

T.C.
İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BİYOMEDİKAL UYGULAMALARDA KULLANILMAK ÜZERE
MELATONİN VE SEROTONİN'İN EŞ ZAMANLI TAYİNİ İÇİN
POLİMERİK SENSÖRLERİN GELİŞTİRİLMESİ

ENSAR EREL

DOKTORA TEZİ
KİMYA ANABİLİM DALI

MALATYA
HAZİRAN 2018

Tezin Başlığı : “**Biyomedikal Uygulamalarda Kullanılmak Üzere Melatonin ve Serotoninin Eş Zamanlı Tayini için Polimerik Sensörlerin Geliştirilmesi**”

Tezi Hazırlayan : Ensar EREL

Sınav Tarihi : 26.06.2018

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

Sınav Jürisi Üyeleri

Prof. Dr. Fikret KARATAŞ
Fırat Üniversitesi

Prof. Dr. Süleyman AYDIN
Fırat Üniversitesi

Tez Danışmanı Prof. Dr. İsmet YILMAZ
İnönü Üniversitesi

Prof. Dr. Turgay SEÇKİN
İnönü Üniversitesi

Prof. Dr. Burhan ATEŞ
İnönü Üniversitesi

Prof. Dr. Halil İbrahim ADIGÜZEL
Enstitü Müdürü

ONUR SÖZÜ

Doktora Tezi olarak sunduğum “**Biyomedikal Uygulamalarda Kullanılmak Üzere Melatonin ve Serotoninin Eş Zamanlı Tayini için Polimerik Sensörlerin Geliştirilmesi**” başlıklı bu çalışmanın bilimsel ahlak ve geleneklere aykırı düşecek bir yardıma başvurmaksızın tarafımdan yazıldığını ve yararlandığım bütün kaynakların, hem metin içinde hem de kaynakçada yöntemine uygun biçimde gösterilenlerden oluştuğunu belirtir, bunu onurumla doğrularım.

Ensar EREL

ÖZET

Doktora Tezi

BİYOMEDİKAL UYGULAMALARDA KULLANILMAK ÜZERE MELATONİN VE SEROTONİN'İN EŞ ZAMANLI TAYİNİ İÇİN POLİMERİK SENSÖRLERİN GELİŞTİRİLMESİ

Ensar EREL

İnönü Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Kimya Anabilim Dalı

152 + xviii sayfa

2018

Danışman: Prof. Dr. İsmet YILMAZ

Melatonin ve Serotonin vücudumuzda birçok biyolojik ve fizyolojik süreçlerde yer alır. Antioksidan özelliği ile oksidatif strese karşı vücudu koruyarak vücut homeostazını düzenlediğinden dolayı tüm dünyada gittikçe artan bir ilgiyle araştırılmaktadır. Bu kapsamda çalışmamızın amacı biyolojik olarak vücudumuzda önemli role sahip melatonin ve serotoninin oldukça duyar ve eş zamanlı bir şekilde tayin edilmesi için polimer ile seçiciliği arttırılmış perde baskılı elektrotların kullanıldığı potansiyometrik sensörlerin geliştirilmesidir.

Bu projemizde temel ölçüm ünitesi olarak ivium stat potansiyometre cihazı kullanılmıştır, ölçümler 3 elektrotlu sistem dahilinde gerçekleştirilmiş olup çalışma elektrodu olarak perde baskılı karbon elektrot kullanılmıştır. İlk olarak melatonin ve serotonin'in elektrokimyasal olarak indirgenme ve yükseltgenme potansiyelleri perde baskılı elektrotlar ile belirlenmiştir. Sonrasında biyolojik matris kaynaklı girişimlerin engellenmesi ve seçiciliğin arttırılması için elektrot yüzeyleri polimerlerle kaplanmıştır. Bu kapsamda poliimid ve poliüretan türü polimerler kullanılmıştır. Perde baskılı karbon elektrot yüzeyine hazırlanan bu sensörler ile melatonin serotoninin Diferansiyel Puls Voltametrisi (DPV) tekniği ile eş zamanlı izlenmesi temel alınmıştır. Sensörlerin optimizasyon çalışmaları doğrultusunda melatonin ve serotonin tayini için en iyi yanıtlar 0,1 M pH 7,0 fosfat tamponunda ve 25 °C'de alınmıştır. Melatonin ve serotonin için en geniş doğrusal tayin aralığı, PU-Kafeik asit-%1 ve PI-AF-PMDA polimeri ile hazırlanan sensörle ve 0,2 mM – 1,8 mM derişim aralığında elde edilmiştir. Hazırlanan sensörün pH ve sıcaklık optimizasyonu yapılmıştır. Ayrıca sensörün girişim etkileri, termal kararlılık, operasyonel kararlılık, tekrarlanabilirlik ve depo kararlılığı karakterize edilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Biyosensör, melatonin, serotonin, poliüretan, poliimid

ABSTRACT

Ph. D. Thesis

DEVELOPMENT OF POLYMERIC SENSORS FOR SIMULTANEOUS DETERMINATION OF MELATONIN AND SEROTONIN FOR USE IN BIOMEDICAL APPLICATIONS

Ensar EREL

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

xviii + 152 pages

2018

Supervisor: Prof. Dr. İsmet YILMAZ

Melatonin and Serotonin involve in many biological and physiological processes in our body. Due to their antioxidant effect, they protect the body against oxidative stress and regulate body homoeostasis; therefore they are increasingly examined with a growing interest. The aim of our work in this context is to improve potentiometric sensors, where screen-printed electrodes with improved selectivity by the polymer are used, in order to determine melatonin and serotonin, which have a biologically important role in our body, as very sensitively and simultaneously.

As basic measurement units in our project, ivium stat potentiometer devices were used, the measurements were performed within the 3-electrodes system. Screen-printed electrodes were used as the working electrodes. First, the reduction and oxidation potentials of melatonin and serotonin were electrochemically determined. After that, the electrodes' surfaces were coated with polymer, in order to enhance the selectivity and to prevent biological matrix based attempts. In this context, polymers with polyimide and polyurethane types were used. Melatonin and serotonin was simultaneous monitored at Differential Pulse Voltammetry (DPV) technique with these biosensors prepared on screen-printed karbon electrode surface. In line with the studies on optimization of sensors for melatonin and serotonin determination optimum temperature were determined as 25 °C. Additionally, the best sensor responses were obtained with 0,1 M, pH 7,0 phosphate buffer. The largest linear range for melatonin and serotonin was attained with the biosensor prepared with PU-Caffeic acid-%1 and Poli[2,7-diaminofluorene- pyromellitimide] polymer at 0,2 mM – 1,8 mM concentration interval. pH and temperature optimizations of the prepared sensor were performed. In addition to that, interference effects, thermal stability, operational stability, repeatability and storage stability of the sensor were characterized.

Key Words: Biosensor, melatonin, serotonin, polyurethane, polyimide

TEŞEKKÜR

Doktora eğitimim süresince bilimsel gelişimime yön vererek, yardım ve desteklerini esirgemeyen danışman hocam Prof. Dr. İsmet YILMAZ’a,

Çalışmalarımın her aşamasında bilgi birikimi ve tecrübelerinden faydalandığım, hoşgörü ve desteklerini eksik etmeyerek beni cesaretlendiren Prof. Dr. Burhan ATEŞ ve Prof. Dr. Süleyman KÖYTEPE’ye,

Laboratuvar çalışmalarım sürecinde uyum içinde çalıştığım, ilgilerini ve yardımlarını esirgemeyen Dr. Merve Gökşin KARAASLAN ve İmren ÖZCAN’a,

Eğitimime katkı sağlayan Kimya bölümünün tüm değerli öğretim üyelerine ve laboratuvar arkadaşlarıma,

Eğitim hayatım boyunca her zaman desteklerini hissettiğim anneme, babama ve her zaman sabırla yanımda olan ve hayatımı kolaylaştıran sevgili eşim Arzu EREL ile sevgili oğullarım Salih ve Kerem’e,

Sonsuz saygı, sevgi ve teşekkürlerimi sunarım...

“2016-33 nolu proje kapsamında bu çalışmayı destekleyen İnönü Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri birimine teşekkür ederim.”

İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	iv
ABSTRACT.....	v
TEŞEKKÜR.....	vi
İÇİNDEKİLER.....	vii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xii
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	xvii
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	xviii
1. GİRİŞ	1
2. KURAMSAL TEMELLER	3
2.1. Biyosensörler ve Tarihçesi.....	3
2.2. Biyolojik Tanıma Elemanına Göre Biyosensör Çeşitleri.....	6
2.2.1. Enzim biyosensörleri	6
2.2.2. Mikrobiyal biyosensör konfigürasyonları.....	8
2.2.3. DNA biyosensörleri	10
2.2.4. İmmünosensörler.....	10
2.2.5. Hücre Temelli Biyosensörler	11
2.3. Sinyal Dönüştürme (Çevirici) Metoduna Göre Biyosensör Çeşitleri	11
2.3.1. Elektrokimyasal biyosensörler.....	12
2.3.2. Akustik biyosensörler	13
2.3.3. Optik biyosensörler.....	14
2.3.4. Isıl biyosensörler.....	14
2.4. Biyosensörlerin Performans Kriterleri	14
2.4.1. Duyarlılık ve kalibrasyon gereksinimi.....	14
2.4.2. Seçicilik.....	15
2.4.3. Tekrarlanabilirlik	15
2.4.4. Hızlı cevap süresi.....	15
2.4.5. Kararlılık.....	15
2.4.6. Geniş ölçüm aralığı	15
2.4.7. Yeterli seviyede tayin sınırı	16
2.4.8. Kısa yanıt süresi.....	16
2.4.9. Kolaylık ve ucuzluk	16

2.4.10.	Biyouyumluluk	16
2.5.	Melatonin	16
2.5.1.	Melatonin Sentezi	18
2.5.2.	Melatoninin biyolojik ve fizyolojik etkileri	18
2.6.	Serotonin	22
2.6.1.	Serotonin sentezi	22
2.6.2.	Serotoninin biyolojik ve fizyolojik etkileri	23
3.	MATERYAL VE YÖNTEM	25
3.1.	Cihaz ve Malzemeler	25
3.1.1.	Elektrokimyasal tayin cihazı ve elektrotlar	25
3.1.2.	Kullanılan diğer cihazlar	26
3.1.3.	Kullanılan kimyasal maddeler	27
3.2.	Yöntem	28
3.2.1.	Polimerlerin Sentezi	28
3.2.1.1.	Poliüretanların sentezi	29
3.2.1.2.	Poliimidlerin sentezi	30
3.2.2.	Sensörün hazırlanması	32
3.3.	Potansiyel Belirleme Çalışmaları	34
3.3.1.	Melatonin için yükseltgenme potansiyelinin belirlenmesi	34
3.3.2.	Serotonin için yükseltgenme potansiyelinin belirlenmesi	34
3.3.3.	Girişim yapan türlerin potansiyel taraması	35
3.4.	Çıplak PBKE ile Melatonin ve Serotonin Tayin Aralığının Belirlenmesi... ..	35
3.5.	PBKE'nin Farklı Polimerlerle Kaplanması ve Melatonin-Serotonin Ölçümü	36
3.6.	Hazırlanan Sensörün Optimizasyon Çalışmaları	37
3.6.1.	Hazırlanan sensörlerin melatonin ve serotoninin tayinine yönelik doğrusal tayin aralığının belirlenmesi	38
3.6.2.	Sensörün melatonin ve serotonin ölçümleri için tekrarlanabilirliği	39
3.6.3.	Sensörün depo kararlılığı	39
3.6.4.	Girişim yapan türlerin melatonin ve serotonin yanıtına etkisi	39
4.	ARAŞTIRMA BULGULARI	40
4.1.	Poliüretan ve Poliimid Yapılarının Karakterizasyon Çalışmaları	41
4.1.1.	Kafeik asit temelli aromatik yapıli poliüretanların karakterizasyonu	41
4.1.2.	Klorogenik asit temelli aromatik yapıli poliüretanların karakterizasyonu ..	45

4.1.3.	Gallik asit temelli aromatik yapıli poliüretanların karakterizasyonu.....	50
4.1.4.	Poli[2,7-diaminofloren-PMDA-BPDA-ODPA] karakterizasyonu	55
4.1.5.	Poli[4.4'-Diaminodifenil eter- piromellitimid] karakterizasyonu.....	64
4.2.	Potansiyel Belirleme Çalışmaları.....	69
4.2.1.	Melatonin için potansiyel belirleme çalışmaları	69
4.2.2.	Serotonin için potansiyel belirleme çalışmaları	70
4.2.3.	Ürik asit için potansiyel belirleme çalışmaları.....	72
4.2.4.	Askorbik asit için potansiyel belirleme çalışmaları	73
4.2.5.	Glukoz için potansiyel belirleme çalışmaları.....	74
4.2.6.	Girişim yapan türlerin melatonin yanıtına etkisi	75
4.2.7.	Girişim yapan türlerin serotonin yanıtına etkisi.....	76
4.3.	Çıplak Perde Baskılı Karbon Elektrotlarla Melatonin Tayin Aralığının Belirlenmesi	77
4.4.	Çıplak Perde Baskılı Karbon Elektrotlarla Serotonin Tayin Aralığının Belirlenmesi	79
4.5.	Perde Baskılı Karbon Elektrodun Farklı Polimerler ile Kaplanması.....	81
4.5.1.	PBKE'nin kafeik asit temelli poliüretan serileriyle kaplanması.....	81
4.5.1.1.	Kafeik asit temelli poliüretan yanıtlarının karşılaştırılması.....	84
4.5.2.	PBKE'nin Gallik asit temelli poliüretan serileriyle kaplanması.....	86
4.5.2.1.	Gallik asit temelli poliüretan yanıtlarının karşılaştırılması.....	89
4.5.3.	PBKE'nin Klorogenik asit temelli poliüretan serileriyle kaplanması.....	91
4.5.3.1.	Klorogenik asit temelli poliüretan yanıtlarının karşılaştırılması	93
4.5.4.	PBKE'nin poli[2,7-diaminofloren-anhidrit] poliimid serileriyle kaplanması.....	95
4.5.5.	PBKE'nin poli[4.4'-Diaminodifenileter - piromellitimid] poliimid serileriyle kaplanması	98
4.5.5.1.	Poli[4.4'-Diaminodifenileter-PMDA] yanıtlarının karşılaştırılması	100
4.5.6.	En yüksek yanıtların alındığı polimerlerin karşılaştırılması	102
4.6.	PU-CA-%1 Polimeri ile Hazırlanan Sensörün Optimizasyon ve Karakterizasyon Çalışmaları	104
4.6.1.	PU-CA-%1 polimeri ile hazırlanan sensörün optimum pH değerinin tespiti.....	104
4.6.2.	PU-CA-%1 polimeri ile hazırlanan sensörün optimum sıcaklık değerinin tespiti.....	105

4.6.3.	PU-CA-%1 polimeri ile hazırlanan sensörün serotonin ve melatoninin eşzamanlı tayinine yönelik doğrusal tayin aralığının belirlenmesi.....	106
4.6.4.	PU-CA-%1 polimeri ile hazırlanan sensörün serotonin ve melatoninin eşzamanlı ölçümü için tekrarlanabilirliği.....	108
4.6.5.	PU-CA-%1 polimeri ile hazırlanan sensörün depo kararlılığı.....	109
4.6.6.	PU-CA-%1 polimeri ile hazırlanan sensörün girişim etkilerinin incelenmesi	110
4.7.	PU-GA-%1 Polimeri ile Hazırlanan Sensörün Optimizasyon ve Karakterizasyon Çalışmaları.....	110
4.7.1.	PU-GA-%1 polimeri ile hazırlanan sensörün optimum pH değerinin tespiti.....	111
4.7.2.	PU-GA-%1 polimeri ile hazırlanan sensörün optimum sıcaklık değerinin tespiti.....	111
4.7.3.	PU-GA-%1 polimeri ile hazırlanan sensörün serotonin ve melatoninin eşzamanlı tayinine yönelik doğrusal tayin aralığının belirlenmesi.....	112
4.7.4.	PU-GA-%1 polimeri ile hazırlanan sensörün serotonin ve melatoninin eşzamanlı ölçümü için tekrarlanabilirliği.....	114
4.7.5.	PU-GA-%1 polimeri ile hazırlanan sensörün depo kararlılığı.....	115
4.7.6.	PU-GA-%1 polimeri ile hazırlanan sensörün girişim etkilerinin incelenmesi	116
4.8.	PU-CLA-%1 Polimeri ile Hazırlanan Sensörün Optimizasyon ve Karakterizasyon Çalışmaları.....	117
4.8.1.	PU-CLA-%1 polimeri ile hazırlanan sensörün optimum pH değerinin tespiti.....	117
4.8.2.	PU-CLA-%1 polimeri ile hazırlanan sensörün optimum sıcaklık değerinin tespiti.....	118
4.8.3.	PU-CLA-%1 polimeri ile hazırlanan sensörün serotonin ve melatoninin eşzamanlı tayinine yönelik doğrusal tayin aralığının belirlenmesi.....	119
4.8.4.	PU-CLA-%1 polimeri ile hazırlanan sensörün serotonin ve melatoninin eşzamanlı ölçümü için tekrarlanabilirliği.....	121
4.8.5.	PU-CLA-%1 polimeri ile hazırlanan sensörün depo kararlılığı	122
4.8.6.	PU-CLA-%1 polimeri ile hazırlanan sensörün girişim etkilerinin incelenmesi	123
4.9.	PI-AF-PMDA Poliimid Serileriyle Hazırlanan Sensörün Optimizasyon ve Karakterizasyon Çalışmaları	124
4.9.1.	PI-AF-PMDA polimeri ile hazırlanan sensörün optimum pH değerinin tespiti.....	124

4.9.2.	PI-AF-PMDA polimeri ile hazırlanan sensörün optimum sıcaklık değerinin tespiti.....	125
4.9.3.	PI-AF-PMDA polimeri ile hazırlanan sensörün serotonin ve melatoninin eşzamanlı tayinine yönelik doğrusal tayin aralığının belirlenmesi.....	126
4.9.4.	PI-AF-PMDA polimeri ile hazırlanan sensörün serotonin ve melatoninin eşzamanlı ölçümü için tekrarlanabilirliği.....	128
4.9.5.	PI-AF-PMDA polimeri ile hazırlanan sensörün depo kararlılığı.....	129
4.9.6.	PI-AF-PMDA polimeri ile hazırlanan sensörün girişim etkilerinin incelenmesi	130
4.10.	PI-AFE-MWCNT-%5 Poliimid Serileriyle Hazırlanan Sensörün Optimizasyon ve Karakterizasyon Çalışmaları.....	131
4.10.1.	PI-AFE-MWCNT-%5 polimeri ile hazırlanan sensörün optimum pH değerinin tespiti.....	131
4.10.2.	PI-AFE-MWCNT-%5 polimeri ile hazırlanan sensörün optimum sıcaklık değerinin tespiti.....	132
4.10.3.	PI-AFE-MWCNT-%5 polimeri ile hazırlanan sensörün serotonin ve melatoninin eşzamanlı tayinine yönelik doğrusal tayin aralığının belirlenmesi.....	133
5.	SONUÇLAR VE TARTIŞMA	134
6.	KAYNAKLAR	140
	ÖZGEÇMİŞ	149

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1. Biyosensörlerin kullanım alanları.....	3
Şekil 2.2. Biyosensörün yapısı ve bileşenleri.	5
Şekil 2.3. Enzim immobilizasyon yöntemleri.....	7
Şekil 2.4. Patojenlerin belirlenmesine yönelik biyosensör uygulamaları.	9
Şekil 2.5. Biyosensörlerin çeviricilere göre sınıflandırılması.....	11
Şekil 2.6. Amperometrik biyosensör şeması.	12
Şekil 2.7. Melatoninin moleküler yapısı.	17
Şekil 2.8. Melatonin sentezindeki sirkadyen ritim (Grivas & Savvidou, 2007).	17
Şekil 2.9. Melatonin biyosentezi.....	19
Şekil 2.10. Melatoninin antioksidan özellikleri.	20
Şekil 2.11. Serotonin moleküler yapısı.	22
Şekil 3.1. Elektrokimyasal analiz işlemlerinde kullanılan (a) perde baskılı karbon elektrot (b) konnektör kablosu (c) konnektör kutusu.	25
Şekil 3.2. Perde baskılı elektrotların modifikasyonu	33
Şekil 4.1. Kafeik asit temelli poliüretanların genel sentez şeması.....	41
Şekil 4.2. Kafeik asit temelli poliüretanların FTIR spektrumları.	42
Şekil 4.3. Kafeik asit temelli poliüretanların TGA termogramları.	43
Şekil 4.4. Kafeik asit temelli poliüretanların DTA termogramları.	43
Şekil 4.5. Kafeik asit temelli poliüretanların DSC termogramları ve Tg değerleri. ..	44
Şekil 4.6. Kafeik asit temelli poliüretanların sıvı temas açısı görüntüleri.	44
Şekil 4.7. Kafeik asit temelli poliüretanların SEM görüntüleri.	45
Şekil 4.8. Klorogenik asit temelli poliüretanların genel sentez şeması.	46
Şekil 4.9. Klorogenik asit temelli poliüretanların FTIR spektrumları.	46
Şekil 4.10. Klorogenik asit temelli poliüretanların TGA termogramları.....	47
Şekil 4.11. Klorogenik asit temelli poliüretanların DTA termogramları.....	48
Şekil 4.12. Klorogenik asit temelli poliüretanların DSC termogramları ve Tg değerleri.....	48
Şekil 4.13. Klorogenik asit temelli poliüretanların sıvı temas açısı görüntüleri.....	49
Şekil 4.14. Klorogenik asit temelli poliüretanların SEM görüntüleri.....	50
Şekil 4.15. Gallik asit temelli poliüretanların genel sentez şeması.....	51
Şekil 4.16. Gallik asit temelli poliüretanların FTIR spektrumları.	51
Şekil 4.17. Gallik asit temelli poliüretanların TGA termogramları.	52
Şekil 4.18. Gallik asit temelli poliüretanların DTA termogramları.	52
Şekil 4.19. Gallik asit temelli poliüretanların DSC termogramları ve Tg değerleri. .	53
Şekil 4.20. Gallik asit temelli poliüretanların sıvı temas açısı görüntüleri.....	54
Şekil 4.21. Gallik asit temelli poliüretanların SEM görüntüleri.	55
Şekil 4.22. Poli[2,7-diaminofloren-piromellitimid] genel sentez şeması.	56
Şekil 4.23. Poli[2,7-diaminofloren-piromellitimid] FTIR spektrumları	57
Şekil 4.24. Poli[2,7-diaminofloren-piromellitimid] TGA termogramı.....	58
Şekil 4.25. Poli[2,7-diaminofloren-piromellitimid] DTA termogramı.....	58

Şekil 4.26. Poli[2,7-diaminofloren-piromellitimid] DSC termogramı.	59
Şekil 4.27. Poli[2,7-diaminofloren-piromellitimid] SEM görüntüsü.	59
Şekil 4.28. Poli[2,7-diaminofloren-3,3',4,4'-benzofenontetrakarboksilikdiimid] FTIR spektrumu	60
Şekil 4.29. Poli[2,7-diaminofloren-3,3',4,4'-benzofenontetrakarboksilikdiimid] TGA termogramı.....	61
Şekil 4.30. Poli[2,7-diaminofloren-3,3',4,4'-benzofenontetrakarboksilikdiimid] DSC termogramı	61
Şekil 4.31. Poli[2,7-diaminofloren- 4,4'-oksidifitalikdiimid] FTIR spektrumu	62
Şekil 4.32. Poli[2,7-diaminofloren- 4,4'-oksidifitalikdiimid] TGA termogramı	63
Şekil 4.33. Poli[2,7-diaminofloren- 4,4'-oksidifitalikdiimid] DSC termogramı.....	64
Şekil 4.34. Poli[4.4'-diaminodifenileter- piromelitimid]'e ait sentez şeması.....	65
Şekil 4.35. Poli[4.4'-diaminodifenileter- piromelitimid]'e ait FTIR spektrumu.	66
Şekil 4.36. Poli[4.4'-diaminodifenileter- piromelitimid]'e ait TGA ve DTA termogramları.....	66
Şekil 4.37. Poli[4.4'-diaminodifenileter- piromelitimid]'e ait DSC termogramı.	67
Şekil 4.38. Poli[4.4'-diaminodifenileter- piromelitimid]- MWCNT-%3 ve MWCNT-%5' e ait FTIR spektrumları.	68
Şekil 4.39. Poli[4.4'-diaminodifenileter- piromelitimid]- MWCNT-%5'e ait SEM görüntüsü.	68
Şekil 4.40. Melatoninin yükseltgenme potansiyelinin tespiti için farklı derişimler deki CV eğrileri.	69
Şekil 4.41. Melatoninin yükseltgenme potansiyelinin tespiti için farklı derişimler deki DPV eğrileri.	70
Şekil 4.42. Serotonin yükseltgenme potansiyelinin tespiti için farklı derişimlerdeki CV eğrileri	71
Şekil 4.43. Serotoninin yükseltgenme potansiyelinin tespiti için farklı derişimlerdeki DPV eğrileri.....	72
Şekil 4.44. Ürik asit için DPV tekniği ile potansiyel taraması	73
Şekil 4.45. Askorbik asit için DPV tekniği ile potansiyel taraması.....	74
Şekil 4.46. Ölçüm hücresindeki girişim yapan türlerin melatonin yanıtına etkisi	75
Şekil 4.47. Ölçüm hücresindeki girişim yapan türlerin serotonin yanıtına etkisi	76
Şekil 4.48. Çıplak PBKE ile 1 µM - 40 µM aralığındaki melatonin derişimlerine ait DPV eğrileri	77
Şekil 4.49. Çıplak PBKE ile 0,15 mM - 8 mM aralığındaki melatonin derişimlerine ait DPV eğrileri	78
Şekil 4.50. 1 µM – 3 mM arasındaki melatonin derişimlerine karşılık akımdaki değişimleri gösteren kalibrasyon grafiği.....	78
Şekil 4.51. Çıplak PBKE ile 1 µM – 1,5 mM aralığındaki serotonin derişimlerine ait DPV eğrileri	79
Şekil 4.52. 1 µM – 40 µM arasındaki serotonin derişimlerine karşılık akımdaki değişimleri gösteren kalibrasyon grafiği.....	80
Şekil 4.53. Çıplak PBKE ile 0,05 mM - 4 mM aralığındaki serotonin derişimlerine ait DPV eğrileri.....	80

Şekil 4.54. 0,05 mM – 2,6 mM arasındaki serotonin derişimlerine karşılık akımdaki değışimleri gösteren kalibrasyon grafiğı	81
Şekil 4.55. PU-CA-%1 poliüretan ile kaplanan PBKE’ler ile melatonin ve serotonin eş zamanlı ölçümü	82
Şekil 4.56. PU-CA-%3 poliüretan ile kaplanan PBKE’ler ile melatonin ve serotonin eş zamanlı ölçümü	83
Şekil 4.57. PU-CA-%5 poliüretan ile kaplanan PBKE’ler ile melatonin ve serotonin eş zamanlı ölçümü	83
Şekil 4.58. PU-CA-%1, PU-CA-%3 ve PU-CA-%5 polimerleri ile alınan en yüksek yanıtlar	84
Şekil 4.59. PU-CA-%1, PU-CA-%3 ve PU-CA-%5 polimerleri ile alınan tüm serotonin yanıtların karşılaştırılması	85
Şekil 4.60. PU-CA-%1, PU-CA-%3 ve PU-CA-%5 polimerleri ile alınan tüm melatonin yanıtların karşılaştırılması	86
Şekil 4.61. PU-GA-%1 poliüretan ile kaplanan PBKE’ler ile melatonin ve serotonin eş zamanlı ölçümü	87
Şekil 4.62. PU-GA-%3 poliüretan ile kaplanan PBKE’ler ile melatonin ve serotonin eş zamanlı ölçümü	88
Şekil 4.63. PU-GA-%5 poliüretan ile kaplanan PBKE’ler ile melatonin ve serotonin eş zamanlı ölçümü	88
Şekil 4.64. PU-GA-%1, PU-GA-%3 ve PU-GA-%5 polimerleri ile alınan en yüksek yanıtlar	89
Şekil 4.65. PU-GA-%1, PU-GA-%3 ve PU-GA-%5 polimerleri ile alınan tüm serotonin yanıtların karşılaştırılması	90
Şekil 4.66. PU-GA-%1, PU-GA-%3 ve PU-GA-%5 polimerleri ile alınan tüm melatonin yanıtların karşılaştırılması	90
Şekil 4.67. PU-CLA-%1 poliüretan ile kaplanan PBKE’ler ile melatonin ve serotonin eş zamanlı ölçümü	91
Şekil 4.68. PU-CLA-%3 poliüretan ile kaplanan PBKE’ler ile melatonin ve serotonin eş zamanlı ölçümü	92
Şekil 4.69. PU-CLA-%5 poliüretan ile kaplanan PBKE’ler ile melatonin ve serotonin eş zamanlı ölçümü	93
Şekil 4.70. PU-CLA-%1, PU-CLA-%3 ve PU-CLA-%5 polimerleri ile alınan en yüksek yanıtlar	94
Şekil 4.71. PU-CLA-%1, PU-CLA-%3 ve PU-CLA-%5 polimerleri ile alınan tüm serotonin yanıtların karşılaştırılması	94
Şekil 4.72. PU-CLA-%1, PU-CLA-%3 ve PU-CLA-%5 polimerleri ile alınan tüm melatonin yanıtların karşılaştırılması	95
Şekil 4.73. PI-AF-PMDA poliimid ile kaplanan PBKE’ler ile melatonin ve serotonin eş zamanlı ölçümü	96
Şekil 4.74. PI-AF-BPDA poliimid ile kaplanan PBKE’ler ile melatonin ve serotonin eş zamanlı ölçümü	97
Şekil 4.75. PI-AF-ODPA poliimid ile kaplanan PBKE’ler ile melatonin ve serotonin eş zamanlı ölçümü	97

Şekil 4.76. PI-AFE-PMDA poliimid ile kaplanan PBKE'ler ile melatonin ve serotonin eş zamanlı ölçümü	99
Şekil 4.77. PI-AFE-MWCNT-%3 poliimid ile kaplanan PBKE'ler ile melatonin ve serotonin eş zamanlı ölçümü	99
Şekil 4.78. PI-AFE-MWCNT-%5 poliimid ile kaplanan PBKE'ler ile melatonin ve serotonin eş zamanlı ölçümü	100
Şekil 4.79. PI-AFE-PMDA, PI-AFE-MWCNT-%3 ve PI-AFE-MWCNT-%5 polimerleri ile alınan en yüksek yanıtlar	101
Şekil 4.80. PI-AFE-PMDA, PI-AFE-MWCNT-%3 ve PI-AFE-MWCNT-%5 polimerleri ile alınan tüm serotonin yanıtların karşılaştırılması	101
Şekil 4.81. PI-AFE-PMDA, PI-AFE-MWCNT-%3 ve PI-AFE-MWCNT-%5 polimerleri ile alınan tüm melatonin yanıtların karşılaştırılması	102
Şekil 4.82. PU-CA-%1, PU-GA-%1, PU-CLA-%1, PI-AF-PMDA ve PI-AFE-MWCNT-%5 polimerleri için alınan en yüksek serotonin yanıtlarının karşılaştırılması	103
Şekil 4.83. PU-CA-%1, PU-GA-%1, PU-CLA-%1, PI-AF-PMDA ve PI-AFE-MWCNT-%5 polimerleri için alınan en yüksek serotonin yanıtlarının karşılaştırılması	104
Şekil 4.84. PU-CA-%1 polimeri ile hazırlanan sensörün optimum pH grafiği.	105
Şekil 4.85. PU-CA-%1 polimeri ile hazırlanan sensörün optimum sıcaklık grafiği	106
Şekil 4.86. PU-CA-%1 polimeri ile hazırlanan sensörün farklı derişimlerdeki melatonin ve serotoninin tayinine yönelik eş zamanlı DPV eğrileri. .	107
Şekil 4.87. PU-CA-%1 polimeri ile hazırlanan sensörle serotonin tayinine yönelik doğrusal tayin aralığı	107
Şekil 4.88. PU-CA-%1 polimeri ile hazırlanan sensörle melatonin tayinine yönelik doğrusal tayin aralığı	108
Şekil 4.89. PU-CA-%1 polimeri ile hazırlanan sensörün depo kararlılığı	110
Şekil 4.90. PU-GA-%1 polimeri ile hazırlanan sensörün optimum pH grafiği	111
Şekil 4.91. PU-GA-%1 polimeri ile hazırlanan sensörün optimum sıcaklık grafiği.	112
Şekil 4.92. PU-GA-%1 polimeri ile hazırlanan sensörün farklı derişimlerdeki melatonin ve serotoninin tayinine yönelik eş zamanlı DPV eğrileri ..	113
Şekil 4.93. PU-GA-%1 polimeri ile hazırlanan sensörle serotonin tayinine yönelik doğrusal tayin aralığı	113
Şekil 4.94. PU-GA-%1 polimeri ile hazırlanan sensörle melatonin tayinine yönelik doğrusal tayin aralığı.	114
Şekil 4.95. PU-GA-%1 polimeri ile hazırlanan sensörün depo kararlılığı	116
Şekil 4.96. PU-CLA-%1 polimeri ile hazırlanan sensörün optimum pH grafiği	117
Şekil 4.97. PU-CLA-%1 polimeri ile hazırlanan sensörün optimum sıcaklık grafiği.	118
Şekil 4.98. PU-CLA-%1 polimeri ile hazırlanan sensörün farklı derişimlerdeki melatonin ve serotoninin tayinine yönelik eş zamanlı DPV eğrileri. .	119
Şekil 4.99. PU-CLA-%1 polimeri ile hazırlanan sensörle serotonin tayinine yönelik doğrusal tayin aralığı	120

Şekil 4.100. PU-CLA-%1 polimeri ile hazırlanan sensörle melatonin tayinine yönelik doğrusal tayin aralığı.	120
Şekil 4.101. PU-CLA-%1 polimeri ile hazırlanan sensörün depo kararlılığı.	123
Şekil 4.102. PI-AF-PMDA polimeri ile hazırlanan sensörün optimum pH grafiği.	124
Şekil 4.103. PI-AF-PMDA polimeri ile hazırlanan sensörün optimum sıcaklık grafiği.	125
Şekil 4.104. PI-AF-PMDA polimeri ile hazırlanan sensörün farklı derişimlerdeki melatonin ve serotoninin tayinine yönelik eş zamanlı DPV eğrileri. .	126
Şekil 4.105. PI-AF-PMDA polimeri ile hazırlanan sensörle serotonin tayinine yönelik doğrusal tayin aralığı.	127
Şekil 4.106. PI-AF-PMDA polimeri ile hazırlanan sensörle melatonin tayinine yönelik doğrusal tayin aralığı.	127
Şekil 4.107. PI-AF-PMDA polimeri ile hazırlanan sensörün depo kararlılığı.	130
Şekil 4.108. PI-AFE-MWCNT-%5 polimeri ile hazırlanan sensörün optimum pH grafiği	131
Şekil 4.109. PI-AFE-MWCNT-%5 polimeri ile hazırlanan sensörün optimum sıcaklık grafiği.	132
Şekil 4.110. PI-AFE-MWCNT-%5 polimeri ile hazırlanan sensörün farklı derişimlerdeki melatonin ve serotoninin tayinine yönelik eş zamanlı DPV eğrileri.....	133

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.1. Biyosensör teknolojisinin tarihi gelişimi.	4
Çizelge 2.2. Enzim İmmobilizasyon yöntemlerinin üstünlük ve eksiklikleri.	8
Çizelge 2.3. Serotonerjik sistemin etki ettiği klinik olarak ilişkili davranış ve işlevler	24
Çizelge 3.1. Kullanılan kimyasal malzemeler ve üretici firmalar.	27
Çizelge 3.2. Çalışma kapsamında sentez ve karakterizasyonları yapılan poliüretan yapıları.....	30
Çizelge 3.3. Çalışma kapsamında sentez ve karakterizasyonları yapılan poliimid yapıları.....	31
Çizelge 3.4. Sensörün hazırlama prosedürü	32
Çizelge 3.5. Sensörün ölçüm prosedürü	33
Çizelge 3.6. Poliüretan serileri ve sentez kodları.....	36
Çizelge 3.7. Poliimid serileri ve sentez kodları	36
Çizelge 4.1. PU-CA-%1 polimeri ile hazırlanan sensörün 0,61 mM’lık serotonin ölçümlerine ait tekrarlanabilirlik sonuçları.	109
Çizelge 4.2 PU-CA-%1 polimeri ile hazırlanan sensörün 1,22 mM’lık melatonin ölçümlerine ait tekrarlanabilirlik sonuçları.	109
Çizelge 4.3. PU-GA-%1 polimeri ile hazırlanan sensörün 0,61 mM’lık serotonin ölçümlerine ait tekrarlanabilirlik sonuçları.	115
Çizelge 4.4. PU-GA-%1 polimeri ile hazırlanan sensörün 1,22 mM’lık melatonin ölçümlerine ait tekrarlanabilirlik sonuçları.	115
Çizelge 4.5. PU-CLA-%1 polimeri ile hazırlanan sensörün 0,61 mM’lık serotonin ölçümlerine ait tekrarlanabilirlik sonuçları.	121
Çizelge 4.6. PU-CLA-%1 polimeri ile hazırlanan sensörün 1,22 mM’lık melatonin ölçümlerine ait tekrarlanabilirlik sonuçları.	122
Çizelge 4.7. PI-AF-PMDA polimeri ile hazırlanan sensörün 0,61 mM’lık serotonin ölçümlerine ait tekrarlanabilirlik sonuçları.	128
Çizelge 4.8. PI-AF-PMDA polimeri ile hazırlanan sensörün 1,22 mM’lık melatonin ölçümlerine ait tekrarlanabilirlik sonuçları.	129

SEMBOL VE KISALTMALAR

PU	Poliüretan
PI	Polimid
MEL	Melatonin
5-HT	Serotonin
CA	Kafeik asit
GA	Gallik asit
CLA	Klorogenik asit
AF	2,7-diaminofloren
AFE	4,4'-diaminodifenileter
FTIR	İnfrared spektroskopisi
SEM	Taramalı elektron mikroskobu
DTA	Diferansiyel termal analiz
TGA	Termogravimetrik analiz
DSC	Diferansiyel taramalı kalorimetri
Tg	Camsı geçiş sıcaklığı
NMP	1-Metil-2-pirrolidon
THF	Tetrahidrofuran
CV	Dönüşümlü Voltametri
DPV	Diferansiyel Puls Voltametrisi
V	Volt
PBS	Fosfat tamponu
PMDA	Piromellitik dianhidrit
BPDA	Benzofenon dianhidrit
ODPA	Oksidifitalik anhidrit
PU-CA-%	Kafeik asit temelli poliüretan polimerler
PU-GA-%	Gallik asit temelli poliüretan polimerler
PU-CLA-%	Klorogenik asit temelli poliüretan polimerler
PI-AF-	2,7-diaminofloren temelli poliimid polimerler
PI-AFE-	4,4'-diaminodifenileter temelli poliimid polimerler
MWCNT	Çok duvarlı karbon nanotüp
PBKE	Perde baskılı karbon elektrot

1. GİRİŞ

Son zamanlarda birçok bilim dalındaki hızlı gelişmeler neticesinde bilim insanları hastalıkların tanı ve tedavisi ile ilgili yeni yöntemler bulmaya ve geliştirmeye yönelmişlerdir. Her ne kadar insanoğlunun yaşam süresi uzamış olsa da kanser, stres, metabolik sendrom gibi hastalıklar ciddi sağlık sorunları olmaya başlamış ve insan ölümlerindeki en büyük etken olarak yer almışlardır. Bu sebeple hastalıkların erken teşhisinin yanında, bulguların daha ortaya çıkmadan hastalığın teşhis edilebileceği çeşitli biyolojik belirteçler ve bunlara yönelik analiz yöntemlerinin geliştirilmesi yönünde yapılan çalışmalar hızlı bir şekilde devam etmektedir.

Bu kapsamda biyolojik belirteçlerin tayinine yönelik hastane ve özel klinikler de birçok farklı geleneksel analiz metotları kullanılmaktadır. Bu analiz metotlarının üstünlüklerinin yanı sıra eksiklikleri de mevcuttur. Düşüncel bir analiz yöntemi hassas, kısa sürede doğru ve güvenilir sonuç verebilmesinin yanında seçici, ucuz ve kullanımı kolay olmalıdır. Ayrıca örnek hazırlama basamaklarına ihtiyaç duymadan farklı biyolojik matrisler doğrudan kullanılabilmelidir.

Düşüncel bir analiz yönteminin niteliklerini asgari düzeyde sağlayan ve mevcut yöntemlere alternatif olan sensörler, hedef maddeler ile seçimli olarak etkileşime girmesi sonucunda meydana gelen değişimleri, çevirici bir sistemle yorumlanabilir sinyaller haline dönüştüren analitik cihazlardır (Şener vd., 2010). Algılayıcı olarak biyolojik maddelerin kullanıldığı biyosensörler ilk olarak 1962 yılında kullanılmaya başlanmış olup platin elektrotlar ile kandaki glukoz miktarının ölçüldüğü bir sistem geliştirilmiştir (Clark Jr & Lyons, 1962). Bu ve benzer çalışmalar ile başlayan sensör araştırmaları son zamanlarda nanoteknoloji konusundaki yenilikler neticesinde ivme kazanmıştır (Kuralay vd., 2009; Wang J., 2005).

Melatonin ve serotonin vücudumuzda birçok biyolojik ve fizyolojik süreçlerde yer alırlar. Melatoninin sirkadiyen ritim ve endokrin üzerine etkilerinin yanı sıra yaşayan organizmada ve laboratuvar ortamında antioksidan etkiye sahip olduğu çeşitli çalışmalar ile gösterilmiştir (Ianas vd., 1991; Babaei vd., 2013; Wiley & Sons, 2013; Ball & Patel, 2012; Yazıcı & Köse, 2004). Antioksidan özelliği ile oksidatif strese karşı vücudu koruyarak vücut homeostazını düzenlediğinden dolayı tüm dünyada gittikçe artan bir ilgiyle araştırılmaktadır.

Serotonin üzerinde en çok araştırma yapılan nörotransmitter olup duygu durum fizyolojisi, vasküler fonksiyon ve mide bağırsak hazım bozuklukları için anahtar bir mediatördür. Depresyon, anksiyete, şizofreni, migren, hipertansiyon vb. bozuklukların nedenleri üzerine yapılan çalışmalar serotoninin bu konularda önemli bir rol oynadığını göstermiştir (Carlo vd., 2014; Ceylan & Oral, 2001; Robinson & Sahakian, 2009). Hatta kan, serum ve plazmada ki serotonin düzeyleri depresyon için biyokimyasal bir belirteç olarak kullanılabilir (Liu vd., 2010).

Melatonin genellikle serotonin mevcudiyetinde ortaya çıkar. Bu nedenle biyolojik sistemleri anlamak için her iki molekülünde eş zamanlı olarak tayini son derece önemlidir (Gomez vd., 2015). Buna karşın hâlihazırda bu iki metaboliti eş zamanlı ve duyar olarak ölçmek için geliştirilmiş polimerik membranları içeren bir potansiyometrik sensöre rastlanmamıştır.

Bu tez çalışmasının amacı poliimid ve poliüretan yapısındaki polimerik yapıları filmler kullanılarak yüzeyleri kaplanan perde baskılı elektrotlar ile melatonin ve serotoninin eşzamanlı tayini için seçici geçirgen özelliğe sahip bir biyosensör geliştirmektir. Sentezlenen bu polimerler ile ortamda girişim yapan türlerin engellenerek yüksek seçicilikte, kullanımı kolay ve ucuz bir biyosensör geliştirilerek hastane ve kliniklerdeki uygulama alanlarını tanımlamak çalışmamızın diğer önemli bir amacıdır.

Sentezleri gerçekleştirilen poliüretan ve poliimidlerin karakterizasyon işlemleri infrared spektroskopisi (FTIR), taramalı elektron mikroskobu (SEM), termogravimetrik analiz (TGA), diferansiyel taramalı kalorimetri (DSC), diferansiyel termal analiz (DTA) ve sıvı temas açısı yöntemleri kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

Hazırlanan biyosensörün başarısının ve optimum koşullarının belirlenmesi amacıyla pH, girişim yapan türlerin etkileri, polimer tabakasının kalınlığının elektrokimyasal cevaplara etkisi, tekrarlanabilirlik ve depo kararlılığı yapılarak, melatonin ve serotonin için tayin sınırı ve doğrusal ölçüm aralıkları belirlenmiştir.

2. KURAMSAL TEMELLER

2.1. Biyosensörler ve Tarihçesi

Bilimsel toplulukların gelişme süreçlerine bakıldığında araştırmacılar için multidisipliner alanların yetersiz kaldığı ve artık transdisipliner alanlara yöneldikleri görülmektedir. Bu yönelmeler neticesinde ortaya çıkan bilgi ve birikimin ekonomik katma değeri de gittikçe artmaktadır. Bu sebeple biyosensörler sağlıktan çevreye, ziraattan savunmaya birçok farklı alanı ilgilendiren ve bu katma değerini en güçlü yanını oluşturan bir konumda yer almaktadır (Şekil 2.1).

Alışlagelmiş analiz yöntemlerinden farklı olarak doğrudan bireyin yaşamının içinde yer alarak bizleri etkileyen biyosensörler, hastalıkların erken teşhisi ile önleyici tıp, gıda güvenliği, biyogüvenlik, tarımsal takip gibi konular başta olmak üzere birçok alanda yaşamımızda bize dokunmaktadır. Bu nedenlere bağlı olarak gelişmiş ülkeler, toplumlarının daha çevreci, daha sağlıklı ve güvenilir ortamlarda yaşayabilmeleri için biyosensör araştırmalarına büyük destek vermektedirler.



Şekil 2.1. Biyosensörlerin kullanım alanları.

L.C. Clark tarafından Cincinnati Hastanesinde (ABD) bir elektrot yardımı ile kandaki oksijen miktarının izlenmesi sonucu ilk biyosensör çalışmaları başlamıştır. Bunu müteakip 1962 yılında Clark ve Lyons tarafından glukoz oksidaz enziminin O₂ elektrodu üzerine immobilize edilerek glukoz tayininde kullanılması biyosensör için bir dönüm noktasıdır (Telefoncu, 1999).

Bu dönemden sonra biyosensör çalışmaları hızla devam etmiş ve ilk ticari biyosensör olan Yellow Springs Instruments – glukoz sensörü piyasaya arz edilmiştir. Son elli yıl boyunca biyosensör ile ilgili buna benzer birçok çalışma yapılmış ve bu çalışmalar biyosensör araştırmalarının mesafe kat etmesine yardımcı olmuştur. Biyosensörlerin gelişimi ile ilgili gerçekleşen çeşitli olaylar Çizelge 2.1’de verilmiştir.

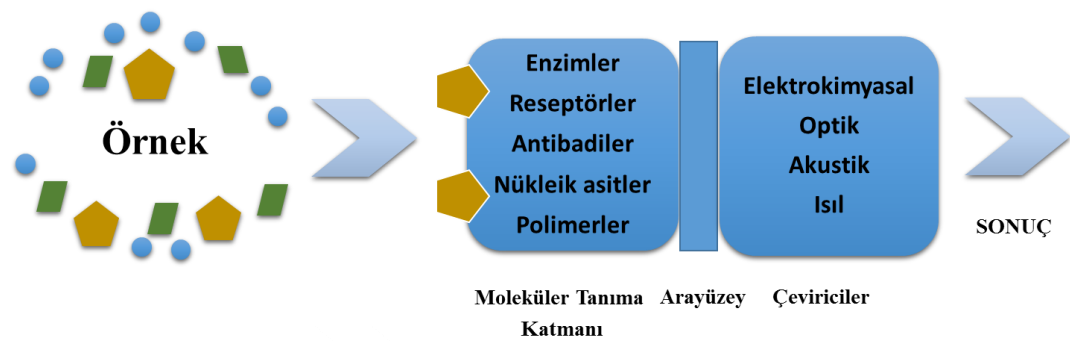
Çizelge 2.1. Biyosensör teknolojisinin tarihi gelişimi.

