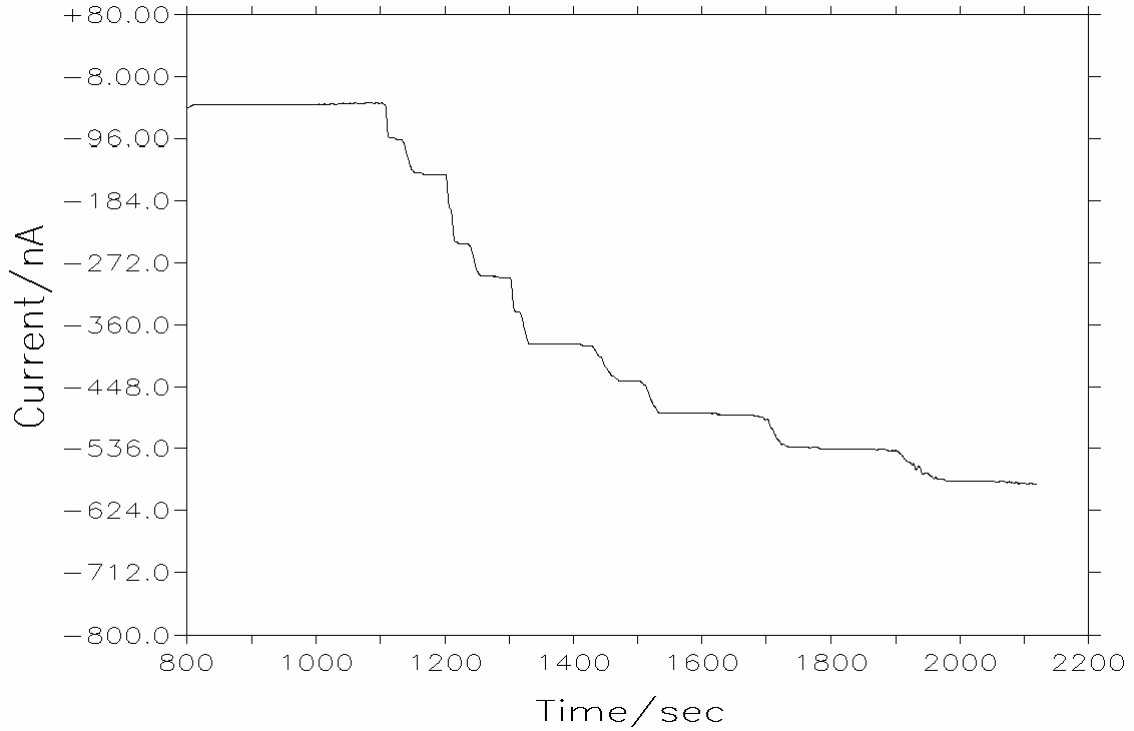
Şekil 4.58.(B)'den 4 $\mu$ l GOx - 1 $\mu$ l poliimid elektrottan elde edilen amperometrik yanıtların daha büyük olduğu açıkça görülmektedir. Bu yüzden sonraki çalışmalar 4 $\mu$ l GOx - 1 $\mu$ l poliimiddan oluşan elektrotlarla yapıldı.



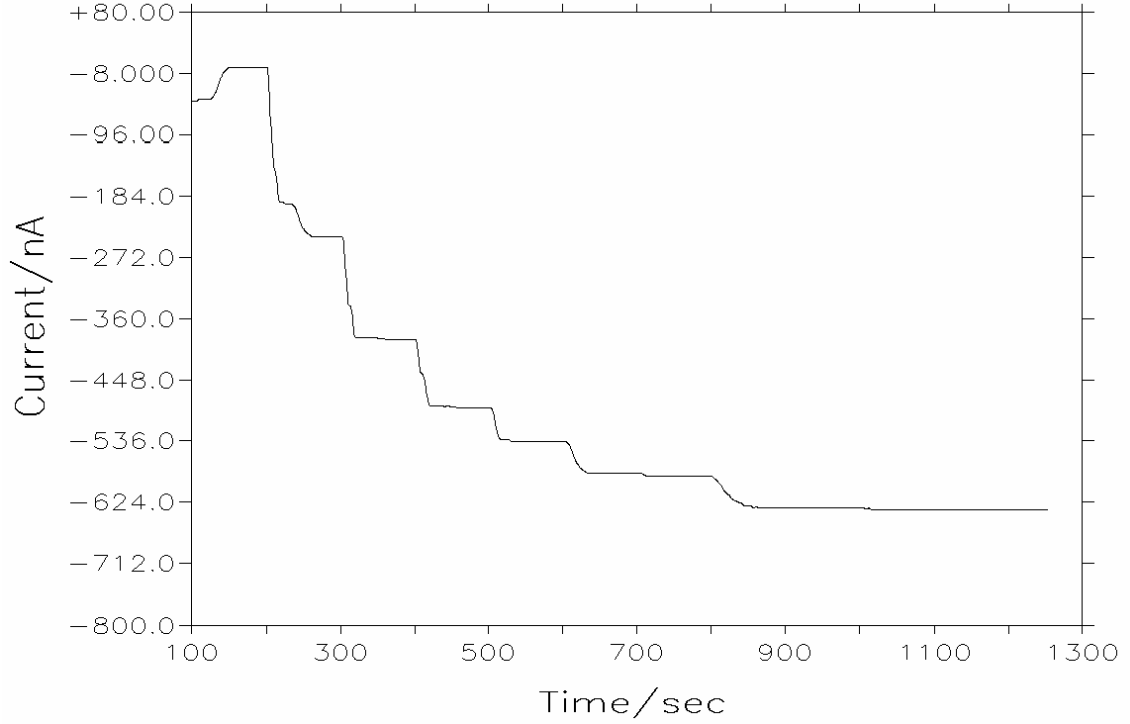
Şekil 4.58.(A) 2 $\mu$ l GOx-1 $\mu$ l poli[bis((*p*-dimetilaminobenziliden)-1,5- naftalen)- 4,4'-oksidifitalikdiimid] elektrodun glukozu yanıtları ( 500, 600,700sn)  
(B) 4 $\mu$ l GOx-1 $\mu$ l poli[bis((*p*-dimetilaminobenziliden)-1,5- naftalen) -4,4'-oksidifitalikdiimid] elektrodun glukozu yanıtları (1000,1100,1200.sn)

#### 4.6.2.4.3.2. Enzim elektrodun glukoz enjeksiyonlarına yanıtı

Şekil 4.59, 4µl GOx-1µl poli[bis((*p*-dimetilaminobenziliden)-1,5-naftalen)-4,4'-oksidifitalikdiimid] elektrodun birinci kullanımdaki, Şekil 4.60 ise ikinci kullanımdaki PBS çözeltisindeki (pH=7) 2mM'lık seri glukoz enjeksiyonlarına karşı verdiği amperometrik yanıtları göstermektedir.



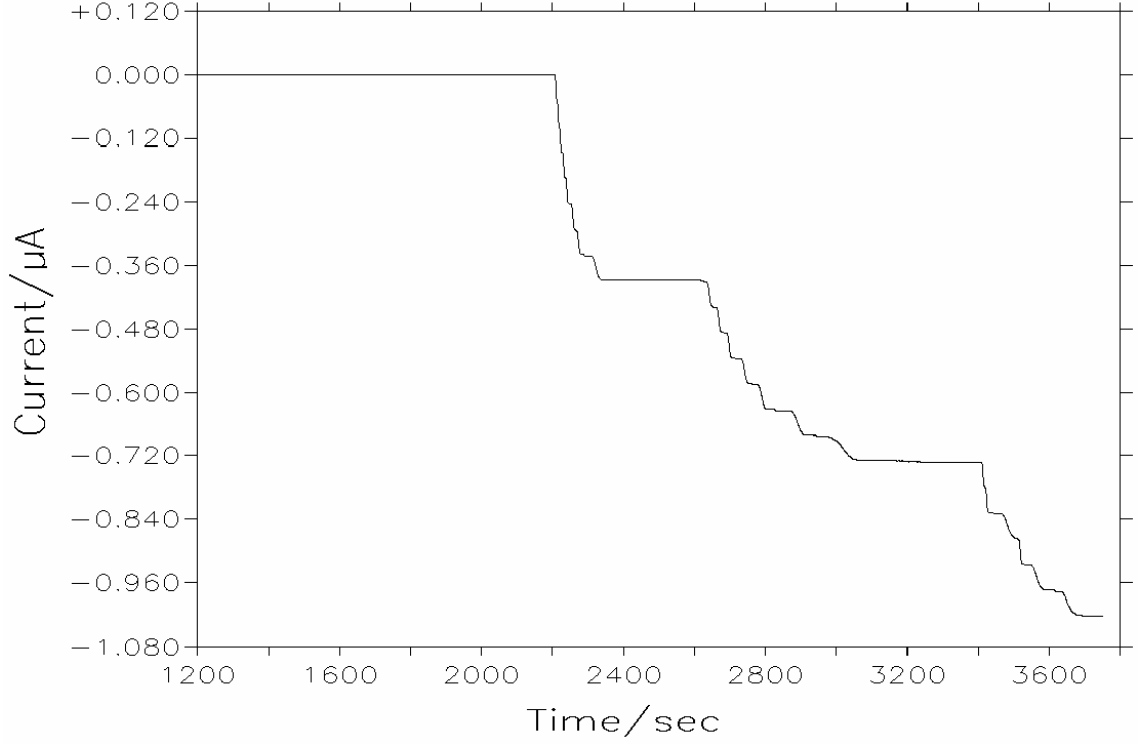
**Şekil 4.59.** 4µl GOx-1µl poli[bis((*p*-dimetilaminobenziliden)-1,5- naftalen)- 4,4'-oksidifitalikdiimid] elektrodun birinci kullanımdaki 100 sn ara ile yapılan yaklaşık 2 mM'lık 10 glukoz enjeksiyonuna amperometrik davranışı(1100-2100 sn)



**Şekil 4.60.** 4µl GOx-1µl poli[bis((*p*-dimetilaminobenziliden)-1,5- naftalen)- 4,4'-oksidifitalikdiimid] elektrodun ikinci kullanımdaki 100 sn ara ile yapılan yaklaşık 2 mM'lık 10 glukoz enjeksiyonuna amperometrik davranışı (200-1100 sn)

#### 4.6.2.4.3.3. Enzim elektrodun interferans yapıcı türlere karşı davranışı

Şekil 4.61'de enzim elektrodun aynı derişimlerde (2mM), 1600. sn'de laktoz, 1800. sn'de sükröz, 2000. sn'üre 2200. sn'de askorbik asit, 2400. sn'de okzalik asit, 2600. sn'de ürik asit, 3400, 3500 ve 3600. sn'lerde ise glukoz enjeksiyonlarına karşı amperometrik yanıtı görülmektedir. Şekilden, anılan girişim yapıcı türlerin enjeksiyonunda anodik akım gözlenmediği, glukoz enjeksiyonlarından ise anodik akımların alındığı görülmektedir.

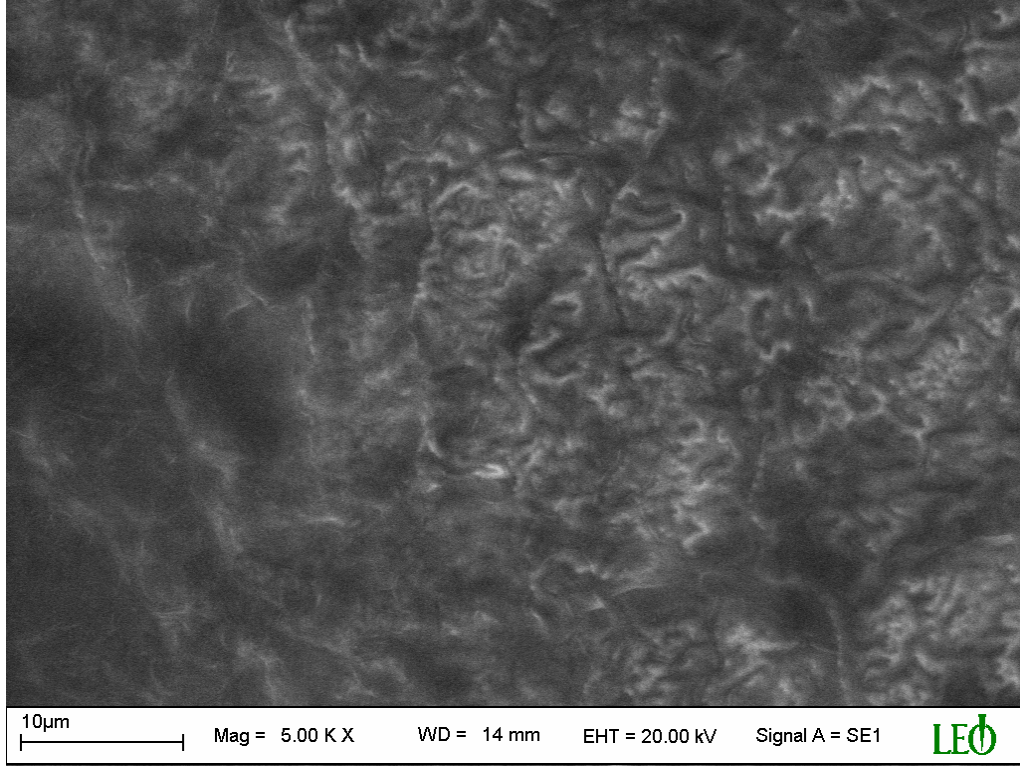


**Şekil 4.61.** Poli[bis((*p*-dimetilaminobenziliden)-1,5- naftalen)-4,4'-oksidifitalik diimid]-GOx elektrodun interferant yapıcı türlere karşı davranışı

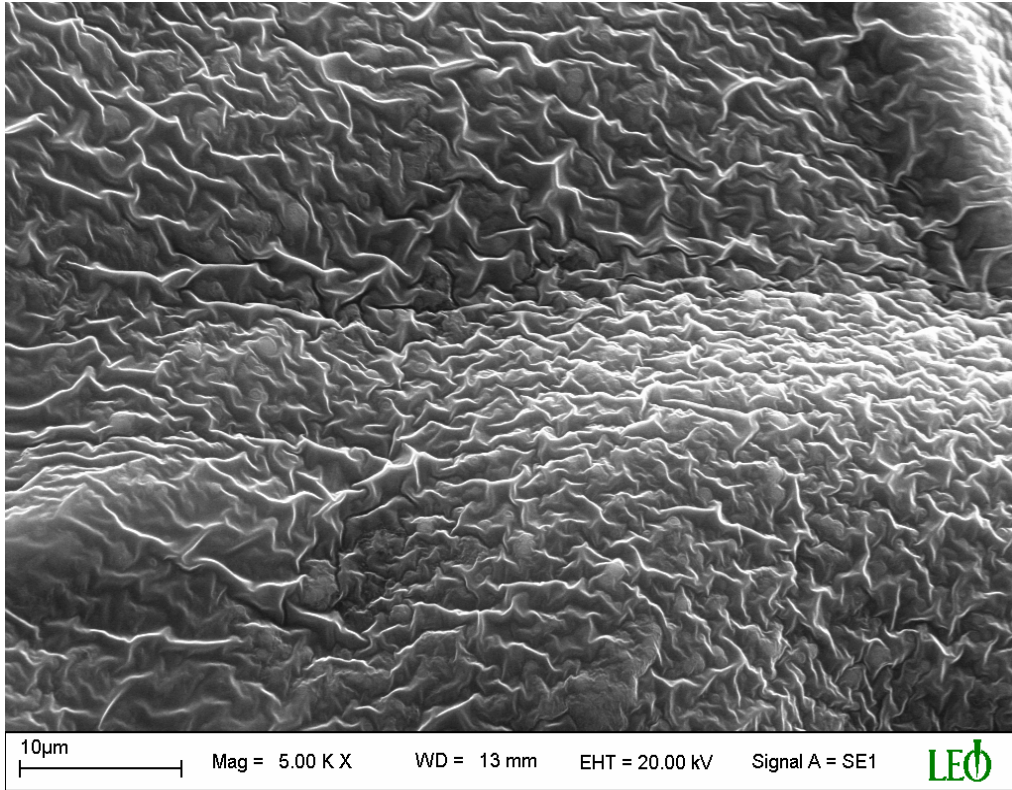
#### 4.6.2.4.3.4. Poliimid ve enzim elektrodun SEM fotoğrafları

Poli[bis((*p*-dimetilaminobenziliden) -1,5-naftalen) - 4,4'-oksidifitalikdiimid] ve poli[bis((*p*-dimetilaminobenziliden) - 1,5 - naftalen) - 4,4' - oksidifitalikdiimid] - GOx elektrotların SEM görüntülerinden enzimsiz poliimid elektrot ile enzimli poliimid elektrot arasındaki farklılık açıkça görülmektedir.

Şekil 4.62'de SiO<sub>2</sub> cam üzerindeki poliimidin, Şekil 4.63'da ise SiO<sub>2</sub> cam üzerindeki enzim elektrodun SEM görüntüleri verilmiştir.