Biyosensörlerin Gelişim Süreci	Tarih	Kaynak
İlk protein immobilizasyonu (aktif odun kömürü üzerine invertaz enziminin adsorbsiyonu)	1916	(Nelson & Griffin, 1916)
pH cam elektrodunun geliştirilmesi.	1922	(Telefoncu & Kılınç, 2012)
Oksijen elektrodunun keşfi.	1956	
Leland C. Clark ve Lyons tarafından glukoz enzim elektrodunun geliştirilmesi – ilk biyosensörün tanımlanması.	1962	(Clark, 1956; Clark Jr & Lyons, 1962)
İlk potansiyometrik üre elektrodunun geliştirilmesi.	1969	(Guilbault & Montalvo, 1969)
Bergveld iyon seçimli alan etkin transistörün geliştirilmesi (ISFET).	1970	(Bergveld, 1970)
İlk ticari biyosensör olan glukoz biyosensörünün piyasaya arz edilmesi (Yellow Springs Instruments).	1975	(Wang J., 2001; Wang J., 2008)
İlk mikrobiyal temelli biyosensör.	1975	(Hikuma vd., 1980; Riedel vd., 1992)
İlk yapay pankreasın geliştirilmesi.	1976	(Pfeiffer vd., 1975; Nishida vd., 2009)
Fiber optik pH sensörünün geliştirilmesi (canlı ortamda ki kan gazları için).	1980	
Schultz tarafından fiber optik glukoz biyosensörü tasarlanmıştır.	1982	(Schultz, 1982)
İlk yüzey plazmon rezonans (SPR) immünosensörü geliştirilmiştir.	1983	(Liedberg vd., 1983)

Çizelge 2.1. (devam)

Glukoz tayini için ilk amperometrik glukoz sensörü geliştirilmiştir.	1984	(Cass vd., 1984)
İlk ticari kan glukoz biyosensörü geliştirilmiştir (MediaSense Exac Tech).	1987	
SPR temelli biyosensörün piyasaya arzı (Pharmacia BIACore).	1990	
Elde taşınır kan analizörünün i-STAT tarafından piyasaya arzı.	1992	
Glucocard'ın piyasaya arzı.	1996	
İlk ticari kan glukoz biyosensörünün piyasaya arzı.	1999	(Gross vd., 2000)
Elipsometri temelli biyosensörün geliştirilmesi.	2001	(Arwin, 2001)

Sensörler hedef maddeler ile seçimli olarak etkileşime girmesi sonucunda meydana gelen değişimleri, çevirici bir sistemle yorumlanabilir sinyaller haline dönüştüren analitik cihazlardır. Hedef analitler ile özgül olarak etkileşime giren kısımlar biyolojik materyallerden oluşabilmektedir (Şekil 2.2). Biyolojik tanıma elemanları olarak adlandırdığımız bu kısımlara sahip biyosensörler içerdikleri fizikokimyasal bir dönüştürücü sayesinde biyolojik tanıma sonucunda alınan sinyalleri iletebilmektedirler. İletilen bu sinyaller ise çeşitli sinyal dönüştürme stratejileri kullanılarak yorumlanabilmektedir (Liu vd., 2012).



Şekil 2.2. Biyosensörün yapısı ve bileşenleri.

Biyolojik tanıma elemanlarına göre ve sinyal dönüştürme metoduna göre biyosensörleri iki şekilde sınıflandırabiliriz. Biyolojik tanıma elemanlarına göre (reseptör, enzim, DNA, vb.), Sinyal dönüştürme yöntemine göre ısı (Mosbach, 1991), elektrokimyasal (Pohanka & Skladal, 2008; Gauglitz, 2010), optik (Lee vd., 2010), gravimetrik (Walton vd., 1993; Ko vd., 2011).

2.2. Biyolojik Tanıma Elemanına Göre Biyosensör Çeşitleri

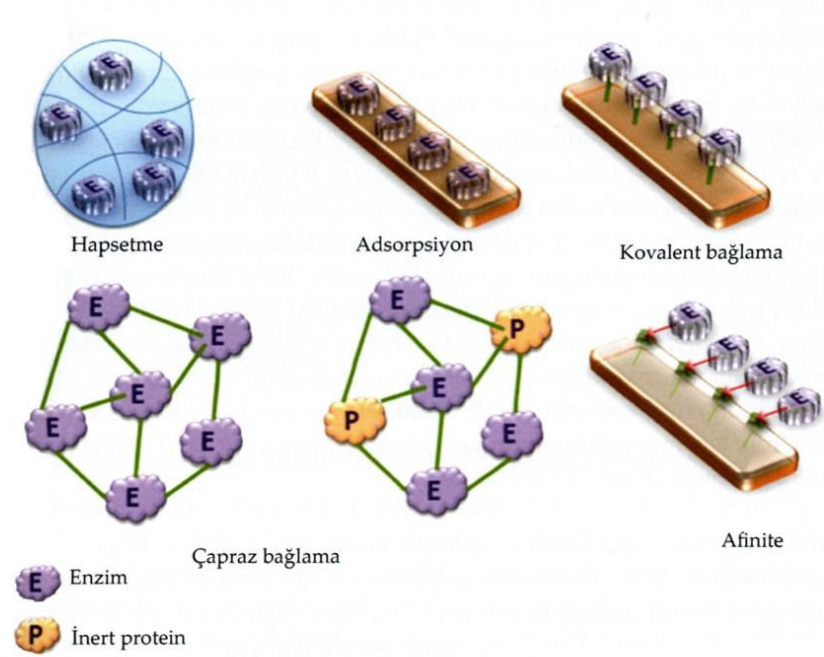
Doğadaki tüm canlılar yaşadıkları ortamda meydana gelen değişimleri anında algılayıp bu değişimlere ayak uyduracak tepkileri verebilecek yeterlilikte bir biyosensör olarak yaratılmışlardır. Bu biyoalgı mekanizması günümüz biyosensör sistemlerinin tasarlanmasını mümkün kılmıştır. Biyolojik tanıma elemanlarına (biyobileşen) göre biyosensörleri biyoafinite ve biyokatalitik biyosensörler olarak iki gruba ayırabiliriz. Biyoafinite sensörlerinde ajanlar analitler ile kompleksler meydana getirerek analitlerin tanımlanmasını sağlarlar. Örnek olarak antibadi, DNA, glikoprotein gösterilebilir. Biyokatalitik sensörlerde ise ajanlar analit moleküllerinin yapısında değişikliğe neden olurlar. Azalan ve artan madde miktarına göre tayinler gerçekleştirilir. Örnek olarak enzim, doku, mikroorganizma verilebilir (Telefoncu & Kılınç, 2012; Aynacı, 2015). Genel olarak biyobileşen türüne göre sensörleri enzim, DNA, hücre, mikrobiyal ve immünosensörler olarak 5 kategoriye ayırabiliriz.

2.2.1. Enzim biyosensörleri

Enzim elektrot terimi ilk olarak Clark ve Lyons'a ait makale de (Clark Jr & Lyons, 1962) kullanılmaya başlanmıştır. Diyaliz membran kullanarak glukoz oksidazın oksijen elektroduna tutunduğu Clark tarafından bir deney ile gösterilerek ölçülen oksijen miktarındaki azalmanın glukoz miktarına bağlı olduğu belirtilmiştir. Bu tarihten itibaren farklı alanlarda birçok analitin belirlenmesinde enzim temelli biyosensörler geliştirilmiştir.

Enzim biyosensörleri çevirici kısım (elektrot) üzerinde bir enzim tabakasının immobilize edilerek bir analitin tayin edilmesini sağlayan analitik cihazlardır. Enzim sensörlerinin en önemli üstünlüğü substratları için yüksek spesifiteye sahip enzimlerin girişim yapan bir çok türler içerisinde sadece hedef analit ile tepkimeye girmeleridir.

Enzim sensörlerindeki biyoaktif tabakaların tasarlanmasının önemli bir parçası enzim immobilizasyonudur. İmmobilizasyon ile ilgili birçok yöntem geliştirilmiştir. Hapsetme, adsorpsiyon, kovalent bağlama, çapraz bağlama ve afiniteyi bu yöntemlere örnek olarak verebiliriz (Şekil 2.3) (Arya, Datta, & Malhotra, 2008; Andreescu & Marty, 2006; Choi, 2004).



Şekil 2.3. Enzim immobilizasyon yöntemleri.

İmmobilizasyon aşaması sensörün analitik başarısında en önemli etken olduğundan uygun immobilizasyon yöntemleri geliştirmek için birçok çalışma yapılmaktadır. Biyosensörün daha iyi duyarlılıkta ve kararlılıkta olması bu çalışmalara bağlıdır. İmmobilize edilen biyobileşen kullanım esnasında yapı ve işlevini korumalı, biyolojik aktivitesini immobilizasyon işlemi sonrasında bile koruyabilmeli ve desorbe olmamak için yüzeye sıkıca bağlanmış olmalıdır.

İmmobilizasyon yöntemlerinin birbirlerine göre üstünlüğü ve eksikliği bulunmaktadır. Bunlar Çizelge 2.2’de belirtilmiştir. Uygun immobilizasyon yönteminin seçimi enzime, çeviriciye ve kullanılan tayin yöntemine bağlıdır. Maliyet, yeniden üretilirlik ve immobilizasyon sürecinin zorluğu hesap edilmelidir (Sassolas vd., 2012; Erdoğan, 2014).

Çizelge 2.2. Enzim İmmobilizasyon yöntemlerinin üstünlük ve eksiklikleri.

	Bağlanma Türü	Üstünlük	Eksiklik
Hapsetme	Bir polimer veya jele enzimi hapsetme	-Enzim aktivitesini baskılayacak tepkime mevcut değil -Polimer farklı enzimler ile kullanılabilir	-Enzim kaçacağı -Difüzyon engeli -Fazla miktarda enzim ve monomer kullanımı
Adsorbsiyon	Bağların zayıflığı	-Basit -Düşük seviyede enzim aktivite kaybı	-Spesifik olmayan adsorbsiyon -Desorpsiyon
Kovalent Bağlama	Kimyasal bağ	-Hızlı yanıt süresi -Kararlı -Difüzyon engeli yok	- Fazla aktivite kaybı -Yenilenebilir olmayan matriks
Çapraz Bağlama	Fonksiyonel olarak kararlı proteinlerle güçlü kimyasal bağ	-Basit	-Fazla aktivite kaybı
Afinite	Aktif destek ve proteinler ile güçlü afinite (avidin/biyotin)	-Kontrollü yönlendirme yapılabilmesi	-Özgül gruplara sahip olunması

Son zamanlarda enzim temelli sensörlerde hızlı bir gelişme söz konusudur. Birçok alanda sanayi düzeylerinde ki biyolojik süreçlerin takibi için implant türü kullanımlar gözlemlenmiştir. Ayrıca karbon nanotüp gibi gelişmiş fizikokimyasal özelliklere sahip malzemelerin sensörler ile kullanılmaya başlanması ile enzim sensörlerinde çok önemli gelişmeler gerçekleşmiştir. Karbon nanotüp temelli glukoz sensörü ve hidrojen peroksit sensörünü bunlara örnek olarak verebiliriz (Lin vd., 2004; Kum vd., 2007).

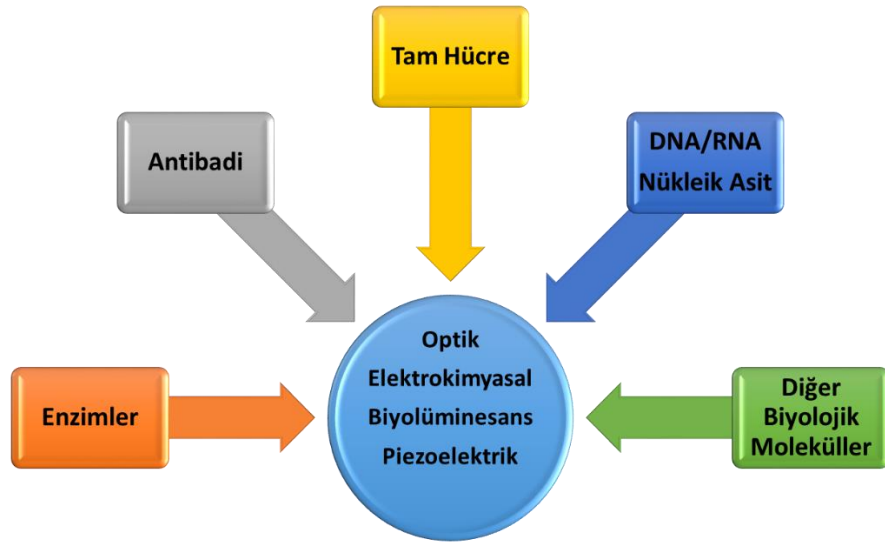
2.2.2. Mikrobiyal biyosensör konfigürasyonları

Dünyanın en ücra noktalarından insan vücuduna kadar birçok yerde bakteri, virüs ve mantar gibi mikroorganizmalara rastlamak mümkündür. Uygun besi ortamlarında hızla üreyip büyük koloniler oluşturabilmektedirler. Bu mikroorganizmalar basit hastalıkların yanında ölümcül olabilecek hastalıklara da sebep olmaktadır. Bu nedenlere bağlı olarak üremenin ilk evrelerinde bakterilerin

tanımlanarak enfeksiyon riskini azaltmak, oluşabilecek salgın hastalık risklerini ortadan kaldıracaktır (Pitcher & Fry, 2000).

Patojen mikroorganizmaların analizi çevre, sağlık ve savunma bakımından çok önemlidir. Bu tayinler için kullanılan geleneksel analiz yöntemleri yüksek seçicilik ve uyarlılıkta olmasına rağmen analiz sürecinin uzun olması gibi dezavantajlara sahiptir. Polimeraz zincir tepkimesi, kültür koloni sayımı ve immünolojik yöntemler (ELİZA) geleneksel yöntemlerden en çok kullanılanlarıdır (Rodriguez-Lazaro vd., 2005; Brooks vd., 2004; Gu vd., 2006).

Mikrobiyal biyosensörler yüksek seçicilik kabiliyeti ve kısa tayin süresi gibi özelliklere sahip olup mikroorganizmaların nükleik asit yapısına, metabolik özelliklerine ve kendisine karşı geliştirilen antibadilere uygun şekilde tasarlanmaktadır.



Şekil 2.4. Patojenlerin belirlenmesine yönelik biyosensör uygulamaları.

Elektrokimyasal konfigürasyonlarda genellikle ortama eklenen substratın derişimindeki farklılık ile bu farkın mikroorganizmanın metabolik aktivitesinde meydana getirdiği değişim ilişkilendirilir. Ortamdaki oksijen miktarındaki değişime bağlı olarak izlenir. Aerobik mikroorganizmaların belirlenmesi bu yöntem ile yapılır (Odacı, 2010).

2.2.3. DNA biyosensörleri

Watson ve Crick tarafından DNA'nın çift sarmal yapıda olduğunu keşfedilmesi ve DNA/RNA adlı iki nükleik asidin tüm yaşam formlarında bulunduğunun belirlenmesi ile DNA ve DNA'ya bağlı biyolojik birçok yaşamsal faaliyetin aydınlatılmasına yönelik pek çok çalışma yapılmıştır. Özellikle 2000'li yıllardan itibaren bilim adamları nükleik asitlerin keşfi ve yapılarının belirlenmesi için yoğun bir şekilde çalışmaktadırlar (Bloomfield vd., 2000).

Palecek tarafından 1960 yılında DNA ve RNA'nın elektroaktif maddeler olduklarının belirlenmesini müteakip ilk elektrokimyasal DNA biyosensörü 1993 yılında Millan ve Mikkelsen tarafından geliştirilmiştir (Palecek, 1960; Erdem, 2007)

DNA biyosensörlerini iki kısımda inceleyebiliriz. Birincisi toksin, ilaç ve protein gibi maddelerin DNA ile etkileşimleri sonucu, her ikisinde meydana gelen değişimlerin elektrokimyasal teknikler ile analiz edilmesidir (Erdem & Ozsoz, 2001; Erdem & Ozsoz, 2002). İkincisi tek sarmallı kısa DNA'lar ile bunların eşleniklerinin bir araya gelerek gerçekleştirdikleri DNA hidridizasyonunun elektrokimyasal tekniklerin kullanılması ile ölçümlerinin yapılmasıdır (Wang & Kawde, 2002).

Elektrokimyasal DNA biyosensörleri ilaç ve DNA etkileşim analizlerinde, kalıtsal ve bulaşıcı hastalıkların tanısında kullanılmaktadır. Hızlı, kolay, ucuz, duyarlı ve seçimli analiz sistemleri oluşturmayı sağlayan elektrokimyasal DNA biyosensörleri, dendrimerler, karbon nanotüpler, nanopartiküller, nanoçubuklar gibi malzemeler ile birleştirilmeleri sonucu duyarlılıkları daha da arttırılarak, özellikleri ve kabiliyetleri geliştirilmiştir (Erdem vd., 2013; Zhang vd., 2009).

2.2.4. İmmünosensörler

Antibadi/antijen etkileşimlerinin kompleks karışımlarda dahi çok yüksek afinite ile gerçekleşmesi ve hedefi tanıması, antijenlerin kalitatif ve kantitatif analizlerini mümkün kılmaktadır. Biyolojik tanıma elemanı olarak kullanılan antibadinin uygunluğu bir immünosensörün başarısı için çok önemlidir. Bakterilerin ve toksinlerin tayininin yanı sıra klinik ve savuna amaçlıda kullanılan bir yöntemdir. Antibadi/antijen arasındaki etkileşim, çeşitli sinyal dönüştürme stratejilerinin (optik,

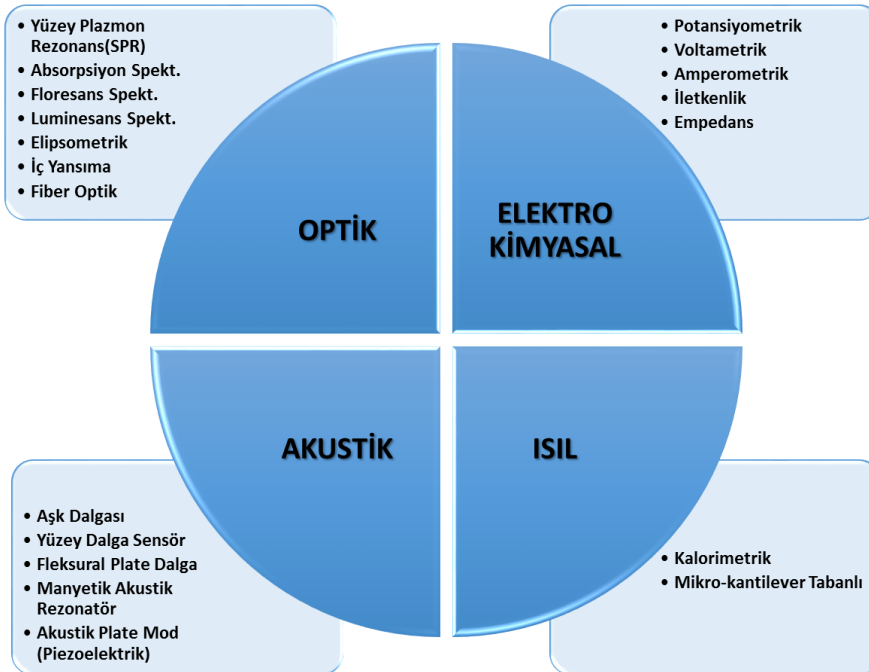
piezoelektrik, elektrokimyasal) kullanılması ile yorumlanabilir sinyaller üretilerek analizler gerçekleştirilir (Wang, Lu, & Chen, 2014).

2.2.5. Hücre Temelli Biyosensörler

Hücre temelli analiz yöntemlerinde, hücrenin elektriksel özellikleri kullanılarak hücre etrafındaki değişikliklerin tespiti yapılır. Kondansatör görevi gören bir hücre zarı ve bir direnç elemanı görevi gören hücre sıvısı sayesinde oluşan elektriksel iç direnç, dış ortamın etkisiyle oluşabilecek yoğunluk farkını, rutin faaliyetlerdeki sapmaları ve hücre gelişimini algılar. Üreme modeli, hücre morfolojisi ve doku kültürü çalışmalarında hücre temelli biyosensörler kullanılmaktadır (Telefoncu, 1999; Filho & Vieira, 2000)

2.3. Sinyal Dönüştürme (Çevirici) Metoduna Göre Biyosensör Çeşitleri

Fiziksel, kimyasal ve biyolojik değişimlere ait verileri elektriksel sinyallere dönüştüren elektrokimyasal, akustik, ısı, optik gibi çeviricilere veya farklı çalışma prensiplerine sahip biyosensörler bulunmaktadır.

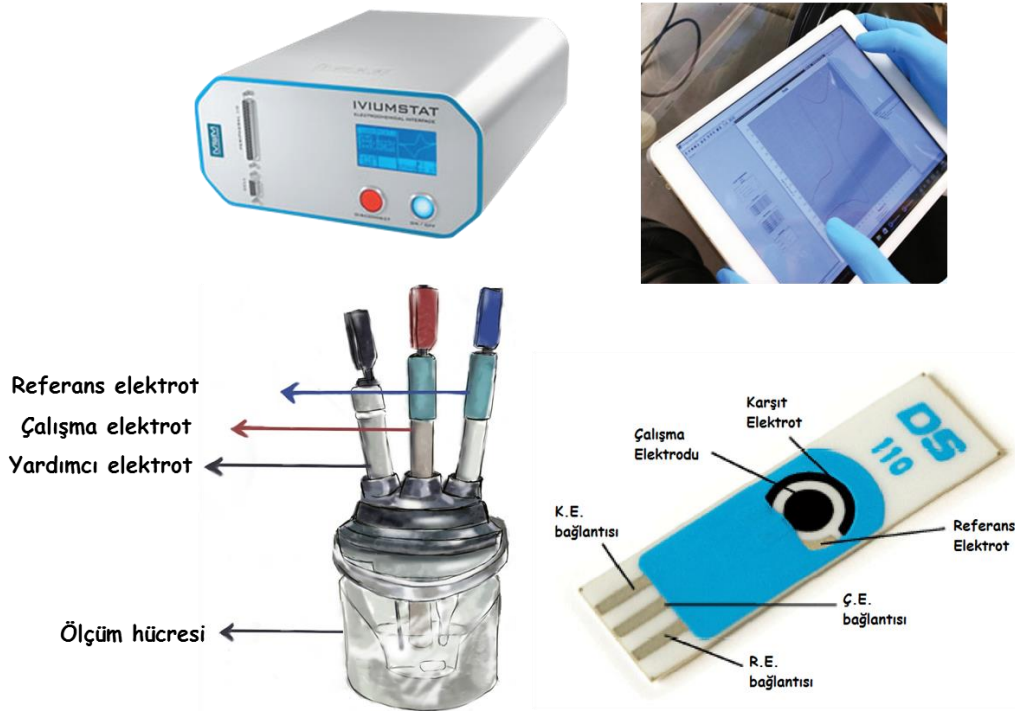


Şekil 2.5. Biyosensörlerin çeviricilere göre sınıflandırılması

2.3.1. Elektrokimyasal biyosensörler

Elektrokimyasal biyosensörler, sensör ile analit ortamı arasında gerçekleşen biyoetkileşimler sonucu, oluşan ve harcanan elektroaktif türlerin meydana getirdiği akım ve potansiyel değişimlerinin ölçülmesi esasına dayanır. Bu değişimler sonucu oluşan sinyaller yine elektrokimyasal dedektörler vasıtasıyla ölçülür. İncelenen elektriksel parametrelere göre potansiyometrik, voltametrik, amperometrik, iletkenlik ve empedans olarak sınıflandırabiliriz (Alocilja & Muhammad-Tahir, 2008; Wang vd., 2014)

Amperometrik biyosensörler elektrokimyasal yöntemler içerisinde en çok kullanılan sensör türüdür. Bu tür biyosensörler çözeltilerde meydana gelen biyoetkileşim tepkimeleri sonucunda yükseltgenen veya indirgenen analitlerin derişimleri ile doğru orantılı olacak şekilde, çalışma elektrotunda meydana gelen akımın ölçülmesi esasına dayanır (Özöner, 2010). Başka bir deyişle elektrokimyasal hücrede sabit bir potansiyeldeki akım değişimlerinin incelenmesi ile yapılan tayin yöntemine amperometrik yöntem denilebilir (Campuzano vd., 2012; Huang vd., 2009). Sinyali meydana getiren türün elektrot yüzeyinde tüketilmesi amperometrik biyosensörlerin en büyük farkıdır.



Şekil 2.6. Amperometrik biyosensör şeması.

Potansiyometrik biyosensörler bir çalışma ve referans elektrot yardımı ile elektrokimyasal ölçüm hücresindeki potansiyel değişimlerinin ölçülmesi esasına dayanır. Potansiyel veya potansiyel fark miktarının analit derişimi ile logaritmik bir ilişkiye sahip olduğu potansiyometrik sensörler hızlı cevap ve düşük tayin sınırı gibi avantajlara sahip olmasının yanı sıra renkli ve bulanık matrislerde de analiz yapabilme imkanı verebilmektedir. Genellikle pH duyar cam elektrotlar, enzim immobilize iyon seçimli elektrotlar ve gaz duyar elektrotlar kullanılır (Kuralay vd., 2005).

İmpedimetrik (empedans) biyosensörler frekans düzleminde elektriksel verilerin kullanıldığı bir analiz metodudur. Bu yöntemde ölçüm hücresinin ara yüzeyinde gerçekleşen elektriksel akıma karşı oluşan direnç ölçülür. Moleküler tanıma katmanında immün-aktif maddelerin bulunması bu tür sensörlere büyük üstünlük sağlamaktadır (Guan, Miao, & Zhang, 2004; Khan & Dhayal, 2009).

2.3.2. Akustik biyosensörler

Katı, sıvı ve gaz halindeki maddelerin mekanik titreşimlerinin araştırılmasına akustik denir. Yüzey akustik dalga ve yığın akustik dalga olarak tanımladığımız akustik dalga titreşimleri sensörlerdeki analit ve moleküler tanıma katmanı arasındaki etkileşimler sonucu bu dalganın frekansında meydana gelen değişikliklerin incelenmesi esasına dayanır. Bir yığın akustik dalga cihazı olan kuvars kristal mikroterazi (QCM) piezoelektrik kristale dayalı bir sensör olup kütle artışına karşı yüksek duyarlılığa sahiptir. QCM pek çok polimerin yer aldığı çeşitli malzemelerin esneklik veya viskozite gibi farklı fizikokimyasal özelliklerinin tayininde başvurulmuş bir yöntemdir.

Piezoelektrik kristalli biyosensörlerin (kütle duyarlı) çalışma prensibini oluşturan “piezoelektrik etki” ilk olarak Pierre Curie ve arkadaşları tarafından ortaya koyulmuş olup bu etki, mekanik gerilim uygulanan çeşitli kristal yüzeyler arasında gerilimin şiddeti ile orantılı olan potansiyel değişim meydana gelmesi olarak tanımlanmıştır (Curie & Curie, 1880; Zhou vd., 2000; Kwon vd., 2007).

2.3.3. Optik biyosensörler

Optik biyosensörler biyomolekül etkileşimleri neticesinde açığa çıkan ya da absorblanan ışığın şiddetinin ölçülmesi esasına dayanır. Lüminesans, absorpsiyon ve floresans gibi prensipler sonucu oluşan sinyallerin ölçülmesi temeline göre çalışır. Işığın yayılımı, yansımaya ya da saçılması ile sinyal oluşumu gerçekleşir. Yüzey plazmon rezonans (SPR), absorpsiyon spektroskopisi, floresans spektroskopisi, luminesans spektroskopisi, elipsometrik, iç yansıma ve fiber optik şeklinde sınıflandırabiliriz. Ucuz olması ve birden fazla örneğin eş zamanlı olarak tayin edilebilmesine olanak sağlaması bu yöntemin üstünlüklerindendir (Ivnitski vd., 2000; Wood, 1902).

2.3.4. Isıl biyosensörler

Termal ya da kalorimetrik esaslı sensörler olarak adlandırabileceğimiz bu tür sensörlerin çalışma prensibi ölçüm hücresinde gerçekleşen biyoetkileşimler sonucu tepkimedeki değişen entalpiye bağımlı olarak substrat derişiminin ölçülmesi esasına dayanır. İyi bir yalıtım sağlanmış ortamlarda sıcaklık farklılıkları incelenerek substrat ve sıcaklık arasındaki ilişki incelenir. Enzimatik reaksiyonların tümünün ekzotermik olmasından dolayı bu tür biyokimyasal analizlerde termal yöntemler kullanılmaktadır.

2.4. Biyosensörlerin Performans Kriterleri

Kısaca bir sensörün başarısının ölçülebilmesi için onun niteliklerini ve verimini tanımlayan kriterlerdir. Bu performans kriterlerinin detaylı olarak tanımlanması ile bir sensörün amacına uygunluğu çerçevesinde kullanılabilirliğine karar verilebilir.

2.4.1. Duyarlılık ve kalibrasyon gereksinimi

Duyarlılığı biyolojik materyallerin birim miktardaki değişikliğine karşın sensör yanıtındaki zamana bağlı değişimi şeklinde tanımlayabiliriz. Bu duyarlılığın sensörün kullanım ömrü süresince sabit kalması istenir. Bunun kontrolü de kullanım ömürleri boyunca çeşitli kalibrasyon teknikleri kullanılarak sağlanabilmelidir (Buerk, 1993; Telefoncu & Kılınç, 2012).

2.4.2. Seçicilik

Biyosensörün başarısını belirleyen en önemli parametrelerden biri seçiciliktir. Bir biyosensörün en önemli özelliği girişim yapan türlerin varlığında dahi hedef analite karşı yüksek afinite gösterebilmesidir. Bu sağlanmadığı takdirde ek işlemler kullanılarak seçicilik kazandırılabilir ancak buda sensörün hazırlanma sürecini uzatabilmektedir (Aksoy vd., 2017).

2.4.3. Tekrarlanabilirlik

Aynı şartlar altında ve art arda alınan biyosensör yanıtlarının aynı olması ideal bir sensörden istenilen bir özelliktir. Bu özellik varyasyon katsayısı ile standart sapmalar hesaplanarak belirlenebilir. Biyosensör uygulamalarının başarısı tekrarlanabilirlik ile doğrudan ilişkilidir.

2.4.4. Hızlı cevap süresi

Hızlı cevap süresi, ölçüm hücre sine eklenen bir analitin ortam ile temas etmesinden itibaren sistemden sinyalin alınmasına kadar geçen süre olarak ifade edilebilir. Biyosensörlerin diğer analiz yöntemlerine göre en önemli üstünlüğü olarak hızlı cevap süresini sayabiliriz. Akım – zaman eğrilerinden bu parametreye ait bilgiler elde edilebilir.

2.4.5. Kararlılık

Kararlılık, sensörün ömrünün süresi ile ilgili bir durumdur. Operasyonel kararlılık ve depo kararlılığı olarak iki şekilde incelenebilir. Operasyonel kararlılık asgari şartlar altında devamlı gerçekleşen analizler sonucunda elde edilir. Depo kararlılığını ise sensörün raf ömrü olarak tanımlayabiliriz (Savan vd., 2016).

2.4.6. Geniş ölçüm aralığı

Biyosensörler de ölçüm aralığı akım ile analit derişimi arasında ki eğrinin doğrusal olduğu derişim aralığı olarak ifade edilir. Bu doğrusal aralık ne kadar geniş olursa biyosensör için o kadar avantaj sağlar.

2.4.7. Yeterli seviyede tayin sınırı

Biyosensörün yanıtlayabildiği derişim değerin belirlenen bir derişim düzeyinin altında olması olarak adlandırılır. Tayin sınırı, analit miktarı, girişim yapan türler, polimer kalınlığı ve afiniteden etkilenir (Telefoncu & Kılınç, 2012).

2.4.8. Kısa yanıt süresi

Yanıt süresi, analitin ölçüm hücresine eklendikten sonra yanıtın alınması arasındaki geçen zamana denir. Elde edilen akım – zaman grafiklerinden elektrotun yanıt süresi belirlenir. Biyosensörlerin yanıt sürelerinin kısa olması bu kadar yaygınlaşmasındaki en önemli etkenlerden biridir. Birkaç saniyeden beş dakikaya kadar olan yanıt süreleri kabul edilebilir değerlerdir.

2.4.9. Kolaylık ve ucuzluk

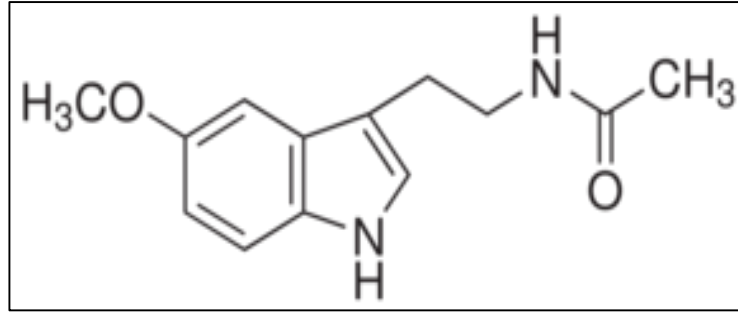
Kullanımı ve dizaynı kolay olup en az maliyete sahip biyosensör tasarlamak ideal bir biyosensörün sahip olması gereken niteliktir.

2.4.10. Biyouyumluluk

Biyosensörlerin uzun süreli insan vücuduna implantasyonu, in vivo uygulamalar veya hastalık tedavilerinde biyouyumluluk önem arz etmektedir. Ayrıca biyosensör, biyoaktif bileşenlerin etkinliğini engellememelidir.

2.5. Melatonin

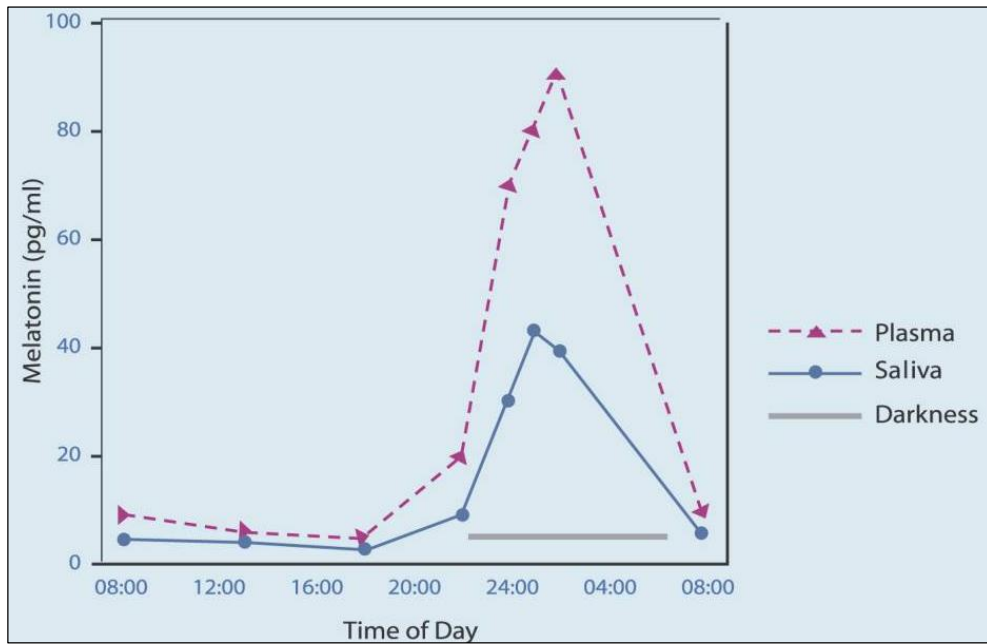
Melatonin (N-asetil-5-metoksi triptamin) üreme, uyku, antioksidan etki ve sirkadiyen ritim (biyolojik saat) gibi birçok biyolojik ve fizyolojik süreçlerde yer alan bir hormon olup başlıca pineal bezde serotonin üzerinden L-triptofan metabolizmasından sentezlenen multifonksiyonel bir indolamin bileşiği olup moleköl yapısı Şekil 2.7’de gösterilmiştir (Ball & Patel, 2012; Molaakbari vd., 2015).



Şekil 2.7. Melatoninin moleküler yapısı.

Molekül boyutunun küçük olması ve yüksek lipofilik özelliğinden dolayı tüm biyolojik membranlardan geçebilme kapasitesine sahiptir hatta kan-beyin bariyerini de geçerek tüm biyolojik doku ve sıvılara dağılmaktadır (Babaei vd., 2013).

İnsanda plazma melatonin düzeyleri 24 saatlik periyotta düzenli olarak iniş çıkış gösterir. Plazma melatonin düzeyi gece 20.00-23.00 yükselir ve 01.00-05.00 arası doruk değerlere ulaşır. Sağlıklı bireylerde plazma melatonin düzeyi gündüz 0-20 pg/ml, gece ise 20-200 pg/ml, 80-860 pmol/L'dir. Bir günde üretilen melatonin miktarı yaklaşık olarak 30 mg'dır ve büyük bir kısmı (%80'i) gece üretilir (Şener G. , 2010). Melatonin seviyeleri ortamın ışık durumu, mevsim, ortam sıcaklığı, yaş hormonlar ve manyetik alan gibi çeşitli faktörlerden etkilenir. Melatonin sentezindeki sirkadyen ritim Şekil 2.8'de (Grivas & Savvidou, 2007) gösterilmiştir.



Şekil 2.8. Melatonin sentezindeki sirkadyen ritim (Grivas & Savvidou, 2007).

Melatonin düzeyleri yaşa bağlı olarak değişmektedir. Fetüste herhangi bir melatonin aktivitesine rastlanmamıştır. Anneden fetüse ve yenidoğana süt yolu ile melatonin geçerek sirkadyen ritm sağlanmaktadır. Yenidoğanda düşük olan melatonin sekresyonu 1-3 yaş aralığında artarak pik yapar. Sonra tekrar azalarak çocukluk ve ergenlik döneminde sirkadyen hale gelir. Yirmili yaşlardan itibaren azalarak altmışlı yaşlarda en düşük seviyesine ulaşır (Waldhauser vd., 1984).

2.5.1. Melatonin Sentezi

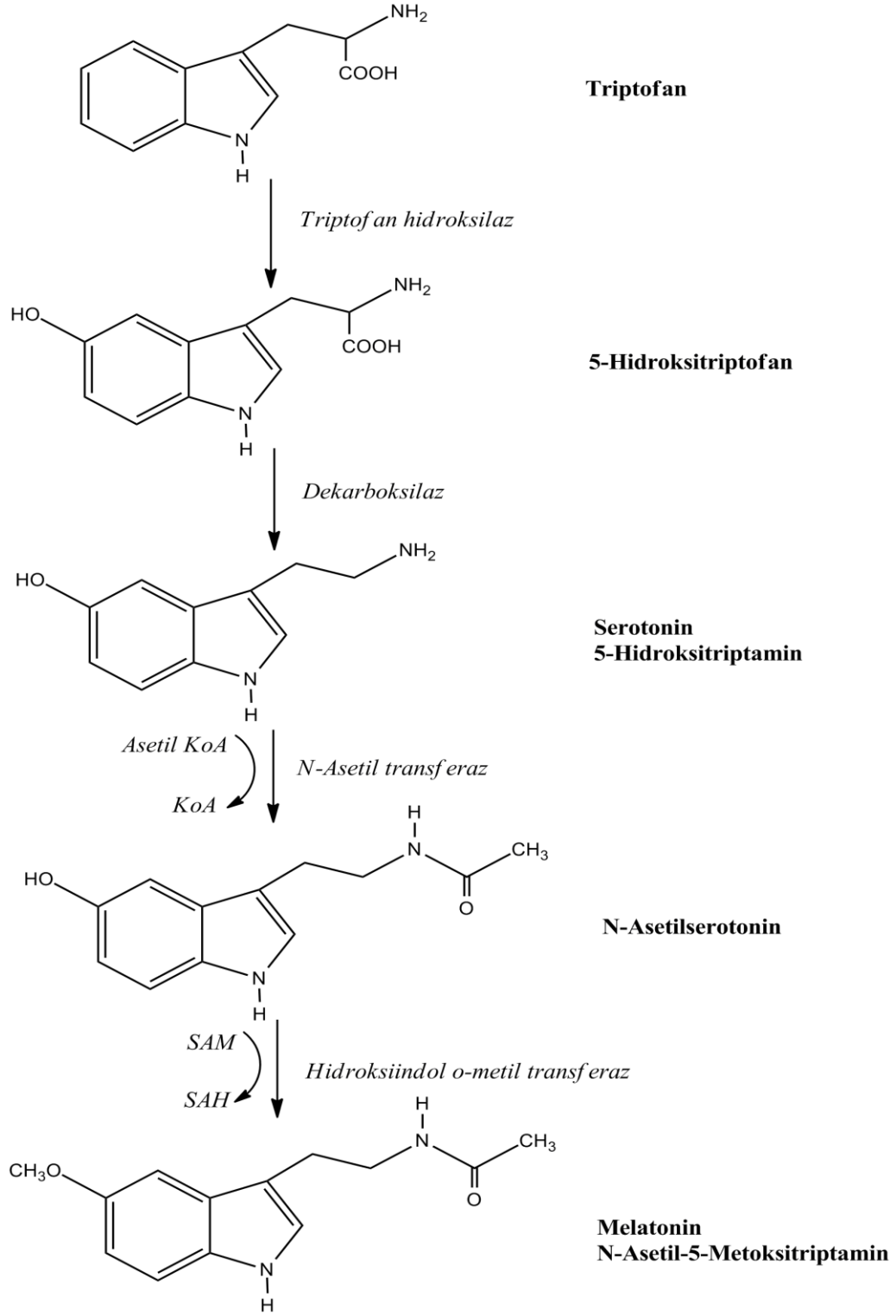
Melatonin başlıca pineal bez olmak üzere gastrointestinal sistem, retina, deri, kemik iliği ve mast hücrelerinden sentezlenip salgılanan bir hormondur. Şekil 2.9'da melatonin sentez şeması verilmiştir. Kan da bulunan melatoninin yaklaşık %80'i pineal bez tarafından sağlanmaktadır. Kan-beyin bariyeri pineal bezde bulunmadığından dolayı bezin sekresyonları doğrudan beyin omurilik sıvısına ve dolaşıma karışır (Maksimovich, 2002).

Dolaşımdan hücre içine alınan triptofan, enzimatik bir tepkime ile 5-hidroksitriptamine (5-HT, serotonin) dönüştürülür ve serotonin de N-asetil transferaz enzimi ile tepkimeye girerek melatonine dönüşür (Boutin vd., 2000).

2.5.2. Melatoninin biyolojik ve fizyolojik etkileri

Melatonin gece/gündüz ile ilgili verileri vücut fizyolojisine göndererek biyolojik fonksiyonların ve sirkadyen ritmin düzenlenmesine yardımcı olur. Bu ritmin başlıca ayarlayıcısı ortamın aydınlık/karanlılığıdır. Işığa maruz kalınan gece saatlerinde pineal bezin işlevi akut olarak engellenir (Liebmann vd., 1997).

Melatonin ile kortizol ilişkisi de immun sistemdeki etkileri yönünden önem arz etmektedir. Kortizol ve melatonin düzeyleri ters yönde hareket eder. Gece saatlerinde kortizol seviyeleri düştükten hemen sonra melatonin seviyesi artmaya başlar. Normal salgılama düzeninin bozulması sağlığın bozulması ya da kanser riski açısından bu durum önemlidir. Araştırmacılar düşük melatonin ve yüksek kortizol seviyelerinde çeşitli hastalıkların ortaya çıkabileceğini bildirmişlerdir. Sağlıklı olmak için bu iki hormon arasındaki denge önemlidir (Carriere vd., 2016; Goswami & Halder, 2015).

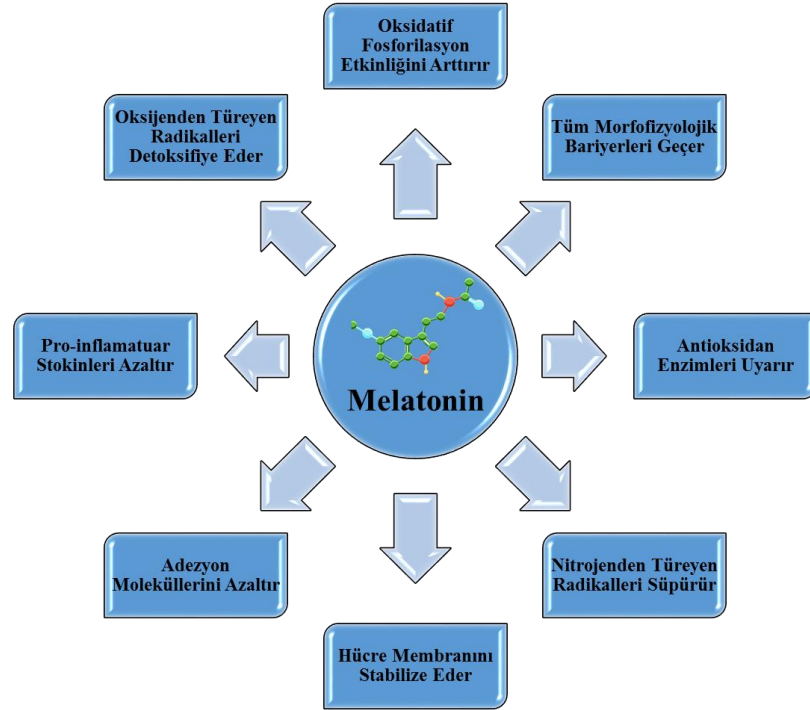


Şekil 2.9. Melatonin biyosentezi.

Melatoninin antioksidan etkisi birçok çalışma ile gösterilmiş olup antioksidan özellikleri Şekil 2.10'da gösterilmiştir (Kara vd., 2013; Emamgholipour vd., 2016). Çok güçlü bir serbest radikal süpürücü olan melatonin bu özelliğini barındırdığı pirol

halkasına borçludur (Reiter vd., 1998). Oksidatif strese yol açan hidroksil (OH), hidrojen peroksit (H₂O₂), nitrik oksit (NO gibi) reaktif oksijen türlerini detoksifiye edip aynı zamanda bazı prooksidan enzimleri de inhibe ederek serbest radikal oluşumunu azaltarak antioksidan sistemi desteklediği düşünülmektedir. Özellikle OH[•] radikalini süpürerek lipid peroksidasyon reaksiyonlarını engelleyen kuvvetli bir antioksidandır (Abuja & Albertini, 2001).

Bazı hayvan modelleri çalışmalarında farmakolojik dozda hayvanlara verilen melatonin ile bağırsak, karaciğer, akciğer, kalp, beyin, böbrek ve eritrositlerdeki glutatyon peroksidaz (GPx) aktivitelerinin %22-138 oranında arttığı gözlemlenmiştir (Yazıcı & Köse, 2004).



Şekil 2.10. Melatoninin antioksidan özellikleri.

Yaşlanma ile birlikte salgılanması azalan melatoninin, yaşlanmayı geciktirici etkileri olan bir hormon olduğu düşünülmektedir. Melatonin uygulanan farelerin yaşam süresinde %25’lik bir artış gözlenmiş ve bu farelerin, daha genç ve sağlıklı görüldüğü bildirilmiştir. Melatoninin, meyve sineklerinin yiyeceklerine eklendiğinde, yaşam sürelerini uzattığı tespit edilmiştir. Melatoninin yaşlanmaya karşı koruyucu

etkisinin, serbest oksijen radikallerine bağı hücre hasarını azaltarak ya da immuniteyi düzenlemek suretiyle olduğu öngörülmektedir (Reiter vd., 2007).

Melatoninin kanser üzerine etkisine yönelik yapılan çalışmalar daha çok meme kanseri modelleri odaklıdır. Melatonin gece salgısında meydana gelen bozuklukların kanserin gelişmesinde önemli olduğunu gösteren çalışmalar mevcuttur. Özellikle gece aydınlık ortamda çalışan bayanlarda kanser insidansının yükseldiği ortaya konulmuştur. Ayrıca ışık yoğunluğunun derecesi ile tümör büyüme hızı arasında doğrusal bir ilişkinin olduğu çeşitli çalışmalar ile gösterilmiştir (Reiter vd., 2009; Hotchkiss & Nelson, 2002).