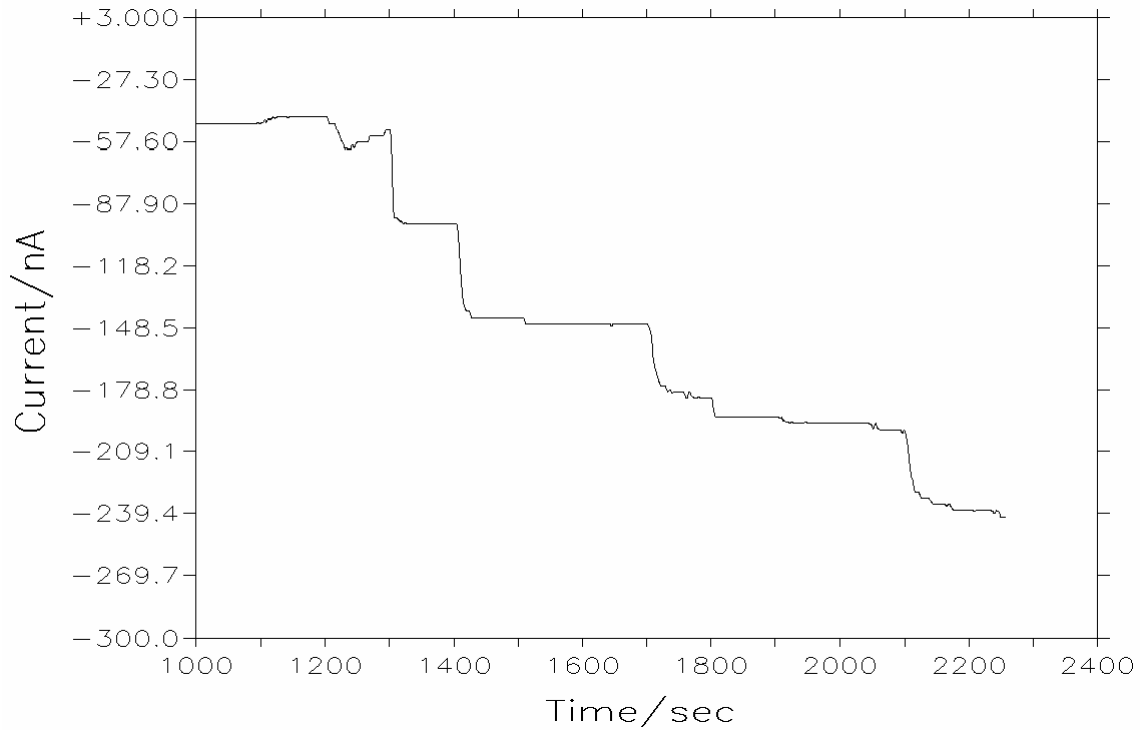
**Şekil 4.62.** Poli[bis(( *p*-dimetilaminobenziliden)-1,5- naftalen)-4,4'-oksidifitalik diimid] elektrodu için SEM



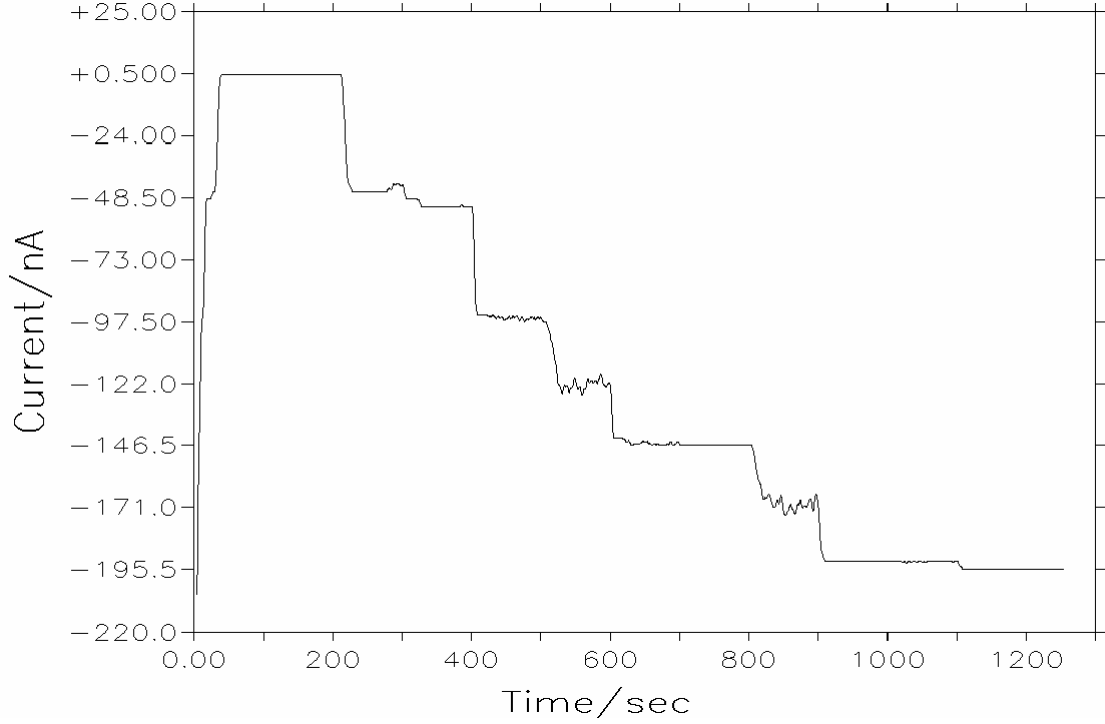
**Şekil 4.63.** Poli[bis(( *p*-dimetilaminobenziliden)-1,5- naftalen)-4,4'-oksidifitalik diimid]-GOx elektrodu için SEM

#### 4.6.2.4.4. Poli[bis(*p*-dimetilaminobenziliden)-1,5-naftalen)-3,3',4,4'-bifeniltetrakar boksilikdiimid]- GOx elektrodu

Şekil 4.64, 2µl GOx-1µl poli[bis(*p*-dimetilaminobenziliden)-1,5-naftalen)-3,3',4,4'-bifeniltetrakar boksilikdiimid] elektrodun birinci kullanımdaki, Şekil 4.65 ise ikinci kullanımdaki PBS çözeltisindeki (pH=7) 2mM'lık seri glukoz enjeksiyonlarına karşı verdiği amperometrik yanıtları göstermektedir.



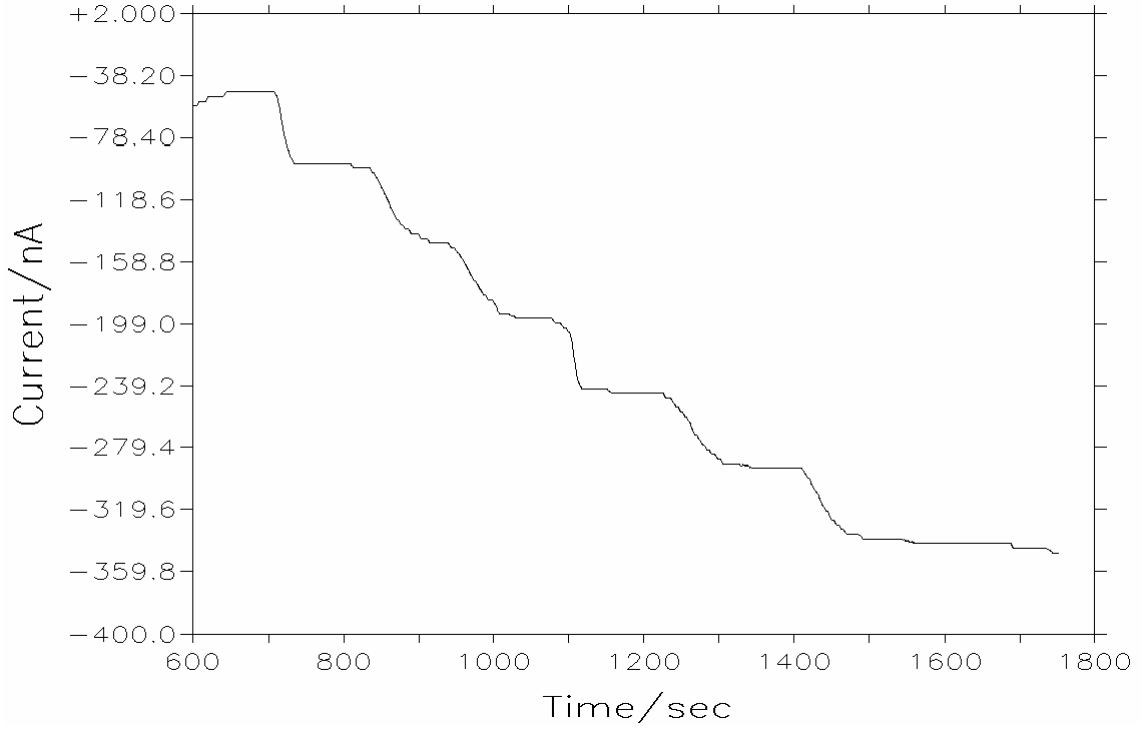
**Şekil 4.64.** 2µl GOx-1µl poli[bis(*p*-dimetilaminobenziliden)-1,5-naftalen)-3,3',4,4'- bifeniltetrakar boksilikdiimid] elektrodun birinci kullanımdaki yaklaşık 2 mM'lık 10 glukoz enjeksiyonuna amperometrik davranışı (1200-2100 sn)