IL-2 gibi kanser ilaçlarının etkisinin artırılması için melatonin ile birlikte kullanılmaktadır. Bu sayede yan etkisi oldukça fazla olan IL-2'nin etkisi arttırılarak daha kullanımı sağlanmaktadır (Lissoni vd., 1995).

Melatonin haplarının uykuya dalma hızı ve uykuda kalma kalitesini artacağına yönelik birçok çalışma bildirilmiştir. Hiperaktivite, dikkat eksikliği ve insomniya rahatsızlığı bulunan çocuklara melatonin tedavisi önerilmektedir (Bendz & Scates, 2010). Ancak uyku problemi olan ve olmayan yetişkin bireylerde ki melatonin düzeylerinin aynı olduğu da bulunmuştur. Bu nedenle melatoninin total uyku süresinden çok uykunun kalitesi ve uyku başlangıcına yardımcı olduğu bildirilmiştir (Tsuzuki vd., 2004; Baskett vd., 2001).

Psikiyatrik rahatsızlıklardaki melatonin seviyeleri ile ilgili yapılan çalışmaların çoğunluğu depresyon ve uyku döngüsü ile ilgili yapılan araştırmalardır. Depresyonda melatoninin etkisi ve salgılanma seviyeleri ile ilgili yapılan araştırmalarda depresyon hastalarında gece melatonin seviyesinin düşük olduğu belirlenmiştir (Şener G., 2010). Diğer bir rahatsızlık ise bipolar bozukluklardır. Bu rahatsızlıklarda genel anlamda melatonin seviyelerinin düşme eğiliminde olduğu saptanmıştır (Lam vd., 1990). Melatonin hormonunun psikiyatri ile ilgili birçok rahatsızlıkla ilişkili olduğunu göstermektedir. Şimdiye kadar yapılan bu çalışmalar, melatoninin gelecekte de psikiyatri ile ilişkili hastalıkların araştırılmasında önemli bir yer tutacağını göstermektedir.

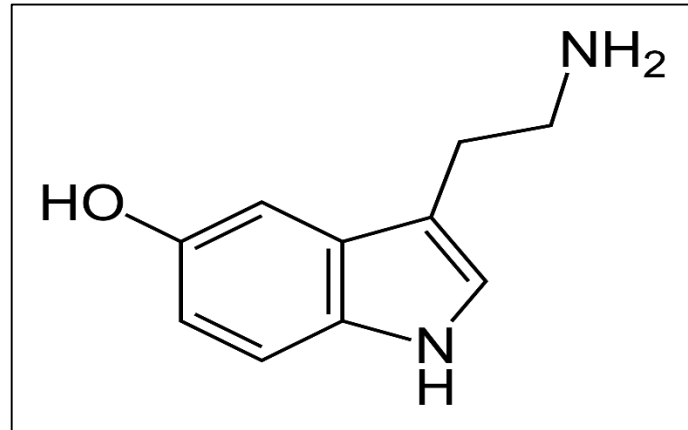
2.6. Serotonin

5-hidroksitriptamin olarak bilinen serotonin ilk olarak 1937 yılında Erspormer ve Vialli tarafından heterosiklik amin bileşiği olarak kandan izole edildi. 1942 yılında ise Rapport ve arkadaşları gastrik ve enterokromafin hücrelerinde düzeyinin farklılaşması neticesinde hipertansiyona sebep olan 5-hidroksitriptamin adlı molekülü buldular. Yapılan çalışmalar sonrasında bu iki molekülün aynı madde yani serotonin olduğu anlaşıldı. Serotoninin moleküler yapısı Şekil 2.11’de verilmiştir.

Serotonin (5-hidroksitriptamin, 5-HT) hem periferel sinir sisteminde hem de merkezi sinir sisteminde çok farklı etkileri olan biyogenik monoamin molekülüdür. Serotonin ise üzerinde en çok araştırma yapılan nörotransmitter olup gelişim, duygu durum fizyolojisi, vasküler fonksiyon ve mide bağırsak hazım bozuklukları için anahtar bir mediatördür (Liu vd., 2010; Gomez vd., 2015).

2.6.1. Serotonin sentezi

Serotoninin en az % 95’i bağırsaktaki enterokromafin hücrelerinde sentezlenerek bağırsak hareketlerinin düzenlenmesinde rol alır. % 5’lik kısım ise merkezi sinir sisteminde presinaptik nöronlarda (serotonerjik nöronlar, epifiz bezi ve katekolaminerjik nöronlar) sentezlenir (Mohammed-Zadeh vd., 2008). Serotonin doğada da yer alan bir bileşik olup birçok meyve ve sebzede yer almaktadır. Özellikle muz, avakado, domates, hindistan cevizi, kivi ve erik gibi yiyeceklerde yüksek oranda bulunur ($>3\mu\text{g/g}$). Çilek, kiraz, nar, elma, şeftali ve portakal gibi meyvelerde de $0,1-3\mu\text{g/g}$ arasında bulunmaktadır.



Şekil 2.11. Serotonin moleküler yapısı.

Serotonin sentezlemesi, esansiyel bir amino asit olan L-triptofan yoluyla gerçekleştirilir. Diyet olarak alınan triptofanın yaklaşık olarak % 2 si serotonine dönüşür (Şekil 2.9). Triptofanın serotonine dönüşümü iki aşamada gerçekleşmektedir. Triptofanın indol grubundaki 5 numaralı karbonun triptofan hidroksilaz tarafından hidroksillenmesiyle yine kan-beyin bariyerini kolaylıkla aşabilen ve epilepsiyle de ilişkilendirilen 5 hidroksitriptofan (5-HTP) sentezlenir. 5HTP'nin sitoplazmada L-aromatik amino asit dekarboksilaz enzimiyle dekarboksilasyonu sonucu serotonin sentezi tamamlanır (Toker vd., 2010; Lam vd., 2010). Serotoninin büyük kısmı (4-8 mg) gastrointestinal sistemdeki enterokromafin hücrelerinde depolanır. Bu vücuttaki serotoninin yaklaşık %80'ine tekabül etmektedir. Serotonin, bu hücrelerin asetilkolinle uyarılması, intra-luminal basıncın artması ve intestinal pH'ın değişmesiyle dolaşıma salınır. Plateletler içinde inaktif olarak proteinlere kovalent bağlı şekilde depo halde bulunur ve platelet aktivasyonu sırasında plateletler tarafından salınır.

2.6.2. Serotoninin biyolojik ve fizyolojik etkileri

Kardiyovasküler sistem, sindirim sistemi, serebrovasküler sistem, hematolojik sistem ve merkezi sinir sisteminde fizyolojik olarak öneme sahiptir. Kan basıncının düzenlenmesi, düz kasların kasılması ve nörotransmitter olarak birçok fizyolojik olayda yer almaktadır. Serotonin kan-beyin bariyerini aşamamaz. Bu sebeple beyinde nöronlarda Triptofan'dan sentezlenir. Merkezi sinir sisteminde nöromodulator olarak uykunun düzenlenmesi, davranış, beslenme, kardiyorespiratör fonksiyonlar, dikkat, ağrı, motor kontrol mekanizmalarında rol almaktadır (Kim & Camilleri, 2000).

Merkezi sinir sistemindeki serotonin sentezi triptofan bağımlıdır. Kan triptofan düzeylerinin diyet ile artırılması ve karbonhidratça zengin besinlerin tüketilmesi soyut kavramlara yönelik uzun dönem hafızanın ve sözcük tanınmasının geliştiği, temel tepki hızında artış olduğu, bilinç bulanıklığı ve öfkenin azaldığı, depresyon hissinin kötüye gitmesinin engellendiği gözlemlenmiştir. Triptofan düzeyi azaldıkça motor performansında azalma ve dikkat dağılmasına sebep olduğu belirtilmiştir.

Serotonin nöronları çok geniş projeksiyonlara sahip bir sistemdir. Serotonerjik nöronlar yoğun olarak santral sinir sisteminde, bağırsak duvarlarında ve kan damarlarında bulunur. Bağırsak duvarlarındaki işlevi gastrointestinal sistem motilitesini düzenler. Kan damarlarında ise büyük damarların büzülmesinde işlev

görür. Serotonerjik sistemin düzenlendiği klinik olarak ilişkili davranış ve işlevler (Tamam & Zeren, 2002) Çizelge 2.3'te gösterilmiştir.

Çizelge 2.3. Serotonerjik sistemin etki ettiği klinik olarak ilişkili davranış ve işlevler

Duygudurum düzenlenmesi
Korku ve anksiyete
Öğrenme ve bellek
Bilişsel kontrol
İştah ve yemenin düzenlenmesi
Uyku
Cinsel işlevler
Dürtü kontrolü
Gelişimsel davranış düzenlenmesi
Yaşlanma ve nörodejenerasyon
Motivasyon ve ödüllendirme
Ağrı duyarlılığı
Kusma
Myokloni
Nöroendokrin regülasyon
Sirkadiyen ritmin düzenlenmesi
Stres yanıtı
Karsinoid sendrom

Klinikte kullanılan tüm antidepresanlar, doğrudan veya dolaylı olarak dopamin, norepinefrin ve/veya serotoninin beyindeki etkilerini arttırarak etki gösterirler. Depresyonun beyin belirli bölgelerinde noradrenalin, serotonin gibi monoaminlerin yetersizliğine, manik atakların ise tersi yani bu nörotransmitterlerin fazlalığına bağlı olduğu düşünülmektedir (Yüce, 2012).

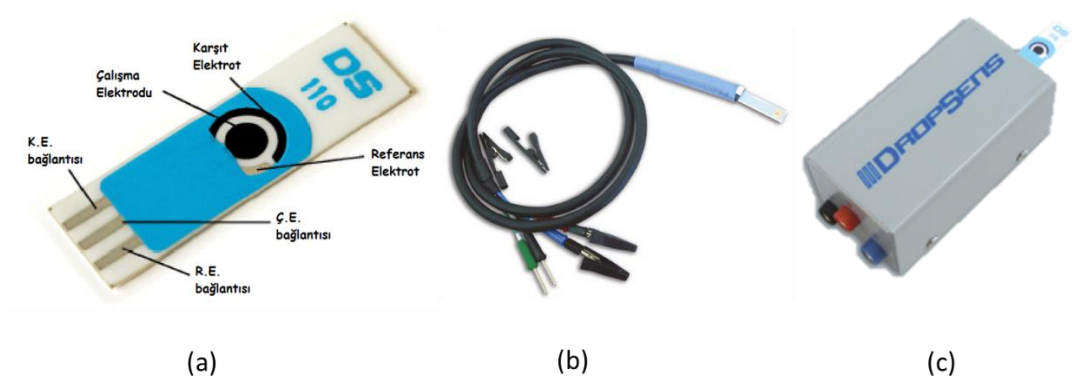
Hatta kan, serum ve plazmada ki serotonin düzeyleri depresyon için biyokimyasal bir belirteç olarak kullanılabilir. Serotonin dışardan uygulamasının doğrudan mutluluğa sebep olmayıp, depresyon gibi duygu durum bulgularının düzeltilmesinde etkili olduğu bilinmektedir. Beyin serotonin düzeylerinin farmakolojik yöntemler dışında artırılması bireyin ruhsal durumu ve pozitif sosyal davranışlarını olumlu yönde etkileyebilmektedir.

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Cihaz ve Malzemeler

3.1.1. Elektrokimyasal tayin cihazı ve elektrotlar

Elektrokimyasal analizler Iviumstat marka potansiyostat cihazı kullanılarak gerçekleştirildi. Analiz işlemlerinde elektrot olarak Şekil 3.1(a)' da gösterilen DRP-110 kodlu 4 mm çapında perde baskılı (screen-printed) karbon elektrotlar (Dropsens, İspanya) kullanıldı. Bu elektrotların potansiyostat ile bağlantısını sağlamak için Şekil 3.1(b)' deki kablo konektörü ve Şekil 3.1(c)' deki konektör kutusu kullanılmıştır. Perde baskılı elektrotlarda üçlü elektrot sistemine sahip olup karbon çalışma ve karşıt elektrot ile gümüş referans elektrottan oluşmaktadır.



Şekil 3.1. Elektrokimyasal analiz işlemlerinde kullanılan (a) perde baskılı karbon elektrot (b) konektör kablosu (c) konektör kutusu.

3.1.2. Kullanılan diğer cihazlar

Çalışmalarımız kapsamında sentezleri gerçekleştirilen poliimid ve poliüretanların yapısal karakterizasyonları için Perkin Elmer 283 model FTIR cihazı kullanıldı. Polimerlerin yüzey özellikleri için Leo EV40 SEM cihazı kullanıldı. Termal analizler için Shimadzu 50 Termogravimetrik Analizör, Shimadzu 50 Diferansiyel Termal Analizör ve Shimadzu 60 Diferansiyel Taramalı Kalorimetre kullanıldı.

Bu analizler sırasında FTIR ölçümleri 400-4000 cm^{-1} dalga sayısı aralığında ve ATR yüzey tarama sistemi ile gerçekleştirildi. Bazı sentezler malzemeleri için KBr peletler kullanılarak ile analizler gerçekleştirildi.

Termal analizlerde örnek miktarı olarak DTA ve TGA'da 10 mg, DSC analizlerinde 5 mg tercih edilerek tartım yapıldı. 10 $^{\circ}\text{C}/\text{dak}$. ısıtma hızı ile numunelerde %10'luk kütle kaybı değerleri ve 800 $^{\circ}\text{C}$ 'de kalıntı değerleri TGA ile belirlendi. Ayrıca bozulma sıcaklıkları başlangıç değerleri ve termal bozulma sıcaklıkları DTA ile tespit edildi. Polimerlere ait camsı geçiş sıcaklıklarının saptanmasında kullanılan DSC termal analizleri ise diğerlerinden farklı 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.

Poliüretan film yüzeylerinin hidrofilik özellikleri SEO Phoenix-300 automatic marka temas açısı cihazıyla gerçekleştirilmiştir. Sıvı temas açısı ölçümleri oda sıcaklığında enjektörden tekli damlatma yöntemiyle yapılmıştır. Her örnek için 6 tekrar yapılmış ve sonuçlar ortalama olarak verilmiştir.

Çalışmalarımızda kullandığımız çözeltilerin tamamı Merck Millipore marka saf su cihazı ile elde edilen saf su ile hazırlanmıştır.

3.1.3. Kullanılan kimyasal maddeler

Çalışmamızda kullanılan kimyasal malzemelerin adları ve üretici firma bilgileri Çizelge 3.1’ de gösterilmiştir.

Çizelge 3.1. Kullanılan kimyasal malzemeler ve üretici firmalar.

Kimyasal Maddeler	Üretici Firma
KCl	Merck
HCl	Sigma-Aldrich
NaOH	Merck
Na ₂ HPO ₄	Merck
NaH ₂ PO ₄	Merck
Melatonin	Alfa Aesar
Serotonin	Carl Roth
Glukoz	Merck
Askorbik asit	Merck
Ürik asit	Merck
Etilen glikol	Alfa Aesar
Polietilen glikol	Alfa Aesar
4,4'-Metilenbis(fenilizosiyanat)	Merck
Gallik asit	Merck
Kafeik asit	Merck
Klorogenik asit	Merck
THF	Sigma-Aldrich
2,7-diaminofloren	TCI
N-Metil prolidon	Merck
4,4'-diaminodifenil eter	Merck
4,4'-Oxydianiline	Sigma-Aldrich
PMDA	Merk
BPDA	Merk
ODPA	Merk

3.2. Yöntem

3.2.1. Polimerlerin Sentezi

Poliimidler, kimyasal açıdan inert, ısıya ve çevre koşullarına dayanıklı, sağlam polimerlerdir. Poliimidler, yapılarının kendilerine kazandırdığı kimyasal ve mekanik dayanımla beraber yüksek termal kararlılığa sahip oldukları için hem bilimsel hem de ticari olarak çok büyük öneme sahiptirler.

Poliimidler günümüzde oldukça önemli bir özellik olan termal kararlılığa sahip en önemli malzemelerden biri olduğu için ve yapısal olarak pek çok modifikasyonlara yatkın olduğundan oldukça geniş bir çeşitliliğe sahip olup ilk sentezlendikleri günden itibaren önemlerini ve güncelliğini sürekli korumaktadırlar. Sürekli yenilenen poliimid tasarımları mikroelektronik, otomotiv, paketleme ve uzay sanayi gibi ileri sanayi dallarında kullanılmaktadır.

Poliimidlerde aranan temel özellikler, termal, mekanik ve kimyasal kararlılıktır. Bu özellikler ise zincir üzerindeki bağlı olan gruplara göre değişir. Zincir üzerinde eğer rezonans, aromatik gruplar ve halka varsa polimerin termal, mekanik ve kimyasal özellikleri artış gösterir.

Poliüretan esaslı kompozit malzemeler tasarım esnekliği, kolay üretim, hafiflik, dayanıklılık, ısı ve elektriksel yalıtım, çarpışmalarda enerji sönmeme ve korozyona dayanıklılık gibi faydalı özelliklerinden dolayı ayakkabı, makine sanayi, kaplamalar, boyalar, sert izolasyonlar, termoplastikler, köpükler ve medikal cihazlar gibi birçok endüstriyel alanlarda kullanılmaktadır.

Poliüretan yapılarının sentezinde bir izosiyanat ve diol ya da poliol kaynağı kullanılmaktadır. Özellikle farklı poliol kaynakları kullanılarak poliüretanların yapısal özellikleri kolayca istenilen yönde değiştirilebilir. Bilinen yenilenebilir kaynakların pek çoğu poliüretan sentezi için uygun hidroksil üniteleri bulunduran doğal poliol yapılarıdır. Hidroksil içermeyenler ise basit işlemler ile kolayca bu formasyona dönüştürülebilir. Bu sayede yenilenebilir kaynaklar ya kolayca poliüretan matris üretiminde ya da farklı polimerik yapılara güçlendirici katkı maddesi olarak kullanılmışlardır. Özellikle katkı maddesi olarak kullanımlarında yenilenebilir katkı maddesi yapısındaki fonksiyonel gruplar ile matriks yapısı arasında olan etkileşimler oldukça yüksek olduğu için diğer katkı türlerine göre daha üst özellikler elde edilir. Özellikle karbohidratlar, proteinler ve bitkisel yağlar gibi polar karakterdeki

yenilenebilir doğal ürünlerin katkılanması ile yüksek mekanik etkilere ve aşınmaya karşı dayanaklı kompozitler üretilebilir.

Günümüzde hem ticari hem de akademik anlamda yenilenebilir kaynaklardan poliüretan yapılı pek çok kompozit malzeme hazırlanmıştır. Bu malzemeler arasında, film, kaplama ve köpüklere oldukça sık rastlanmakla beraber katmanlı ve karma ürünler de görülmektedir. Yenilenebilir kaynaklar, biyouyumlu, biyobozunur, toksik olmayan ve çevreci özelliklerini kompozit malzemeye aktarırken kompozitin düşük yoğunluklu, hafif ve işlenebilir olma özelliklerini de sağlamaktadır.

Bu çalışma kapsamında poliüretan ve poliimid polimerlerinin sentezleri gerçekleştirilmiştir. Bu sentezlerde kullanılan reaktifler polimerlerde bozucu etkilere sebep olmaması için % 99 saflıkta tercih edilmiştir.

3.2.1.1. Poliüretanların sentezi

Günümüz teknolojileri arasında poliüretan teknolojisi oldukça önemli bir teknoloji olup izolasyon malzemesinden suni derilere, ayakkabı tabanlarından, viskoelastik malzeme ve süngerlere kadar pek çok alanda ticari olarak önem arz etmektedir. Tüm bu sektörlerin hepsinde temel olarak tek bir diizosiyanat yapısı ortaya çıkmaktadır ki o da 4,4'-diizosiyanodifenilmetandır. Bu nedenle çalışma kapsamında etilen glikol ve polifenol (kafeik asit, gallik asit ve klorogenik asit) kaynakları yanında 4,4'-diizosiyanodifenilmetan kullanılarak aromatik bir yapıya sahip poliüretan sentezleri denenmiştir.

Bu çalışmalarda çözelti polimerizasyon tekniği uygulanmış olup, poliol kaynağı olarak farklı oranlarda polifenoller PEG yanında kullanılmıştır. Genel olarak PEG:poliol oranı 1:99, 3:97, 5:95 ve 10:90 olarak tercih edilmiş olup, tüm sentezlerde PEG-200 kullanılmıştır. Sentezler sırasında çözücü olarak THF kullanılmıştır.

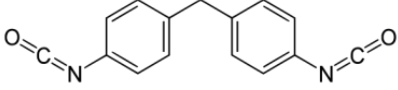
Yukarıda verilen oranlarda hazırlanan PEG:poliol karışımı ile eş molar olacak şekilde diizosiyanat (4,4'-diizosiyanodifenilmetan) monomer olarak tepkime karışımına eklenerek 12 saat 90 °C' de reflüks edilmiştir. Tepkime süresi sonunda soğutularak oda sıcaklığına getirilen polimerler, vakum altında çözügenlerinden uzaklaştırılarak elde edilmiştir.

Tepkime takibi Fourier Transform Infrared (FTIR) spektroskopisi ile gerçekleştirilmiştir. Polimerizasyon takibi sırasında özellikle izosiyanatlara

karakteristik bir pik olan 2265 cm^{-1} frekansındaki serbest izosiyanat piki kullanılmıştır. Bu pikin zamanla azaldığı gözlenmiş ve tamamen yok olduğunda tepkime sonlandırılmıştır.

Poliüretan sentezinde üretan oluşum tepkimeleri katalizör varlığında çok hızlı ve yüksek verimle gerçekleşir ve ekzotermiktir. 4,4'-diizosiyanodifenilmetan ile etilen glikol arasındaki üretan oluşum tepkimesi incelendiğinde, iki fonksiyonel uca sahip monomerler oldukça reaktif olduklarından hızlı bir kondenzasyon tepkimesi ile başlangıç hammaddelerinin tamamı tepkimeye girer, istenmeyen yan ürün oluşumu söz konusu değildir. Literatür tarafından kanıtlanmış olan bu gerçek poliüretanların tıbbi pek çok uygulamada rahatlıkla kullanılmasını sağlamaktadır. İzosiyanatlar gibi toksik monomerlerden sentezlenmesine rağmen elde edilen polimerlerde monomer kalıntısı bulunmamaktadır. Sonuç olarak polimerik yapının yapısal karakterizasyonu, saflığı ve hedeflenen yapının doğrulanması çalışmamızın önemli bir basamağıdır. Çizelge 3.2'de poliüretan yapıları ve sentez kodları verilmiştir.

Çizelge 3.2. Çalışma kapsamında sentez ve karakterizasyonları yapılan poliüretan yapıları.

İzosiyanat	Doğal poliol kaynakları	% Doğal poliol oranları	Sentez kodu
4,4'-diizosiyanodifenilmetan 	Kafeik asit	1, 3, 5, 10	PU-CA
	Klorojenik asit	1, 3, 5, 10	PU-CLA
	Gallik asit	1, 3, 5, 10	PU-GA

3.2.1.2. Poliimidlerin sentezi

Poliimidler her ikisi de alifatik veya aromatik diamino veya dianhidritlerden veya onların türevlerinden türemiş olan, yapısında heterohalkalı imid ünitesi taşıyan polimerler olup kimyasal açıdan inert, ısıya ve çevre koşullarına dayanıklı, sağlam polimerlerdir.

Çalışmamızda poliimid sentezi için çözelti polimerizasyon tekniği kullanılmıştır. Bu yöntemde, çözücü olarak N-metilpirolidon (NMP), dipolar aprotik çözücü kullanılmış olup monomer olarak 2,7-Diaminofloren, 4,4'-diaminodifenil eter,

4,4'-oksidifthalik dianhidrit, 4,4'-benzofenontetrakarboksilik dianhidrit ve piromellitik dianhidrit kullanılmıştır.

Bu yöntem de önce şilenk içine azot gazı gönderilerek inert ortam sağlandı, sonrasında piromellitik dianhidrit içerisine koyularak N-metilpirolidon (NMP) ile eş molar olarak çözüldü. Diamin de aynı şekilde NMP içerisinde eş molar olacak şekilde çözülerek her iki çözelti oda sıcaklığında 1 saat karıştırıldı. Renk değişiminden poliamik asit oluşumu gözlemlendi. Sonrasında ısı imidizasyon tepkimesi için çözelti kademeli olarak 3 saat içerisinde sırasıyla 100 °C, 120 °C, 150 °C ve 180 °C'ye çıkarıldı ve 180-200 °C'de 24 saat karıştırılarak poliimidler elde edildi. Bu koşullar altında, termal imidizasyonun gerçekleşmesi sonrasında su veya metanol ilavesi ile polimerler çöktürüldü. Çöken poliimidler süzülerek ayrıldı. Su ile yıkama işlemi yapıldıktan sonra monomer kalıntılarının uzaklaştırılması için eter ve N.N-dimetilformamit'te yıkama işlemi gerçekleştirildi. Sonra poliimid etüvde kurutulduktan ve öğütüldükten sonra karakterizasyon işlemleri yapıldı.

Tasarlanan elektrokimyasal sensörlerin daha seçici ve daha hassas bir şekilde çalışabilmesi için sentezlenen poliimidlere karbon nanotüp (CNT) katkılanmıştır. Çok duvarlı karbon nanotüp (MWCNT) tercih edilmiş olup sensörün genişletilmiş yüzey alanına sahip olması, elektron transferinin hızlı olması ve uzun ömürlü olması sağlanmıştır.

Sentezlenen poliimidlerin kodları, anhidritleri ve adları Çizelge 3.3.'te belirtilmiştir.

Çizelge 3.3. Çalışma kapsamında sentez ve karakterizasyonları yapılan poliimid yapıları.

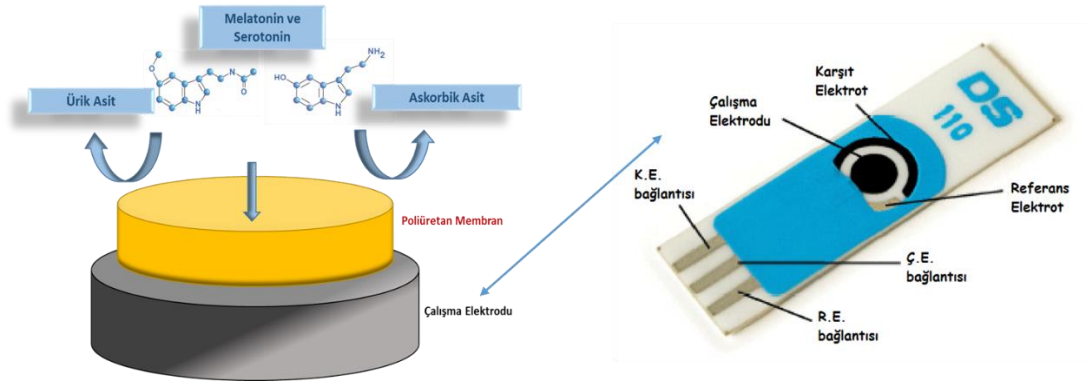
Monomer Adı	Anhidrit	Karbonnanotüp	Sentez Kodu
2,7-Diaminofloren	PMDA	-	PI-AF-PMDA
	BPDA	-	PI-AF-BPDA
	ODPA	-	PI-AF-ODPA
4,4'-diaminodifenil eter	PMDA	-	PI-AFE-PMDA
	PMDA	%3	PI-AFE-MWCNT-%3
	PMDA	%5	PI-AFE-MWCNT-%5

3.2.2. Sensörün hazırlanması

Sentezleri gerçekleştirilen polimerler perde baskılı karbon elektrot (PBKE) yüzeylerine modifiye edilerek elektrokimyasal melatonin ve serotonin tayini çalışmaları yapıldı. Farklı polimerlerle biyosensör hazırlama prosedürü Çizelge 3.4 ve Şekil 3.2’de, ölçüm prosedürü ise Çizelge 3.5’de verilmiştir.

Çizelge 3.4. Sensörün hazırlama prosedürü.

	Poliüretanlar için uygulanan işlem	Polimidler için uygulanan işlem
1	Önceden hazırlanmış poliüretanlar 2 mg, 4 mg ve 6 mg tartılarak 100 µL NMP çözeltisi içerisinde çözüldü.	Önceden hazırlanmış poliimid çözeltileri 2 µL, 3 µL ve 4 µL olacak şekilde çalışma elektrotu yüzeyine damlatılarak kaplandı.
2	Farklı yoğunlukta hazırlanan poliüretan çözeltileri 3 µL olacak şekilde çalışma elektrotu yüzeyine damlatılarak kaplandı.	Polimerin kuruması için elektrotlar 25±2 °C’de 3 gün bekletildi.
3	Polimerin kuruması için elektrotlar 25±2 °C’de 3 gün bekletildi.	Sonrasında elektrotlar kullanılmadan önce 5 dk. fosfat tamponunda (0,1M, pH:7,0) bekletildi.
4	Sonrasında elektrotlar kullanılmadan önce 5 dk. fosfat tamponunda (0,1M, pH:7,0) bekletildi.	



Şekil 3.2. Perde baskılı elektrotların modifikasyonu

Çizelge 3.5. Sensörün ölçüm prosedürü

	Uygulanan İşlem
1	Ölçüm hücreğine fosfat tamponu (0,1 M, pH 7,0) konuldu ve karıştırıcıya yerleştirildi.
2	Modifiye tek kullanımlık perde baskılı karbon elektrot (PBKE) cihaza bağlı olan konnektör kablosuna takıldı ve ölçüm hücreğine yerleştirildi.
3	350 rpm hızla karıştırılan çözelti 0 V / +1,2 V aralığında DPV tekniği ile taranarak taban akımı kaydedildi.
4	Aynı ölçüm hücreğine girişim etkisi yapan belirli miktarda ürik asit, askorbik asit ve glukoz eklendi.
5	350 rpm karıştırma hızıyla çözelti 0 V / +1,2 V aralığında DPV tekniği ile taranarak yanıtlar kaydedildi.
6	Ölçüm çözeltisinde elektroaktif türler olan ürik asit ve askorbik asit'e ait akım değerleri gözlemlenmedi.
7	Daha sonra çözeltiye belirli miktarda melatonin ve serotonin eklendi.
8	350 rpm karıştırma hızıyla çözelti 0 V / +1,2 V aralığında DPV tekniği ile taranarak yanıtlar kaydedildi.
9	Ölçüm sonrası melatonin ve serotonin derişimiyle doğru orantılı sensör yanıtları alındı. Sentezlenen polimerik filmlerin seçici geçirgen özellik gösterdiği tespit edildi.

3.3. Potansiyel Belirleme Çalışmaları

Çalışmamızın bu kısmında melatonin ve serotonin'in potansiyel taraması yapıldı. Bunun yanında ölçüm ortamında var olan girişim yapan türlerin potansiyel taraması da gerçekleştirildi.

3.3.1. Melatonin için yükseltgenme potansiyelinin belirlenmesi

Melatonin yükseltgenme potansiyelinin belirlenmesi için hem Diferansiyel Puls Voltametrisi (DPV) hem de Dönüşümlü Voltametri (CV) tekniğiyle ölçümler yapıldı. Ölçümler çıplak perde baskılı karbon elektrot ile 25 ± 2 °C'de, 350 rpm karıştırma hızında ve fosfat tamponu (0,1M, pH: 7,0) içerisinde yapıldı. Taban akımı belirlemek için sadece fosfat tamponunun (0,1M, pH: 7,0) bulunduğu ölçüm çözeltisi -1,2 V / + 1,2 V aralığında CV tekniği kullanılarak tarandı ve kaydedildi. Ölçüm çözeltisine derişimleri sırasıyla 90, 195, 290, 384 ve 475 µM olacak şekilde melatonin eklendi ve aynı potansiyel aralıklarında tarandı ve kaydedildi. Artan melatonin derişimine karşılık akımdaki değışimler incelendi ve melatoninin yükseltgenme potansiyeline karar verildi.

Melatoninin yükseltgenme potansiyelinin CV tekniği ile belirlenmesinin akabinde bir kez de tez deneylerinin yapılacağı DPV tekniği ile incelendi. Ölçümler yine çıplak perde baskılı karbon elektrot ile 25 ± 2 °C'de, 350 rpm karıştırma hızında ve fosfat tamponu (0,1 M, pH: 7,0) içerisinde yapıldı. Taban akımı belirlemek için sadece fosfat tamponunun (0,1M, pH: 7,0) bulunduğu ölçüm çözeltisi 0 V / + 1,2 V aralığında DPV tekniği kullanılarak tarandı ve kaydedildi. Ölçüm çözeltisine melatonin derişimleri sırasıyla 90, 195, 290, 384 ve 475 µM olacak şekilde melatonin eklendi ve aynı potansiyel aralığında tarandı ve kaydedildi. Yapılan DPV ölçümü sonucunda da CV ile belirlenen aynı potansiyelde akımda değışim olduğu görüldü.

3.3.2. Serotonin için yükseltgenme potansiyelinin belirlenmesi

Serotonin yükseltgenme potansiyelinin belirlenmesi için hem Diferansiyel Puls Voltametrisi (DPV) hem de Dönüşümlü Voltametri (CV) tekniğiyle ölçümler yapıldı. Ölçümler çıplak perde baskılı karbon elektrot ile 25 ± 2 °C'de, 350 rpm karıştırma hızında ve fosfat tamponu (0,1M, pH: 7,0) içerisinde yapıldı. Taban akımı belirlemek için sadece fosfat tamponunun (0,1M, pH: 7,0) bulunduğu ölçüm çözeltisi -1,2 V / +

1,2 V aralığında CV tekniği kullanılarak tarandı ve kaydedildi. Ölçüm çözeltisine serotonin derişimleri sırasıyla 10, 20, 30, 40 ve 50 μM olacak şekilde serotonin eklendi ve aynı potansiyel aralıklarında tarandı ve kaydedildi. Artan serotonin derişimine karşılık akımdaki değişimler incelendi ve serotoninin yükseltgenme potansiyeline karar verildi.

Serotoninin yükseltgenme potansiyelinin CV tekniği ile belirlenmesinin akabinde bir kez de tez deneylerinin yapılacağı DPV tekniği ile incelendi. Ölçümler yine çıplak perde baskılı karbon elektrot ile $25\pm 2^\circ\text{C}$ 'de, 350 rpm karıştırma hızında ve fosfat tamponu (0,1 M, pH: 7,0) içerisinde yapıldı. Taban akımı belirlemek için sadece fosfat tamponunun (0,1M, pH: 7,0) bulunduğu ölçüm çözeltisi 0 V / + 1,2 V aralığında DPV tekniği kullanılarak tarandı ve kaydedildi. Ölçüm çözeltisine serotonin derişimleri sırasıyla 10, 20, 30, 40 ve 50 μM olacak şekilde serotonin eklendi ve aynı potansiyel aralığında tarandı ve kaydedildi. Yapılan DPV ölçümü sonucunda da CV ile belirlenen aynı potansiyelde akımda değişim olduğu görüldü.

3.3.3. Girişim yapan türlerin potansiyel taraması

Girişim yapan askorbik asit, ürik asit, üre ve glukoz gibi türlerin potansiyel taraması yapıldı. Melatonin ve serotonin ile aynı veya yakın potansiyellerde herhangi bir yanıt verip vermediği incelendi. Ölçümler çıplak perde baskılı karbon elektrot ile $25\pm 2^\circ\text{C}$ 'de, 350 rpm karıştırma hızında ve fosfat tamponu (0,1 M, pH: 7,0) içerisinde yapıldı. Ölçümler DPV tekniği ile tez süresince taranacak olan 0 V / + 1,2 V aralığında alındı. Bunun için girişim yapan türlerin 0,5 mM derişimde olacak şekilde örnekleri hazırlanarak fosfat tamponu (0,1 M, pH: 7,0) içerisinde potansiyel taraması gerçekleştirildi ve sonuçlar kaydedildi. Ölçümler taban, melatonin ve serotonin akımları ile karşılaştırıldı.

3.4. Çıplak PBKE ile Melatonin ve Serotonin Tayin Aralığının Belirlenmesi

Tek kullanımlık çıplak perde baskılı karbon elektrotlar ile melatonin ve serotonin tayin aralığının belirlenmesi amacı ile 0,1 μM – 500 μM arasında değişen melatonin ve serotonin derişimleri ile analizler yapıldı. Ölçümlerin tamamı $25\pm 2^\circ\text{C}$ 'de, 350 rpm karıştırma hızında ve fosfat tamponu (0,1 M, pH: 7,0) içerisinde yapıldı. İstenilen derişimde hazırlanan melatonin ve serotonin 0 V / + 1,2 V aralığında

DPV tekniği ile tarandı ve sonuçlar kaydedildi. Taban akımını belirlemek için sadece fosfat tamponunda aynı potansiyel aralığında taramalar yapıldı. Elektrotlar bir sonraki ölçümler için saf su ile yıkanp yeniden hazır hale getirildi. Taban yanıtına göre elde edilen akımdaki değışimler hesaplandı ve bu veriler melatonin ve serotonin derişimine karşı grafiğe geçirildi.

3.5. PBKE'nin Farklı Polimerlerle Kaplanması ve Melatonin-Serotonin Ölçümü

Çalışmamız kapsamında tek kullanımlık perde baskılı karbon elektrotlar çeşitli poliüretan ve poliimid serileri kullanılarak kaplandı. Farklı oranlarda polifenol içeren anyonik poliüretan serileri (Çizelge 3.6) ile farklı monomer içeren poliimidler (Çizelge 3.7) kullanılmıştır.

Çizelge 3.6. Poliüretan serileri ve sentez kodları.

Polifenol Adı	Poliüretan Sentez Kodu
Kafeik Asit	PU-CA-%1, PU-CA-%3, PU-CA-%5, PU-CA-%10
Klorogenik Asit	PU-CLA-%1, PU-CLA-%3, PU-CLA-%5, PU-CLA-%10
Gallik Asit	PU-GA-%1, PU-GA-%3, PU-GA-%5, PU-GA-%10

Çizelge 3.7. Poliimid serileri ve sentez kodları.

Anhidrit	Adı	Poliimid Sentez kodu
PMDA	Poli[2,7-diaminofloren-piromellitimid]	PI-AF-PMDA
BPDA	Poli[2,7-diaminofloren-3,3',4,4'-benzofenontetrakarboksilikdiimid]	PI-AF-BPDA
ODPA	Poli[2,7-diaminofloren- 4,4'-oksidifitalikdiimid]	PI-AF-ODPA
PMDA	Poli[4,4'-diaminodifenileter- piromellitimid]	PI-AFE-PMDA
PMDA	Poli[4,4'-diaminodifenileter- piromellitimid]	PI-AFE-MWCNT-%3
PMDA	Poli[4,4'-diaminodifenileter- piromellitimid]	PI-AFE-MWCNT-%5

Poliüretan polimerler 2, 4 ve 6 mg tartılarak 100 µL NMP’de çözüldü. Perde baskılı karbon elektrotların çalışma elektrot yüzeylerine 3 µL damlatıldı ve 25±2 °C’de 3 gün kurumaya bırakıldı. Poliimid polimerleri ise elektrot yüzeylerine 2, 3 ve 4 µL damlatıldı ve 25±2 °C’de 3 gün kurumaya bırakıldı.

Farklı hacimlerde polimerler damlatılarak hazırlanan elektrotlar ile 0,5 mM melatonin ve 0,25 mM serotonin çözeltileri için ölçümler yapıldı. Tüm ölçümler 25±2 °C’de ve 350 rpm karıştırma hızında ve 0,1 M, pH:7,0 fosfat tamponunda gerçekleştirildi. Ölçümler 0 V / +1,2 V aralığında ve DPV tekniği ile tarandı ve sonuçlar kaydedildi. Elde edilen sonuçlar birbirleriyle karşılaştırıldı. Her bir polimer serisi için alınan en yüksek akım değeri 100 olarak kabul edildi ve diğer akım değerleri de buna göre oranlanarak bağıl değerler elde edildi. Bu sonuçlar ışığında kaplanan polimer hacmi ile % biyosensör cevabı arasında grafikler hazırlandı.

3.6. Hazırlanan Sensörün Optimizasyon Çalışmaları

Farklı poliüretan ve poliimid serileri ile hazırlanan sensörler için melatonin ve serotonin ölçümü, optimum sıcaklık ve pH’ın belirlenmesi kapsamında optimizasyon çalışmaları yapıldı.

Hazırlanan sensörün melatonin ve serotonin cevabı ve doğrusal çalışma aralığı belirlendi. Bunun için hazırlanan 10 mM Melatonin ve 10 mM serotonin çözeltileri ölçüm hücrelerine belli hacimlerde eklenerek artan melatonin ve serotonin derişimlerine karşın ölçülen sensör yanıtı grafiğe geçirildi. Ölçümler ölçümler 25±2 °C’de 350 rpm karıştırma hızında ve 0 V / +1,2 V arasında gerçekleştirildi. Sonuçlar kaydedildi.

Farklı polimerler ile kaplanmış perde baskılı karbon elektrotların optimum pH aralığının belirlenmesi amacı ile pH’sı 6,0, 6,5, 7,0, 7,4 ve 8,0 olan fosfat tampon çözeltileri içerisinde 0,5 mM melatonin ve 0,25 mM serotonin olacak şekilde bu çözeltilerden eklenerek ölçümler yapıldı. Ölçümler 25±2 °C’de 350 rpm karıştırma hızında ve 0 V / +1,2 V arasında DPV tekniği ile taramalar gerçekleştirildi. Melatonin ve serotoninin yanıt verdikleri potansiyelde ki artışlar hesaplandı. Farklı polimerler ile kaplanan sensörler ile farklı pH’lar daki sensör yanıtlarında en yüksek akım değeri farklı 100 olarak kabul edildi ve diğer akım değerleri, en yüksek akım değerleri ile oranlanarak bağıl değerler hesaplandı. Elde edilen veriler ışığında her bir sensör için,

pH ile % sensör cevabı arasında çizilen optimum pH grafiklerinden çalışma tamponu tespit edildi.

Farklı polimerler ile kaplanmış perde baskılı karbon elektrotların optimum sıcaklık aralığının belirlenmesi amacı ile sıcaklık 15 – 40 °C olan fosfat tampon çözeltileri içerisinde 0,5 mM Melatonin ve 0,25 mM serotonin olacak şekilde bu çözeltilerden eklenerek ölçümler yapıldı. Ölçümler 25±2 °C’de 350 rpm karıştırma hızında ve 0 V / +1,2 V arasında DPV tekniği ile taramalar gerçekleştirildi. Melatonin ve serotoninin yanıt verdikleri potansiyelde ki artışlar hesaplandı. Farklı polimerler ile kaplanan sensörler ile farklı sıcaklıklar daki sensör yanıtlarında en yüksek akım değeri farkı 100 olarak kabul edildi ve diğer akım değerleri, en yüksek akım değerleri ile oranlanarak bağıl değerler hesaplandı. Elde edilen veriler ışığında her bir sensör için, sıcaklık ile % sensör cevabı arasında çizilen optimum sıcaklık grafiklerinden çalışma sıcaklığı tespit edildi.

Farklı poliüretan ve poliimid’ler ile hazırlanan sensörlerin optimizasyon işlemleri sonrasında karakterizasyon çalışmalarına başlandı. Bu çalışmalar kapsamında melatonin ve serotoninin tayinine yönelik doğrusal tayin aralığı, girişim etkileri, tekrarlanabilirlik, ve depo kararlılığının belirlenmesi için analizler gerçekleştirildi.

3.6.1. Hazırlanan sensörlerin melatonin ve serotoninin tayinine yönelik doğrusal tayin aralığının belirlenmesi

Poliüretan ve poliimidler ile kaplanarak hazırlanan ve optimize edilen sensörler ile 1 µM – 8 mM arasında değişen melatonin ve serotonin derişimlerini içeren çözeltiler ile ölçümler yapıldı. Ölçümlerin tamamı 25±2 °C’de, 0,1 M, pH:7,0 fosfat tamponunda, 350 rpm karıştırma hızında ve 0 V / +1,2 V arasında DPV tekniği ile gerçekleştirildi. Ayrıca sadece fosfat tamponunda (0,1 M, pH:7,0) taban akımını belirlemek için taramalar yapıldı. Bu veriler ışığın farklı polimerler ile hazırlanan sensörler için melatonin ve serotonin derişimlerine karşılık akım değışimleri grafiğe geçirildi ve doğrusal tayin aralıkları tespit edildi.

3.6.2. Sensörün melatonin ve serotonin ölçümleri için tekrarlanabilirliği

Hazırlanan sensörün optimum şartlarda tekrarlanabilir olduğunu gösterebilmek amacıyla ölçüm hücre sine 0,61 mM – 1,22 mM arasında değişen melatonin ve serotonin derişimlerini içeren çözeltiler eklendi ve 25 ± 2 °C’de, 0,1 M, pH:7,0 fosfat tamponunda, 350 rpm karıştırma hızında ve 0 V / +1,2 V arasında DPV tekniğı ile 10 defa ölçüm alındı. Her polimer ile hazırlanan sensör için yapılın bu ölçümler sonucu elde edilen veriler ile ortalama değ er ve standart sapmalar hesaplandı.

3.6.3. Sensörün depo kararlılığı

Farklı polimerlerin kaplanması ile hazırlanan sensörün raf ömrünün belirlenebilmesi amacıyla 1,22 mM melatonin ve 0,61 mM serotonin erişimleri için ölçümler alındı. Bu ölçümler sensörün hazırlandığı günden itibaren her hafta 1 defa olmak üzere 30 günlük bir depo kararlılığı belirlendi. Analizler 25 ± 2 °C’de, 0,1 M, pH:7,0 fosfat tamponunda, 350 rpm karıştırma hızında ve 0 V / +1,2 V arasında DPV tekniğı ile gerçekleştirildi. Elektrotlar kapalı bir kutuda oda sıcaklığında muhafaza edildi. Ölçümler sonucunda sensör yanıtları saklama süresine karşı grafiğı geçirilerek elektrodun raf ömrü belirlendi.

3.6.4. Girişim yapan türlerin melatonin ve serotonin yanıtına etkisi

Ölçüm çözeltileri içerisinde askorbik asit, ürik asit, üre ve glukoz varken 0,5 mM melatonin ve 0,25 mM serotonin için ölçümler alınarak ölçüm sonuçları üzerine bu türlerin etkileri incelendi. Ölçümler çıplak perde baskılı karbon elektrot ile 25 ± 2 °C’de, 350 rpm karıştırma hızında ve fosfat tamponu (0,1 M, pH: 7,0) içerisinde yapıldı. Ölçüm çözeltilisine ilk olarak girişim yapan türlerden sadece 0,5 mM varken sonrasında ise melatonin ve serotonin varken 0 V / + 1,2 V aralığında DPV tekniğı ile tarandı ve sonuçlar kaydedildi.

4. ARAŞTIRMA BULGULARI

Çalışmamız kapsamında tek kullanımlık perde baskılı karbon elektrotların yüzeyleri poliüretan ve poliimid polimerleri ile kaplanarak seçici geçirgen bir film elde edilmiştir. Bu amaç doğrultusunda seçici geçirgen filmlerin sentezinde poliüretan ve poliimidlerin tercih edilme sebepleri uygulama kolaylığı, farklı modifikasyonlar ile polimer çeşitliliğinin sağlanabilmesi, dayanıklılığı ve kolay film haline getirilebilmesidir.

Tez kapsamında etilen glikol ve polifenol (kafeik asit, gallik asit ve klorogenik asit) kaynakları yanında 4,4'-diizosiyanodifenilmetan kullanılarak aromatik bir yapıya sahip poliüretan sentezleri gerçekleştirilmiştir. Sentezdeki çeşitlilik, yapıdaki poliollerin değiştirilmesi ya da modifikasyonu ile sağlanmıştır. Ayrıca poliimid sentezleri çözelti polimerizasyon tekniği ile dipolar aprotik çözügen kullanılmış olup monomer olarak 2,7-Diaminofloren, 4,4'-diaminodifenil eter yanında farklı anhidritler kullanılmıştır.