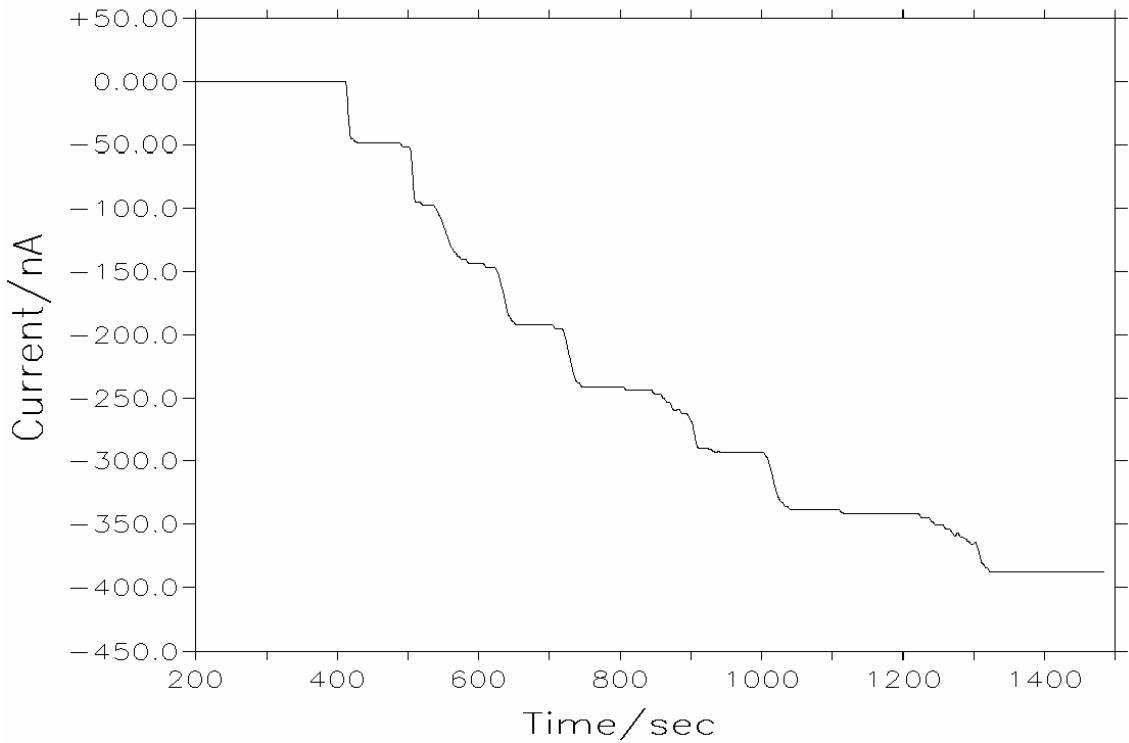
**Şekil 4.65.** 2µl GOx-1µl poli[bis(( *p*-dimetilaminobenziliden)-1,5-naftalen)-3,3',4,4' - bifeniltetrakarboksilikdiimid] elektrodun ikinci kullarımdaki yaklaşık 2 mM'lık 10 glukoz enjeksiyonuna amperometrik davranışı (200-1100 sn)

#### 4.6.2.4.5. Poli[bis(( *p*-dimetilaminobenziliden)-1,5-naftalen)-4,4'- hegzafloizo propilidendifitalimid]- GOx elektrodu

Şekil 4.66, 2µl GOx-1µl poli[bis(( *p*-dimetilaminobenziliden)-1,5-naftalen)-4,4'-hegzafloizo propilidendifitalimid] elektrodun birinci kullarımda, Şekil 4.67, ise ikinci kullarımda PBS çözeltilisindeki (pH=7) 2mM'lık seri glukoz enjeksiyonlarına karşı verdiği amperometrik yanıtları göstermektedir.



**Şekil 4.66.** 2µl GOx-1µl poli[bis((*p*-dimetilaminobenziliden)-1,5-naftalen)-4,4'-hegzafloroizopropilidendifitalimid] elektrodun birinci kullarımdaki yaklaşık 2 mM'lık 10 glukoz enjeksiyonuna amperometrik davranışı (700-1600sn)



**Şekil 4.67.** 2µl GOx-1µl poli[bis((*p*-dimetilaminobenziliden)-1,5-naftalen)-4,4'-hegzafloroizopropilidendifitalimid] elektrodun birinci kullarımdaki yaklaşık 2 mM'lık 10 glukoz enjeksiyonuna amperometrik davranışı (400-1300sn)

#### 4.6.2.5. Diaminopiridin Schiff bazı temelli poliimidlerin enzim immobilizasyonunda kullanılması

2,6-diaminopiridinden başlanarak hazırlanan Schiff bazı ile PMDA, BTDA, ODPA ve BPDA dianhidritleri kullanılarak hazırlanan ve ana zincir üzerinde CH=N- bağı bulunduran bu poliimidler daha önceden sentezlenmiş poliimidlerdir [85].

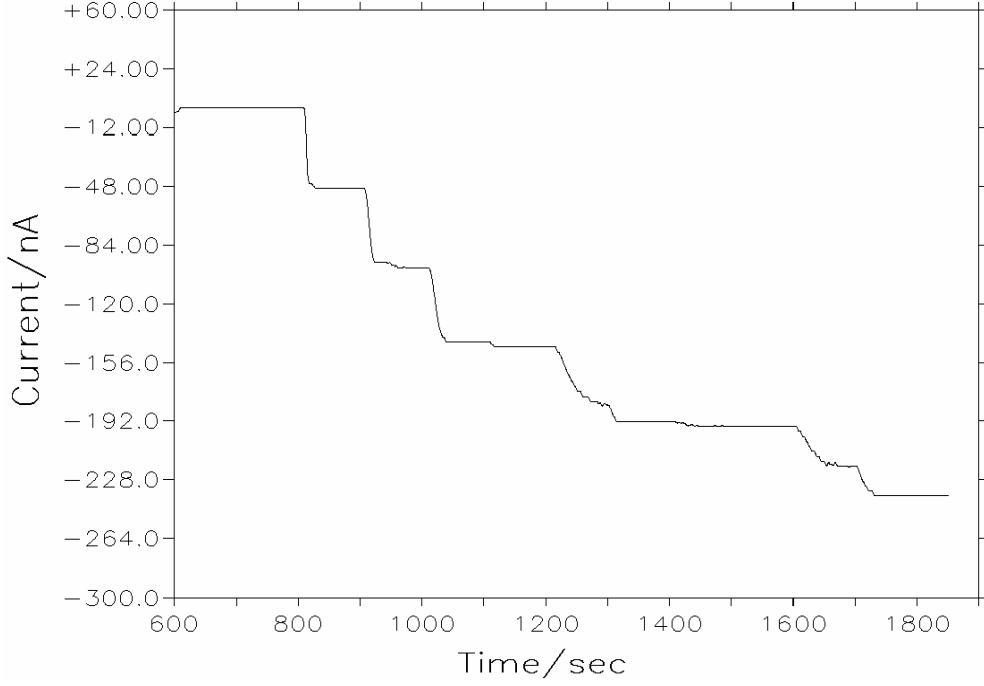
**Tablo 4.8.** 2,6-diaminopiridinden hazırlanan poliimidlerin simgeleri ve anhidritleri

Poliimid Simgesi	Anhidrit
PI-7	PMDA
PI-8	BTDA
PI-9	ODPA
PI-10	BPDA

Platin elektot yüzeylerine 2µl glukoz oksidaz damlatılarak oda sıcaklığında kurutuldu ve daha sonra üzerlerine schiff bazı temelli 1'er µl poliimid damlatıldı ve kurutuldu. Bu elektrotların glukoz enjeksiyonlarına verdikleri yanıtlar incelendi.

##### 4.6.2.5.1. PI-7-GOx elektrodu

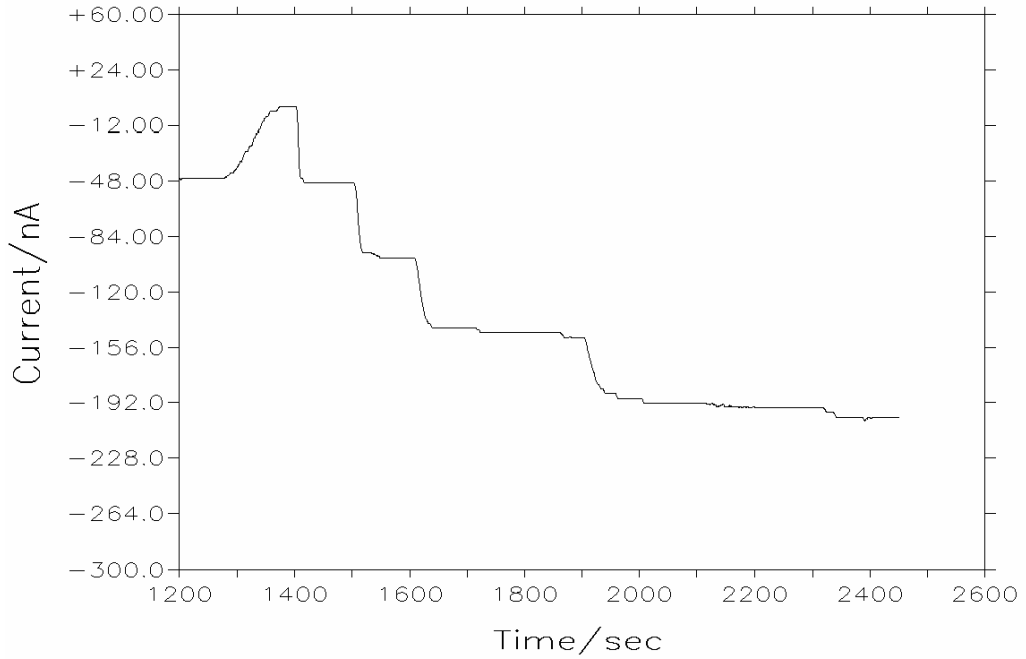
Şekil 4.68, PI-7-GOx elektrodun PBS çözeltisindeki (pH=7) 2mM'lık seri glukoz enjeksiyonlarına karşı verdiği amperometrik yanıtları göstermektedir.



**Şekil 4.68.** 2μl GOx-1μl PI-7 elektrodun yaklaşık 2 mM'lık 10 glukoz enjeksiyonuna amperometrik davranışı (800-1700sn)

#### 4.6.2.5.2. PI-8-GOx elektrodu

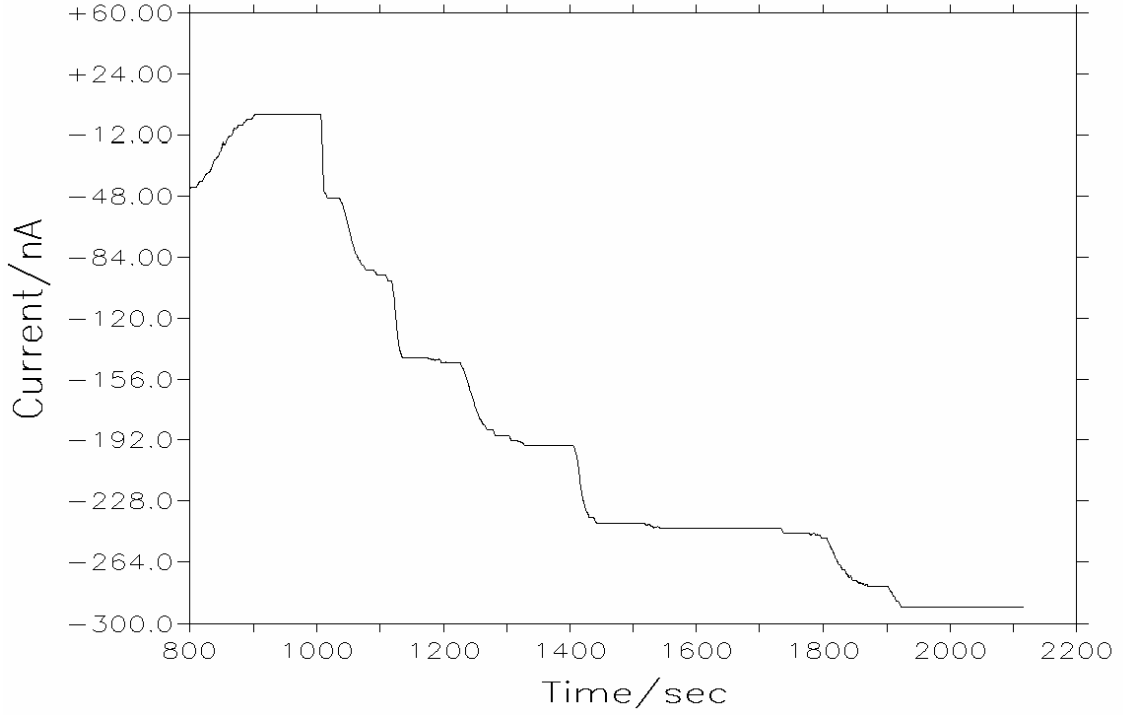
Şekil 4.69, 2μl GOx-1μl PI-8 elektrodun PBS çözeltisindeki (pH=7) 2mM'lık seri glukoz enjeksiyonlarına karşı verdiği amperometrik yanıtları göstermektedir.



**Şekil 4.69.** 2μl GOx-1μl PI-8 elektrodun yaklaşık 2 mM'lık 10 glukoz enjeksiyonuna amperometrik davranışı (1400-2300sn)

#### 4.6.2.5.3. PI-9 -GOx elektrodu

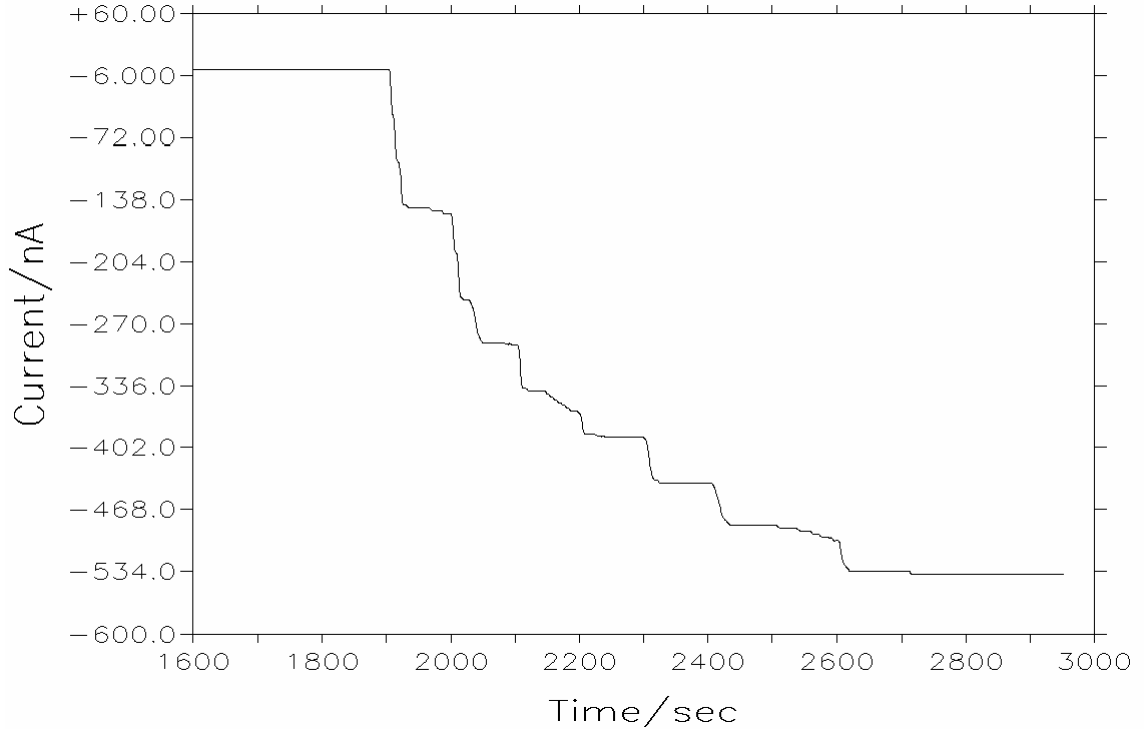
Şekil 4.70, 2µl GOx-1µl PI-9 elektrodun PBS çözeltisindeki (pH=7) 2mM'lık seri glukoz enjeksiyonlarına karşı verdiği amperometrik yanıtları göstermektedir.



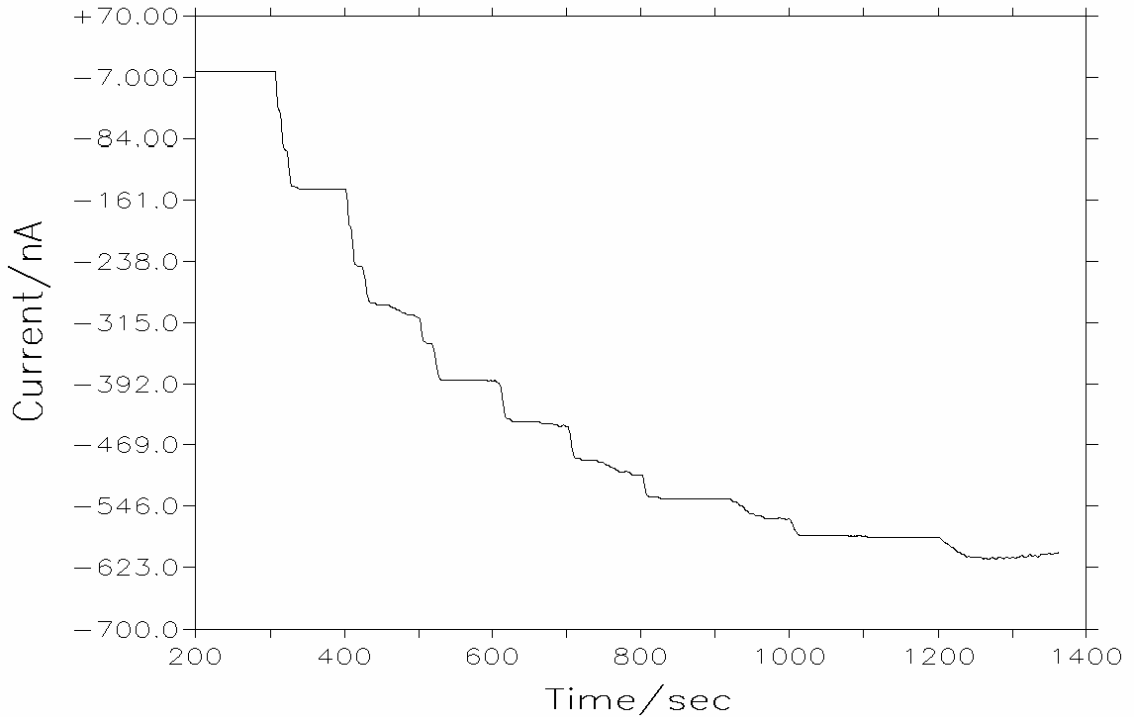
Şekil 4.70. 2µl GOx-1µl PI-9 elektrodun yaklaşık 2 mM'lık 10 glukoz enjeksiyonuna amperometrik davranışı (1000-1900sn)

#### 4.6.2.5.4.PI- 10 - GOx elektrodu

Şekil 4.71, 2µl GOx-1µl PI-10 elektrodun PBS çözeltisindeki (pH=7) birinci kullanımdaki, Şekil 4.72 ise ikinci kullanımdaki 2mM'lık seri glukoz enjeksiyonlarına karşı verdiği amperometrik yanıtları göstermektedir.