Gerçekleştirilen bu sentezlerdeki polimerik birimlerin yapısal karakterizasyonu, saflığı ve hedeflenen yapının doğrulanması FTIR, SEM, sıvı temas açısı, DTA, TGA ve DSC teknikleri ile gerçekleştirilmiş ve bu bilgiler doğrultusunda polimerlerin yapısal uygunluk, esneklik, düzgün film özelliği ve yüksek adhezyon gibi özelliklere sahip olduğu tespit edilmiştir.

Polimerin yapısal ve termal kararlılığı oldukça yüksek olup elektrot hazırlama işlemlerinde polimerik film olarak kullanılabilirlik açısından uygundur. Poliimid'lere MWCNT katkılanarak yüzey alanını artıracak şekilde geniş bir kavite ve fragtal bir yapı oluşturulmuş ve bu sayede uygun bir seçicilik ve selectivite sağlanmıştır. Polimerlerin istifleme yoğunluğu, yük dağılımı ve farklı yapıları sayesinde her bir molekül için farklı geçiş yolları sunularak seçicilik ve farklı difüzyon özellikleri kazandırılmış ve aynı metabolik yolda bulunan melatonin ve serotoninin eşzamanlı tayininin yapılabilmesinde uygun birer araç olarak görülmüştür.

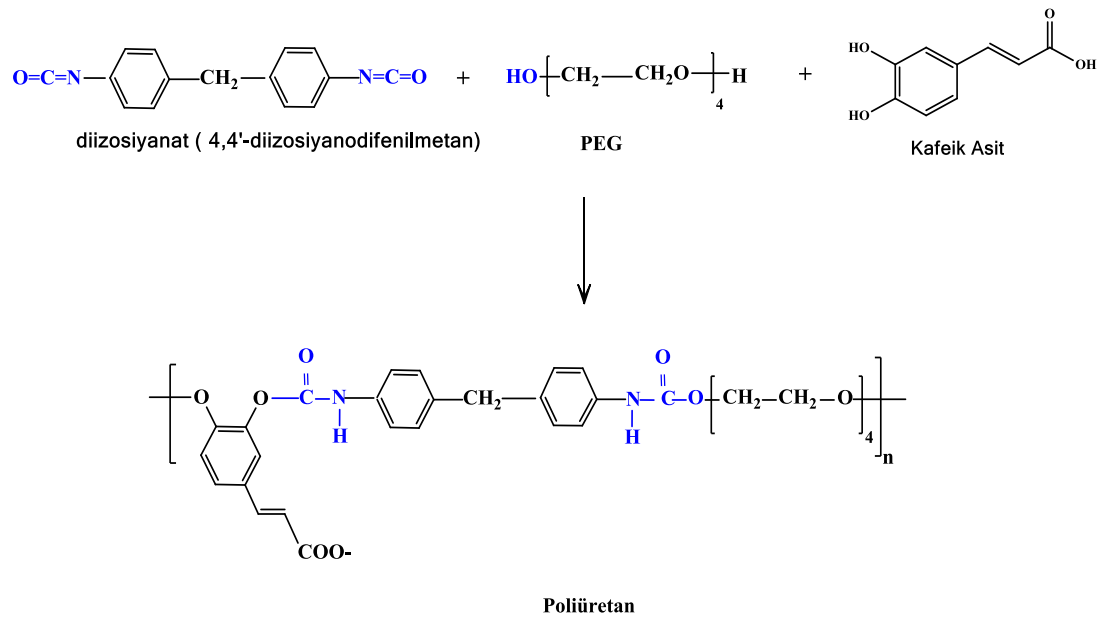
4.1. Poliüretan ve Poliimid Yapılarının Karakterizasyon Çalışmaları

Gerçekleştirilecek çalışma ile sentezlenen poliüretanlar da polifenol miktarlarının ve poliimidler deki monomer, anhidrit ve karbon nanotüp oranlarının polimerik membranların geçirgenlik miktarına etkisi ve sensör yanıtlarının duyarlılık ve doğruluğunun polimer morfolojisi üzerinden yorumlanması sağlanacaktır.

4.1.1. Kafeik asit temelli aromatik yapıli poliüretanların karakterizasyonu

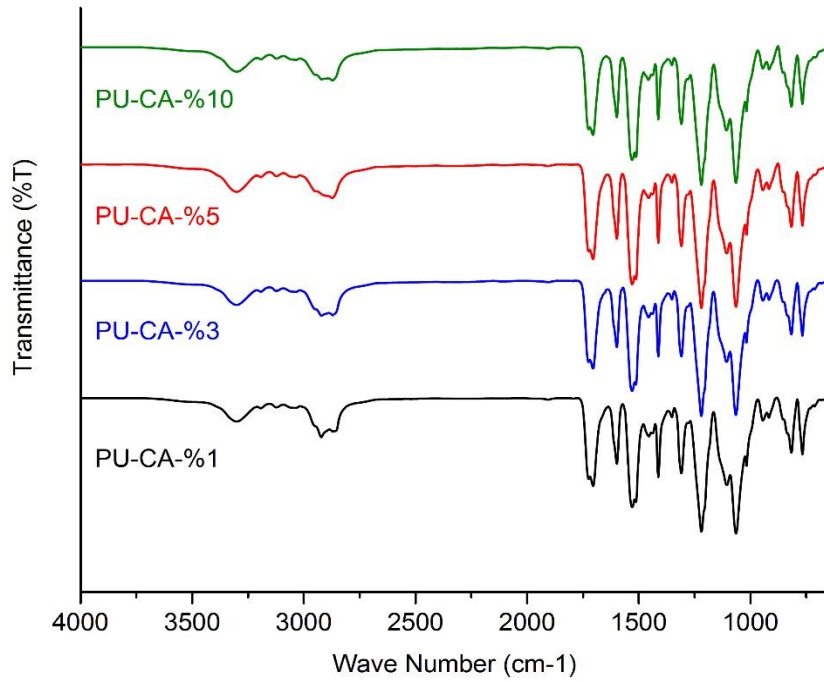
Poliüretan sentezlerinde polifenolleri poliöl kaynağı olarak kullanan çalışmalar oldukça sınırlıdır. Bu kapsamda çalışmamızda kafeik asit, gallik asit ve klorojenik asit olmak üzere 3 adet polifenölün polimer zincir esnekliğı, yüzey adezyonu bakımından polimer özelliklerine etkisi ve polimer çapraz bağlanma yoğunluğu incelenmiştir.

Kafeik asitin poliöl olarak kullanıldığı poliüretanlara ait sentez şeması Şekil 4.1’de, FTIR spektrumları ise Şekil 4.2’de verilmiştir. Bu spektrum incelendiğinde yapısal olarak hem aromatik yapıli diizosiyanatlar hem de kafeik asit gruplarından kaynaklanan pikleri diöl piklerinin yanında sıkça görmekteyiz. Bu nedenle özellikle spektrumda 650-1750 cm^{-1} arasında pek çok pik bulunmaktadır. Yaklaşık 1715 cm^{-1} ’de ikili bir karbonil piki görölmektedir. Bu piklerden 1718 cm^{-1} ’de üretan bağına ait karbonil pikini görüyoruz. Aynı zamanda 1714 cm^{-1} ’de ise kafeik asitten kaynaklı olarak C=O pikini görmekteyiz.



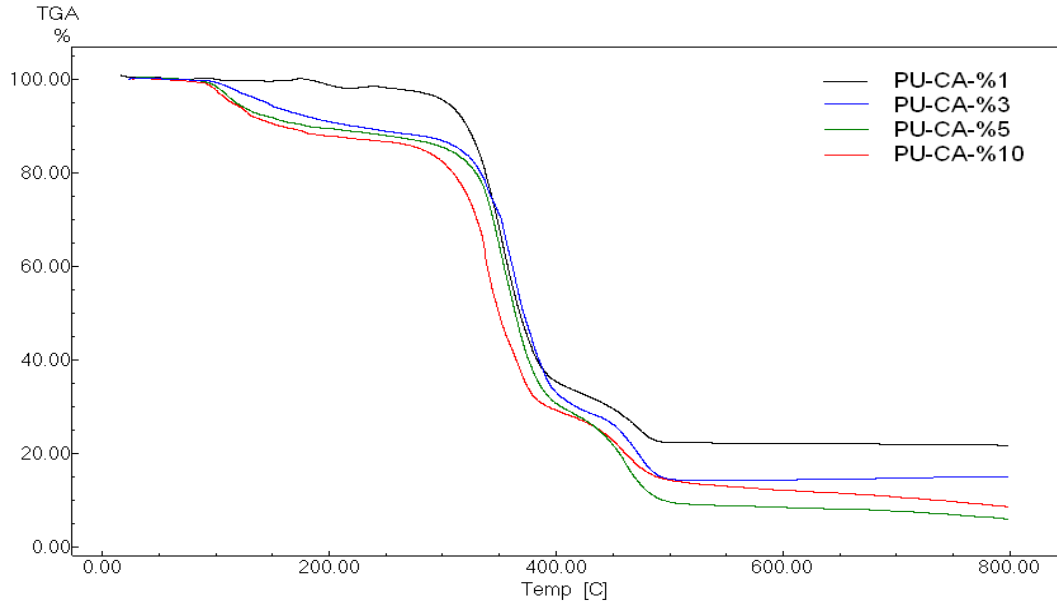
Şekil 4.1. Kafeik asit temelli poliüretanların genel sentez şeması.

Yine ürethan bağı C-N titreşimi 1530 cm^{-1} ve 1440 cm^{-1} 'de görülmekte ve yapıdaki ürethan bağına ispatlamaktadır. 1274 cm^{-1} ' de C-O-C eterik pikini görmekteyiz. Bu pik poliol bağlantı noktasından kaynaklanmaktadır. Özellikle kafeik asit yapısında ise 825 cm^{-1} ' de aromatik C-H gerilme titreşimi ve C=C alifatik karakterli alkenik piki 1220 cm^{-1} ' de görülmektedir. Ayrıca kafeik asit ve diizosiyanat yapısından kaynaklı alifatik CH_2 grubu $2800\text{-}2900\text{ cm}^{-1}$ ' de üçlü bir pik grubu olarak beklenen yapıyı doğrulamaktadır. Tüm yapı tüm piklerde benzer seyretmesine rağmen kafeik asit miktarı arttıkça 2220 cm^{-1} ' deki pikin genliği de büyümektedir.

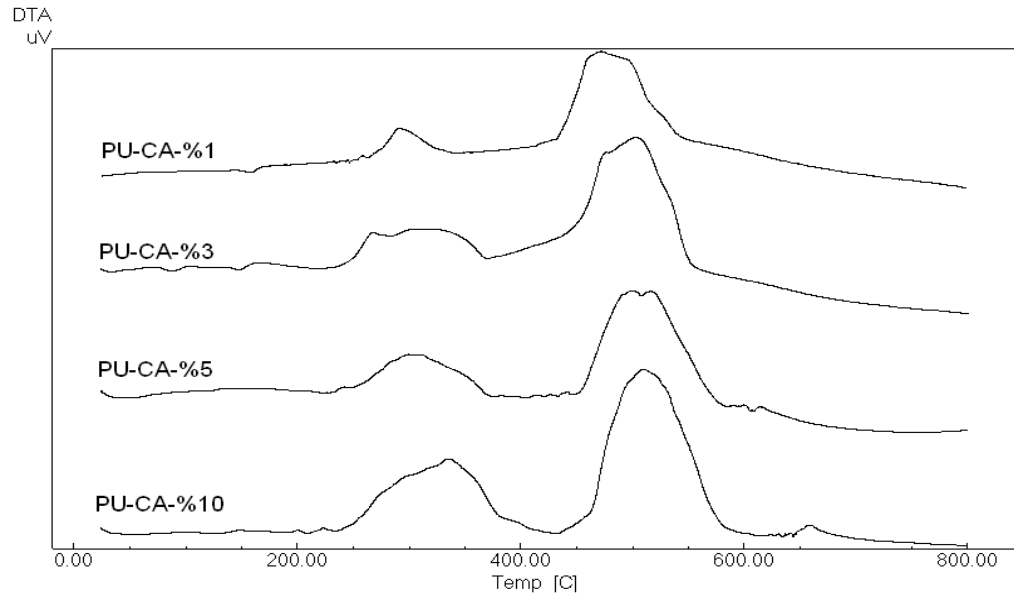


Şekil 4.2. Kafeik asit temelli poliüretanların FTIR spektrumları.

Kafeik asit temelli poliüretanın termal karakterizasyonu ise TGA, DTA ve DSC termogramlarıyla incelenmiştir. Şekil 4.3, 4.4 ve 4.5' de bu termogramlar görülmektedir. Termogramlar incelendiğinde kafeik asit miktarı arttıkça yapıdaki bağlı pendant grup arttığından zincirlerin istiflenme yoğunluğu düşecek ve böylece Tg değeri artacaktır. Buna rağmen düşük yanma ısisına sahip olan kafeik asit gruplarının yapıya girmesi oluşan polimerin termal kararlılığının düşmesine neden olmaktadır. Bu termal özelliğin değişimini hem DTA hem de TGA spektrumlarında açıkça görmekteyiz.

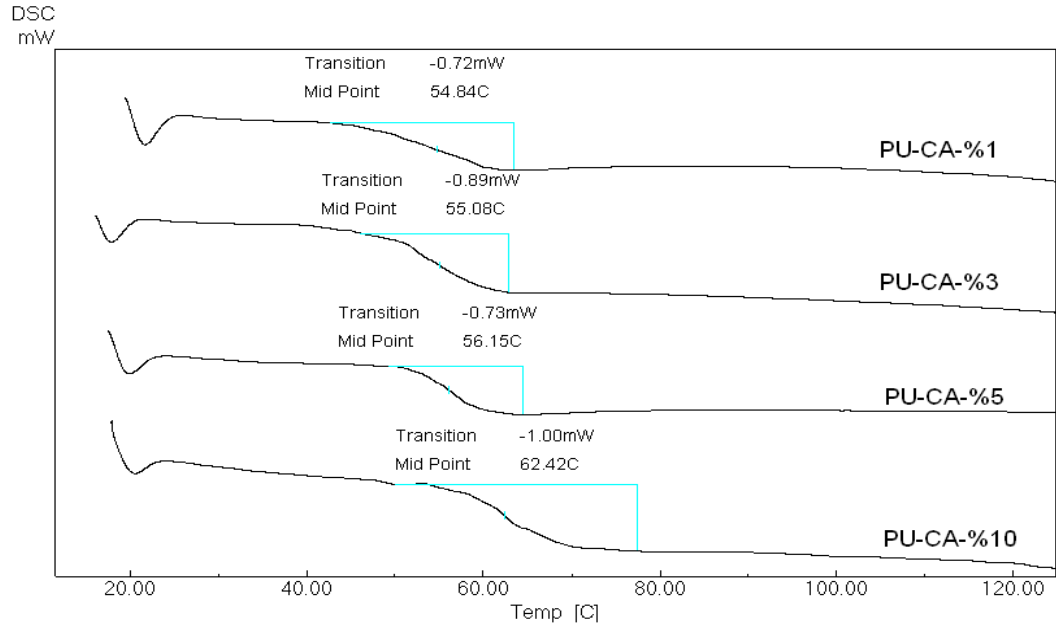


Şekil 4.3. Kafeik asit temelli poliüretanların TGA termogramları.

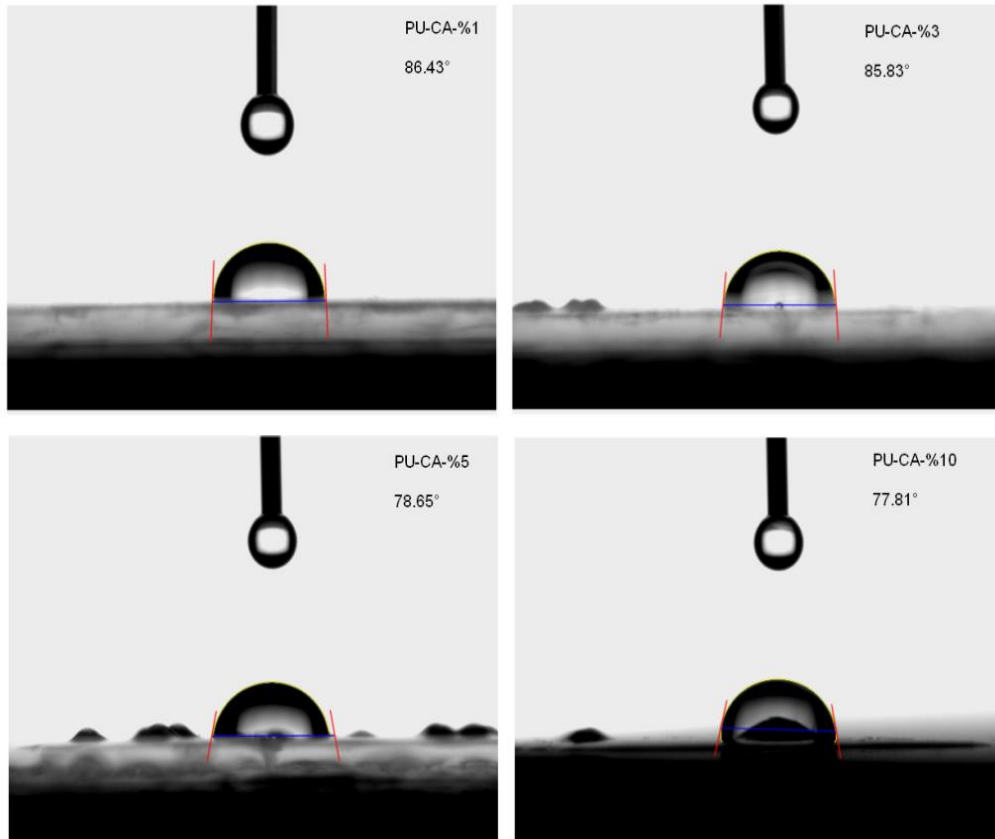


Şekil 4.4. Kafeik asit temelli poliüretanların DTA termogramları.

Sonuç olarak kafeik asit üniteleri oluşan polimerin yüzey kısımlarına yoğunlaşmakta ve polimerizasyonun ilerleyen aşamalarında yüzeydeki hidrofilik karakteri artırmaktadır. Bu da sıvı temas açısının oluşan polimerde sürekli olarak azalmasına neden olmaktadır. Şekil 4.6'da verilen sıvı temas açısı ölçümleri bu bulguyu doğrulamaktadır. Elde edilen polimerlere ait sıvı temas açısı değerleri 86.43, 85.83, 78.65 ve 77.81°' dir.

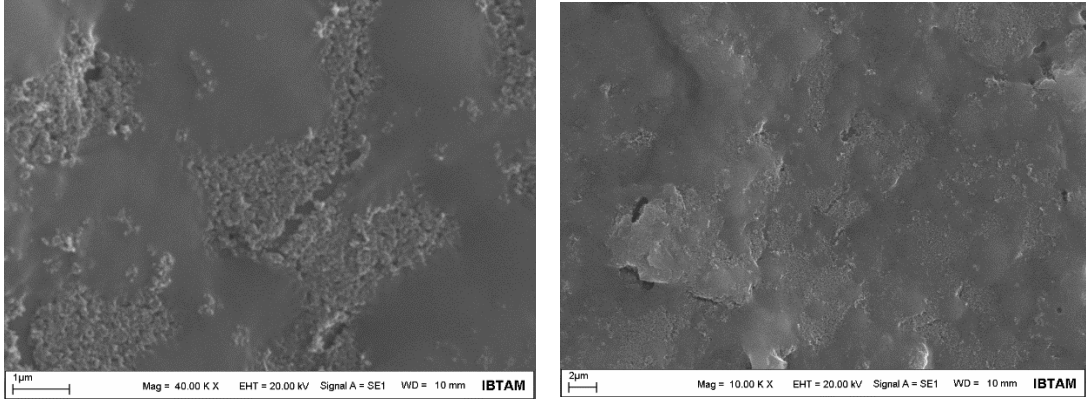


Şekil 4.5. Kafeik asit temelli poliüretanların DSC termogramları ve Tg değerleri.



Şekil 4.6. Kafeik asit temelli poliüretanların sıvı temas açısı görüntüleri.

Şekil 4.7’de gösterilen SEM görüntülerinden polimer yapısının oldukça homojen olduğu görülmektedir. Yapı bütünsel olarak izlenmiş olup kaplama yüzeyi kaviteli ve yüzey alanını büyütecek şekilde gerçekleşmiştir. Yer yer gözeneklilik hakim olup bu gözeneklilik ve artan yüzey alanı sensör duyarlılığını artıracak şekilde pozitif bir etki yapmaktadır.

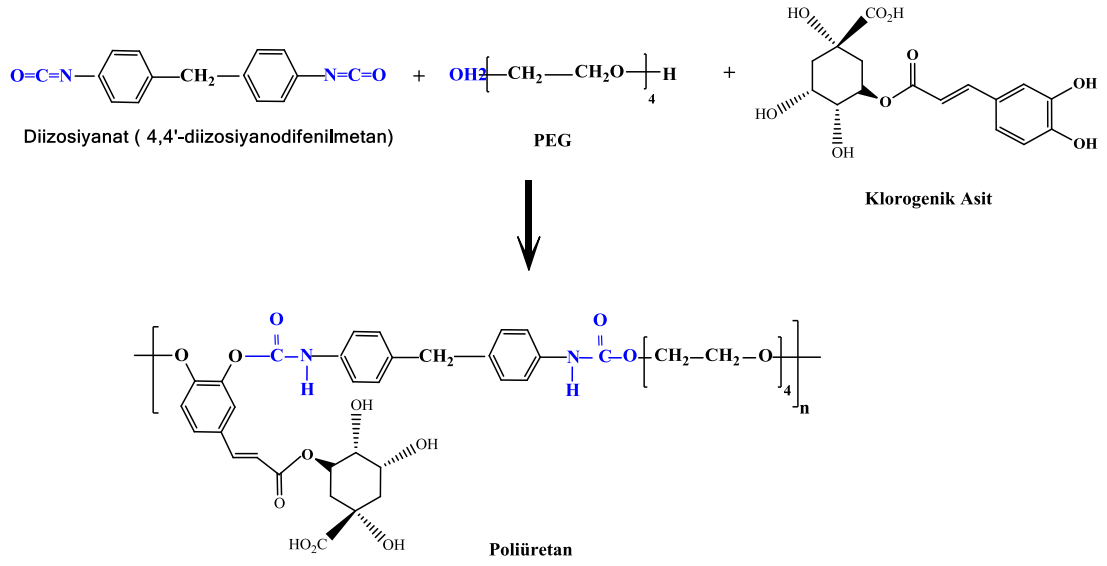


Şekil 4.7. Kafeik asit temelli poliüretanların SEM görüntüleri.

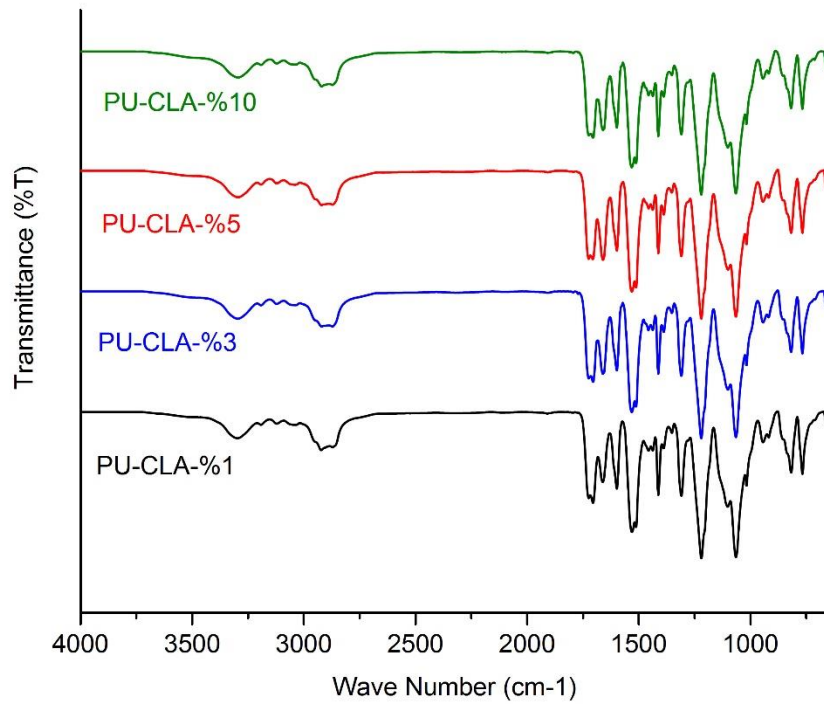
4.1.2. Klorogenik asit temelli aromatik yapıli poliüretanların karakterizasyonu

Klorogenik asit çalışma kapsamında kullanılan en büyük polifenol molekülüdür. Yapı kısmen kafeik asit yapısına benzemekle beraber daha fazla miktarda OH grubu taşır. Bu da çok düşük oranlarda bile polimer özelliklerinin oldukça fazla değişmesine neden olmaktadır. Temelde 6 farklı OH grubu içeren polifenolün artan oranlarda polimerik yapıya girmesi ile fonksiyonel grup eşitsizliği fazlaca artmaktadır. Bu da polimer yapısını oldukça değiştirir. Öncelikle aşırı bir çapraz bağlanma etkisi gözlenir, polimer çok çabuk esnekliğini yitirerek sert bir hal alır. Bu da yapının termal kararlılığının hızlı düşüşüne yol açar.

Klorogenik asitin poliöl olarak kullanıldığı poliüretanlara ait sentez şeması Şekil 4.8’de verilmiştir.



Şekil 4.8. Klorogenik asit temelli poliüretanların genel sentez şeması.



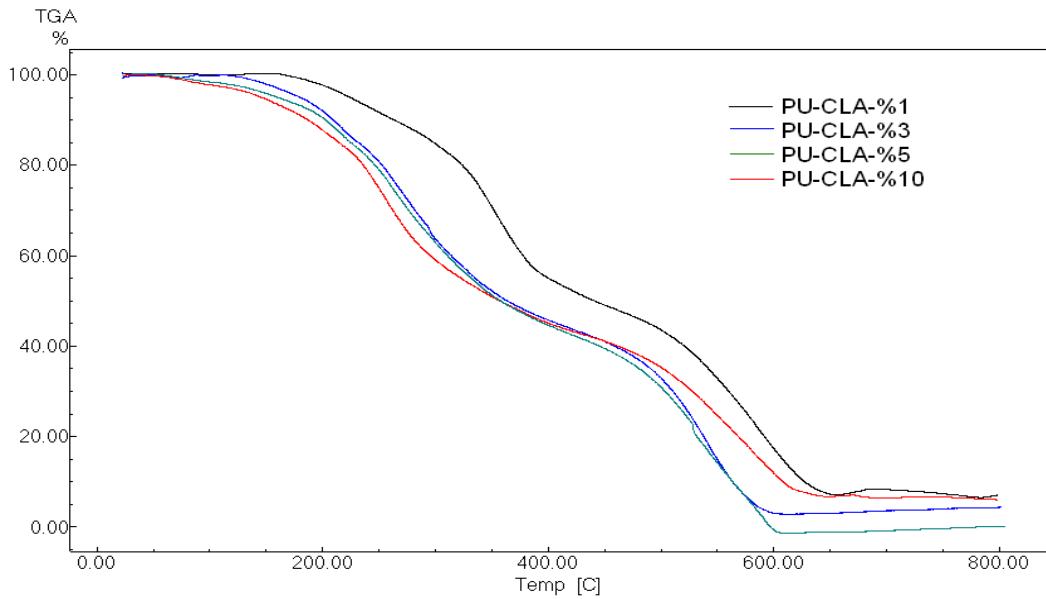
Şekil 4.9. Klorogenik asit temelli poliüretanların FTIR spektrumları.

Klorogenik asit içeren polimerlere ait FTIR spektrumları Şekil 4.9'de verilmiştir. Şekil incelendiğinde 3320 cm^{-1} 'de N-H gerilme titreşimlerini görmekteyiz. Yine 2954 cm^{-1} 'de üçlü bir pik olarak diizosiyanattan kaynaklanan alifatik C-H

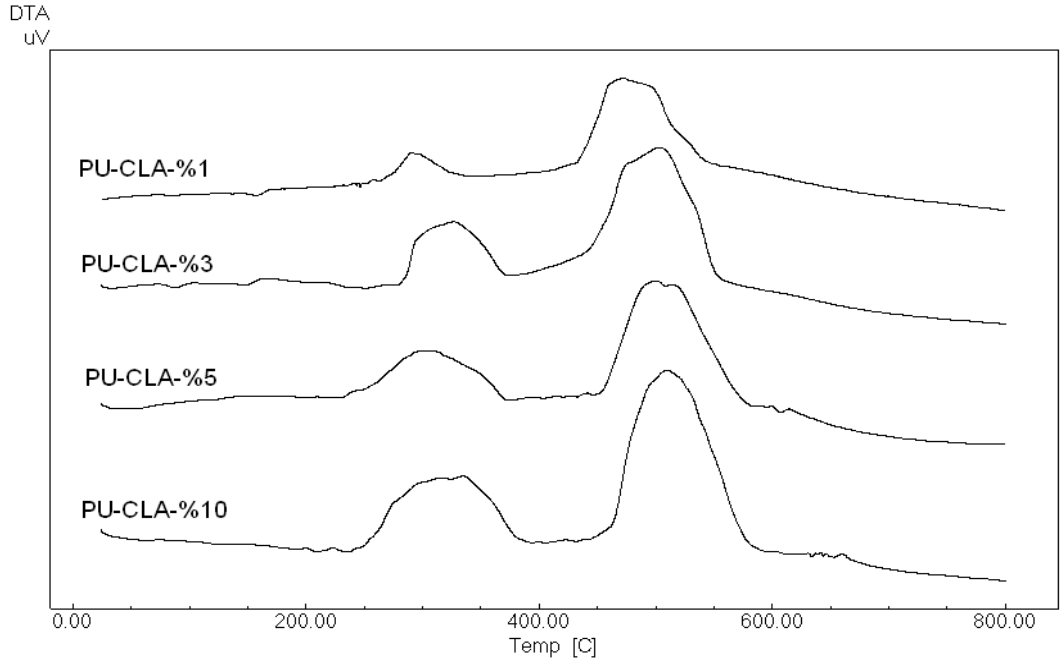
gerilme titreşimlerini görmekteyiz. Karbonil gruplarına ait gerilme titreşimleri hem klorogenik asitten kaynaklı CO (1702 cm^{-1}) hem de ürean karbonili (1716 cm^{-1}) olarak görülmektedir. 1532 cm^{-1} 'de C-N gerilme titreşimini açıkça görmekteyiz.

Klorogenik asit yapısının bağlanması sırasında oluşan C-O-C eterik gerilme titreşimini 1740 cm^{-1} 'de ve daha serbest olan diolün bağlanmasını ise 1273 cm^{-1} 'de eterik bir gerilme titreşimi olarak açıkça görmekteyiz. Aromatik fenilik grupların CH gerilme titreşimlerini ise 774 ve 825 cm^{-1} 'de görmekteyiz. Tüm bu veriler istenilen yapıların uygun olduğunu bize ispatlamaktadır.

Daha önce bahsedilen nedenlerden kaynaklı olarak klorogenik asit artışına bağlı olarak polimerin termal kararlılığı oldukça fazla düşmektedir. Şekil 4.10 ve Şekil 4.11'de verilen TGA ve DTA termogramları bu değişimleri açık bir şekilde göstermektedir. Bu termogramlar incelendiğinde özellikle TGA termogramında üç farklı kütle kaybı söz konusudur. Birinci kütle kaybı polimer yapısındaki çapraz bağlanma noktalarının kırılmasından kaynaklanmaktadır. Aynı zamanda yüzey hidroksillerinin su elimine edecek şekilde uzaklaşması da bu esnada gerçekleşir. İkinci kütle kaybı alifatik karakterli bağların kırılmasına istinaden oluşur. Özellikle klorogenik asit yapısındaki alifatik halkanın parçalanması bu esnada gerçekleşir. Son kütle kaybı ise aromatik grupların degradasyonunu gösterir. Şekil 4.11'de verilen DTA termogramı bunu desteklemektedir. Üç ya da dört temel ekzotermik pik görülmektedir.

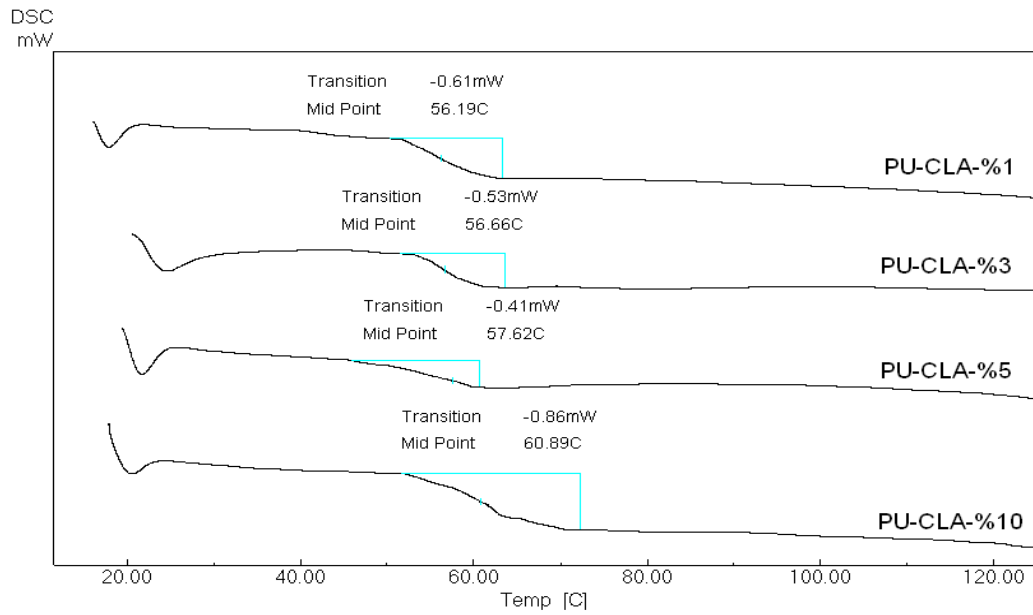


Şekil 4.10. Klorogenik asit temelli poliüretanların TGA termogramları.



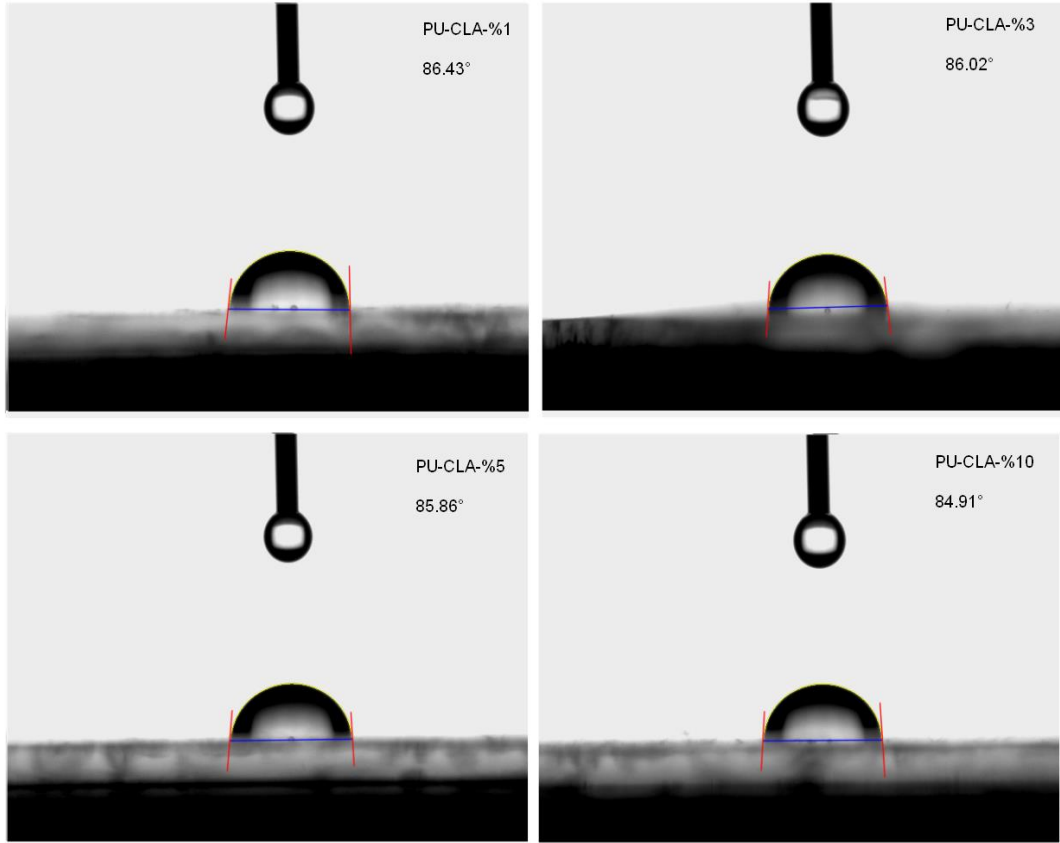
Şekil 4.11. Klorogenik asit temelli poliüretanların DTA termogramları.

Şekil 4.12’de DSC termogramlarını incelediğimizde klorogenik asit taşıyan poliüretanlarda diğer sentezlenen yapılara bağlı olarak daha yüksek bir polimerik yapı sertleşmesi söz konusudur. Zincir hareketleri aşırı çapraz bağlanmadan dolayı oldukça fazla oranda engellenmiştir. Bu da Tg değerinin yükselmesine neden olur.



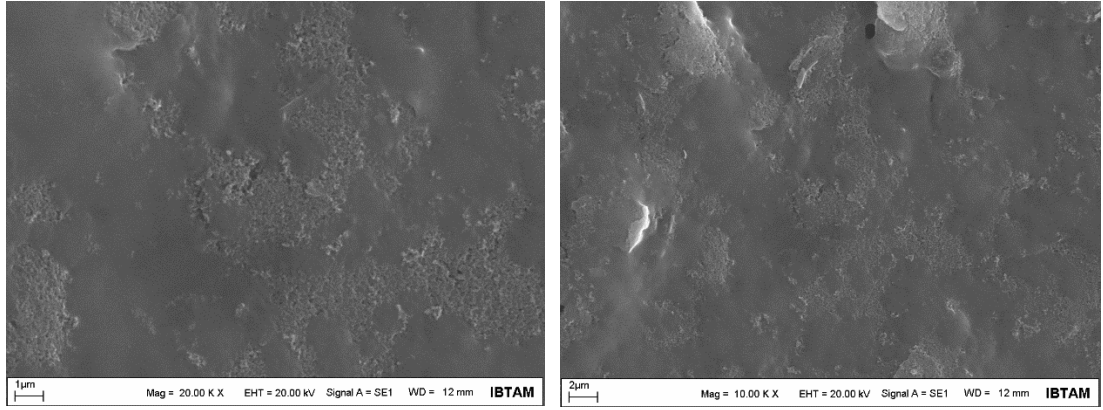
Şekil 4.12. Klorogenik asit temelli poliüretanların DSC termogramları ve Tg değerleri.

Klorogenik asit taşıyan polimerlere ait sıvı temas açısı görüntüleri Şekil 4.13’de gösterilmiştir. Polimerik yapının hidrofilik karakterini gösteren bu değişim klorogenik asitte oldukça yüksek oranda değişmektedir. Çünkü çok düşük miktarda bile klorogenik asit kullanılınc polimer yapısında fazlaca OH grubu oluşmakta bu da polimerin hidrofilik karakterini artırmaktadır.



Şekil 4.13. Klorogenik asit temelli poliüretanların sıvı temas açısı görüntüleri.

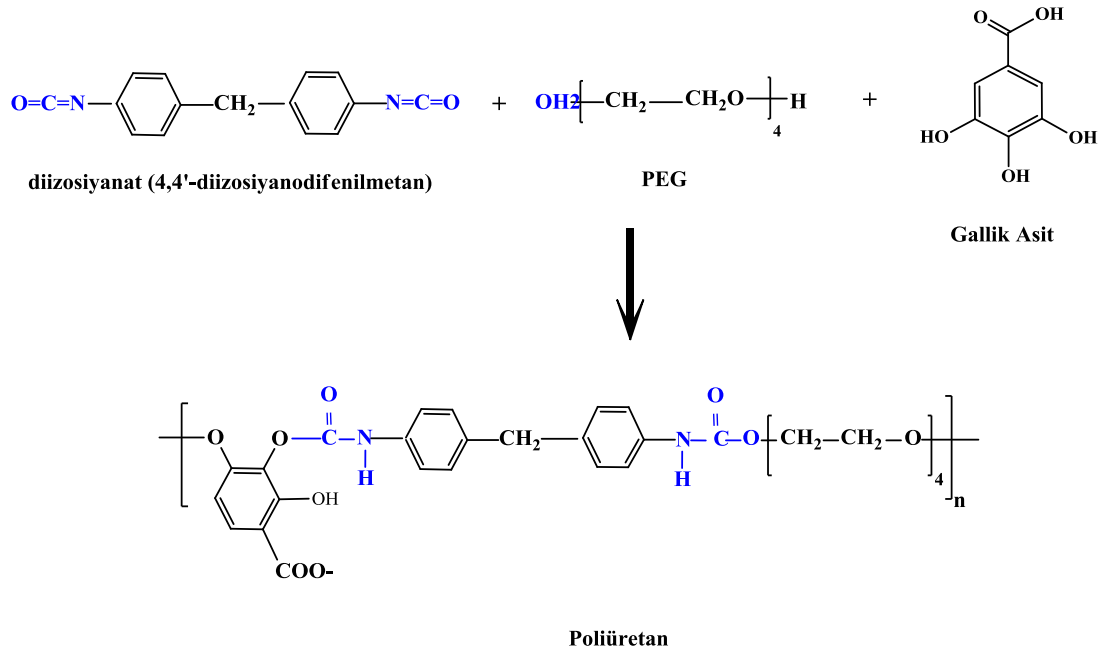
Şekil 4.14’de gösterilen SEM görüntülerinden klorogenik asit temelli poliüretan kaplamaların yapısal olarak fragtal görüntüleri izlenmiştir. Kısmi bölgelerde düzgün film formasyonu görülürken belirgin gözeneklilikte bulunmaktadır. Bu gözeneklilik yüksek büyütmede daha belirgin olarak görülmektedir. Bu gözenekli yapı seçici elektrot yüzeyi oluşturabilmek için önemli bir avantaj sunmaktadır. Ayrıca SEM görüntülerinde polimer film yapısının saf ve homojen olduğuda görülmektedir. Görüntüler tekdüze ve yabancı fazlar görülmediği için bu homojen yapı doğrulanmaktadır.



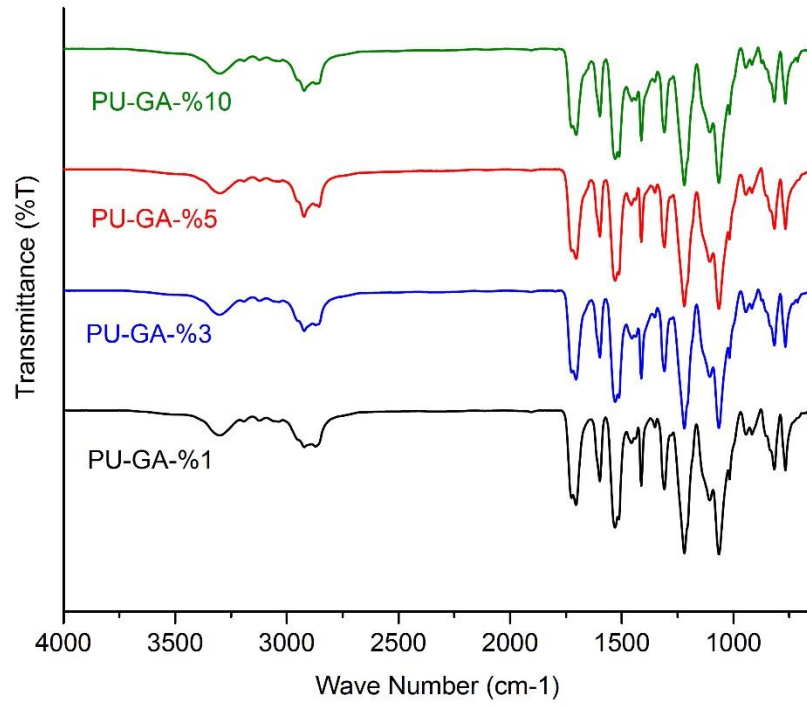
Şekil 4.14. Klorojenik asit temelli poliüretanların SEM görüntüleri.

4.1.3. Gallik asit temelli aromatik yapıli poliüretanların karakterizasyonu

Aromatik diizosiyanat ile gallik asit grupları kullanılarak gerçekleştirilmiş olan poliüretan sentezi sonucunda elde edilen polimerlere ait genel sentez şeması Şekil 4.15’de ve FTIR spektrumları ise Şekil 4.16’da verilmiştir. İlgili FTIR spektrum incelendiğinde serbest izosiyanat gruplarına ait pik görülmemektedir. Bu spektrum istenilen poliüretan yapısının oluştuğunu bize göstermektedir. Ayrıca poliüretan yapısı oluşumunu ispatlayan diğer bir unsur da di ve tri hidroksi bileşiklerinin serbest konumda $3000-3400\text{ cm}^{-1}$ ’de geniş bir OH hidrojen bağı gerilme titreşimi vermesidir. Bu pik yerini $3200-3300\text{ cm}^{-1}$ ’de daha küçük karakterli N-H simetrik gerilme titreşimine bırakmıştır. Bu N-H bağının spektrumda bulunması üretan oluşumunu ispatlamaktadır. Ayrıca gallik asit yapısındaki asit gruplarından kaynaklı C=O karbonil grubuna ait 1715 cm^{-1} ’de şiddetli bir pik görülmektedir. Dört farklı orandaki polimerizasyon çalışmalarının hepsine ait FTIR spektrumlarında karakteristik üretan bağlarını net bir şekilde görmekteyiz. Bunlar; 1723 cm^{-1} ’de üretan bağı karbonil grubu, $2890-2950\text{ cm}^{-1}$ ’de alifatik CH gerilme titreşimi, 1560 cm^{-1} ’de N-O gerilme titreşimi ve 1440 cm^{-1} ’de C-N gerilme titreşimi üretan bağına ait piklerdir, yapının uygunluğunu bize göstermektedir.

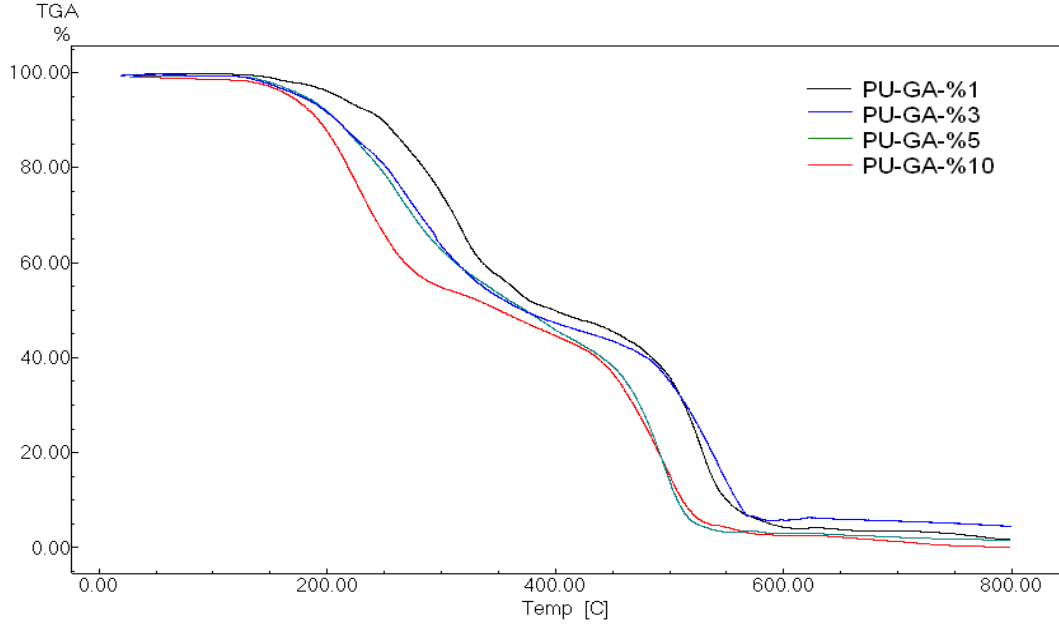


Şekil 4.15. Gallik asit temelli poliüretanların genel sentez şeması.