**Şekil 4.71.** 2 μl GOx-1 μl PI-10 elektrodun birinci kullanımdaki yaklaşık 2 mM'lık 10 glukoz enjeksiyonuna amperometrik davranışı(1900-2800sn)

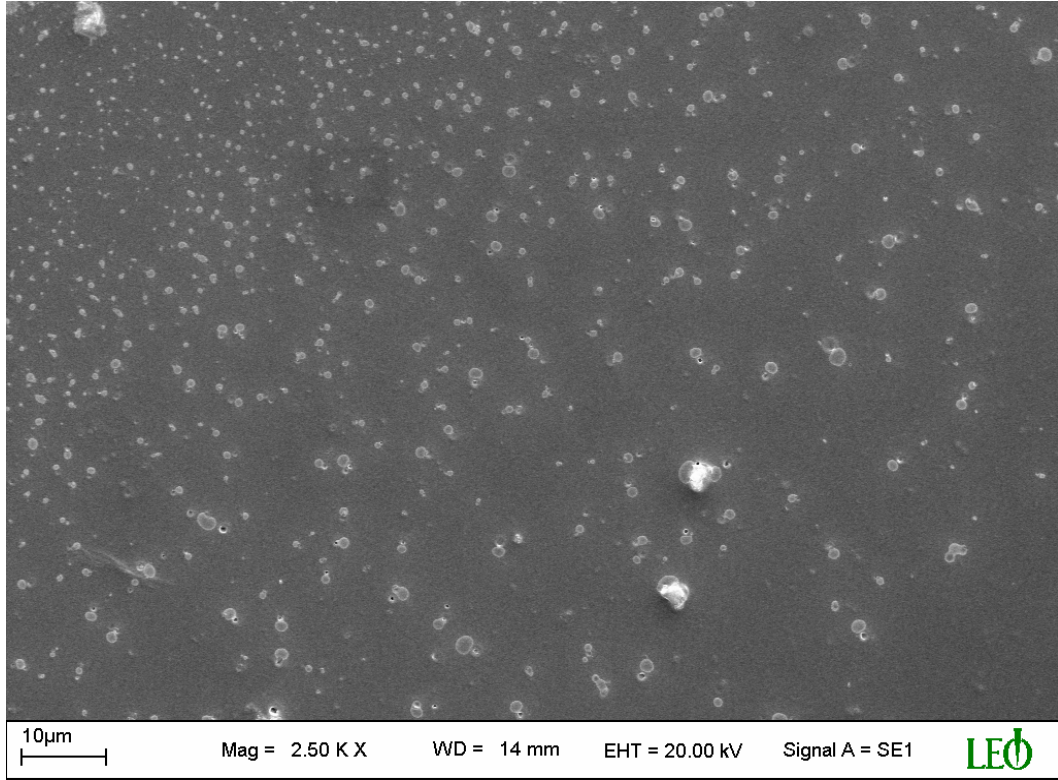


**Şekil 4.72.** 2 μl GOx-1 μl PI-10 elektrodun ikinci kullanımdaki yaklaşık 2 mM'lık 10 glukoz enjeksiyonuna amperometrik davranışı(300-1200sn)

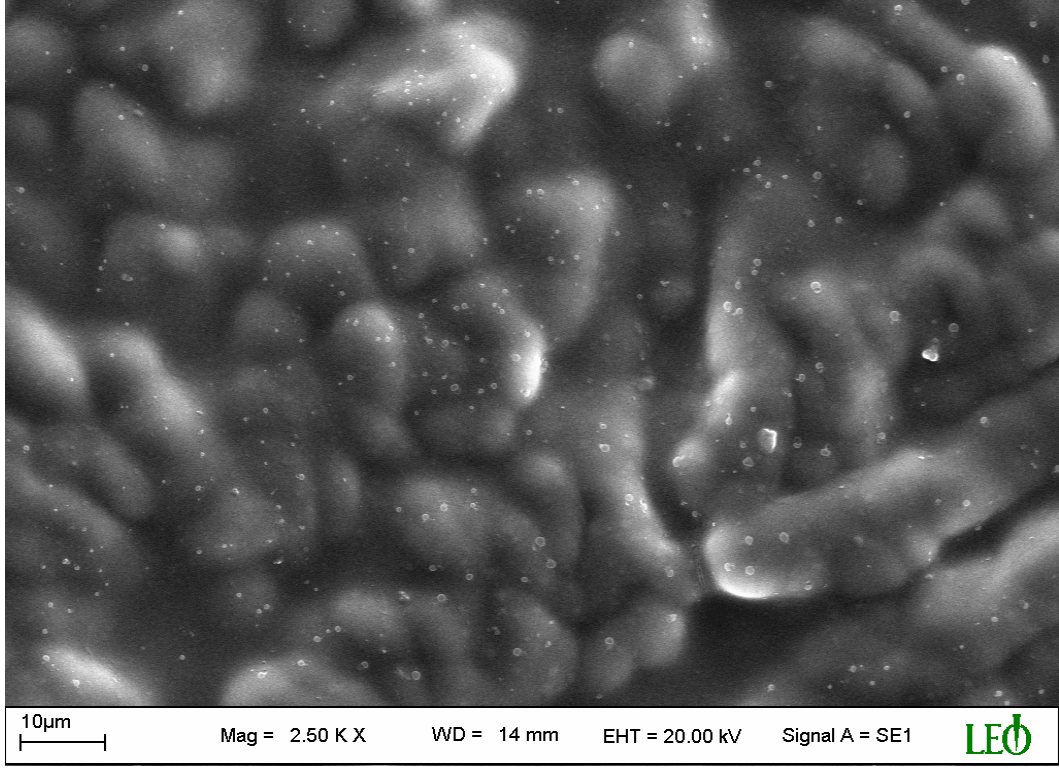
#### 4.6.2.5.4.1. Poliimid ve enzim elektrodun SEM fotoğrafları

Şekil 4.73’de SiO<sub>2</sub> cam üzerindeki poliimidin, Şekil 4.74’de ise SiO<sub>2</sub> cam üzerindeki enzim elektrodun SEM görüntüleri verilmiştir.

PI-10 ve PI-10-GOx elektrotların SEM görüntülerinden enzimsiz poliimid elektrot ile enzimli poliimid elektrot arasındaki fark görülmektedir.



Şekil 4.73. PI-10 elektrodu için SEM.



**Şekil 4.74.** PI-10-GOx elektrodu için SEM.

## 5. SONUÇ VE TARTIŞMA

Kandaki glukoz seviyesinin tayini şeker hastalığının teşhisi ve tedavisi açısından oldukça önemlidir. Enzimler gerek izolasyonları gerekse de saflaştırılmaları sırasındaki maliyetleri nedeniyle oldukça pahalı maddeler olduklarından dolayı sürekli analizler için analiz edilecek ortam içerisine doğrudan katılmaları çok pahalı bir yöntemdir. Bu durum enzimlerin rutin bir şekilde kullanılabilmesi için uygun bir matris içerisinde immobilize edilmeleri zorunluluğunu doğurmuştur.

Bu çalışma kapsamında poli[4,4'-diaminodifeniletan-piromellitimid], poli[bis((*p*-dimetilaminobenziliden) - 1,5-naftalen)- piromellitimid], poli[bis((*p*-dimetilaminobenziliden) - 1,5 - naftalen) - 3,3',4,4' - benzofenontetrakarbonsilikdiimid], poli[bis((*p*-dimetilaminobenziliden) - 1,5-naftalen) - 4,4' -oksidifitalikdiimid], poli[bis((*p*-dimetilaminobenziliden) - 1,5-naftalen) - 3,3',4,4'-bifeniltetrakarbonsilikdiimid] ve poli[bis((*p*-dimetilaminobenziliden) - 4,4' - heksafloroizopropilidendifitalimid] poliimidleri sentezlenerek FT-IR, elementel analiz, termal analiz (DTA, DSC, TGA), viskozite, yoğunluk, çözünürlük gibi yöntemlerle karakterizasyonları yapıldı. Sentezlenen bu poliimidler ve önceden sentezlenmiş olan poli[4,4' - diaminodifeniletan -benzofenontetrakarbonsilikdiimid], poli[tris((*p*-aminofenoksi)fosfinoksid) - 3,3',4,4' - benzo fenontetrakarbonsilikdiimid], PI-7, PI-8, PI-9 ve PI-10 enzim immobilizasyonunda kullanıldı.

Çalışma kapsamında galaktoz oksidazla yapılan çalışmalarda galaktoz oksidazın elektrot yüzeyine iyi yapışmadığı ve ölçüm çözeltisine düştüğü gözlemlendi. Bu yüzden galaktoz oksidaz immobilizasyonu olumsuz sonuçlandı.

Glukoz oksidazın immobilizasyonu anılan tüm poliimidlerde başarılı bir şekilde gerçekleştirildi. Düzenli ve tatminkar yanıtlar alınan poli[4,4'-diaminodifeniletan - benzofenontetrakarbonsilikdiimid]-GOx, poli[tris((*p*-aminofenoksi) - 3,3',4,4' - benzofenontetrakarbonsilikdiimid) - GOx, poli[4,4'- diaminofeniletan-piromellitimid]-GOx, poli [bis((*p*- dimetilaminobenziliden) - 1,5-naftalen) - 4,4'- oksidifitalikdiimid]-GOx elektrotları için optimizasyon yapılmıştır. Bu amaçla yanıtlar üzerine film kalınlığının, enzim miktarının, ölçüm çözeltisinin pH'ının, interferans ( laktoz, sukroz, üre, askorbik asit, oksalik asit, ürik asit) etkisi sistematik bir yaklaşımla incelenerek biyosensör çalışmaları yapılmıştır. Ayrıca, bu elektrotlar için kararlılık testleri de

incelenmiştir. Dahası immobilizasyon olup olmadığı SEM görüntüleri ile de teyit edilmiştir.

Sonuç olarak son yıllarda üstün film özellikleriyle dikkat çeken poliimidlerin glukoz oksidaz enzimi için tatminkar bir immobilizasyon ortamı oldukları kanıtlanmış ve bu sayede de glukoz biyosensörlerine yeni bir materyal boyutu kazandırılmıştır. Ayrıca, bu materyallerin diğer oksidoredüktaz enzimlerin immobilizasyonu için de umut verici olduğu düşünülmektedir.

## KAYNAKLAR

- [1] A. Viehbeck, M.J. Goldberg, C.A. Kovac, *Electrochemical properties of polyimides and related imide compounds*, **Journal of the Electrochemical Society**, 137:5 (1990) 1460-1466.
- [2] S. Köytepe, A. Paşahan, E. Ekinci, et al., *Synthesis, characterization of phosphine oxide-containing polyimides and their use as selective membrane for dopamine*, **Journal of Polymer Research**, 15:3 (2008) 249-257.
- [3] A. Paşahan, S. Köytepe, E. Ekinci, T. Seckin, *Synthesis, characterization and dopamine selectivity of 1,4-bis (3-aminopropyl)piperazine - Containing polyimide*, **Polymer Bulletin**, 51 (2004) 351-358.
- [4] S. Köytepe, A. Paşahan, E. Ekinci, T. Seckin, *Synthesis, characterization and H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-sensing properties of pyrimidine-based hyperbranched polyimides*, **European Polymer Journal**, 41:1 (2005) 121-127.
- [5] E. Ekinci, F.B. Emre, S. Köytepe, T. Seckin, *Preparation, characterization and H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> selectivity of hyperbranched polyimides, containing triazine*, **Journal of Polymer Research**, 12:3 (2005) 205-210.
- [6] E. Ekinci, S. Köytepe, A. Paşahan, T. Seçkin, *Preparation and characterization of an aromatic polyimide and its use as a selective membrane for H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>*, **Turkish Journal of Chemistry**, 30:3 (2006) 277-285.
- [7] A. Zeren, *Elektrokimya*, İstanbul, 1997, 177-184.
- [8] G. Erdoğan, “Bazı Kimyasal Moleküllerinin İletken Polimer Elektrotlardaki Voltametik Davranışlarının İncelenmesi”, Doktora Tezi, İnönü Üniversitesi, 1995.
- [9] E. Gileadi, *Electrode Kinetics*, Canada, 1993, 38.
- [10] E. Ekinci, “*Elektrokimyasal sensör materyali olarak polimerlerin sentezi ve fizikokimyasal özelliklerinin incelenmesi*” Doktora Tezi, İnönü Üniversitesi, 1995.
- [11] D.A. Skoog, F.J. Holler, T. A. Nieman, *Principles of Instrumental Analysis*, U.S., 1997, 587-588, 591-594, 639-642, 654-661.
- [12] D.A. Skoog, D.M. West, F.J.Holler, *Fundamentals of Analytical Chemistry*, 1996, 387-389, 460-462.
- [13] T. Gündüz, *İnstrumental Analiz*, Ankara, 2002, 904-905.

- [14] A. Paşahan, “*Dopamin Seçici Polimerik Materyallerin Hazırlanması ve polimerizasyon parametrelerinin incelenmesi*” Yüksek Lisans Tezi, İnönü Üniversitesi, 2002.
- [15] G.Erdogdu, E.Ekinci, A.E.Karagözler, *Preparation and electrochemical behavior of dopamine - selective polymeric membrane*, **Polymer Bulletin**, 44:2 (2000) 195-201.
- [16] M.Özden, E.Ekinci, A.E.Karagözler, *Synthesis and optimization of permselective polymer (polyindoline) film* *Journal of Solid State State Electrochemistry*, 2:6 (1998) 427-431.
- [17] E.Ekinci, G.Erdogdu, A.E.Karagözler, *Investigation of polymerization parameters affecting dopamine selectivity of a polymeric membrane*, **Polymer Bulletin**, 44 (5-6): (2000) 547-553.
- [18] M.Özden, E.Ekinci, A.E.Karagözler, *Preparation, optimization, and voltammetric characteristics of poly (o-phenylenediamine) film as a dopamine-selective polymeric membrane*, **Journal of Applied Polymer Science**, 79:2 (2001) 327-332 .
- [19] M.Özden, E.Ekinci, A.E.Karagözler, *Synthesis and optimization of permselective polymer(polyindoline) film*, **Journal of Solid State Electrochemistry**, 2:6 (1998) 427-431.
- [20] D.C.S. Tse, T. Kuwana, *Electrocatalysis of dihydronicotinamide adenosinediphosphate with quinomes and modified quinone electrodes*, **Anal.Chem.**, 50:9 (1978) 1315-1318.
- [21] M.Özden, E.Ekinci, E.Karagözler, *Electrochemical preparation of poly(o-toluidine) film and its application as a permselective membrane* **Journal of Applied Polymer Science** ,71:13 (1999) 2141-2146.
- [22] S.Titretir, “*Polimerlerle modifiye edilmiş civa film elektrotlarının biyolojik ve çevre örneklerindeki iz metallerinin sıyırma analizi için kullanımı*”, Doktora Tezi, İnönü Üniversitesi, 2001.
- [23] Y. Liu and T. Yu, *Polymers and Enzyme Biosensors*, J.M.S-REV. **Macromol-Chem. Phys.**, , C37 :3 (1997) 459-500.
- [24] U Akbulut, *İletken Polimerlerle Transduser Hazırlanması*, Biyokimya Lisansüstü Yaz Okulu, 1999,10.

- [25] G. Erdoğan, H.B. Mark Jr. A.E. Karagözler, *Voltametric resolution of ascorbic acid and dopamine at conducting polymer electrodes*, **Analytical Letters**, 29:2 (1996) 221-231.
- [26] G. Erdoğan, A.E. Karagözler, *Investigation and comparasion of the electrochemical behavior of some organic and biological molecules at varios conducting polymer electrodes*, **Talanta**, 44 (1997) 2011-2018.
- [27] A. Cissewski and G. Milczarek, *Polyegenol-Modified Platinum Electrode for selective detection of dopamine in the presence of sacorbic acid* , **Anal Chem.**,71 (1999) 1055-1061.
- [28] G.Nagy, G.A.Gerhardt, A.F. Oke, M.E.Rice and R.N.Adams, *Ion Exchange and transport of neurotransmitters in nafion films on conventional and microelectrode surfaces*, **J.Electroanal.Chem.**, 188 (1985) 85-94.
- [29] H.Mao and P.G.Pickup, *Electronically conductive anion exchange poymers based on polypyrole*, **J.Electroanal.Chem.**, 265(1989)127-142.
- [30] Ü.A. Kırkgöz, S. Timur, J. Wang, A. Telefoncu, *Xanthine oxidase modified glassy carbon paste electrode*, **Electrochemistry Communications**, 6 (2004) 913–916.
- [31] A. Telefoncu, *Biyosensörlere Genel Bakış*, Biyokimya Lisansüstü Yaz Okulu, 1999, 1-9.
- [32] İ. Becerikli, *Biyosensörler*, İstanbul, Türkiye, 1997, 1-30.
- [33] B. D.Malhotra, A.Chaubey, S.P.Singh, *Prospects of conducting polymers in biosensors*, **Analytica Chimica Acta**, 578 (2006) 59-74.
- [34] B.D.Malhotra, S.R.Singhal, A.Chaubey, K.S.Sharma, K.A. Kumar, *Recent trends in biosensors*,**Current Applied Physics**, 5 (2005) 92-97.
- [35] G. G. Guilbault and J. Kauffmann, *Enzyme-based electrodes as analytical tools*, **Biotech & Appl. Biochem.**, 9 (1987) 95-113.
- [36] F. Scheller, F. Schubert, D. Pfeiffer, R.Hintsche, I.Dransfeld, R. Renneberg, U. Wollenberger, K. Riedel, M. Pavlova, M. Kühn, H.G. Müller , P.M. Tan, W. Hoffmann and W. Moritz, *Research and Development of Biosensors*, **Analyst**, 114 (1989) 653-662.
- [37] F. Pamuk, *Biyokatalitik Membran Elektrotlar*, **Doğa TU Kim.D.** (1989) 57-63.
- [38] E.Dinçkaya, *Enzim Sensörleri*, Biyokimya Lisansüstü Yaz Okulu, 1999, 81-142.
- [39] J. Wang, *Electroanalytical Techniques in Clinical Chemistry And Laboratory Medicine*,*New Mexico State University*, 1948, 83.