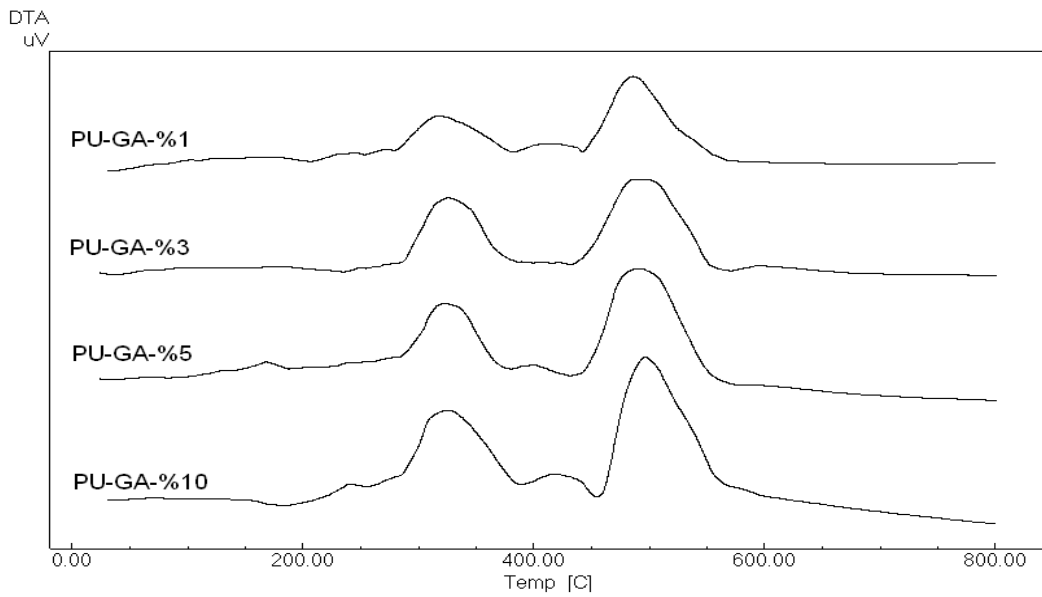


Şekil 4.16. Gallik asit temelli poliüretanların FTIR spektrumları.

Diol bileşiği yanında farklı oranlarda gallik asit içeren polimerlerin TGA termogramları incelendiğinde üç temel kütle kaybı söz konusudur (Şekil 4.17). Klorogenik asit benzeri olan bu kütle kayıpları farklı oranlarda gallik asitin yapıya girmesiyle polimerik termal kararlılığının kısmen düştüğünü göstermektedir. Düşüş oranı %10 gallik asit kullanıldığında 40 °C kadar görülmekle beraber gallik asit bağlanmasından oluşan çapraz bağların kırılması kaynaklı bir degradasyonla ortaya çıkar.

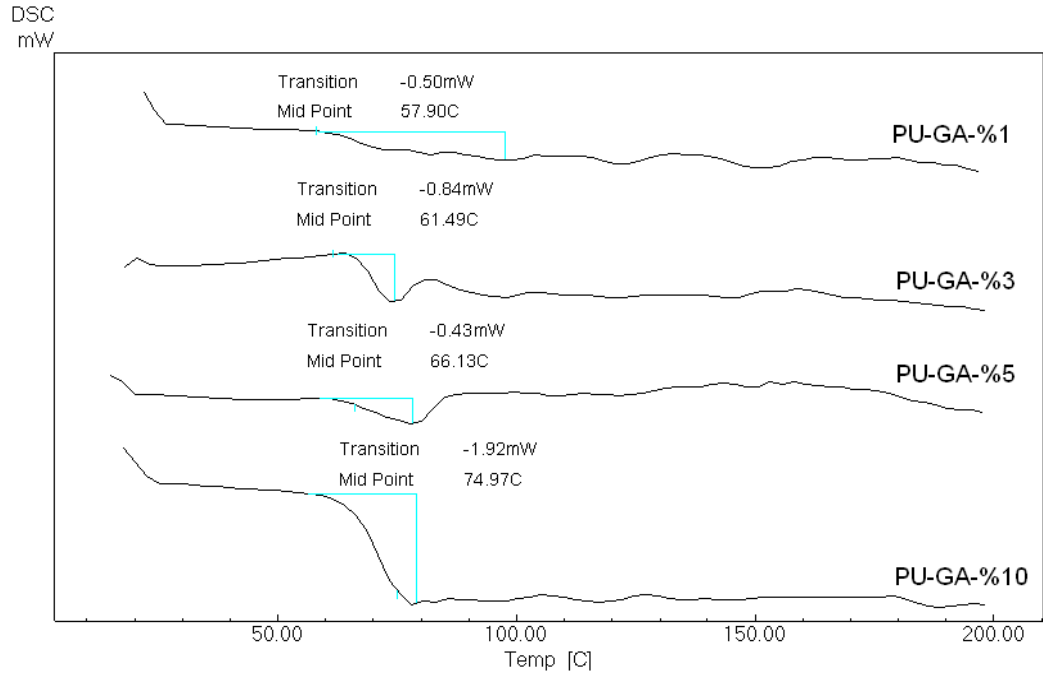


Şekil 4.17. Gallik asit temelli poliüretanların TGA termogramları.



Şekil 4.18. Gallik asit temelli poliüretanların DTA termogramları.

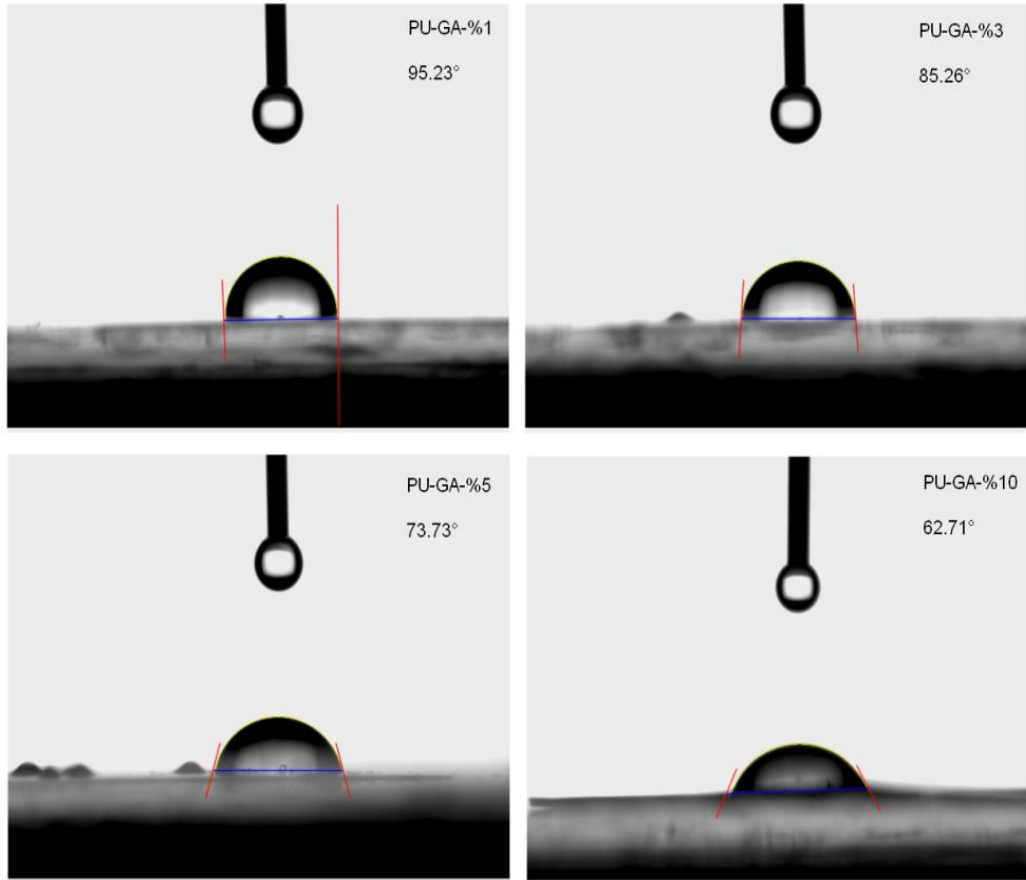
Yine gallik asit temelli polimerlere ait DTA termogramı incelendiğinde gözlenen üç ekzotermik pik TGA termogramıyla örtüşmektedir (Şekil 4.18). Polimerlerin Tg değerlerini belirleyebilmek için 0-200 °C arasında 10 °C/dk ısıtma hızıyla DSC termogramları kaydedilmiştir. Buradaki termogramlar Şekil 4.19’da gösterilmektedir. Gallik asit polimer yapısında bir çapraz bağlayıcı ajan olarak görev yaptığı için polimer zincir hareketliliğini düşürmekte ve polimer Tg değeri yükselmektedir. Benzer şekilde polimerlerin artan gallik asit miktarlarına bağlı olarak sıvı temas açısı değerleri de düşmektedir. Bunun nedeni OH grupları üzerinden poliüretan oluşumu COOH grubuna nazaran daha kolaydır. Bu nedenle polimer yapısında serbest karboksilik gruplar kalabilir. Bu gruplar yüzeyin ıslanabilirliğini artırır ve sıvı temas açısını küçültür.



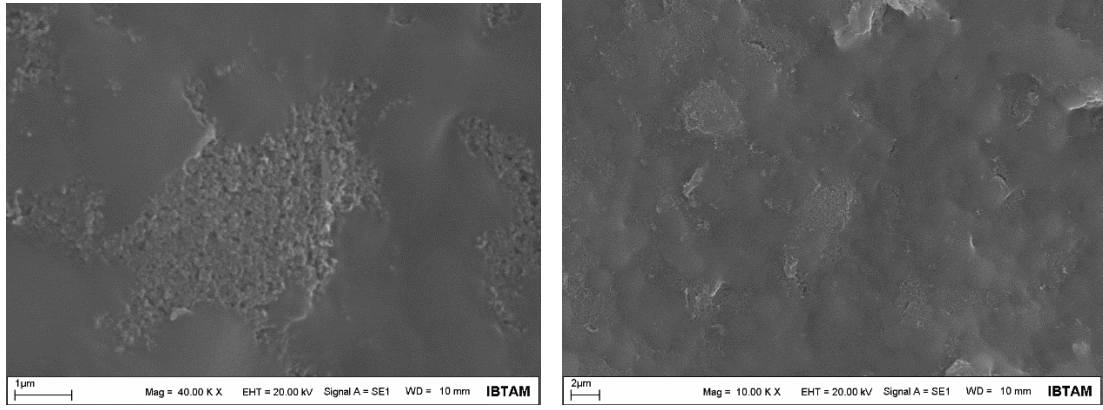
Şekil 4.19. Gallik asit temelli poliüretanların DSC termogramları ve Tg değerleri.

Şekil 4.20’de PU-GA yapılarına ait sıvı temas açısı görüntüler verilmiştir. Bu görüntülerde sıvı temas açısının artan gallik asit miktarı ile düzenli olarak azalttığı görülmektedir. Bu değişimin nedeni gallik asit moleküllerinin polimerin dış yüzey bölgesinde toplanması ve polimerin hidrofilik karakterini artırmasıdır. Ayrıca polimerizasyon sırasında monomer bileşikler üzerindeki fonksiyonel grupların

sayılarının dengesiz olmasından kaynaklı olarak ağ yapılı bir sonuç ürüne ulaşılır. Bu sonuç ürün üzerinde aktif diizosiyanat sayısı hidroksil grubu sayısından oldukça azdır. Bu da polimerizasyon sonucunda ortam serbest izosiyanat grubu bırakmayarak bütün izosiyanatların bağlanmasına yol açar. Sonuç olarak izosiyanat sayısından daha fazla olan hidroksil grupları polimerin dış yüzeyinde kümelenerek polimerin hidrofilik karakterini oldukça artırmaktadır. Bu değişim sıvı temas açısının düşmesine de yol açmaktadır.



Şekil 4.20. Gallik asit temelli poliüretanların sıvı temas açısı görüntüleri.



Şekil 4.21. Gallik asit temelli poliüretanların SEM görüntüleri.

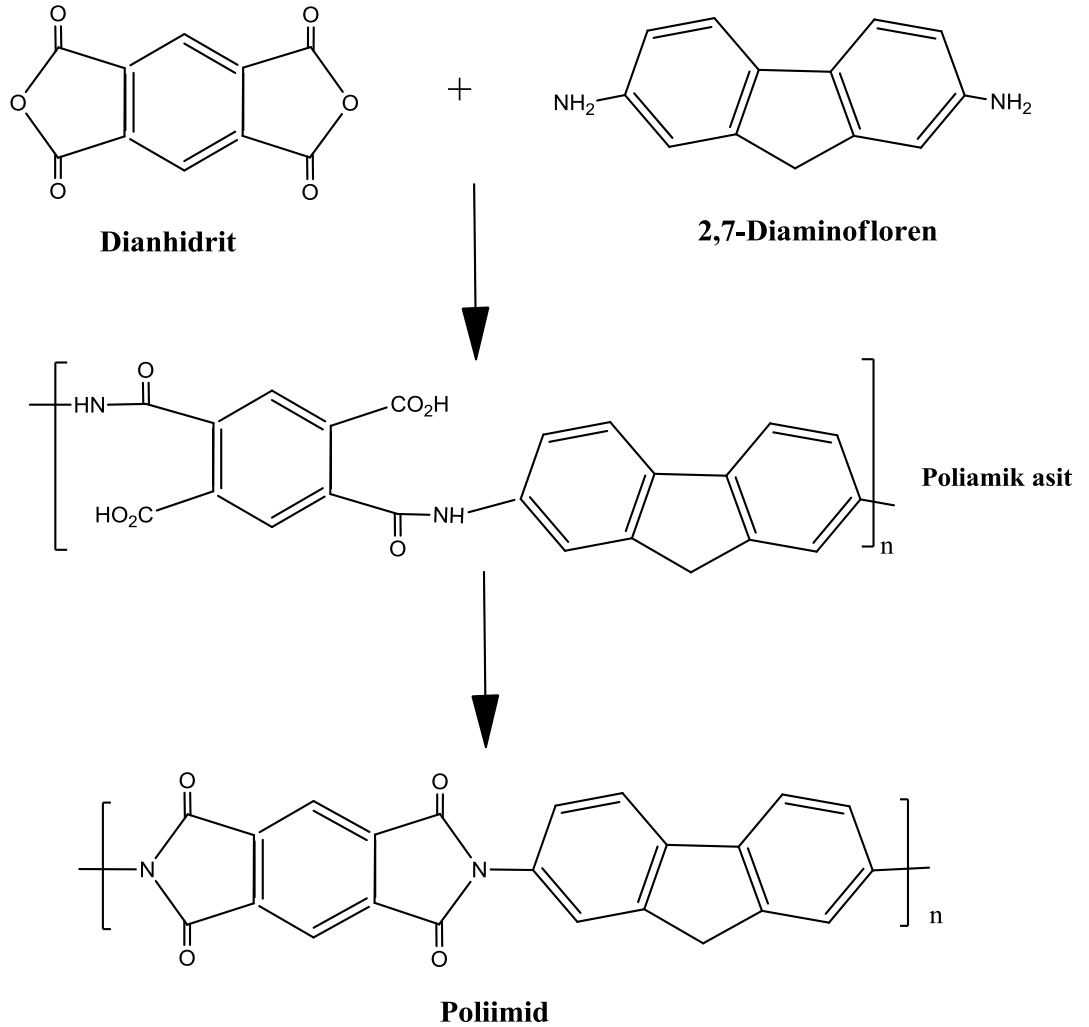
Şekil 4.21’de gösterilen SEM görüntülerinden gallik asit temelli poliüretan kaplamalar düzgün bir film formasyonu vermiştir. Yüzey oldukça temiz ve düşük kaviteye sahiptir. Ancak yer yer yüksek büyütmelerde yüzey alanını artıracak şekilde gözenekli yapı olduğu görülmektedir. Bu elektro seçiciliği açısından ve analatların elektrot yüzeyine ulaşması açısından uygun bir film yapısına sahip olduğunu bize göstermektedir.

Elektrot özelliklerine etkisi düşünüldüğünde kafeik asiti, klorogenik asit ve gallik asit temelli poliüretan yapılarının her üçüde düzgün yüzey formasyonu, yüksek film özelliği ve homojen yapıları nedeniyle oldukça uygundur. Ayrıca SEM görüntülerinden de incelendiği üzere en yüksek yüzey porozitesi ve kavitesi kafeik asit yapıli poliüretan yapılarda gözlenirken klorogenik asit temelli poliüretan yapısında en düşük yüzey kavitesi elde edilmiştir. Bu sonuç elektrot yanıtlarınada etki edecek şekilde yansımaktadır. En iyi sensör yanıtları kafeik asit temelli poliüretan yapısında alınmıştır. Bunun en önemli nedeni ise yüzey morfolojisinin yüzey alanını artıracak şekilde oluşmasıdır.

4.1.4. Poli[2,7-diaminofloren-PMDA-BPDA-ODPA] karakterizasyonu

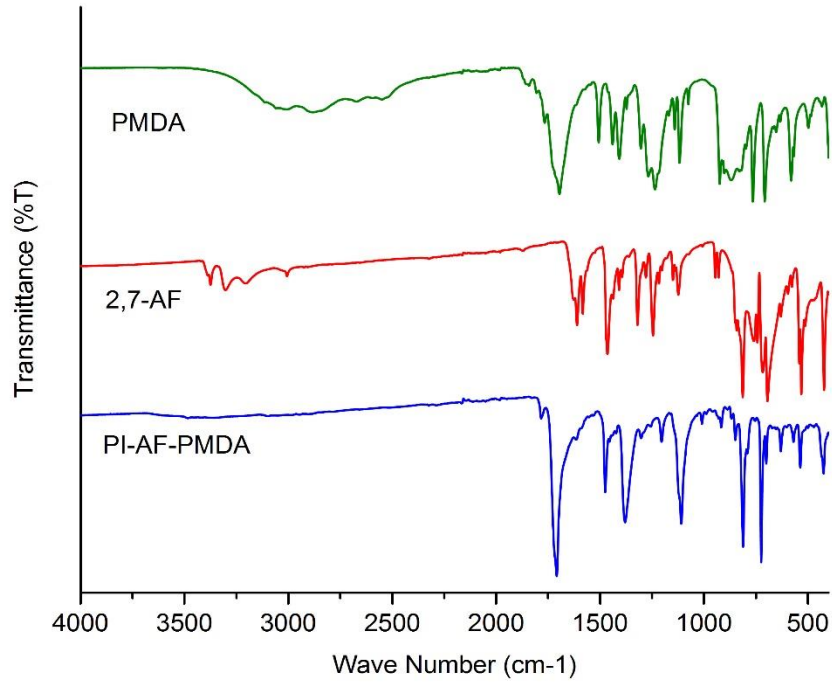
Sentezleri gerçekleştirilen poliimidlerin genel sentez şeması Şekil 4.22’de FTIR spektrumları ise Şekil 4.23’te gösterilmiştir. Poli[2,7-diaminofloren-piromellitimid]’e ait FTIR spektrumu incelendiğinde poliimid yapısına ait olan 1720 cm^{-1} ’de simetrik imid titreşimi ve 1776 cm^{-1} ’de asimetrik imid gerilme titreşimini imid

gurubu üzerinde bulunan karbonillere ait olarak görmekteyiz. Ayrıca 725 cm^{-1} 'de imid halkası deformasyon pikini ve 1444 cm^{-1} 'de C-N-C simetrik gerilme titreşimini net bir şekilde görmekteyiz. Bir diğer önemli bulguda 1050 cm^{-1} 'de imid halkası N-C=O gerilme pikini görmekteyiz. Tüm bu bulgular sonucunda imid halkasının oluştuğunu ve poliimid yapısının oluştuğunu bize ispatlamaktadır. Diğer bir önemli bulguda monomerik yapıda bulunan anhidritlere ait 1820 cm^{-1} 'deki gerilme titreşiminin yok olmasıdır. Ayrıca imidizasyon sırasında poliamik asit yapısından kaynaklanan 1650 cm^{-1} ve 1545 cm^{-1} 'deki amid I ve amid II piklerinin yok olması poliimid yapısının oluştuğunu bize ispatlamaktadır.



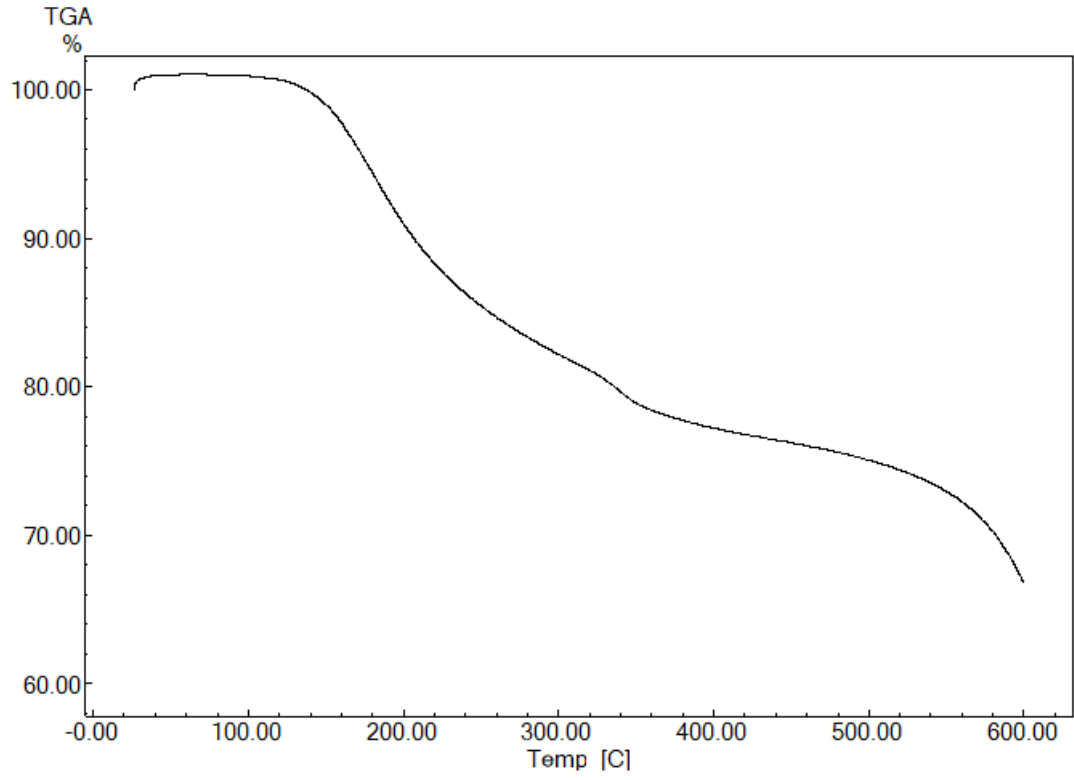
Şekil 4.22. Poli[2,7-diaminofloren-piromellitimid] genel sentez şeması.

Poli[2,7-diaminofloren-piromellitimid] polimerinin Şekil 4.24’de ki TGA termogramları incelendiğinde belirgin ve tek bir kütle kaybı görülmektedir. Bu kütle kaybı 490 °C’de başlayıp yaklaşık 650 °C’ye kadar devam etmektedir. Poliimid yapısının termooksidatif degradasyonundan kaynaklanmaktadır. Bu değer oldukça yüksek olup polimerin termal kararlılığı 450 °C civarındadır. Elektrot yüzeyinde gerçekleştirilecek bu kaplamalar ile ileride steril edilebilir elektrotların hazırlanması söz konusu olabilir.

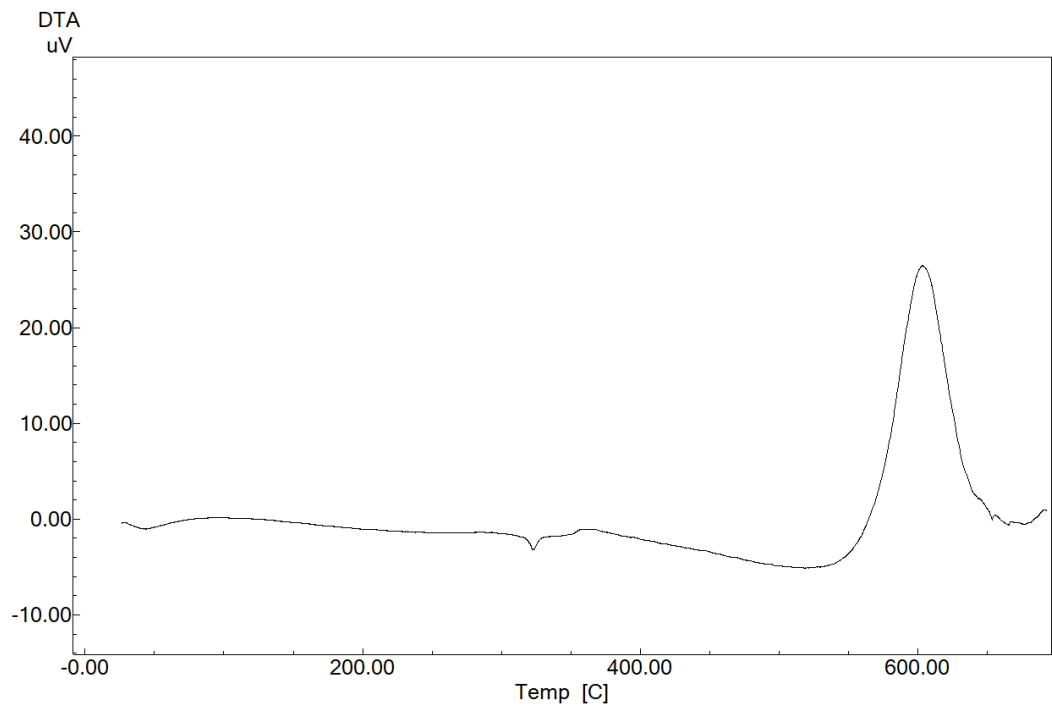


Şekil 4.23. Poli[2,7-diaminofren-piromellitimid] FTIR spektrumları.

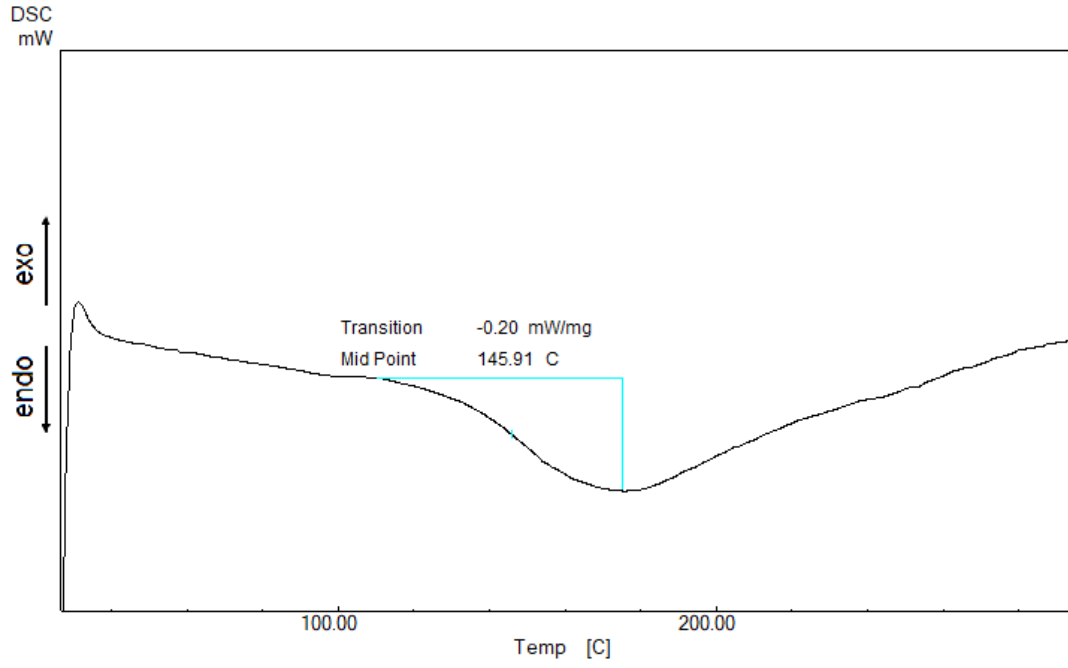
Şekil 4.25’deki Poli[2,7-diaminofloren-piromellitimid] polimerinin DTA termogramı bu sonucu doğrular şekilde ekzotermik tek bir pik vermiştir. Bu pik poliimid yapısının termooksidatif degradasyon piki olup yaklaşık 490 °C de başlayıp 640 °C de civarında sonlanmıştır. Poliimid yapısının termal kararlılığını bize ispatlamaktadır. Şekil 4.26’da Poli[2,7-diaminofloren-piromellitimid] polimerine ait DSC termogramı görülmektedir. Bu termogramda poliimid yapısına ait 145,91 °C’de belirgin ve net bir Tg geçişi görülmüştür. Başka herhangi bir geçiş ya da pik görülmemiştir.



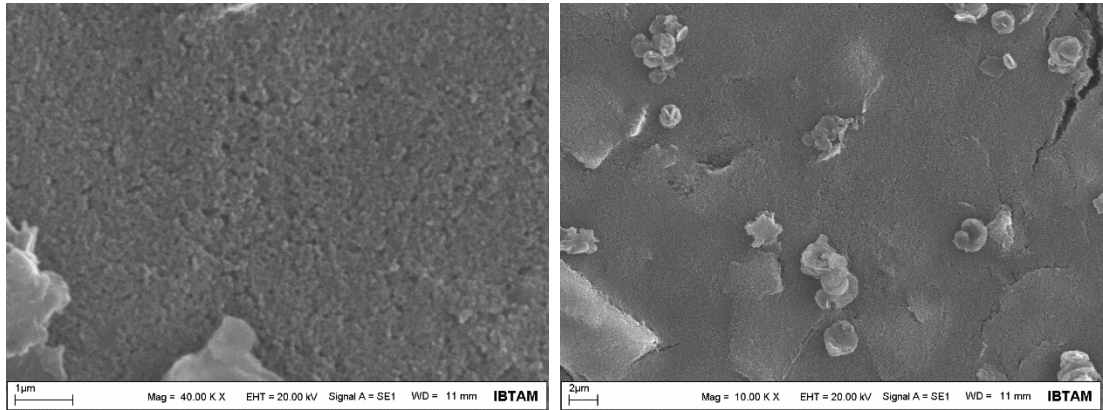
Şekil 4.24. Poli[2,7-diaminofloren-piromellitimid] TGA termogramı.



Şekil 4.25. Poli[2,7-diaminofloren-piromellitimid] DTA termogramı.



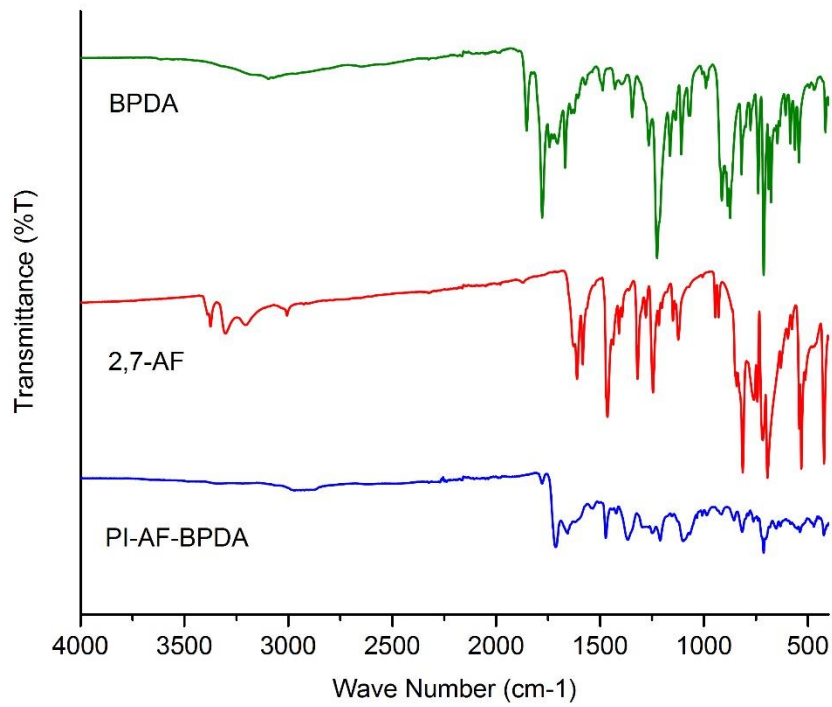
Şekil 4.26. Poli[2,7-diaminofloren-piromellitimid] DSC termogramı.



Şekil 4.27. Poli[2,7-diaminofloren-piromellitimid] SEM görüntüsü.

Poli[2,7-diaminofloren-piromellitimid] polimerine ait Şekil 4.27’deki SEM görüntüsünde polimerik yapıya ait düşük büyütmede düzgün bir film formasyonu tespit edilmiş ancak yüksek büyütmelere gidildiğinde çok belirgin ve net yüzey porozitesi görülmektedir. Bu poroz yapı seçici geçirgen membran olarak kullanılabilirliğini bize ispatlar. Yine ilgili SEM görüntülerinde polimerin oldukça düzgün olarak yüzeye tutunduğu tespit edilmiştir.

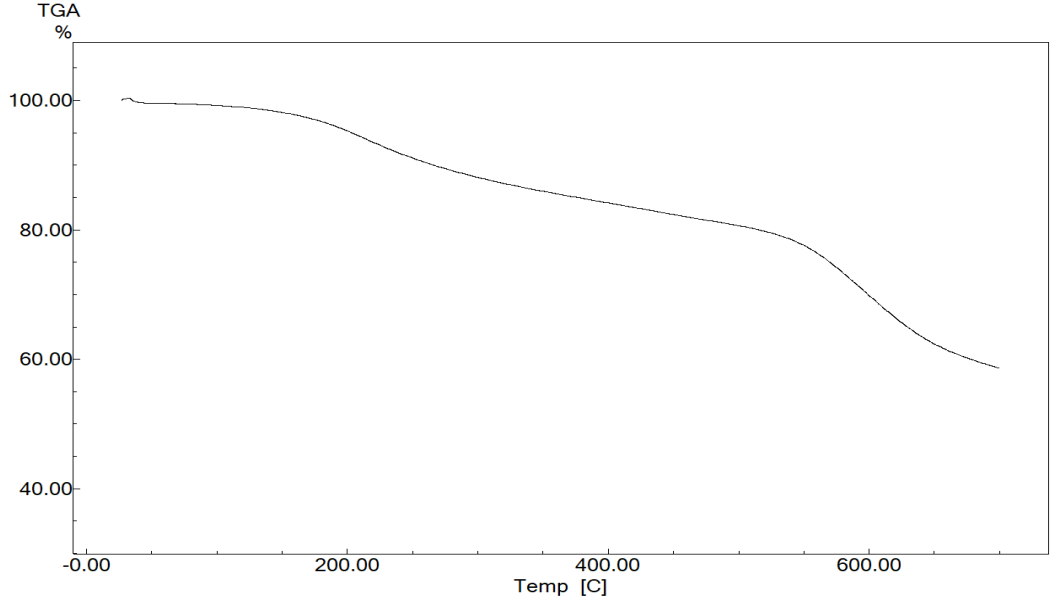
Poli[2,7-diaminofloren-3,3',4,4'-benzofenontetrakarboksilikdiimid] polimer yapısına ait FTIR spektrumu şekil 4.28'de verilmiştir. Bu spektrumda öncelikle poliamik asit yapısının poliimide dönüştüğü 1645 cm^{-1} ve 1560 cm^{-1} 'deki amid piklerinin yok olarak yerine imidlere ait karakteristik piklerin görülmesinden anlaşılmaktadır. Temel olarak 1780 cm^{-1} ve 1720 cm^{-1} 'de asimetrik ve simetrik imid halkası karbonil gerilme titreşimlerini, 1440 cm^{-1} 'de C-N-C gerilme titreşimini ve 723 cm^{-1} 'de imid halkası deformasyon pikini görmekteyiz. Tüm bu bulgular imidizasyonun tamamlandığını ve poliimid yapısının oluştuğunu bize ispatlamaktadır.



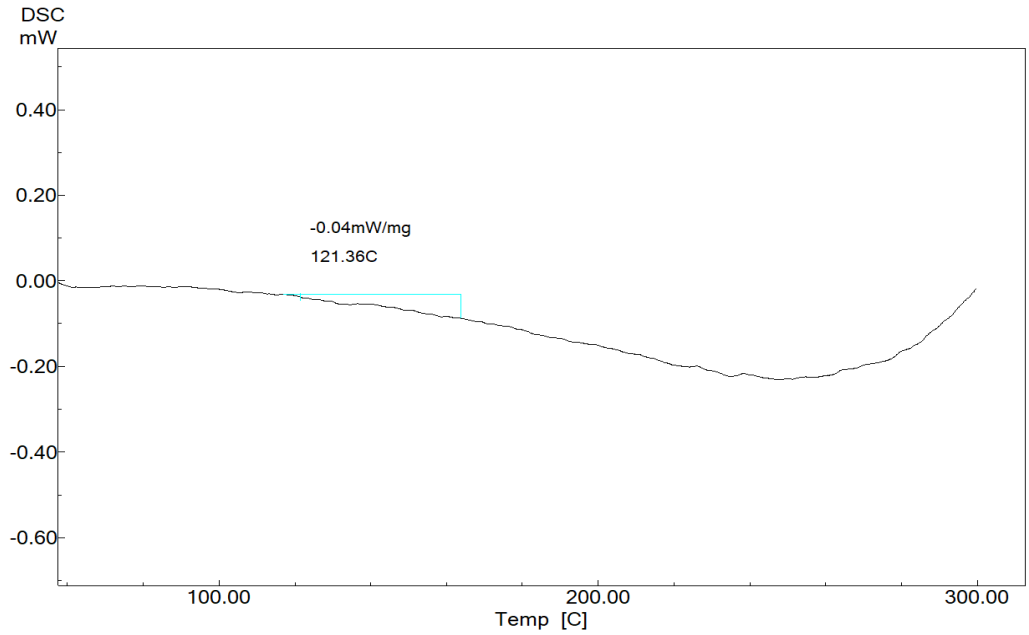
Şekil 4.28. Poli[2,7-diaminofloren-3,3',4,4'-benzofenontetrakarboksilikdiimid] FTIR spektrumu.

Poli[2,7-diaminofloren-3,3',4,4'-benzofenontetrakarboksilikdiimid] yapısına ait TGA termogramı Şekil 4.29'da görülmektedir. Bu termogramda polimid yapısına ait termal bozunma sıcaklığının $460\text{ }^{\circ}\text{C}$ civarında başladığı görülmektedir. Belirgin ve net tek bir kütle kaybı söz konusudur. Polimerin termal kararlılığı oldukça yüksek olup elektrot hazırlama işlemlerinde film olarak rahatlıkla kullanılabilecek durumdadır.

Poli[2,7-diaminofloren-3,3',4,4'-benzofenontetrakarboksilikdiimid] yapısının DSC termogramı şekil 4.30'da verilmiştir. Bu termogram ilgili polimerin Tg değerini 121,36 °C olarak göstermektedir. Bu değer polimerin işlenebilmesi ve elektrot yüzeyine uygulanabilmesi için uygun bir Tg değeri olarak görülmektedir.

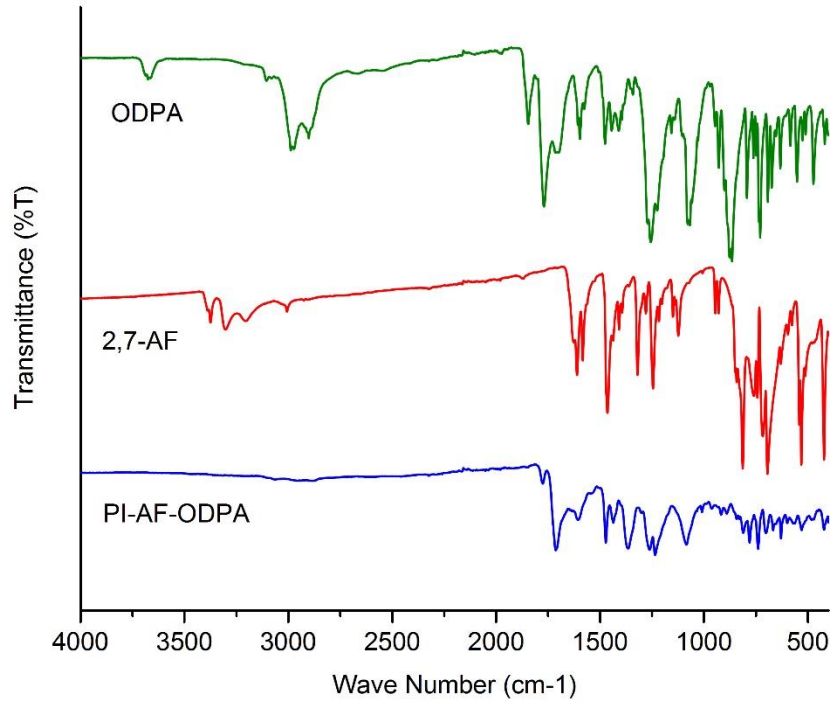


Şekil 4.29. Poli[2,7-diaminofloren-3,3',4,4'-benzofenontetrakarboksilikdiimid] TGA termogramı.



Şekil 4.30. Poli[2,7-diaminofloren-3,3',4,4'-benzofenontetrakarboksilikdiimid] DSC termogramı.

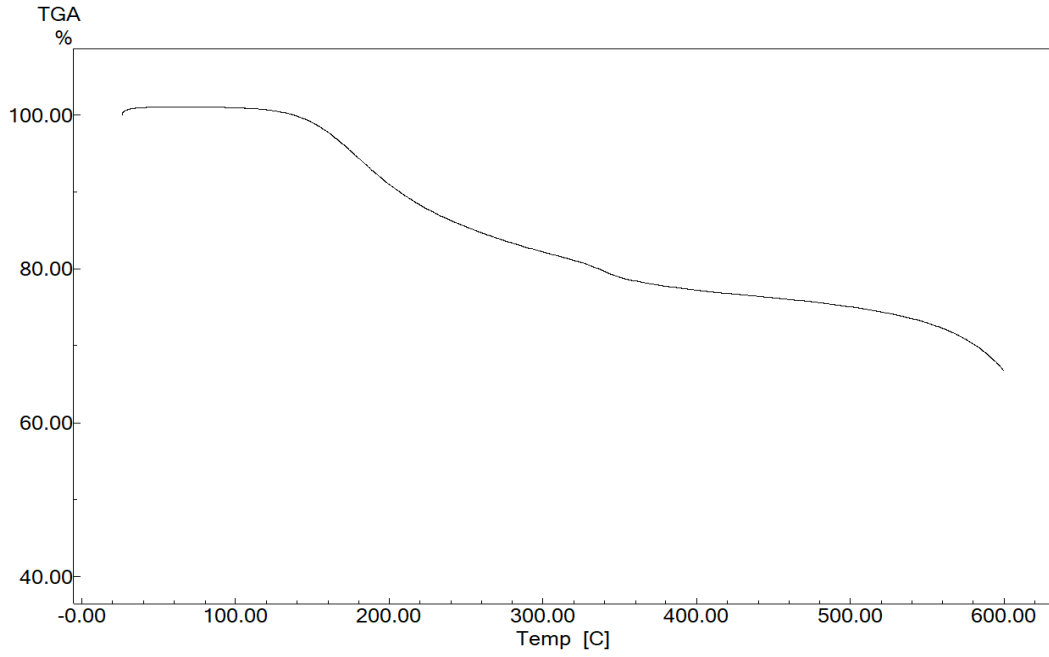
Şekil 4.31’de Poli[2,7-diaminofloren- 4,4’-oksidifitalikdiimid] poliimid yapısına ait FTIR spekturumu verilmiştir. Bu spektrumda 1780 cm^{-1} ’de imid halkası asimetrik karbonil gerilme titreşimi, 1720 cm^{-1} ’de imid halkası simetrik karbonil gerilme titreşimi ve 1446 cm^{-1} ’de imid halkası C-N-C gerilme titreşimi belirgin olarak görülmektedir. Ayrıca 728 cm^{-1} ’de imid halkası deformasyon piki görülmektedir. Diğer bir önemli yapı ise oksidifitalik anhidrit yapısından gelen C-O-C eterik gerilme titreşiminin 1266 cm^{-1} ’de görülmesidir. Ayrıca aromatik gruplara ait yaklaşık 1275 cm^{-1} ’de görülen C-C gerilme titreşimini görmekteyiz. Tüm bu pikler istenen poliimid yapısının elde edildiğini bize ispatlamaktadır.



Şekil 4.31. Poli[2,7-diaminofloren- 4,4’-oksidifitalikdiimid] FTIR spektrumu.

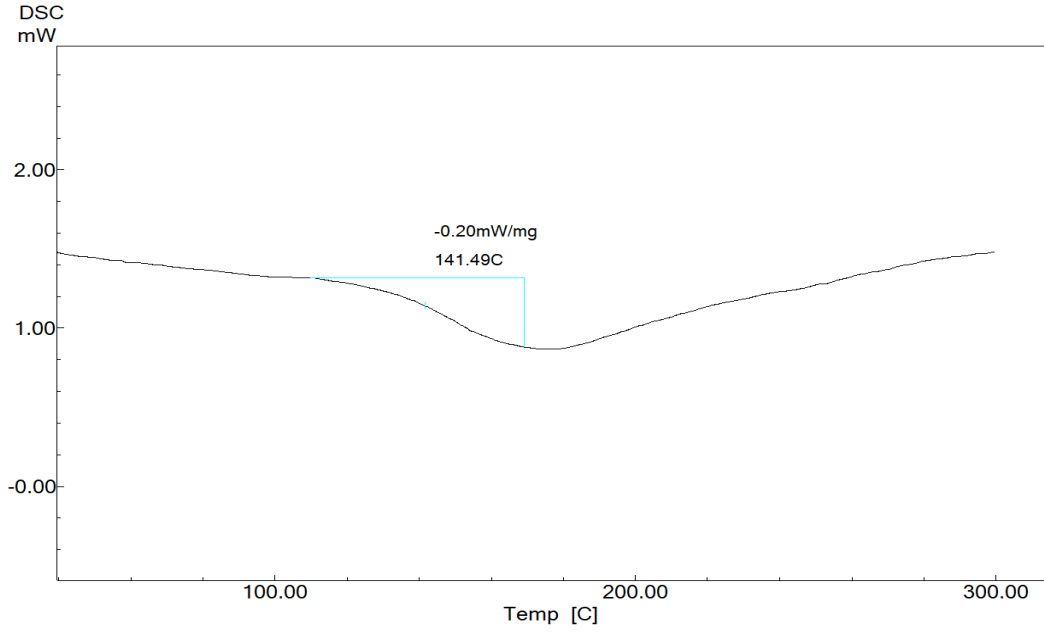
Şekil 4.32’de Poli[2,7-diaminofloren- 4,4’-oksidifitalikdiimid] poliimid yapısına ait TGA termogramı görülmektedir. Polimerik yapıya ait termal bozunma sıcaklığı 413 $^{\circ}\text{C}$ ’de başlamaktadır. Bu değer diğer anhidritlerle hazırlanan poliimidlere göre daha düşük görülmüştür. Yapıdaki C-O-C eterik bağının termal kararlılığın düşük olmasından kaynaklanmaktadır. PMDA ve BPDA ile hazırlanan polimerik yapılar

daha sert ve rijit yapıya iken menteşe görevi gören C-O-C bağları bu polimerin yapısını esnetmektedir.



Şekil 4.32. Poli[2,7-diaminofluorene-4,4'-oksidifitalikdiimid] TGA termogramı.

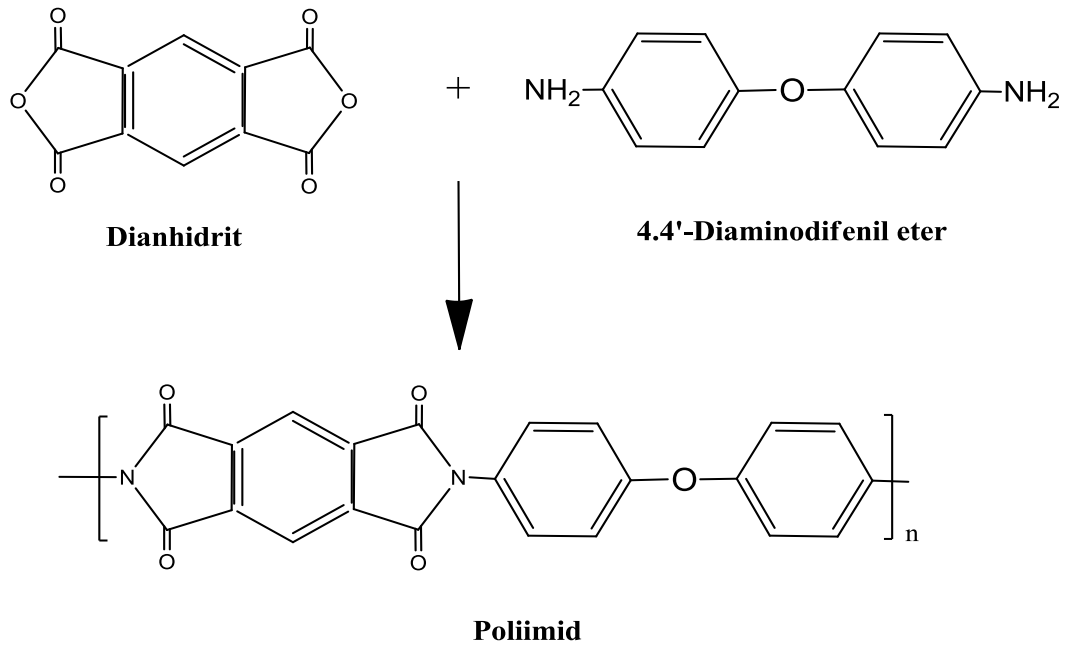
Şekil 4.33'te Poli[2,7-diaminofluorene-4,4'-oksidifitalikdiimid] poliimid yapısına ait DSC termogramı görülmektedir. Bu termogramda poliimid yapısına ait Tg geçişi ve değeri görülmektedir. Tg değeri 141,49 °C olarak tespit edilmiştir. Bu değer pmda yapısına göre polimerin daha esnek olmasından kaynaklı olarak düşmüştür. Ancak polimerik film olarak kullanılabilirlik açısından uygundur.



Şekil 4.33. Poli[2,7-diaminofloren- 4,4'-oksidifitalikdiimid] DSC termogramı.

4.1.5. Poli[4.4'-Diaminodifenil eter- piromellitimid] karakterizasyonu

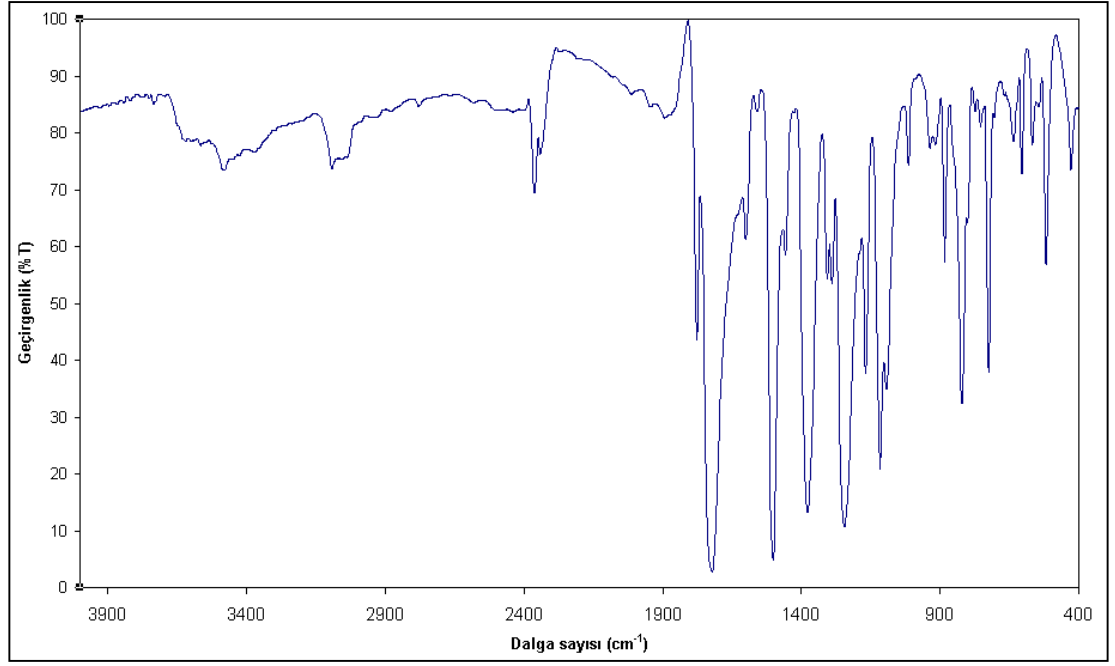
Şekil 4.34'de Poli[4.4'-diaminodifenil eter-piromellitimid] polimerine ait sentez şeması görülmektedir. Şekil 4.35'de ise Poli[4.4'-Diaminodifenil eter-piromellitimid] poliimid yapısına ait FTIR spektrumu verilmiştir. Bu spektrumda imid yapısından kaynaklı 1780 cm^{-1} ve 1720 cm^{-1} 'de asimetrik ve simetrik imid halkası karbonil gerilme titreşimleri, 1446 cm^{-1} imid halkası C-N-C gerilme titreşimi ve 727 cm^{-1} 'de imid halkası deformasyon piki net olarak görülmektedir. Ayrıca diamin yapısından kaynaklanan 1266 cm^{-1} 'de C-O-C eterik gerilme titreşimi görülmektedir. Diğer bir önemli bulgu ise aromatik yapılardan kaynaklı C-H gerilme titreşiminin 828 cm^{-1} de ve C-C gerilme titreşiminin 1560 cm^{-1} civarında görülmesi yapının imid formasyonunu bize ispatlamaktadır.



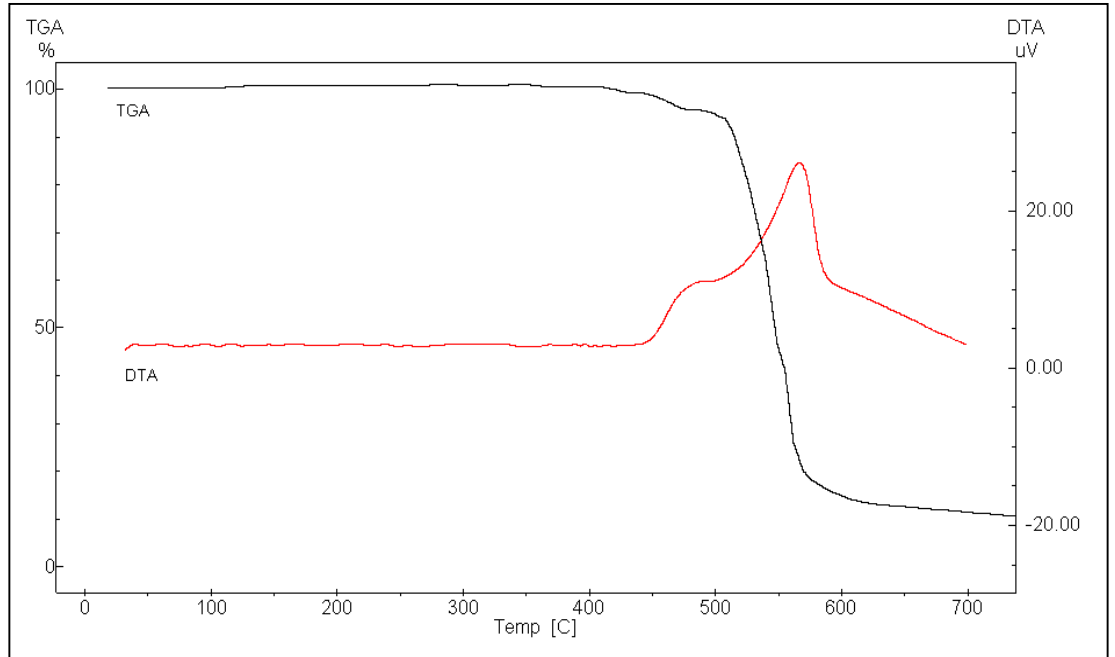
Şekil 4.34. Poli[4,4'-diaminodifenileter- piromellitimid]'e ait sentez şeması.

İlgili yapıya ait termal kararlılık ve termal özellikler TGA, DTA ve DSC termogramları ile belirlenmiştir. Bu termogramlarda özellikle TGA termogramında yapının termal stabilitesi oldukça yüksek olarak tespit edilmiştir. İlgili polimere ait TGA termogramı Şekil 4.36'da DTA termogramı ile birlikte verilmiştir. Bu termogramda termal bozunma başlangıcı 450 °C civarında tespit edilmiş olup 600 °C civarında tamamlanmaktadır. DTA termogramında ise ilgili bozunmaya ait ekzotermik bir pik görülmektedir. Bu ekzotermik pikin başlangıç sıcaklığı TGA verilerini doğrular şekilde 453 °C'dir ve pik bitiş sıcaklığı yaklaşık 600 °C civarındadır.

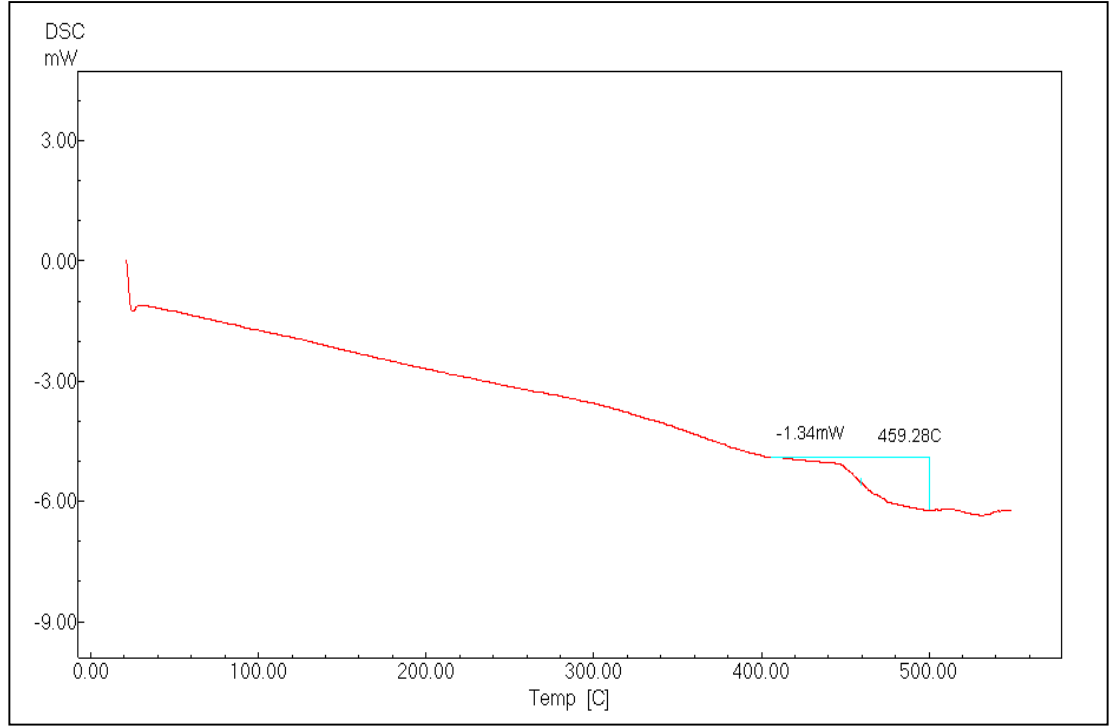
Poli[4,4'-diaminodifenil eter- piromellitimid] polimerine ait DSC termogramı şekil 4.37'de verilmiştir. Bu termogramda 459,28 °C de belirgin ve net bir Tg geçişi görülmektedir. Zincirler arası etkileşimin çok büyük olduğu polimer yapısından elde edilen bu yüksek Tg değeri literatür ile uyum içerisindedir. Polimerin yapısal ve termal kararlılığının yüksek olduğu anlamına gelmektedir.



Şekil 4.35. Poli[4,4'-diaminodifenileter- piromelitimid]'e ait FTIR spektrumu.

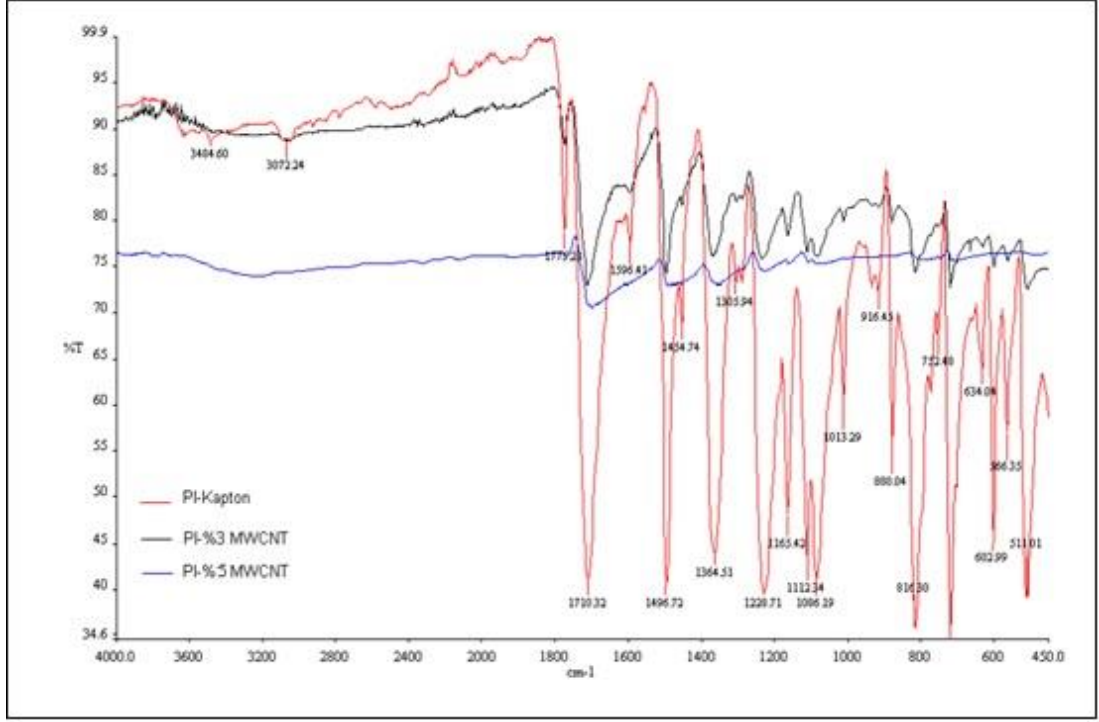


Şekil 4.36. Poli[4,4'-diaminodifenileter- piromelitimid]'e ait TGA ve DTA termogramları.



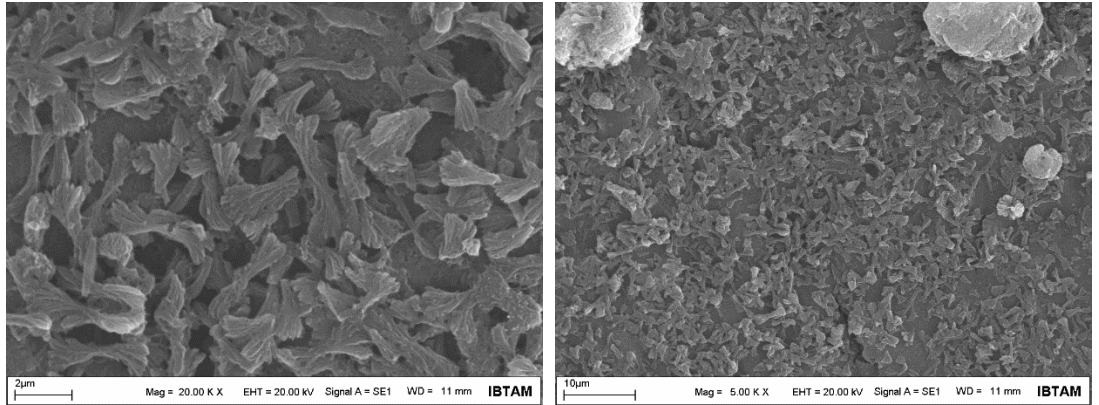
Şekil 4.37. Poli[4,4'-diaminodifenileter- piromelitimid]'e ait DSC termogramı.

Sentezi gerçekleştirilen Poli[4,4'-Diaminodifenil eter- piromellitimid] polimer yapısının sensör uygulamaları sırasında elektron aktivasyonunun artırılabilmesi ve tayin süresinin düşürülebilmesi için karbon nanotüp yapısı ile modifiye edilerek kullanılmıştır. Bu modifikasyonlarda %3 ve %5 MWCNT uygulaması gerçekleştirilmiştir. Bu uygulama sonrasında elde edilen film yapılarına ait FTIR spektrumu şekil 4.38'de verilmiştir. Bu spektrumda MWCNT miktarı arttıkça yapının ışık geçirgenliği düştüğü için pik şiddetleri azalmaktadır. Ayrıca pik keskinlikleride düşmektedir. %3 ve %5 MWCNT içeren yapılarda imid halkasına ait klasik piklerin 1772, 1722, 1464 ve 752 cm^{-1} 'de sırasıyla asimetrik karbonil, simetrik karbonil, C-N-C ve imid deformasyon piklerini net olarak görmekteyiz. Bu bulgular istenilen PI-MWCNT kompozit film yapısının elde edildiğini bize ispatlamaktadır.



Şekil 4.38. Poli[4,4'-diaminodifenileter- piromelitimid]- MWCNT-%3 ve MWCNT-%5' e ait FTIR spektrumları.

Bu yapıya ait SEM görüntüleri incelendiğinde de elektrot yüzey alanını artıracak şekilde geniş bir kavite ve fragtal bir yapı olduğu görülmüştür. Bu SEM görüntüleri şekil 4.39'da görülmektedir. Genel olarak SEM yapısı homojen bir görünüme sahiptir ve geniş gözenekli bir yapı elde edilmiştir. Bu yapı amperometrik sensörler için uygun seçicilik ve selectivite sağlamak için uygundur.

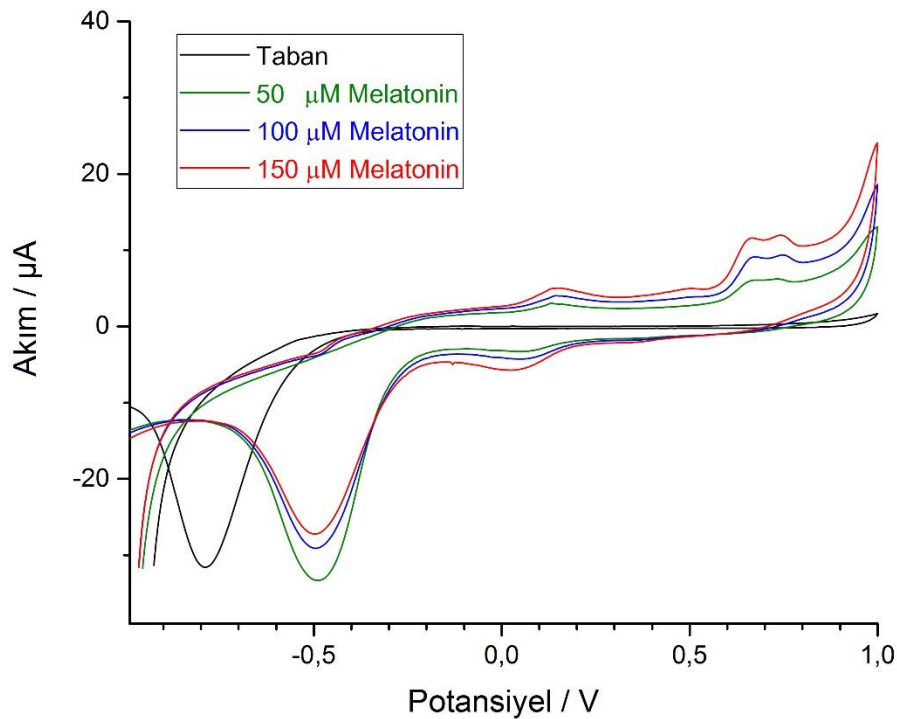


Şekil 4.39. Poli[4,4'-diaminodifenileter- piromelitimid]- MWCNT-%5'e ait SEM görüntüsü.

4.2. Potansiyel Belirleme Çalışmaları

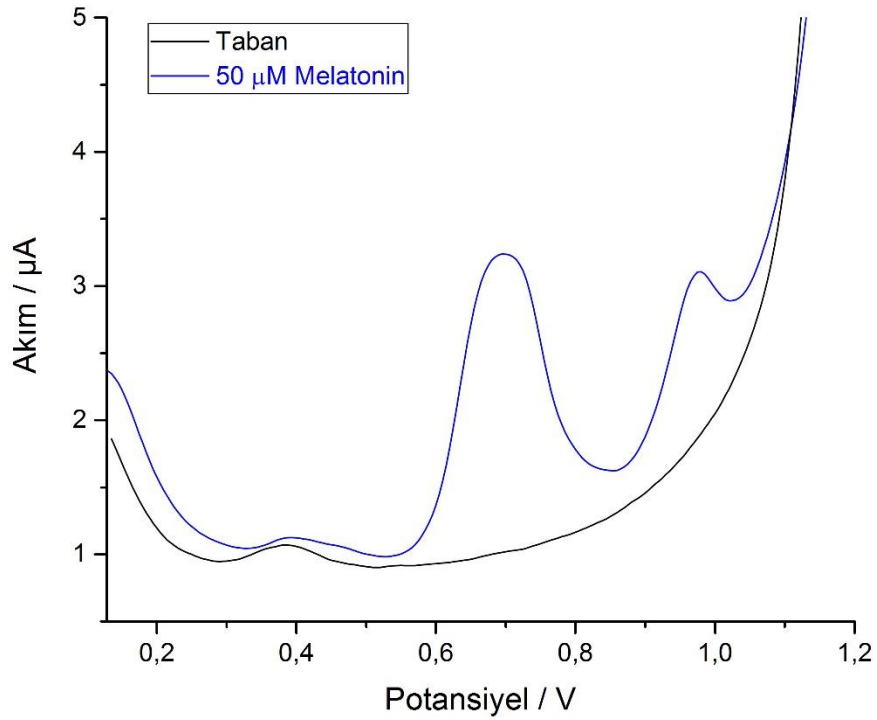
4.2.1. Melatonin için potansiyel belirleme çalışmaları

Tez çalışmamızda amaçladığımız melatonin ve serotoninin eş zamanlı tayinine yönelik çalışmalar kapsamında bu metabolitlerin hangi potansiyel aralıklarında ölçüleceğine karar vermek için elektrokimyasal uygulama teknikleri içerisinde DPV ve CV tekniklerini kullandık. Çıplak perde baskılı karbon elektrot (PBKE) kullanılarak 50, 100, ve 150 μM melatonin için alınan CV grafikleri Şekil 4.40'da verilmiştir. Grafikler incelendiğinde -1,0 V / +1,0 V potansiyel aralığında gerçekleştirilen ölçümlerde, artan melatonin derişimine bağlı olarak +0,66 V ve +0,67 V arasındaki potansiyellerde melatoninin yükseltgendiği görülmektedir. Ayrıca +0,74 V ve +0,75 V potansiyel aralığında ise melatoninin ikinci yükseltgenme potansiyeline sahip olduğu görülmektedir. Bu potansiyeller belirlenirken, taban akımı baz alınarak en fazla akım değişiminin meydana geldiği potansiyeller seçilmiştir.



Şekil 4.40. Melatoninin yükseltgenme potansiyelinin tespiti için farklı derişimler deki CV eğrileri [0,1 M, pH:7,0 fosfat tamponu; 25 ± 2 °C].

CV tekniği ile belirlenen yükseltgenme potansiyelinde çalışmamızın yapılacağı DPV tekniği ile de ölçümler gerçekleştirildi. Şekil 4.41’de 50 μM melatonin için DPV tekniği ile alınan eğriler görölmektedir. Taban akımına göre en yüksek akım değışiminin olduğu potansiyel +0,68 V olup bu melatoninin yükseltgenme potansiyelidir. Ayrıca +0,98 V potansiyelde melatonine ait ikinci yükseltgenme potansiyelinin meydana geldiği eğrilerden görölmektedir.

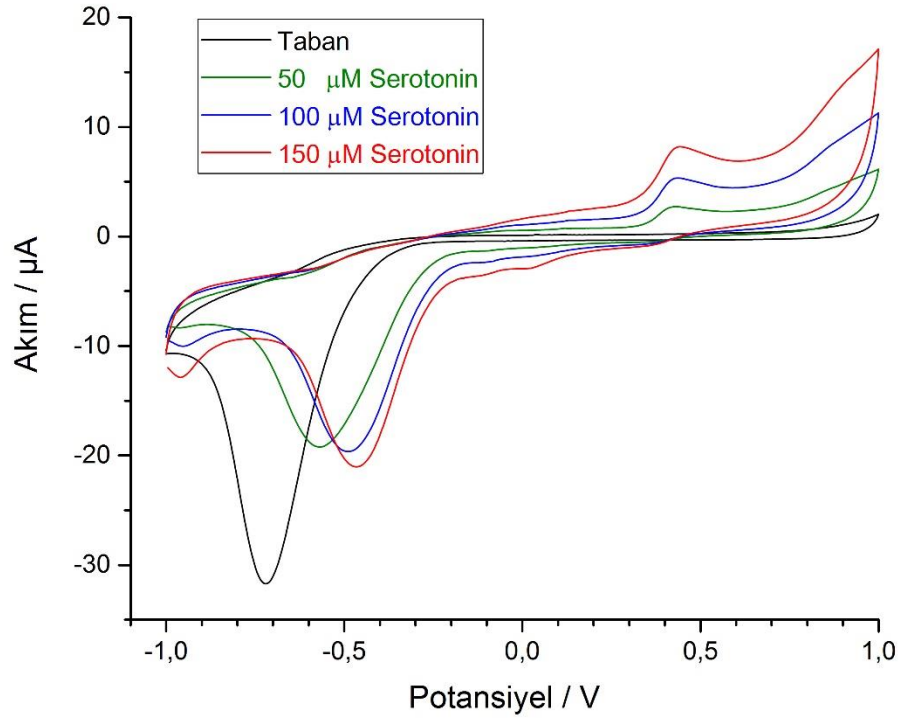


Şekil 4.41. Melatoninin yükseltgenme potansiyelinin tespiti için farklı derişimler deki DPV eğrileri [0,1 M, pH:7,0 fosfat tamponu; 25 ± 2 °C].

4.2.2. Serotonin için potansiyel belirleme çalışmaları

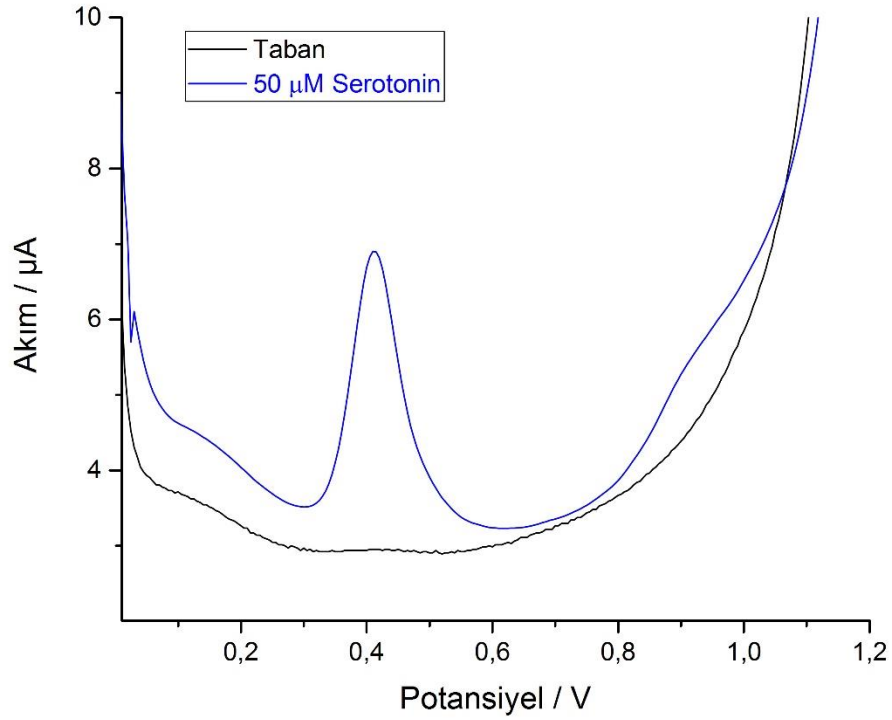
Serotonin için yükseltgenme potansiyelinin belirlenmesine yönelik hangi potansiyel aralıklarında ölçüleceğine karar vermek için elektrokimyasal uygulama teknikleri içerisinde DPV ve CV tekniklerini kullandık. Çıplak perde baskılı karbon elektrot (PBKE) ve çok duvarlı karbon nanotüp modifiye perde baskılı karbon elektrot

(MWCNT-PBKE) kullanılarak 50, 100, ve 150 μM serotonin için alınan CV grafikleri Şekil 4.42’de verilmiştir. Grafikler incelendiğinde -1,0 V / +1,0 V potansiyel aralığında gerçekleştirilen ölçümlerde, artan serotonin derişimine bağı olarak +0,42 V ve +0,44 V arasındaki potansiyellerde serotoninin yükseltgendiği görülmektedir. 50 μM serotonin derişimi için +0,42 V, 100 μM serotonin derişimi için +0,43 V ve 150 μM serotonin derişimi için +0,44 V potansiyelde yükseltgenmeler gerçekleşmiştir. Bu potansiyeller belirlenirken, taban akımı baz alınarak en fazla akım değışiminin meydana geldiğı potansiyeller seçilmiştir.



Şekil 4.42. Serotonin yükseltgenme potansiyelinin tespiti için farklı derişimler deki CV eğrileri [0,1 M, pH:7,0 fosfat tamponu; 25 ± 2 °C].

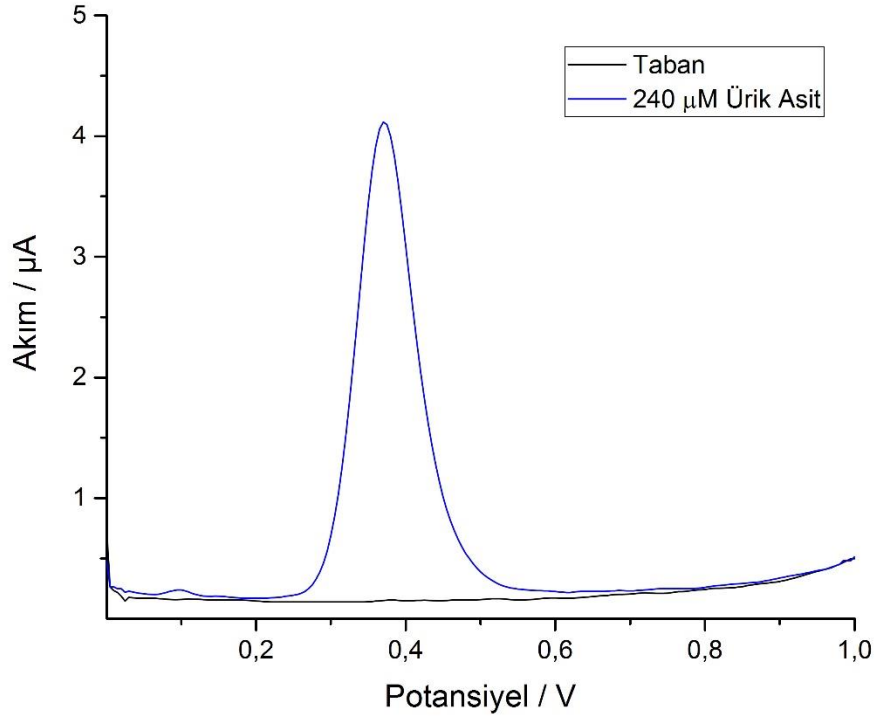
CV tekniğı ile belirlenen yükseltgenme potansiyelinde çalışmamızın yapılacağı DPV tekniğı ile de ölçümler gerçekleştirildi. Şekil 4.43’te 50 μM serotonin için DPV tekniğı ile alınan eğriler görülmektedir. Taban akımına göre en yüksek akım değışiminin olduğı potansiyel +0,41 V olup bu serotonin yükseltgenme potansiyelidir.



Şekil 4.43. Serotoninin yükseltgenme potansiyelinin tespiti için farklı derişimler deki DPV eğrileri [0,1 M, pH:7,0 fosfat tamponu; 25±2 °C].

4.2.3. Ürik asit için potansiyel belirleme çalışmaları

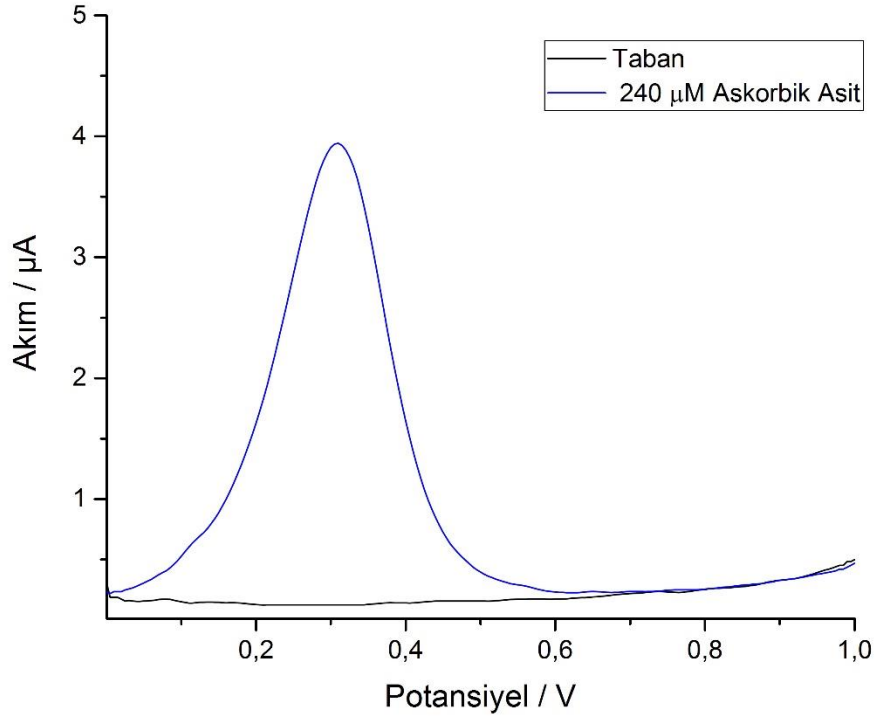
Kan serumunda en çok girişim yapan türlerden biri olan ürik asidin, melatonin ve serotonin yanıtlarına etkisinin belirlenebilmesi için yükseltgenme potansiyelinin tespitine yönelik DPV tekniği kullanılarak analizler gerçekleştirildi. 240 µM ürik asit için çıplak perde baskılı karbon elektrot (PBKE) kullanılarak alınan DPV yanıtları Şekil 4.44'te verilmiştir. Grafikler incelendiğinde -1,0 V / +1,0 V potansiyel aralığında gerçekleştirilen ölçümlerde, özellikle serotoninin yükseltgenme potansiyelinin gerçekleştiği +0,37 V potansiyelde ürik asidin girişim yaptığı ve serotonin ölçüm sonuçlarını etkileyeceği görülmektedir.



Şekil 4.44. Ürik asit için DPV tekniği ile potansiyel taraması [0,1 M, pH:7,0 fosfat tamponu; 25 ± 2 °C].

4.2.4. Askorbik asit için potansiyel belirleme çalışmaları

Kan serumunda ürik asitten sonra girişim yapan türlerden biri olan askorbik asidin, melatonin ve serotonin yanıtlarına etkisinin belirlenebilmesi için yükseltgenme potansiyelinin tespitine yönelik DPV tekniği kullanılarak analizler gerçekleştirildi. 240 μM askorbik asit için çıplak perde baskılı karbon elektrot (PBKE) kullanılarak alınan DPV yanıtları Şekil 4.45’de verilmiştir. Grafikler incelendiğinde -1,0 V / +1,0 V potansiyel aralığında gerçekleştirilen ölçümlerde, özellikle serotoninin yükseltgenme potansiyelinin gerçekleştiği +0,31 V potansiyelde ürik asidin girişim yaptığı ve serotonin ölçüm sonuçlarını etkileyeceği görülmektedir.



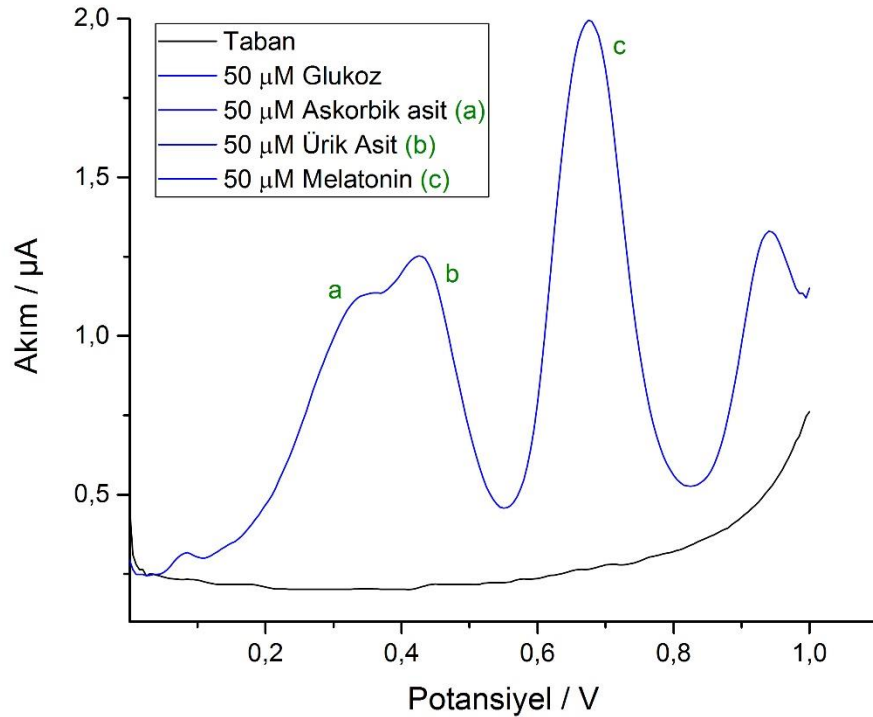
Şekil 4.45. Askorbik asit için DPV tekniği ile potansiyel taraması [0,1 M, pH:7,0 fosfat tamponu; 25 ± 2 °C].

4.2.5. Glukoz için potansiyel belirleme çalışmaları

Kan serumunda yüksek derişimde bulunan glukozun, melatonin ve serotonin yanıtlarına etkisinin belirlenebilmesi için yükseltgenme potansiyelinin tespitine yönelik DPV tekniği kullanılarak analizler gerçekleştirildi. 240 μM glukoz için çıplak perde baskılı karbon elektrot (PBKE) kullanılarak alınan DPV yanıtları incelendiğinde -1,0 V / +1,0 V potansiyel aralığında gerçekleştirilen ölçümlerde, glukozun bu potansiyellerde yükseltgenmeye uğramadığı, taban akımıyla aynı yanıtla sahip olduğu ve bu nedenle melatonin ve serotonin ölçüm sonuçlarını etkilemeyeceği anlaşılmıştır.

4.2.6. Girişim yapan türlerin melatonin yanıtına etkisi

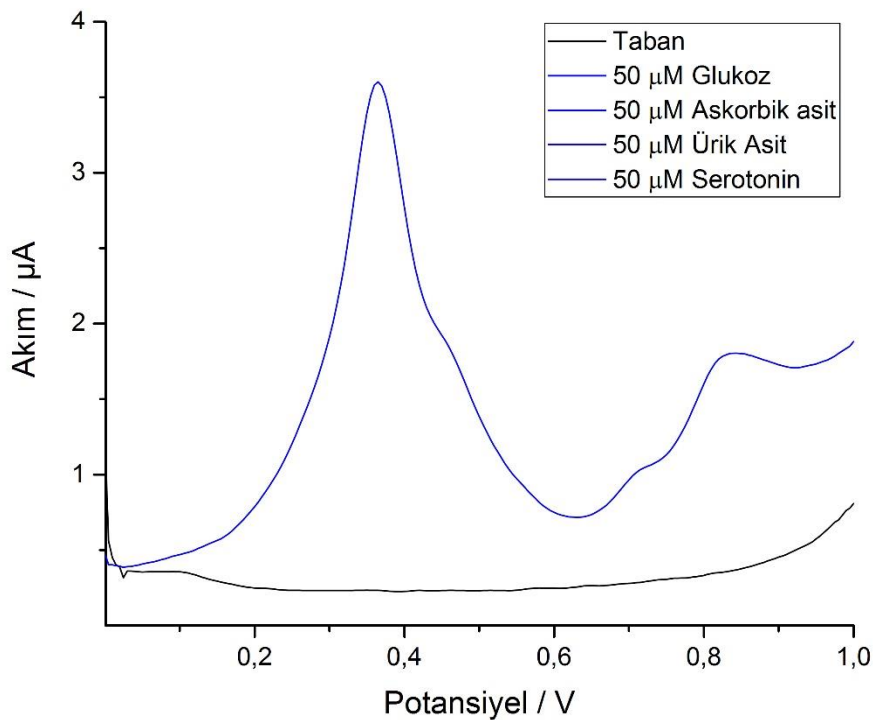
Girişim yapan türlerin varlığında melatonin yanıtlarının ne derece etkilendiği incelenmiştir. Bunun için ortamda 50 μ M ürik asit, 50 μ M askorbik asit ve 50 μ M glukoz varken 50 μ M melatonin ölçüm hücresine eklendi ve analizler gerçekleştirildi. Şekil 4.46’da DPV eğrileri incelendiğinde melatoninin pik potansiyellerinde sadece % 1,5’luk bir düşüş gözlenmiştir ancak pik yüksekliklerinde % 20’lik bir azalma hesaplanmıştır. Bu azalmanın sebebi ortamda bulunan girişim yapan türlerin varlığında melatoninin elektrot yüzeyine ulaşmasını sterik olarak engellediğinden dolayıdır. Sonuç olarak çıplak elektrotlar ile yapılan analizler neticesinde girişim yapan türlerin bariz bir şekilde melatonin yanıtını etkilediği gözlemlenmiştir.



Şekil 4.46. Ölçüm hücresindeki girişim yapan türlerin melatonin yanıtına etkisi [0,1 M, pH:7,0 fosfat tamponu; 25 $\pm$ 2 $^{\circ}$ C].

4.2.7. Girişim yapan türlerin serotonin yanıtına etkisi

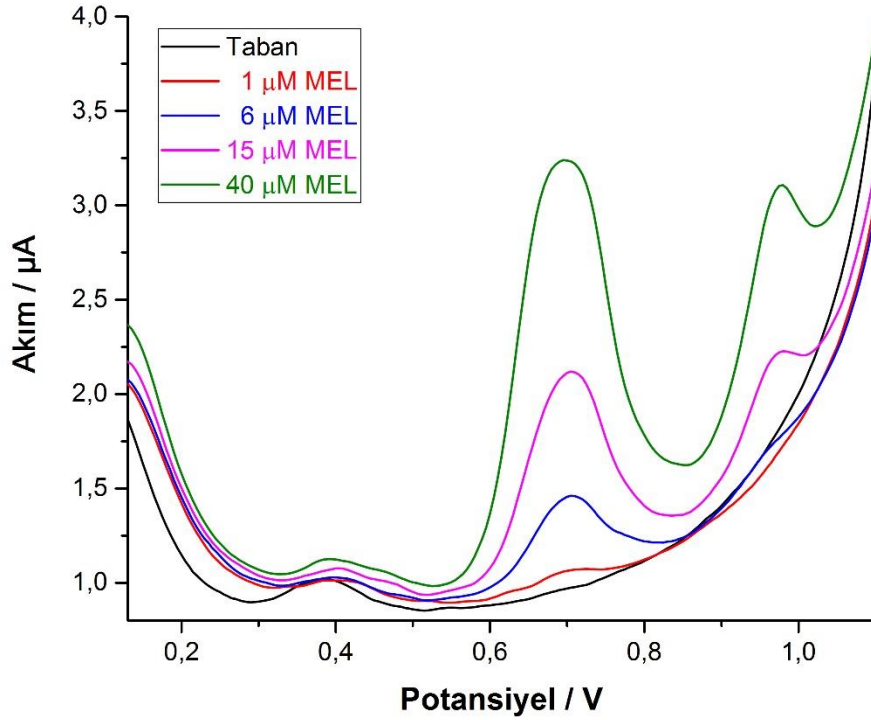
Girişim yapan türlerin varlığında serotonin yanıtlarının ne derece etkilendiği incelenmiştir. Bunun için ortamda 50 μ M ürik asit, 50 μ M askorbik asit ve 50 μ M glukoz varken 50 μ M serotonin ölçüm hücresine eklendi ve analizler gerçekleştirildi. Şekil 4.47’de DPV eğrileri incelendiğinde serotoninin pik potansiyellerinde % 11’lik bir düşüş ve serotonin eğrilerinin şekilsel olarak bozulduğu gözlenmiştir. Ayrıca pik yüksekliklerinde % 16’lık bir azalma hesaplanmıştır. Bunun sebebi ürik asit ve askorbik asidin pik potansiyelleri ile serotonin pik potansiyellerinin birbirlerine çok yakın olmasının yanında bu türlerin çalışma elektrot yüzeyine serotonin ulaşmasını sterik olarak engellediğinden dolayıdır. Sonuç olarak çıplak elektrotlar ile yapılan analizler neticesinde girişim yapan türlerin bariz bir şekilde serotonin yanıtını etkilediği gözlemlenmiştir.



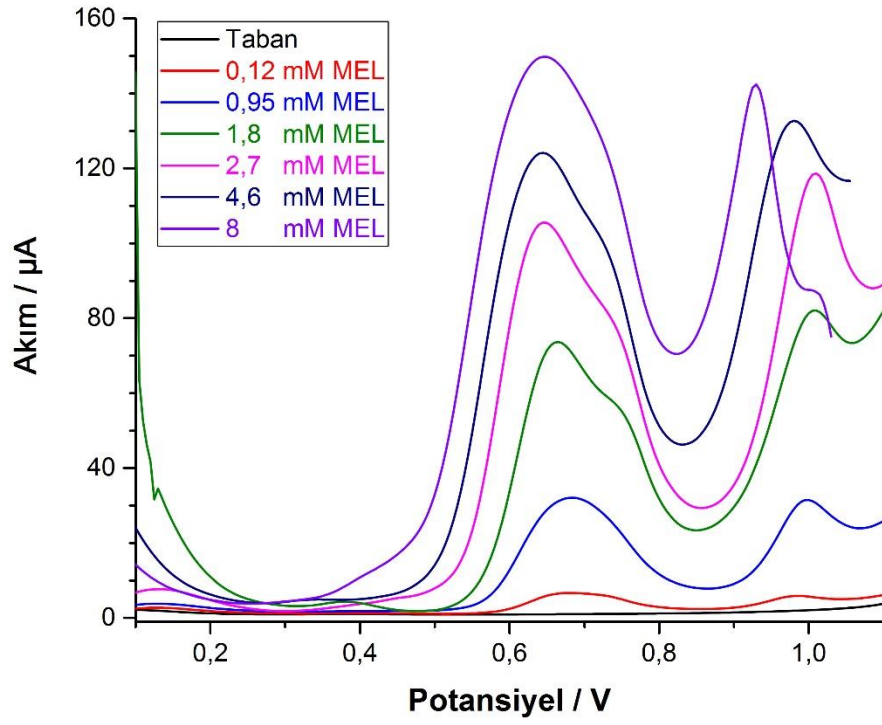
Şekil 4.47. Ölçüm hücresindeki girişim yapan türlerin serotonin yanıtına etkisi [0,1 M, pH:7,0 fosfat tamponu; 25±2 °C].