- [40] F. B. Emre, “*Kolesterol Biyosensörü Tasarımında Bazı Polimerik Materyallerin Enzim İmmobilizasyon Ortamı Olarak Kullanımı*“ Doktora Tezi, İnönü Üniversitesi, Türkiye, 2007
- [41] K. Cammann, Working with İon-Selective Electrodes, New York,1979,102-103.
- [42] P.G.Edelman, J.Wang, *Biosensors and Chemical sensors*, Washington, DC 1992, 22-42.
- [43] M. Alvarez-İcaza and U.Bilitewski, *Mass production of biosensors*, **Analytical Chemistry**, 65:11 (1993) 525-533
- [44] A.Telefoncu, *Biyoreseptörlerin İmmobilizasyonu*, Biyokimya Lisansüstü Yaz Okulu, 1999, 42-65.
- [45] S. K. Sharma, N. Sehgal and A. Kumar, *Biomolecules for development of biosensors and their applications*, **Current Apply. Phys.**, 3 (2003) 307-316.
- [46] A.Telefoncu, *Enzim İmmobilizasyonunda Kullanılan Fiziksel Yöntemler*, **Doğa III**, (1979) 6-11.
- [47] Y.Lv, Z.Zhang, F.Chen, *Chemiluminescence microfluidic system sensor on a chip for determination of glucose in human serum with immobilized reagents*, **Talanta**, 59 (2003) 571-576.
- [48] A. Mark, Q. Lange and James, *Amperometric determination of glucose with a ferrocene-mediated glucose oxidase/polyacrylamide gel electrode*, **Analytica Chemica Acta**, 175 (1985) 89-97.
- [49] M. Mascini and G. G. Guilbault, *Clinical Uses of Enzyme Electrode Probes*, **Biosensors**, 2 (1986) 147-172.
- [50] J.P.Hervas Perez, E.Lopez-Cabarcos, B.Lopez-Ruiz, *The aplication of methacrylate-based polymers to enzyme biosensors*, **Biomolecular Engineering**, 23 (2006) 233-245.
- [51] C.Nikola, R.Foulds and R.L Christopher, *Enzyme Entrapment in Electrically Conducting Polymers*, **J.Chem.Soc.**, Faraday Trans, 82 (1986) 1259-1264.
- [52] J.J. Xu, Z.H Yu, H.Y.Chen, *Glucose biosensors prepared by electropolymerization of p-chlorophenylamine with and without Nafion*, **Analytica Chemica Acta**, 463 (2002) 239-247.
- [53] P.N.Barlett, J.M.Cooper, *A review of the immobilization of enzymes in electropolymerized films*, **Journal of Electroanalytical Chemistry**, 362 (1993) 1-12 .
- [54] E.Ekinci, M.Özden, A.A. Karagözler, H.M.Türkdemir and A.E.Karagözler,

- and optimization of conducting polymer (polypyrrole) as a glucose sensor, Journal of Chemistry*, 19 (1995) 170-178.
- [55] M.Umana and J. Waller, *Protein-Modified Electrodes. The Glucose Oxidase/Polypyrrole System*, **Anal.Chem.**, 58 (1986) 2979-2983.
- [56] M.Gerarda, B.D.Malhotra, Application of polyaniline as enzyme based biosensor,**Current Applied Physics**, 5: 2 (2005) 174-177.
- [57] J.J.Xu, X.Q.Zhang, Z.H.Yu, H.Q.Fang, H.Y.Chen, *A stable glucose biosensor prepared by co-immobilizing glucose oxidase into poly(p-chlorophenol) at platinum electrode*, **J.Anal.Chem.**, 369 (2001) 486-490.
- [58] E.Ekinci, A.A.Karagözler, AE.Karagözler, *The preparation and sensor application of poly(p-aminophenol)*, **Electroanalysis**, 8:6 (1995) 571-574.
- [59] <http://www.innovations-report.com/html/reports/lifesciences/report-17279.html>
- [60] H.Gülce, Y.Ataman, A. Gülce, A. Yıldız, *A new amperometric enzyme electrode for galactose determination*, **Enzyme and Microbial Technology**, 30 (2002) 41-44.
- [61] Y Yang, S. Mu, H. Chen, *Electrochemical synthesis of polypyrrole for the immobilization of galactose oxidase*, **Synthetic Metals**, 92 (1998) 173-178.
- [62] [www.astbury.leeds.ac.uk/coverpics/1gog.jpg](http://www.astbury.leeds.ac.uk/coverpics/1gog.jpg)
- [63] M. Saçak, *Polimer Kimyası*, Ankara, Türkiye, 2002, 218-220.
- [64] S.Köytepe, “*Poliimid-Kil Hibrit materyallerin sentezi ve Fizikokimyasal özelliklerinin incelenmesi*” Yüksek Lisans Tezi, İnönü Üniversitesi, 2000. 25-31
- [65] Y. J. Kim, T. E. Glass, G. D. Lyle, and J. E. McGrath, *Kinetic and Mechanistic Investigations of the Formation of Polyimides under Homogeneous Conditions*, **Macromolecules**, 26 (1993) 1344-1358.
- [66] S.Tamai, W.Yamashita, A.Yamaguchi, *Thermo-oxidatively stable polyimides and their chemical structures* **Journal of Polymer Science**, 36 (1998) 1717-1723.
- [67] <http://pslc.ws/macrog/imide.htm>
- [68] B. Baysal, *Polimer Kimyası*, Orta Doğu Teknik Üniv. Basımevi, 1994, Ankara 416-420.
- [69] S. Köytepe, “*Hibrit Poliimidlerin Piridin Temelli Monomerlerden Sentezlenmesi ve Özelliklerinin İncelenmesi*” Doktora Tezi, İnönü Üniversitesi, 2007. 27-38.
- [70] D. Feldman, A.Barbalata, *Synthetic Polymers*, 1996, New York, 248-251

- [71] T. Takekoshi, Polyimides, Fundamentals and Applications, Ghosh M. K., Mittal K. L., Marcel Dekker, New York, 1996, 7-8.
- [72] H.Güçlü, “*Aromatik poliimid ve poliamidler*” Doktora Tezi, İstanbul Teknik Üniversitesi,1997.
- [73] T. Seçkin, İ. Özdemir, B. Çetinkaya, S. Köytepe, *Syntheses and catalytic properties of alternating copolymers of poly[4-maleimidopyridyl (p-cymene) dichloro Ru(II)] with  $\gamma$ -methacryloxypropyl trimethoxysilane*, **Journal of Molecular Catalysis A: Chemical**, 179 (2002) 263–270.
- [74] T. Seçkin, E. Çetinkaya, S. Köytepe, B. Yiğit, *Synthesis and Properties of Polyimides from 1,3-di(pdimethylaminobenzyl)-imidazolidine-2-thion*, **Polymer Bulletin**, 50 (2003) 139-146.
- [75] T. Seçkin, S. Köytepe, İ. Özdemir, B. Çetinkaya, *Syntheses and Properties of Metal Containing Polyimides Based on the Gold Carbene Complex*, **Journal of Inorganic and Organometallic Polymers**, 13:1 (2003) 9-20
- [76] H. Ohya, V. V. Kudryavtsev, S. I. Semenova, *Polyimide Membranes - Applications, Fabrications, and Properties*, Tokyo, 1996, 1, 241-265.
- [77] S. Sridhar, R.S.Veerapur, M.B. Patil, K.B. Gudasi, T.M. Aminabhavi, *Matrimid polyimide membranes fort he seperation of carbon dioxide from methane*, **Journal of Applied Polymer Science**, 106: 3 (2007) 1585-1594.
- [78] S. Sridhar, B. Smitha, T. M. Aminabhavi, *Seperation of Carbon Dioxide from Natural Gas Mixtures through Polymeric Membranes-A Review*, **Seperation & Purification**, 36 (2007) 113-174.
- [79] M. Dökmeci, K. Nejafi, *A High- Sensivity Polyimide Capacitive Relative Humidity Sensor for Monitoring Anodically Bonded Hermetic Micropackages*, **Journal of Microelectromechanical Systems**, 10: 2 (2001) 197-204.
- [80] M.Matsuguch, T. Kuroiwa, T. Miyagishi, S. Suzuki, T. Ogura, Y.Sakai, *Stability and reliability of capacitive-type relative humidity sensors using crosslinked polyimide films*, **Sensors and Actuators B**, 52 (1998) 53-57.

## ÖZGEÇMİŞ

12.12.1976 tarihinde Malatya'da doğdu. İlk ve orta öğrenimini Malatya'da tamamladı. 1994 yılında İnönü Üniversitesi Eğitim Fakültesi Kimya Bölümü'nü kazandı. Bu bölümden 1998 yılında mezun oldu ve Kayseri'de bir yıl Kimya Öğretmeni olarak çalıştı. 2002 yılında İnönü Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı'nda yüksek lisansını tamamladı. Aynı yıl İnönü Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalında doktora programına kayıt yaptırdı. 1998 yılından beri öğretmenlik yapmaktadır.