4.3. Çıplak Perde Baskılı Karbon Elektrotlarla Melatonin Tayin Aralığının Belirlenmesi

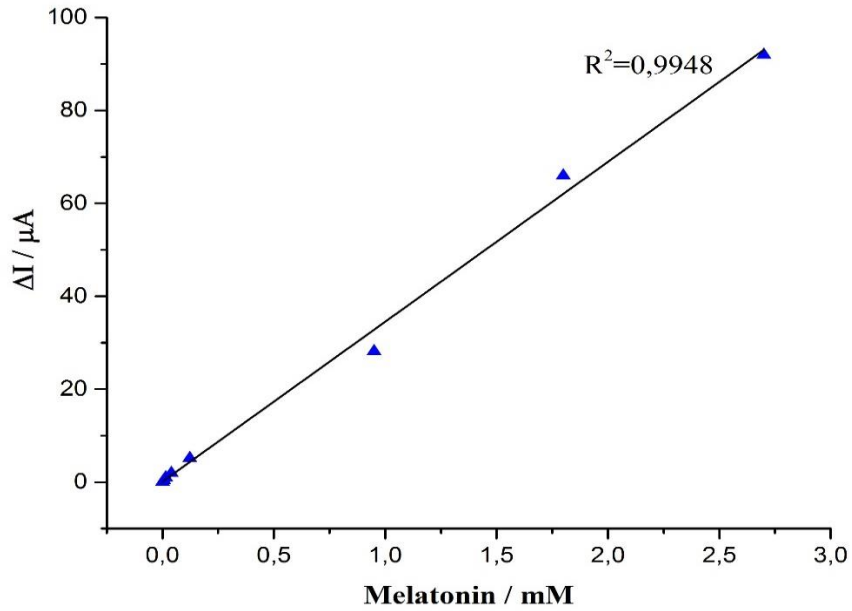
Çıplak perde baskılı karbon elektrot ile hangi derişimde melatonin tayininin yapılacağıın tespiti için 1 μM ile 8 mM arasında DPV ölçümleri alınmıştır. Şekil 4.48 ve Şekil 4.49’de görülen DPV eğrileri incelendiğinde artan melatonin derişimine bağılı olarak +0,68 V’luk potansiyelde taban akımına karşın bir artış görölmektedir. Şekilden de anlaşılacağı üzere en düşük melatonin derişimi 1 μM ’dır. Ayrıca 3 mM derişimden sonra ise doğrusallıktan sapmalar gözlemlenmiştir. Bu derişim aralığındaki akım değışimleri Şekil 4.50’deki kalibrasyon grafiğinde gösterilmiş olup R^2 değeri 0,9940 olarak hesaplanmıştır.



Şekil 4.48. Çıplak PBKE ile 1 μM - 40 μM aralığındaki melatonin derişimlerine ait DPV eğrileri [0,1 M, pH:7,0 fosfat tamponu; 25 ± 2 °C].



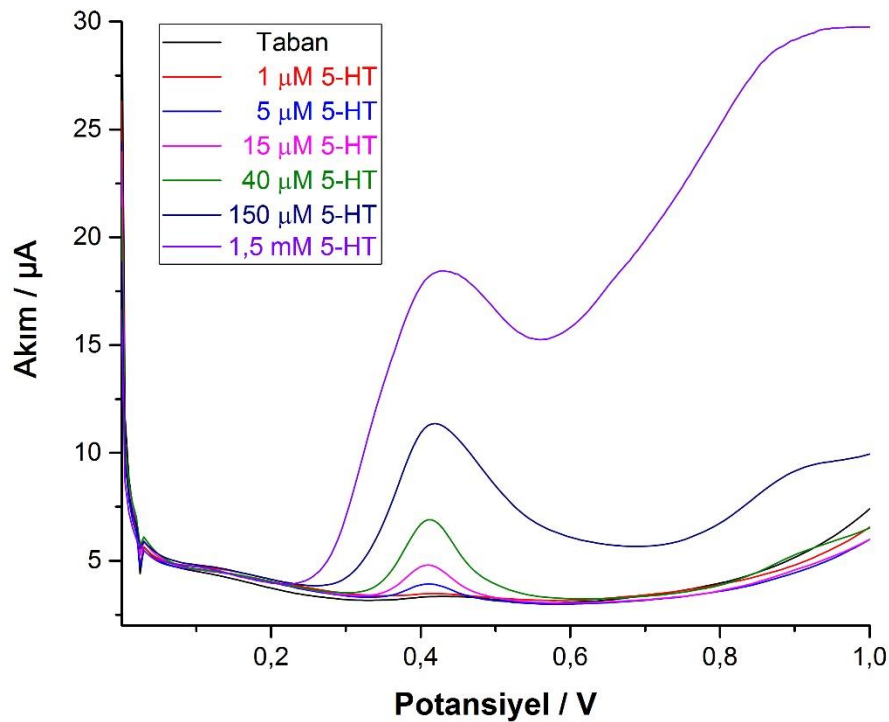
Şekil 4.49. Çıplak PBKE ile 0,15 mM - 8 mM aralığındaki melatonin derişimlerine ait DPV eğrileri [0,1 M, pH:7,0 fosfat tamponu; 25 ± 2 °C].



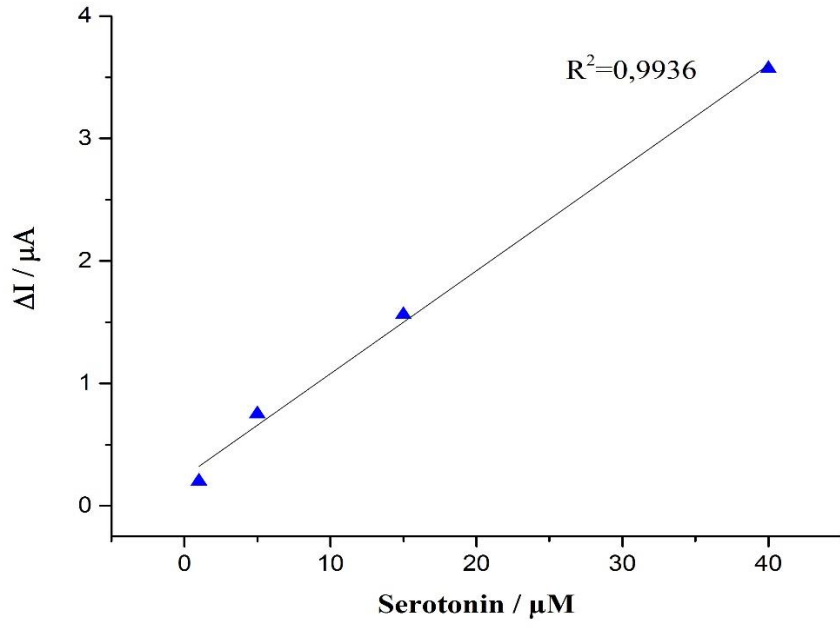
Şekil 4.50. 1 μM – 3 mM arasındaki melatonin derişimlerine karşılık akımdaki değışimleri gösteren kalibrasyon grafiğı [0,1 M, pH:7,0 fosfat tamponu; 25 ± 2 °C].

4.4. Çıplak Perde Baskılı Karbon Elektrotlarla Serotonin Tayin Aralığının Belirlenmesi

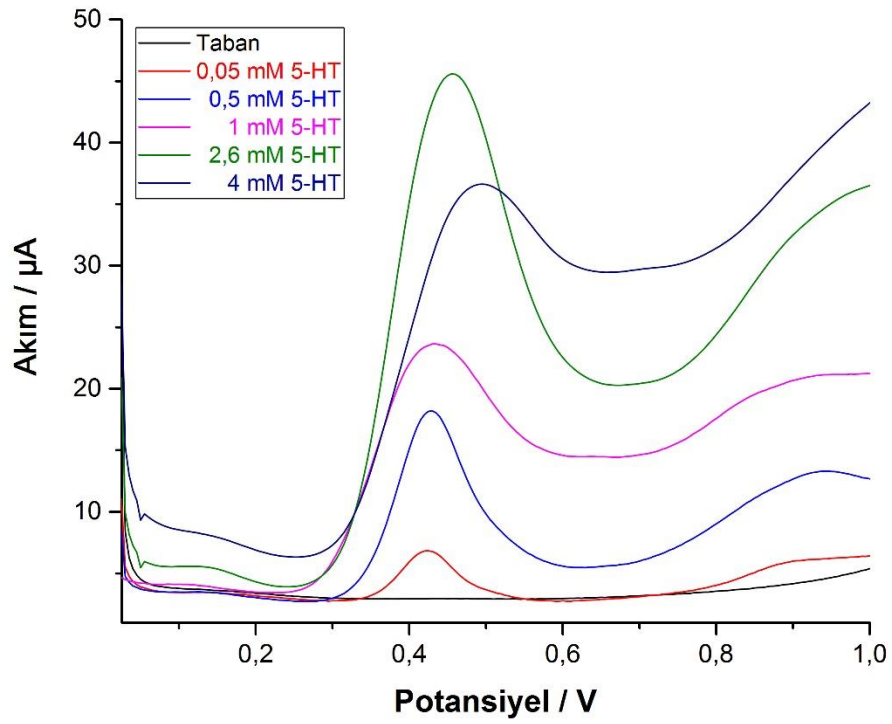
Çıplak perde baskılı karbon elektrot ile hangi derişimde serotonin tayininin yapılacağıın tespiti için 1 μM ile 4 mM arasında DPV ölçümleri alınmıştır. Şekil 4.51 ve Şekil 4.52’de görülen DPV eğrileri incelendiğinde artan serotonin derişimine bağılı olarak +0,42 V’luk potansiyelde taban akımına karşın bir artış görölmektedir. Şekilden de anlaşılaacağı üzere en düşük serotonin derişimi 1 μM ’dır. Serotonin derişimlerinin düşük ve yüksek olmasından ziyade art arda yapılan serotonin ölçümlerinde elektrot yüzeyindeki birikmeden dolayı beşinci veya altıncı ölçümden sonra doğrusallıktan sapma gösterdiği grafiklerden anlaşılmaktadır. Bu derişim aralığındaki akım değışimleri Şekil 4.53 ve Şekil 4.54’deki kalibrasyon grafiklerinden gösterilmiş olup R^2 değıerleri sırasıyla 0,9936 ve 0,9822 olarak hesaplanmıştır.



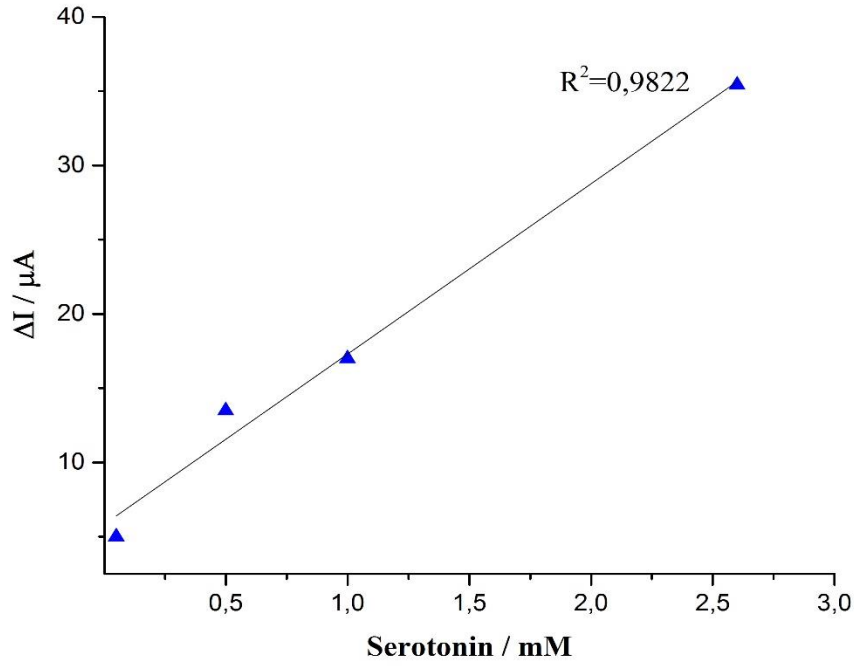
Şekil 4.51. Çıplak PBKE ile 1 μM – 1,5 mM aralığındaki serotonin derişimlerine ait DPV eğrileri [0,1 M, pH:7,0 fosfat tamponu; 25 ± 2 °C].



Şekil 4.52. 1 µM – 40 µM arasındaki serotonin derişimlerine karşılık akımdaki değışimleri gösteren kalibrasyon grafiğı [0,1 M, pH:7,0 fosfat tamponu; 25±2 °C].



Şekil 4.53. Çıplak PBKE ile 0,05 mM - 4 mM aralığındaki serotonin derişimlerine ait DPV eğrileri [0,1 M, pH:7,0 fosfat tamponu; 25±2 °C].



Şekil 4.54. 0,05 mM – 2,6 mM arasındaki serotonin derişimlerine karşılık akımdaki değışimleri gösteren kalibrasyon grafiğı [0,1 M, pH:7,0 fosfat tamponu; 25±2 °C].

4.5. Perde Baskılı Karbon Elektrodun Farklı Polimerler ile Kaplanması

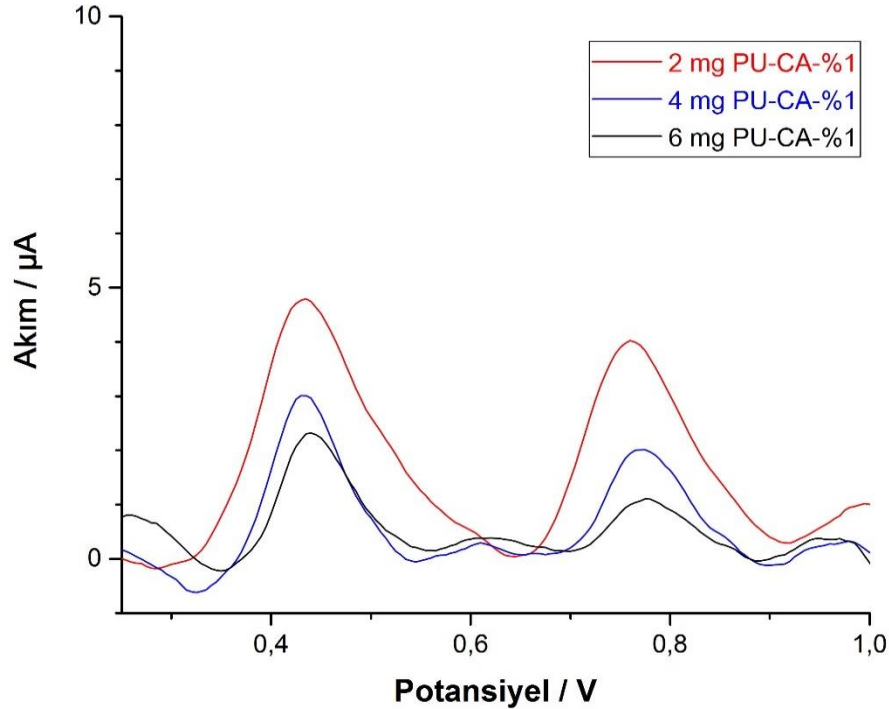
Girişim yapan elektroaktif türlerin varlığında melatonin ve serotoninin eş zamanlı olarak tayininin yapılabilmesi için, seçici-geçirgen özellikte polimerik filmler ile perde baskılı karbon elektrotlar (PBKE) ve çok duvarlı karbon nanotüp modifiye perde baskılı karbon elektrotlar (MWCNT-PBKE) ile kaplanarak elektrokimyasal ölçümler gerçekleştirildi. Bu amaçla kafeik asit, gallik asit ve klorogenik asit temelli poliüretanlar ile 2,7-diaminofloren ve 4,4'-diaminodifenil eter monomerlerinin farklı anhidritler ile kombinasyonundan sentezlenen poliimidler kullanılarak elektrot yüzeyleri bu farklı polimer serileri ile kaplandı.

4.5.1. PBKE'nin kafeik asit temelli poliüretan serileriyle kaplanması

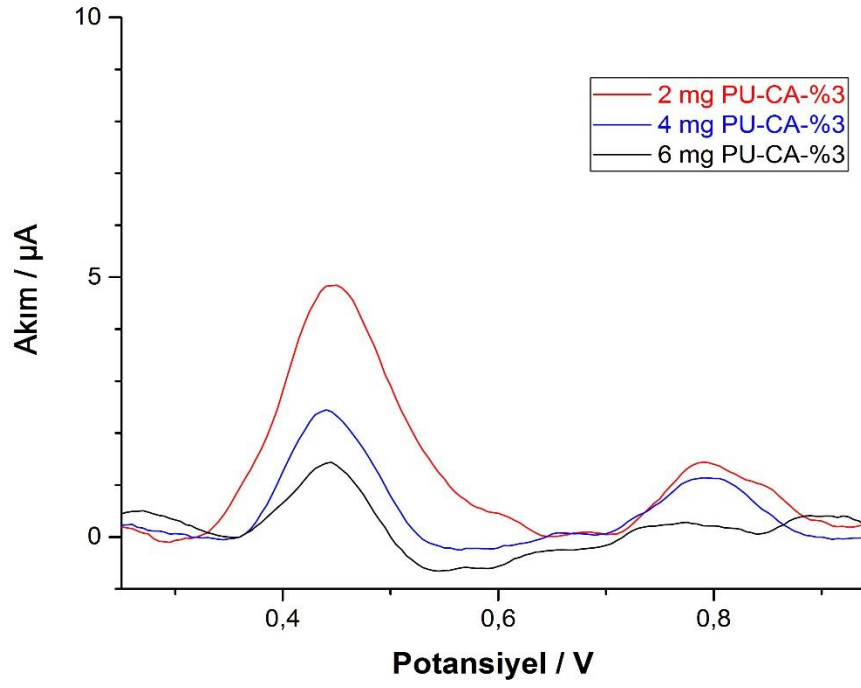
Kafeik asit temelli PU-CA-%1, PU-CA-%3, PU-CA-%5 ve PU-CA-%10 sentez kodlu poliüretan serileri ile PBKE'lar amacımız doğrultusunda kaplanmıştır. Tek kullanımlık PBKE yüzeyine 2, 4 ve 6 mg poliüretandan hazırlanmış farklı

yoğunluktaki çözeltiler 3 µL damlatılarak bir polimerik film oluşturulmuş ve 0,46 mM melatonin ve 0,23 mM serotonin çözeltisi için analizler yapılmıştır. PU-CA-%1, PU-CA-%3 ve PU-CA-%5 poliüretan serileri için elde edilen DPV eğrileri sırasıyla Şekil 4.55, Şekil 4.56 ve Şekil 4.57’de verilmiştir.

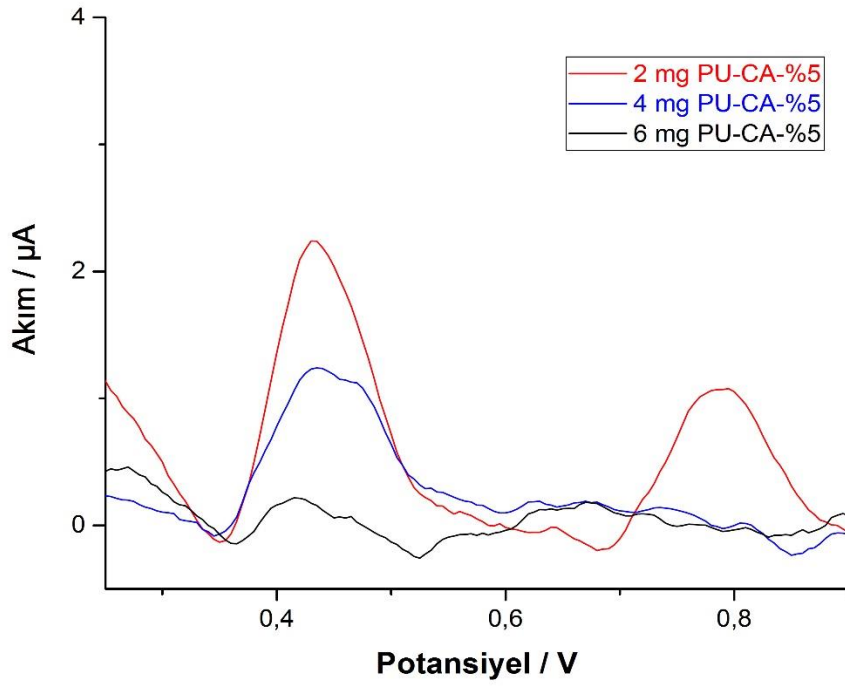
Bu eğriler incelendiğinde en yüksek yanıtın 2 mg yoğunluktaki poliüretan damlatılarak kaplanan elektrot ile alındığı görülmektedir. Çıplak PBKE ile aynı derişimlerde alınan yanıt ile 2 mg PU-CA-%1 polimeri ile hazırlanan elektrot ile alınan ölçüm yanıtını karşılaştırdığımızda serotonin için 14 µA olan akım değeri 5 µA’e, melatonin için 15 µA olan akım değeri 4 µA’e düşmüştür. Aynı şekilde 3 farklı derişimde hazırlanarak kaplanan elektrotlar ile alınan ölçümlerde 2 mg PU-CA-%3 için akımda meydana gelen değışim serotonin ve melatonin için sırasıyla 9 µA ve 13,5 µA bulunmuştur. 2 mg PU-CA-%5 polimeri için yapılan ölçümlerde akımda meydana gelen değışimler sırasıyla 11,5 µA ve 13,9 µA olarak bulunmuştur. PU-CA-%10 polimer serisi ile yapılan ölçümlerde sensör yanıtı alınamadığından dolayı grafiklerine burada yer verilmemiştir.



Şekil 4.55. PU-CA-%1 poliüretan ile kaplanan PBKE’ler ile melatonin ve serotonin eş zamanlı ölçümü [DPV; 0,1 M, pH:7,0 fosfat tamponu; 25±2 °C].



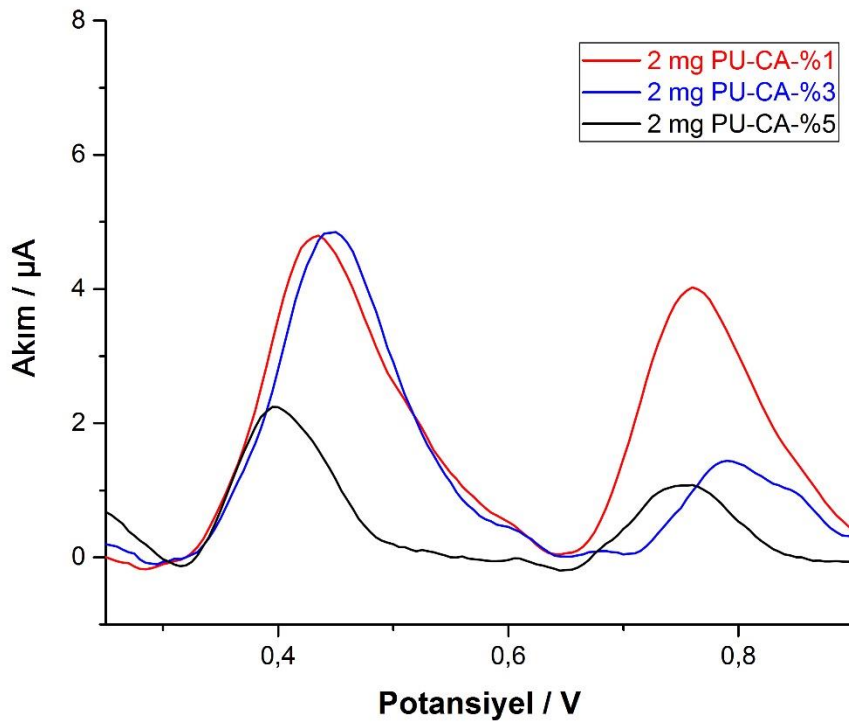
Şekil 4.56. PU-CA-%3 poliüretan ile kaplanan PBKE'ler ile melatonin ve serotonin eş zamanlı ölçümü [DPV; 0,1 M, pH:7,0 fosfat tamponu; 25 ± 2 °C].



Şekil 4.57. PU-CA-%5 poliüretan ile kaplanan PBKE'ler ile melatonin ve serotonin eş zamanlı ölçümü [DPV; 0,1 M, pH:7,0 fosfat tamponu; 25 ± 2 °C].

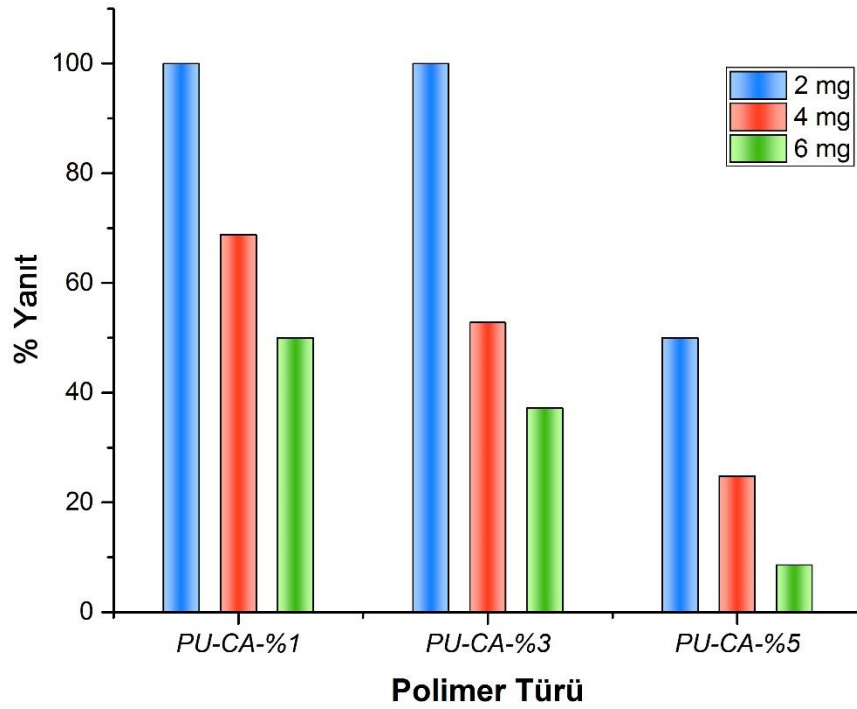
4.5.1.1. Kafeik asit temelli poliüretan yanıtlarının karşılaştırılması

Kafeik asit temelli PU-CA-%1, PU-CA-%3, PU-CA-%5 ve PU-CA-%10 sentez kodlu poliüretanların kaplanması ile hazırlanan elektrotlar ile yapılan ölçümler incelendiği zaman bu polimer türü için en yüksek yanıtların 2 mg alınarak kaplanan elektrotlardan alındığı görülmektedir. Şekil 4.58’de bu DPV eğrileri verilmiştir. 4 farklı oranda hazırlanan polimer türleri ile 3 farklı miktarlarda kaplanan elektrotlar ile gerçekleştirilen 0,46 mM melatonin ve 0,23 mM serotonin ölçümleri için en yüksek ve düzgün yanıtların 2 mg PU-CA-%1 polimeri ile hazırlanan elektrottan alındığı grafiklerden görülmektedir. En yüksek yanıtın alındığı bu elektrot için elde edilen akım farklı 100 kabul edilip, diğer polimerlerle hazırlanan elektrotlarda için elde edilen akım farkları buna göre oranlandığında elde edilen sonuçlar Şekil 4.59 ve Şekil 4.60’da verilmiştir.

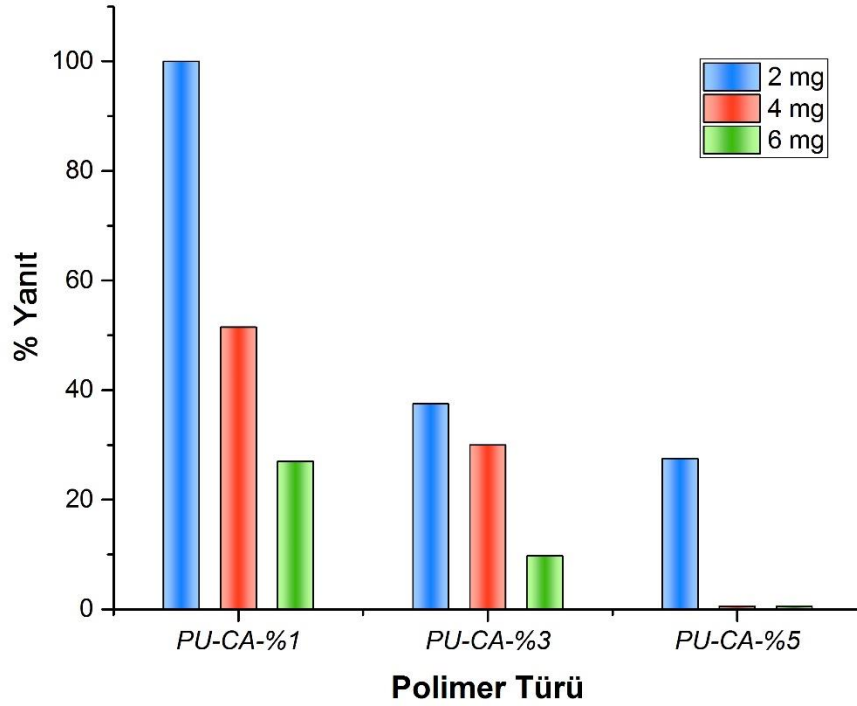


Şekil 4.58. PU-CA-%1, PU-CA-%3 ve PU-CA-%5 polimerleri ile alınan en yüksek yanıtlar [DPV; 0,1 M, pH:7,0 fosfat tamponu; 25 ± 2 °C].

Serotonin için sonuçlar incelendiğinde 2 mg PU-CA-%3 ile elde edilen yanıt ile en yüksek yanıt değeri arasında bir fark olmadığı ancak 2 mg PU-CA-%5 için % 50’lik bir düşüş olduğu görülmektedir. Melatonin için sonuçları incelediğimizde 2 mg PU-CA-%3 ile elde edilen yanıt ile en yüksek yanıt değeri arasında % 62,5’lik, 2 mg PU-CA-%5 için ise % 72,5’lik bir düşüş olduğu görülmektedir. Poliüretan içerisinde yer alan kafeik asit miktarının artışına paralel olarak sensör yanıtlarında gözlenen düşüşün polimer yapısı içerisindeki çağraz bağ sayılarının fazlalığından kaynaklanmaktadır. Tüm bu veriler ışığında hazırlanacak sensörde en yüksek yanıtların alındığı 2 mg PU-CA-%1 poliüretanların kullanılmasına karar verilmiştir.



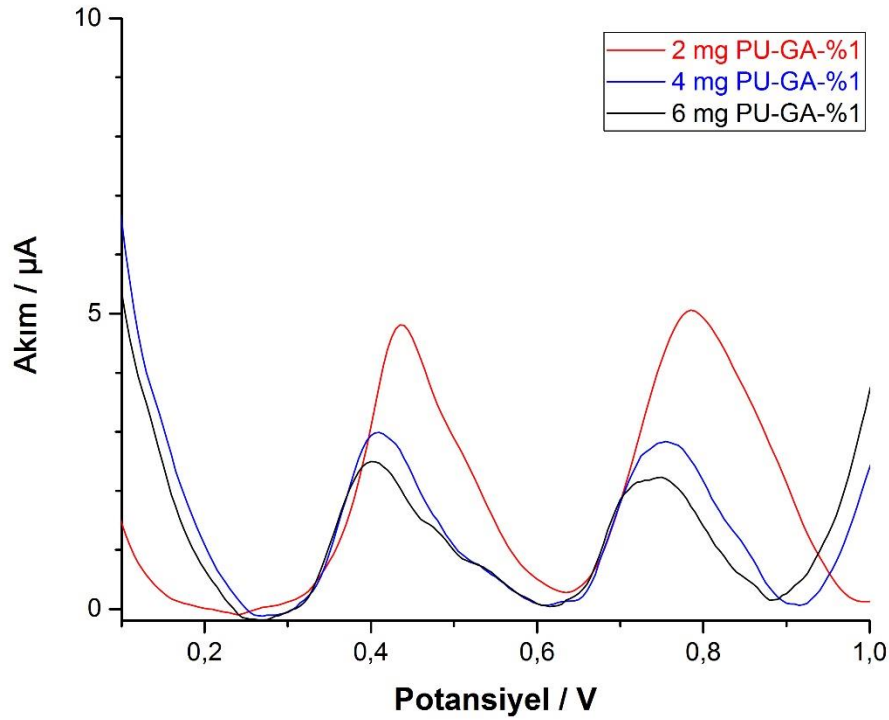
Şekil 4.59. PU-CA-%1, PU-CA-%3 ve PU-CA-%5 polimerleri ile alınan tüm serotonin yanıtların karşılaştırılması.



Şekil 4.60. PU-CA-%1, PU-CA-%3 ve PU-CA-%5 polimerleri ile alınan tüm melatonin yanıtların karşılaştırılması.

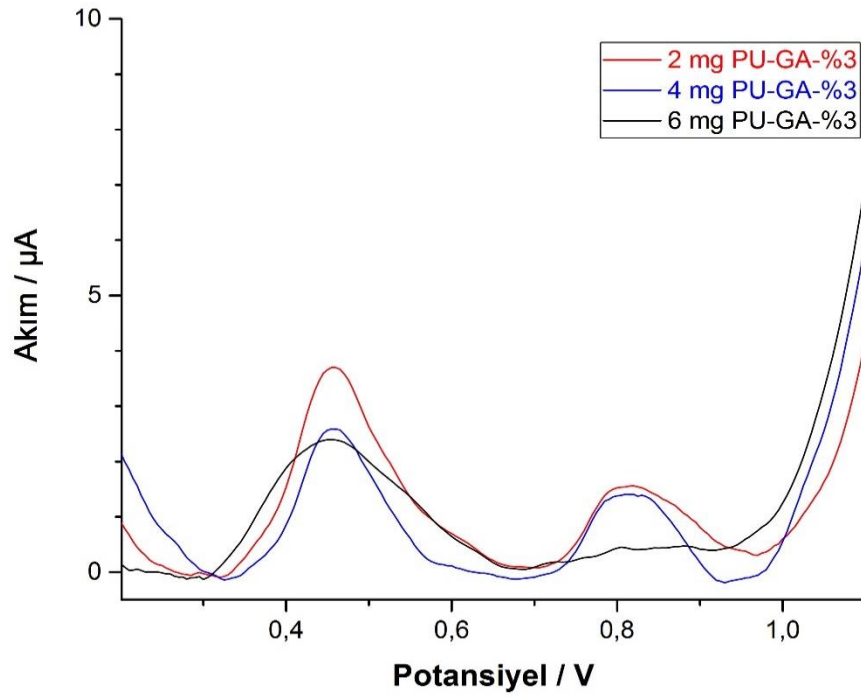
4.5.2. PBKE'nin Gallik asit temelli poliüretan serileriyle kaplanması

Gallik asit temelli PU-GA-%1, PU-GA-%3, PU-GA-%5 ve PU-GA-%10 sentez kodlu poliüretan serileri ile PBKE'lar amacımız doğrultusunda kaplanmıştır. Tek kullanımlık PBKE yüzeyine 2, 4 ve 6 mg poliüretandan hazırlanmış farklı yoğunluktaki çözeltiler 3 μ L damlatılarak bir polimerik film oluşturulmuş ve 0,46 mM melatonin ve 0,23 mM serotonin çözeltisi için analizler yapılmıştır. PU-GA-%1, PU-GA-%3 ve PU-GA-%5 poliüretan serileri için elde edilen DPV eğrileri sırasıyla Şekil 4.61, Şekil 4.62 ve Şekil 4.63'de verilmiştir.

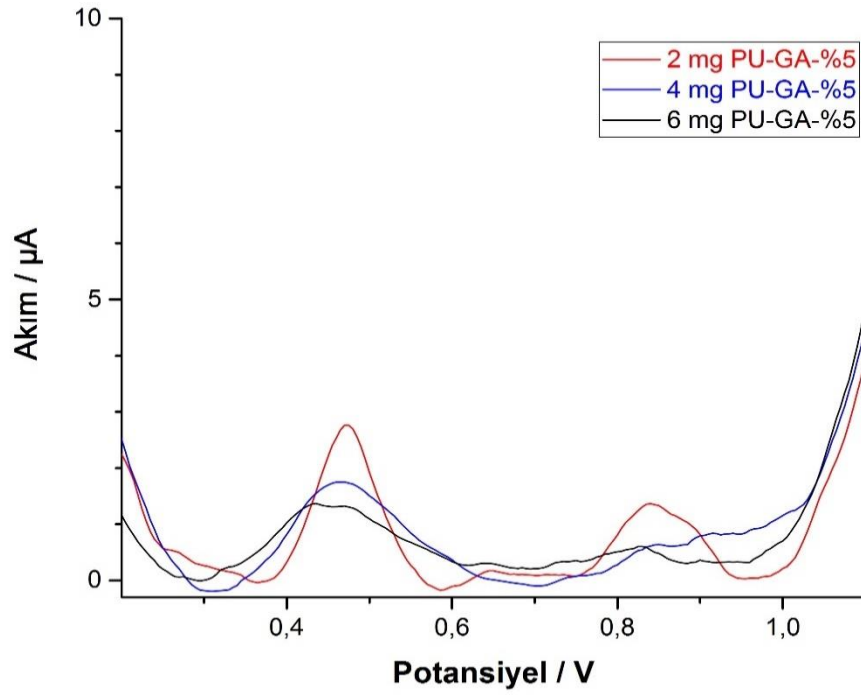


Şekil 4.61. PU-GA-%1 poliüretan ile kaplanan PBKE'ler ile melatonin ve serotonin eş zamanlı ölçümü [DPV; 0,1 M, pH:7,0 fosfat tamponu; 25 ± 2 °C].

Bu eğriler incelendiğinde en yüksek yanıtın 2 mg yoğunluktaki poliüretan damlatılarak kaplanan elektrot ile alındığı görülmektedir. Çıplak PBKE ile aynı derişimlerde alınan yanıt ile 2 mg PU-GA-%1 polimeri ile hazırlanan elektrot ile alınan ölçüm yanıtını karşılaştırdığımızda serotonin için 14 μ A olan akım değeri 4,4 μ A'e, melatonin için 15 μ A olan akım değeri 4,7 μ A'e düşmüştür. Aynı şekilde 3 farklı derişimde hazırlanarak kaplanan elektrotlar ile alınan ölçümlerde 2 mg PU-GA-%3 için akımda meydana gelen değışim serotonin ve melatonin için sırasıyla 10,3 μ A ve 13,5 μ A bulunmuştur. 2 mg PU-GA-%5 polimeri için yapılan ölçümlerde akımda meydana gelen değışimler sırasıyla 11,2 μ A ve 13,8 μ A olarak bulunmuştur. PU-GA-%10 polimer serisi ile yapılan ölçümlerde sensör yanıtı alınamadığından dolayı grafiklerine burada yer verilmemiştir.



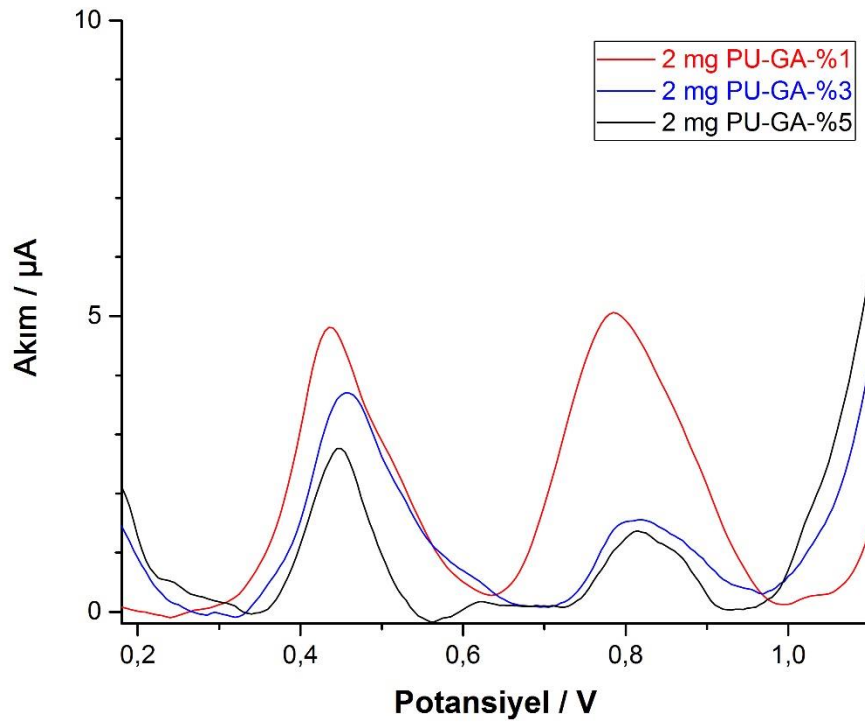
Şekil 4.62. PU-GA-%3 poliüretan ile kaplanan PBKE'ler ile melatonin ve serotonin eş zamanlı ölçümü [DPV; 0,1 M, pH:7,0 fosfat tamponu; 25 ± 2 °C].



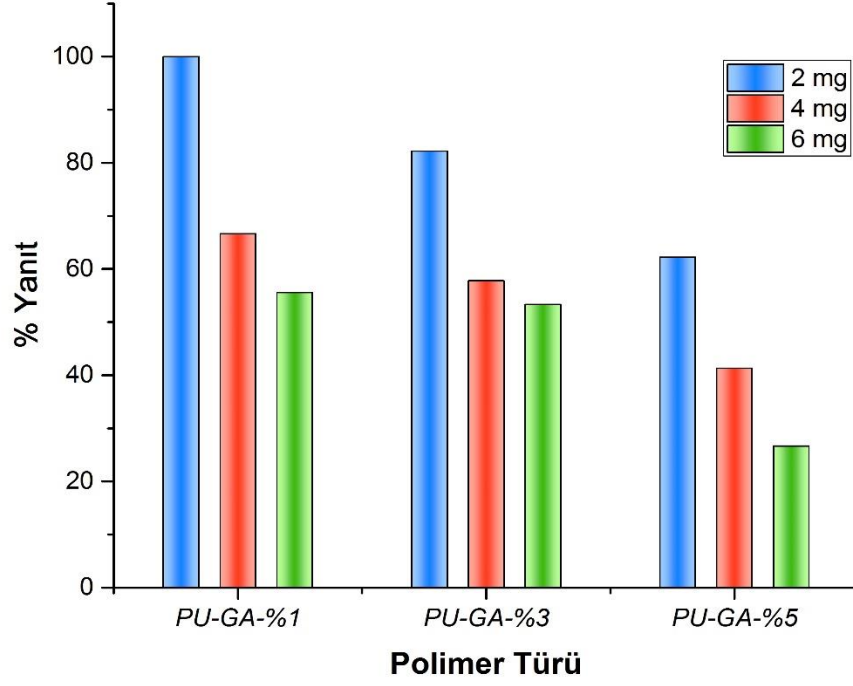
Şekil 4.63. PU-GA-%5 poliüretan ile kaplanan PBKE'ler ile melatonin ve serotonin eş zamanlı ölçümü [DPV; 0,1 M, pH:7,0 fosfat tamponu; 25 ± 2 °C].

4.5.2.1. Gallik asit temelli poliüretan yanıtlarının karşılaştırılması

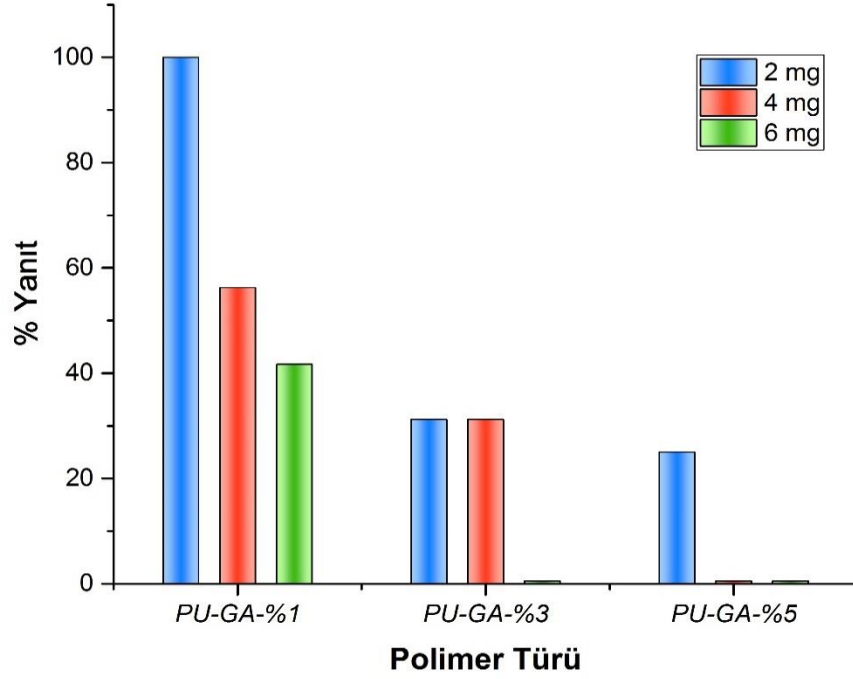
Gallik asit temelli PU-GA-%1, PU-GA-%3, PU-GA-%5 ve PU-GA-%10 sentez kodlu poliüretanların kaplanması ile hazırlanan elektrotlar ile yapılan ölçümler incelendiği zaman bu polimer türü için en yüksek yanıtların 2 mg alınarak kaplanan elektrotlardan alındığı görülmektedir. Şekil 4.64’de bu DPV eğrileri verilmiştir. 4 farklı oranda hazırlanan polimer türleri ile 3 farklı miktarlarda kaplanan elektrotlar ile gerçekleştirilen 0,46 mM melatonin ve 0,23 mM serotonin ölçümleri için en yüksek ve düzgün yanıtların 2 mg PU-GA-%1 polimeri ile hazırlanan elektrottan alındığı grafiklerden görülmektedir. En yüksek yanıtın alındığı bu elektrot için elde edilen akım farklı 100 kabul edilip, diğer polimerlerle hazırlanan elektrotlarda için elde edilen akım farkları buna göre oranlandığında elde edilen sonuçlar Şekil 4.65 ve Şekil 4.66’da verilmiştir.



Şekil 4.64. PU-GA-%1, PU-GA-%3 ve PU-GA-%5 polimerleri ile alınan en yüksek yanıtlar [DPV; 0,1 M, pH:7,0 fosfat tamponu; 25 ± 2 °C].



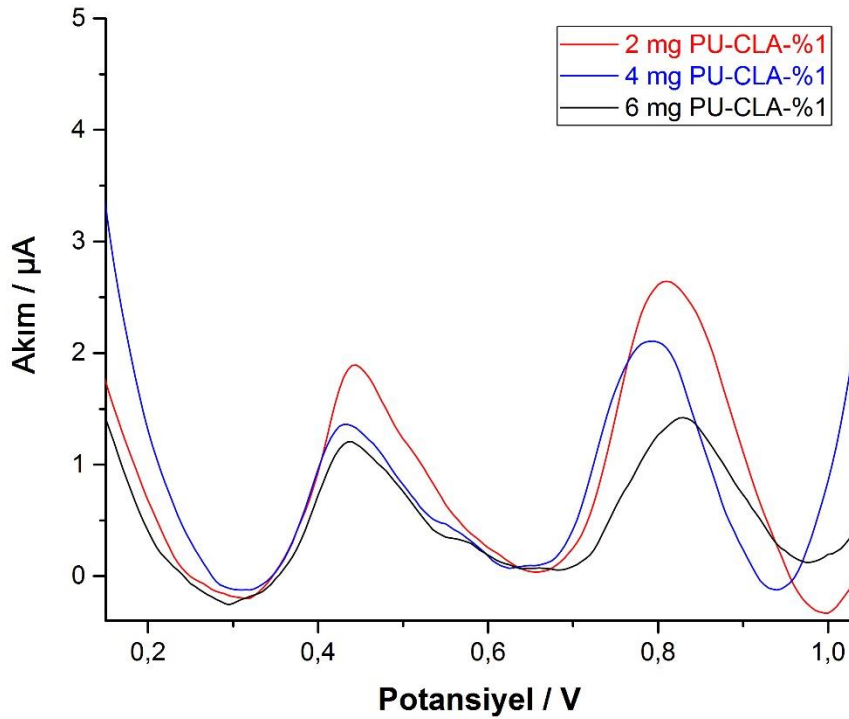
Şekil 4.65. PU-GA-%1, PU-GA-%3 ve PU-GA-%5 polimerleri ile alınan tüm serotonin yanıtların karşılaştırılması.



Şekil 4.66. PU-GA-%1, PU-GA-%3 ve PU-GA-%5 polimerleri ile alınan tüm melatonin yanıtların karşılaştırılması.

4.5.3. PBKE'nin Klorogenik asit temelli poliüretan serileriyle kaplanması

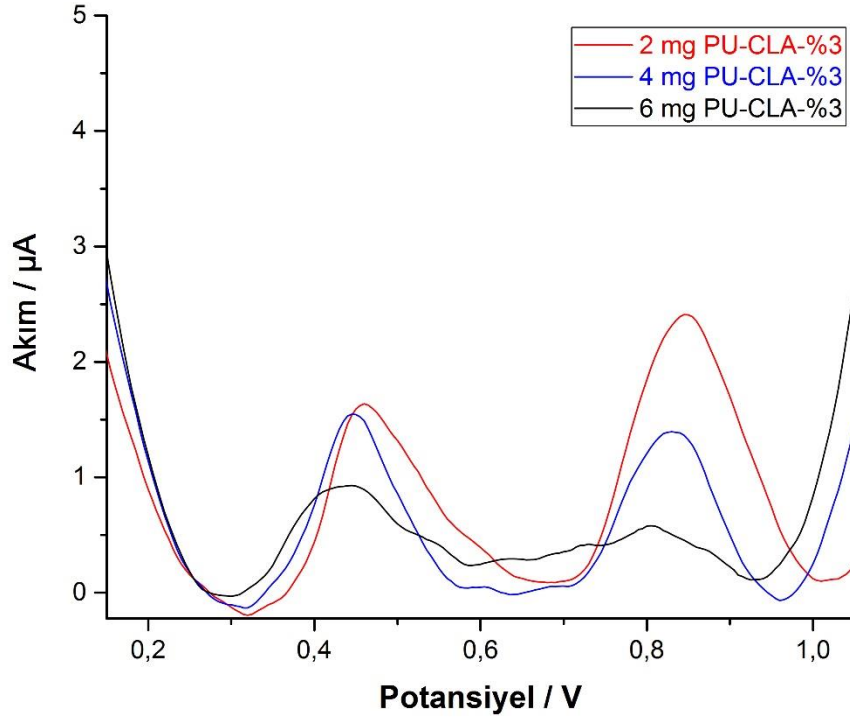
Klorogenik asit temelli PU-CLA-%1, PU-CLA-%3, PU-CLA-%5 ve PU-CLA-%10 sentez kodlu poliüretan serileri ile PBKE'lar amacımız doğrultusunda kaplanmıştır. Tek kullanımlık PBKE yüzeyine 2, 4 ve 6 mg poliüretandan hazırlanmış farklı yoğunluktaki çözeltiler 3 μ L damlatılarak bir polimerik film oluşturulmuş ve 0,46 mM melatonin ve 0,23 mM serotonin çözeltisi için analizler yapılmıştır. PU-CLA-%1, PU-CLA-%3 ve PU-CLA-%5 poliüretan serileri için elde edilen DPV eğrileri sırasıyla Şekil 4.67, Şekil 4.68 ve Şekil 4.69'da verilmiştir.



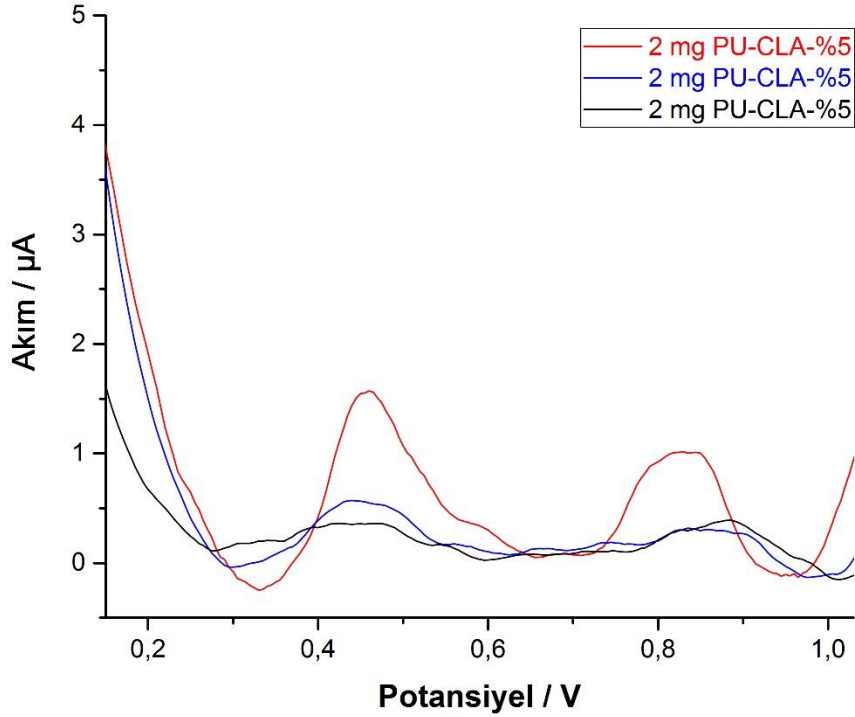
Şekil 4.67. PU-CLA-%1 poliüretan ile kaplanan PBKE'ler ile melatonin ve serotonin eş zamanlı ölçümü [DPV; 0,1 M, pH:7,0 fosfat tamponu; 25 ± 2 °C].

Bu eğriler incelendiğinde en yüksek yanıtın 2 mg yoğunluktaki poliüretan damlatılarak kaplanan elektrot ile alındığı görülmektedir. Çıplak PBKE ile aynı derişimlerde alınan yanıt ile 2 mg PU-CLA-%1 polimeri ile hazırlanan elektrot ile alınan ölçüm yanıtını karşılaştırdığımızda serotonin için 14 μ A olan akım değeri 2 μ A'e, melatonin için 15 μ A olan akım değeri 2,8 μ A'e düşmüştür. Aynı şekilde 3 farklı derişimde hazırlanarak kaplanan elektrotlar ile alınan ölçümlerde 2 mg PU-CLA-%3

için akımda meydana gelen değişim serotonin ve melatonin için sırasıyla 12,2 μA ve 12,6 μA bulunmuştur. 2 mg PU-CLA-%5 polimeri için yapılan ölçümlerde akımda meydana gelen değişimler sırasıyla 12,3 μA ve 13,9 μA olarak bulunmuştur. PU-CLA-%10 polimer serisi ile yapılan ölçümlerde sensör yanıtı alınamadığından dolayı grafiklerine burada yer verilmemiştir.



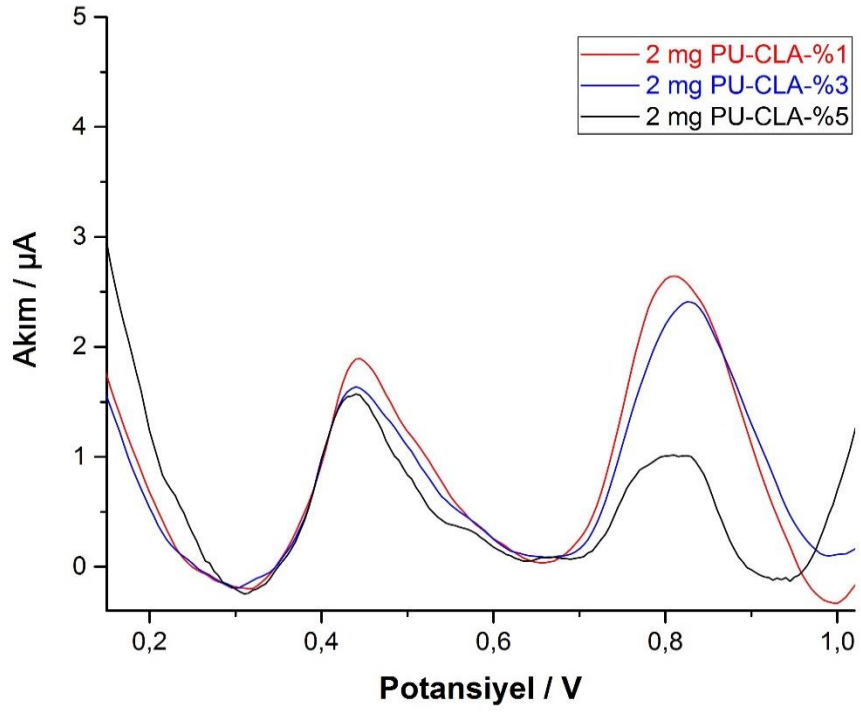
Şekil 4.68. PU-CLA-%3 poliüretan ile kaplanan PBKE'ler ile melatonin ve serotonin eş zamanlı ölçümü [DPV; 0,1 M, pH:7,0 fosfat tamponu; 25 ± 2 °C].



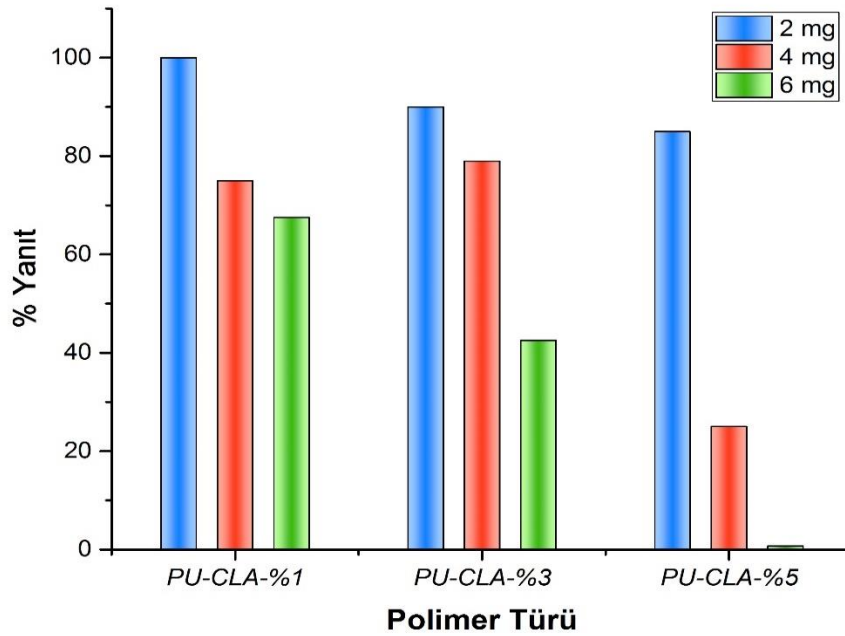
Şekil 4.69. PU-CLA-%5 poliüretan ile kaplanan PBKE'ler ile melatonin ve serotonin eş zamanlı ölçümü [DPV; 0,1 M, pH:7,0 fosfat tamponu; 25 ± 2 °C].

4.5.3.1. Klorojenik asit temelli poliüretan yanıtlarının karşılaştırılması

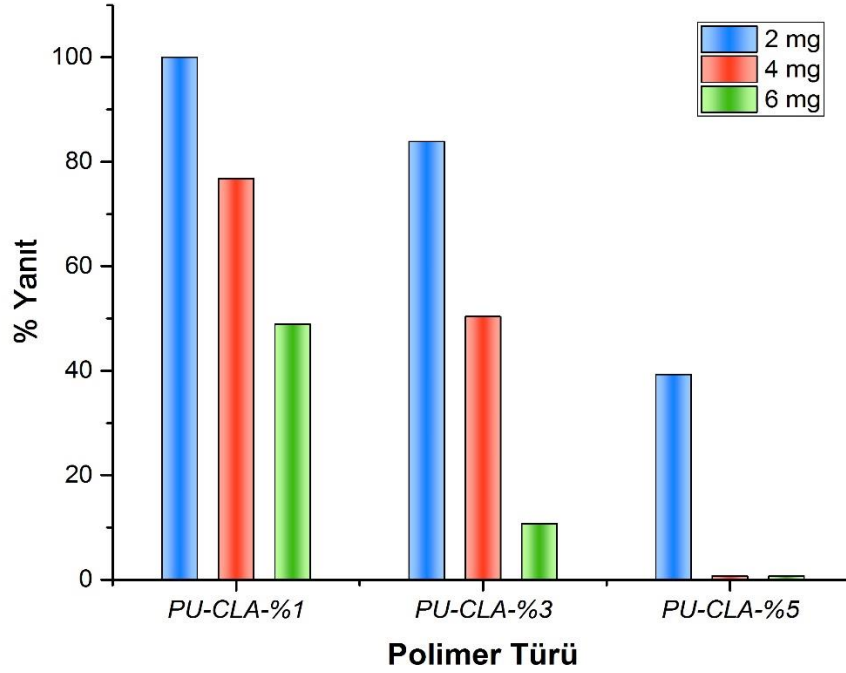
Klorojenik asit temelli PU-CLA-%1, PU-CLA-%3, PU-CLA-%5 ve PU-CLA-%10 sentez kodlu poliüretanların kaplanması ile hazırlanan elektrotlar ile yapılan ölçümler incelendiği zaman bu polimer türü için en yüksek yanıtların 2 mg alınarak kaplanan elektrotlardan alındığı görülmektedir. Şekil 4.70'de bu DPV eğrileri verilmiştir. 4 farklı oranda hazırlanan polimer türleri ile 3 farklı miktarlarda kaplanan elektrotlar ile gerçekleştirilen 0,46 mM melatonin ve 0,23 mM serotonin ölçümleri için en yüksek ve düzgün yanıtların 2 mg PU-CLA-%1 polimeri ile hazırlanan elektrottan alındığı grafiklerden görülmektedir. En yüksek yanıtın alındığı bu elektrot için elde edilen akım farklı 100 kabul edilip, diğer polimerlerle hazırlanan elektrotlarda için elde edilen akım farkları buna göre oranlandığında elde edilen sonuçlar Şekil 4.71 ve Şekil 4.72'de verilmiştir.



Şekil 4.70. PU-CLA-%1, PU-CLA-%3 ve PU-CLA-%5 polimerleri ile alınan en yüksek yanıtlar [DPV; 0,1 M, pH:7,0 fosfat tamponu; 25±2 °C].



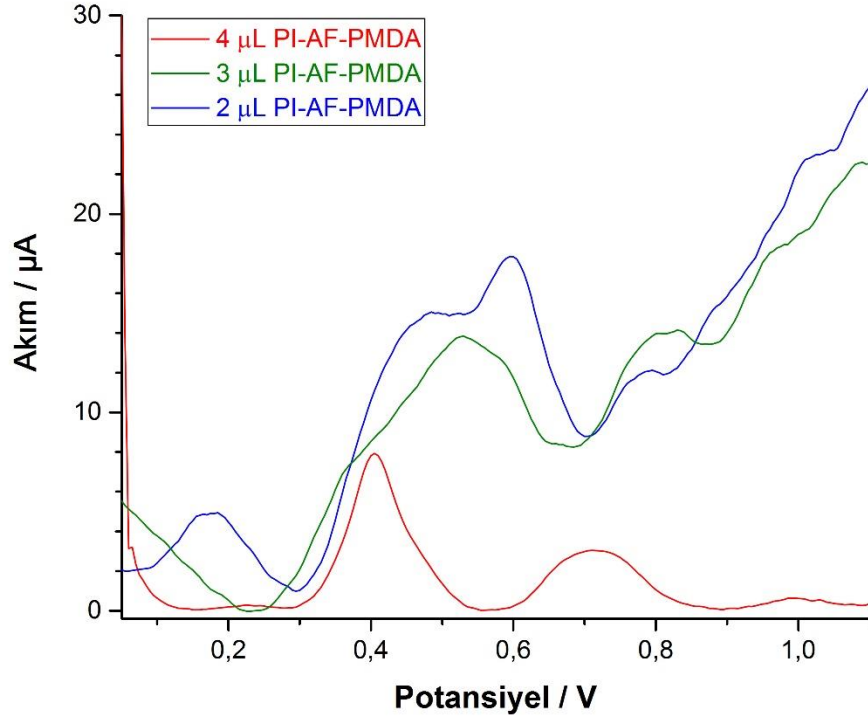
Şekil 4.71. PU-CLA-%1, PU-CLA-%3 ve PU-CLA-%5 polimerleri ile alınan tüm serotonin yanıtlarının karşılaştırılması.



Şekil 4.72. PU-CLA-%1, PU-CLA-%3 ve PU-CLA-%5 polimerleri ile alınan tüm melatonin yanıtların karşılaştırılması.

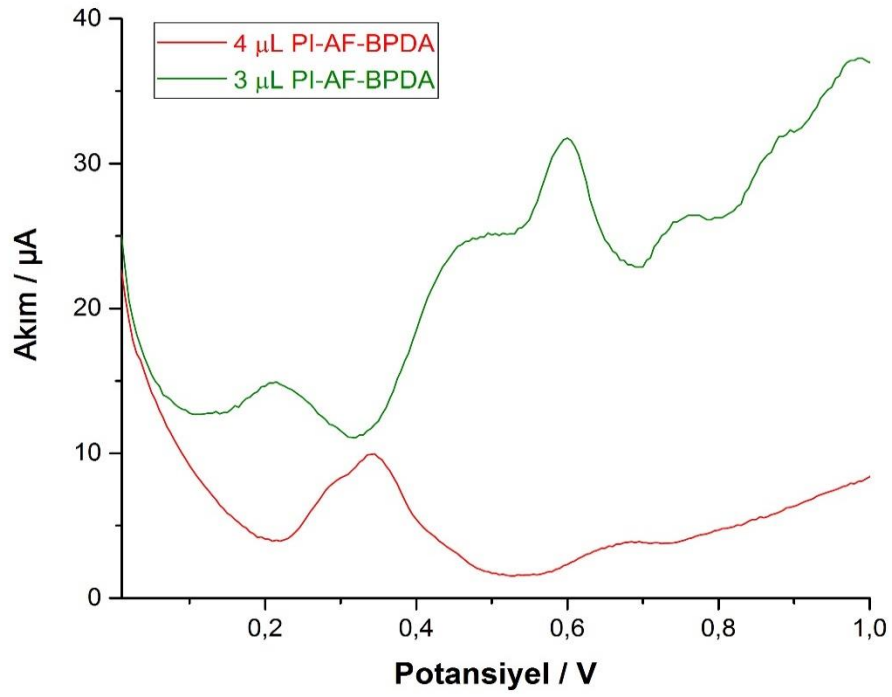
4.5.4. PBKE'nin poli[2,7-diaminofloren-anhidrit] poliimid serileriyle kaplanması

2,7-diaminofloren monomeri ve üç farklı dianhidritin kullanılması ile elde edilen PI-AF-PMDA, PI-AF-BPDA VE PI-AF-ODPA sentez kodlu poliimid serileri ile PBKE'lar amacımız doğrultusunda kaplanmıştır. Tek kullanımlık PBKE yüzeyi 2, 3 ve 4 μL 'lik hacimlerde damlatılarak farklı film kalınlıkları oluşturulmuş ve 0,46 mM melatonin ve 0,23 mM serotonin çözeltisi için analizler yapılmıştır. Elektrot yüzeyinde taşmalara sebep olup referans ve karşıt elektrotu olumsuz etkileyeceğinden dolayı 4 μL 'den daha yüksek hacimler uygulanmamıştır. PI-AF-PMDA, PI-AF-BPDA VE PI-AF-ODPA poliimid serileri için elde edilen DPV eğrileri sırasıyla Şekil 4.73, Şekil 4.74 ve Şekil 4.75'de verilmiştir.

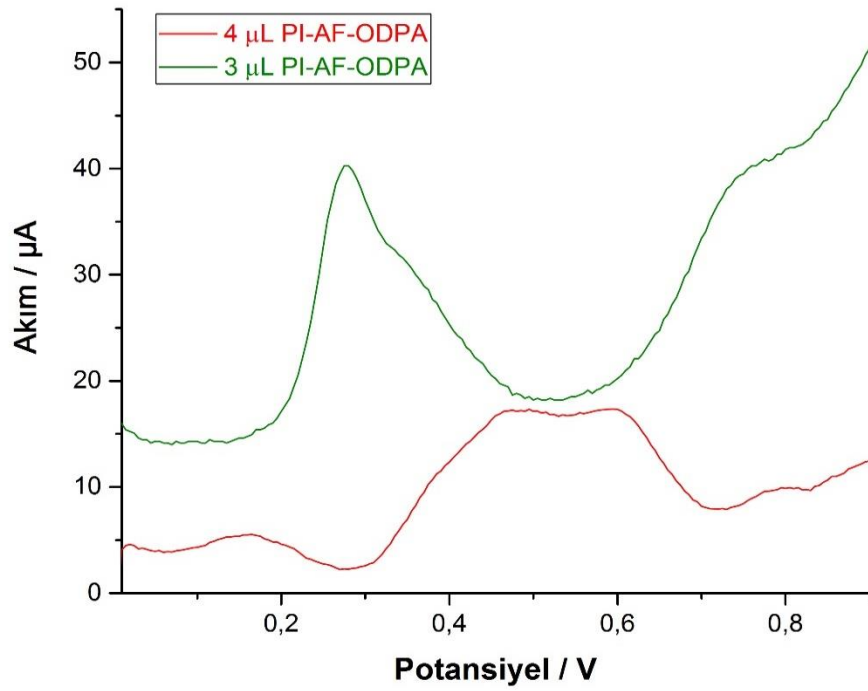


Şekil 4.73. PI-AF-PMDA poliimid ile kaplanan PBKE'ler ile melatonin ve serotonin eş zamanlı ölçümü [DPV; 0,1 M, pH:7,0 fosfat tamponu; 25 ± 2 °C].

Bu eğriler incelendiğinde girişim yapan türlerin engellenerek piklerin birbirinden belirgin şekilde ayrımının sağlandığı yanıtın 4 µL PI-AF-PMDA poliimid damlatılarak kaplanan elektrot ile alındığı görülmektedir. Çıplak PBKE ile aynı derişimlerde alınan yanıt ile 4 µL PI-AF-PMDA polimeri ile hazırlanan elektrot ile alınan ölçüm yanıtını karşılaştırdığımızda serotonin için 14 µA olan akım değeri 7,8 µA'e, melatonin için 15 µA olan akım değeri 3,1 µA'e düşmüştür. En iyi yanıtın alındığı 4 µL PI-AF-PMDA polimeri haricindeki diğer polimer ile kaplanan elektrotlar ile alınan yanıtlar incelendiğinde girişim yapan türlerin yanıtlarının yeteri kadar giderilemediği, pik ayrımlarının sağlanamadığı ve sebeplerden ötürü uygun bir membran oluşturulamadığı görülmüştür. Bundan dolayı bu polimer serilerinde yanıtların karşılaştırılmasına ihtiyaç duyulmamıştır.



Şekil 4.74. PI-AF-BPDA poliimid ile kaplanan PBKE'ler ile melatonin ve serotonin eş zamanlı ölçümü [DPV; 0,1 M, pH:7,0 fosfat tamponu; 25 ± 2 °C].



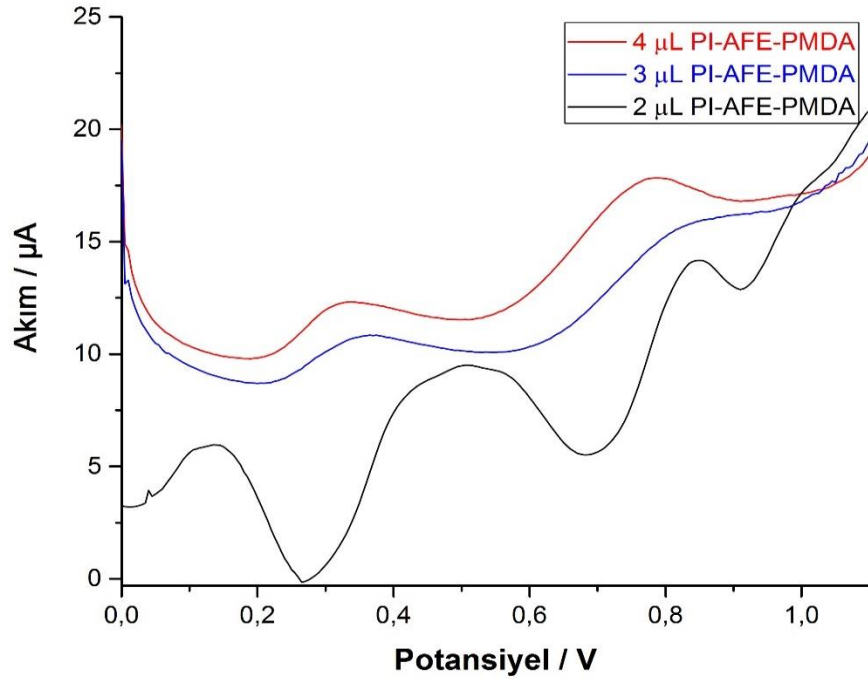
Şekil 4.75. PI-AF-ODPA poliimid ile kaplanan PBKE'ler ile melatonin ve serotonin eş zamanlı ölçümü [DPV; 0,1 M, pH:7,0 fosfat tamponu; 25 ± 2 °C].

4.5.5. PBKE'nin poli[4.4'-Diaminodifenileter - piromellitimid] poliimid serileriyle kaplanması

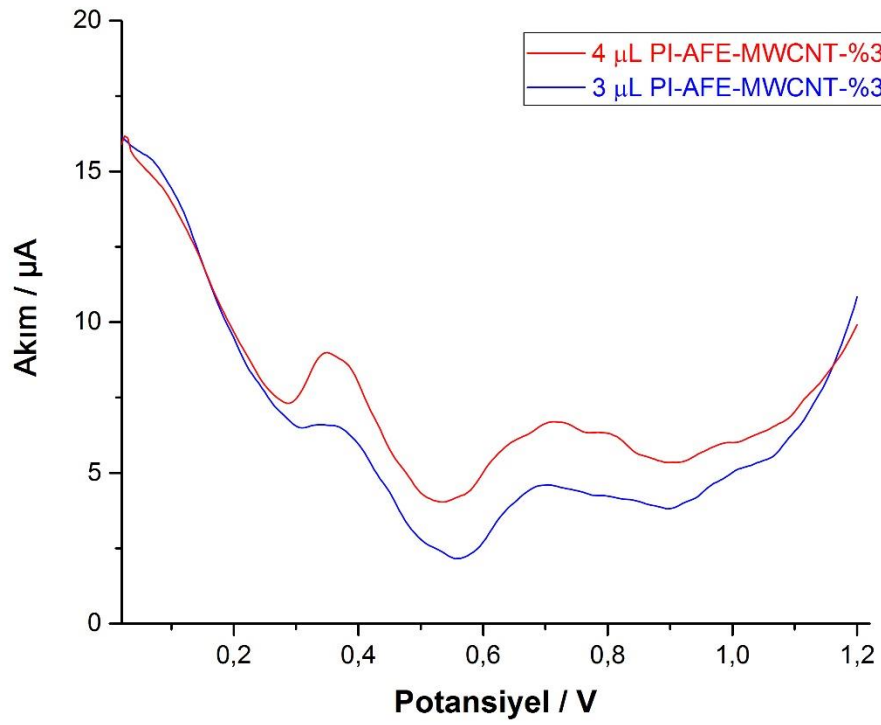
4.4'-Diaminodifenileter ve piromellitik dianhidritin kullanılması ile elde edilen PI-AFE-PMDA ve bu polimere çok duvarlı karbon nanotüp katkılanması ile elde edilen PI-AFE-MWCNT-%3 ve PI-AFE-MWCNT-%5 sentez kodlu poliimid serileri ile PBKE'lar amacımız doğrultusunda kaplanmıştır. Tek kullanımlık PBKE yüzeyi 2, 3 ve 4 μL 'lik hacimlerde damlatılarak farklı film kalınlıkları oluşturulmuş ve 0,46 mM melatonin ve 0,23 mM serotonin çözeltisi için analizler yapılmıştır. Elektrot yüzeyinde taşmalara sebep olup referans ve karşıt elektrotu olumsuz etkileyeceğinden dolayı 4 μL 'den daha yüksek hacimler uygulanmamıştır. PI-AFE-PMDA, PI-AFE-MWCNT-%3 ve PI-AFE-MWCNT-%5 poliimid serileri için elde edilen DPV eğrileri sırasıyla Şekil 4.76, Şekil 4.77 ve Şekil 4.78'de verilmiştir.

Bu eğriler incelendiğinde girişim yapan türlerin engellenerek piklerin birbirinden belirgin şekilde ayrımının sağlandığı yanıtın 4 μL PI-AFE-MWCNT-%5 poliimid damlatılarak kaplanan elektrot ile alındığı görülmektedir. Çıplak PBKE ile aynı derişimlerde alınan yanıt ile 4 μL PI-AFE-MWCNT-%5 polimeri ile hazırlanan elektrot ile alınan ölçüm yanıtını karşılaştırdığımızda serotonin için 14 μA olan akım değeri 6,6 μA 'e, melatonin için 15 μA olan akım değeri 4,8 μA 'e düşmüştür. Aynı şekilde 3 farklı hacimde hazırlanarak kaplanan elektrotlar ile alınan ölçümlerde 4 μL PI-AFE-PMDA için akımda meydana gelen değışim serotonin ve melatonin için sırasıyla 12,2 μA ve 10,2 μA bulunmuştur. 4 μL PI-AFE-MWCNT-%3 polimeri için yapılan ölçümlerde akımda meydana gelen değışimler sırasıyla 11,4 μA ve 12,9 μA olarak bulunmuştur.

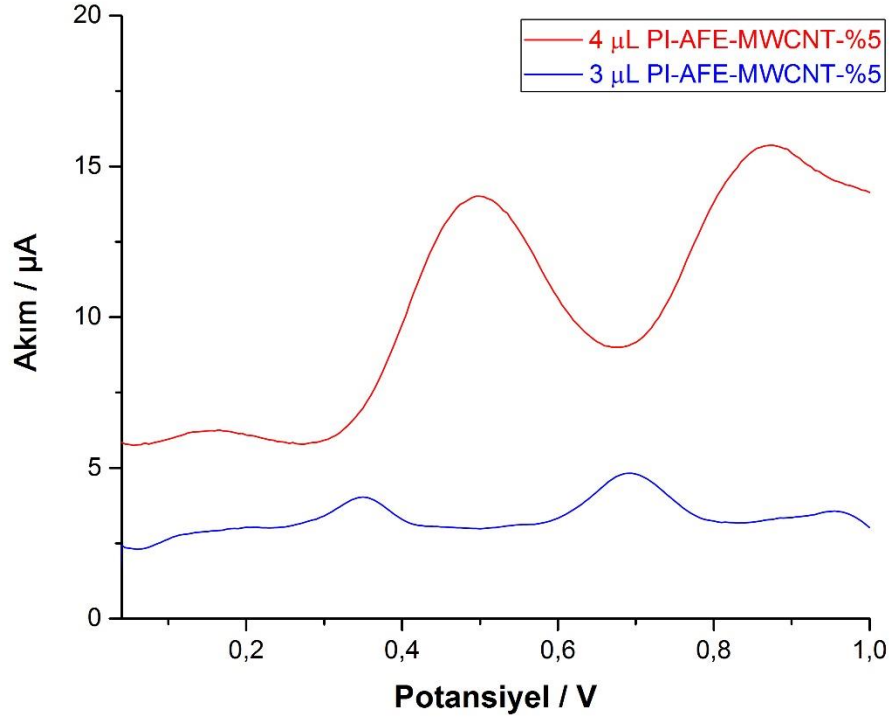
En iyi yanıtın alındığı 4 μL PI-AFE-MWCNT-%5 polimeri ve diğer polimer ile kaplanan elektrotlar ile alınan yanıtlar incelendiğinde 2 μL damlatılan elektrotlardan alınan sensör yanıtlarında girişim yapan türlerin yanıtlarının yeteri kadar giderilemediği, pik ayrımlarının sağlanamadığı ve sebeplerden ötürü uygun bir membran oluşturulamadığı görülmüştür.



Şekil 4.76. PI-AFE-PMDA poliimid ile kaplanan PBKE'ler ile melatonin ve serotonin eş zamanlı ölçümü [DPV; 0,1 M, pH:7,0 fosfat tamponu; 25±2 °C].



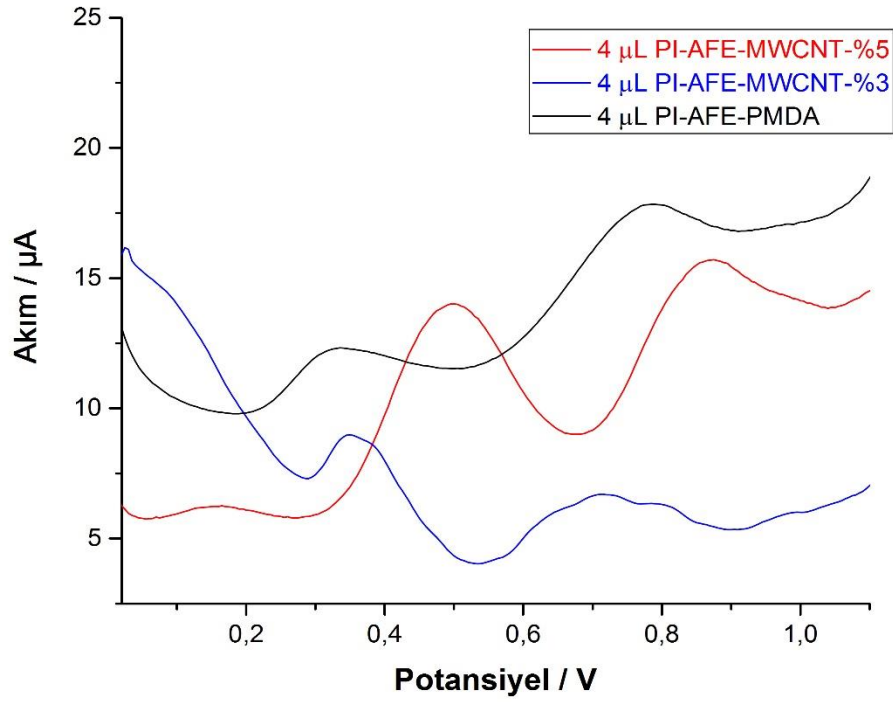
Şekil 4.77. PI-AFE-MWCNT-%3 poliimid ile kaplanan PBKE'ler ile melatonin ve serotonin eş zamanlı ölçümü [DPV; 0,1 M, pH:7,0 fosfat tamponu; 25±2 °C].



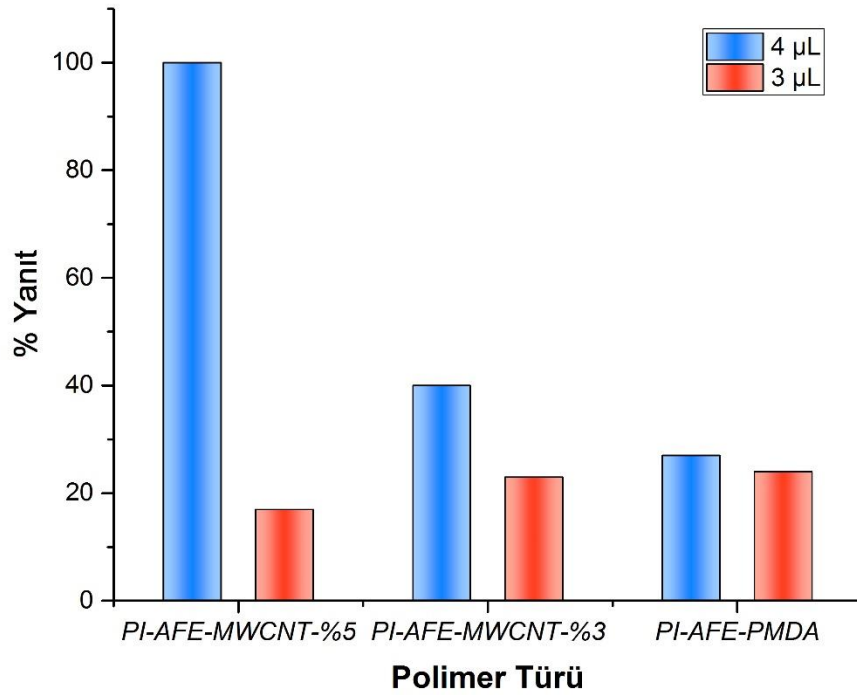
Şekil 4.78. PI-AFE-MWCNT-%5 poliimid ile kaplanan PBKE'ler ile melatonin ve serotonin eş zamanlı ölçümü [DPV; 0,1 M, pH:7,0 fosfat tamponu; 25±2 °C].

4.5.5.1. Poli[4,4'-Diaminodifenileter-PMDA] yanıtlarının karşılaştırılması

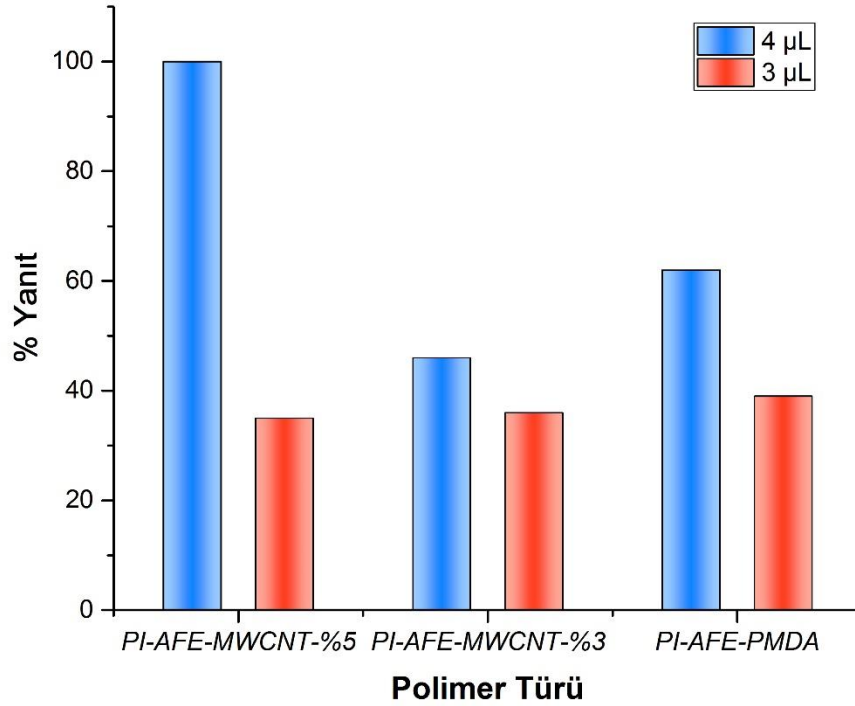
4,4'-Diaminodifenileter ve piromellitik dianhidritin kullanılması ile elde edilen PI-AFE-PMDA, PI-AFE-MWCNT-%3 ve PI-AFE-MWCNT-%5 sentez kodlu poliimidlerin kaplanması ile hazırlanan elektrotlar ile yapılan ölçümler incelendiği zaman bu polimer türü için en yüksek yanıtların 4 μ L alınarak kaplanan elektrotlardan alındığı görülmektedir. Şekil 4.79'da bu DPV eğrileri verilmiştir. Bu polimer türlerinin farklı hacimlerde damlatılarak kaplanan elektrotlar ile gerçekleştirilen 0,46 mM melatonin ve 0,23 mM serotonin ölçümleri için en yüksek ve düzgün yanıtların 4 μ L PI-AFE-MWCNT-%5 polimeri ile hazırlanan elektrottan alındığı grafiklerden görülmektedir. En yüksek yanıtın alındığı bu elektrot için elde edilen akım farklı 100 kabul edilip, diğer polimerlerle hazırlanan elektrotlarda için elde edilen akım farkları buna göre oranlandığında elde edilen sonuçlar Şekil 4.80 ve Şekil 4.81'de verilmiştir.



Şekil 4.79. PI-AFE-PMDA, PI-AFE-MWCNT-%3 ve PI-AFE-MWCNT-%5 polimerleri ile alınan en yüksek yanıtlar [DPV; 0,1 M, pH:7,0 fosfat tamponu; 25±2 °C].



Şekil 4.80. PI-AFE-PMDA, PI-AFE-MWCNT-%3 ve PI-AFE-MWCNT-%5 polimerleri ile alınan tüm serotonin yanıtların karşılaştırılması.

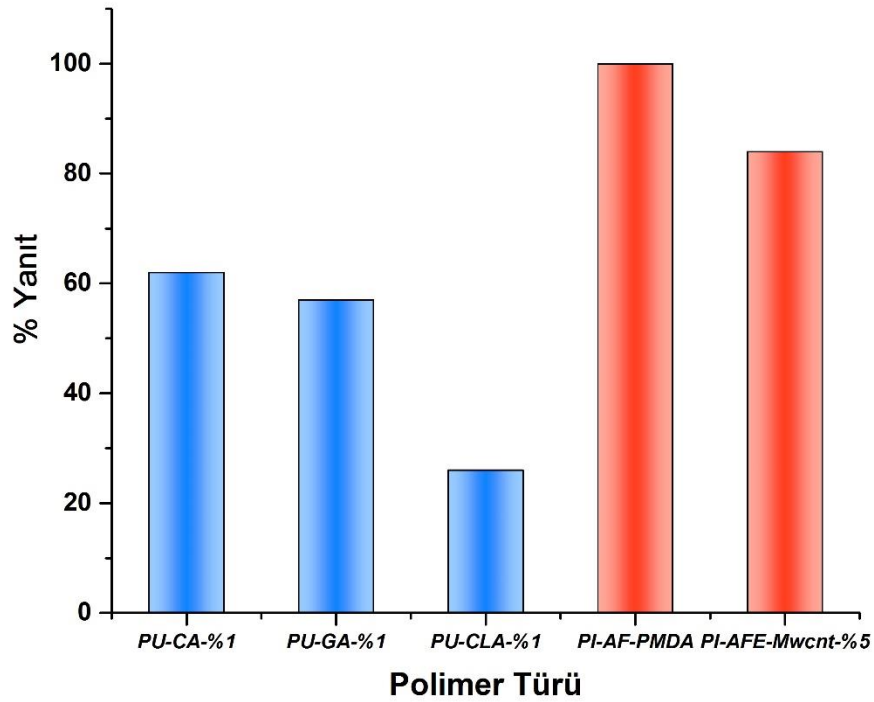


Şekil 4.81. PI-AFE-PMDA, PI-AFE-MWCNT-%3 ve PI-AFE-MWCNT-%5 polimerleri ile alınan tüm melatonin yanıtların karşılaştırılması.

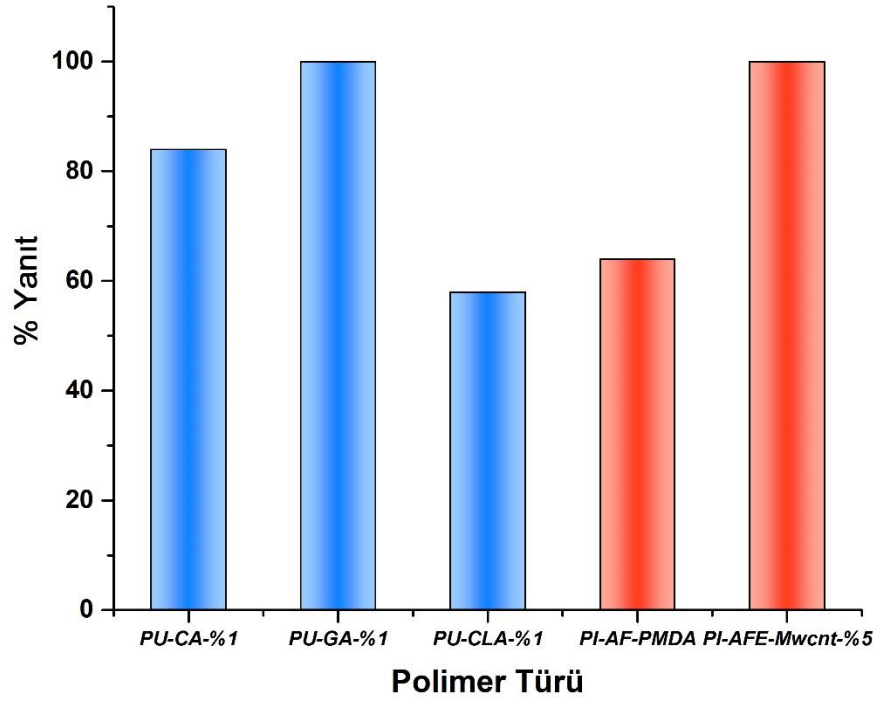
4.5.6. En yüksek yanıtların alındığı polimerlerin karşılaştırılması

PU-CA-%1, PU-GA-%1, PU-CLA-%1, PI-AF-PMDA ve PI-AFE-MWCNT-%5 polimer türleri için serotonin ve melatonin yanıtları incelendiğinde poliüretanlar için en yüksek yanıtların 2 mg alınıp 100 µl NMP’de çözülüp 3 µl polimer damlatılarak kaplaması yapılan elektrotlar ile alındığı görülmüştür. Bunun sebebi poliüretanların miktarı azaldıkça hem daha ince bir biyoaktif tabaka hem de daha fazla gözenek boyutlarına sahip bir polimerik membran elde edilmiştir. Poliimidler de en yüksek yanıtlar 4 µL polimer kaplanarak hazırlanan elektrotlar ile alınmıştır. Bunun sebebi olarak 2 ve 3 µL damlatılan yüzeylerde polimerlerin yüzeye çok iyi tutunamadığı ve çok ince polimerik tabaka oluşturduğu için seçici geçirgen özelliklere sahip olamaması gösterilebilir. Tüm bu ölçüm sonuçları incelendiğinde serotonin için en yüksek yanıtın PI-AF-PMDA, melatonin için en yüksek yanıtın ise PI-AFE-MWCNT-%5 polimerleri ile alındığı gözlenmiştir. En yüksek yanıtın alındığı bu polimer türleri için elde edilen akım farkı 100 kabul edilip, diğer polimerler ile hazırlanan elektrotlar için elde edilen

akım farkları buna göre oranlandığında elde edilen sonuçlar Şekil 4.82 ve Şekil 4.83’de verilmiştir. Bu sonuçlarda incelendiğinde elde edilen en yüksek serotonin yanıtına oranla PI-AFE-MWCNT-%5 polimeri ile alınan yanıtta %16’lık, PU-CA-%1 polimeri ile alınan yanıtta %38’lik, PU-GA-%1 polimeri ile alınan yanıtta %43’lük ve PU-CLA-%1 polimeri ile alınan yanıtta %4’lük bir düşüş gözlenmiştir. Elde edilen en yüksek melatonin yanıtına oranla PU-GA-%1 polimerinde herhangi bir azalma olmadığı ancak PU-CA-%1 polimeri ile alınan yanıtta %16’lık, PI-AF-PMDA polimeri ile alınan yanıtta %36’lık ve PU-CLA-%1 polimeri ile alınan yanıtta %42’lik bir düşüş gözlenmiştir.



Şekil 4.82. (2 mg/100 µl)- PU-CA-%1 / PU-GA-%1 / PU-CLA-%1, 4 µl-PI-AF-PMDA ve 4 µl-PI-AFE-MWCNT-%5 polimerleri için alınan en yüksek serotonin yanıtlarının karşılaştırılması.



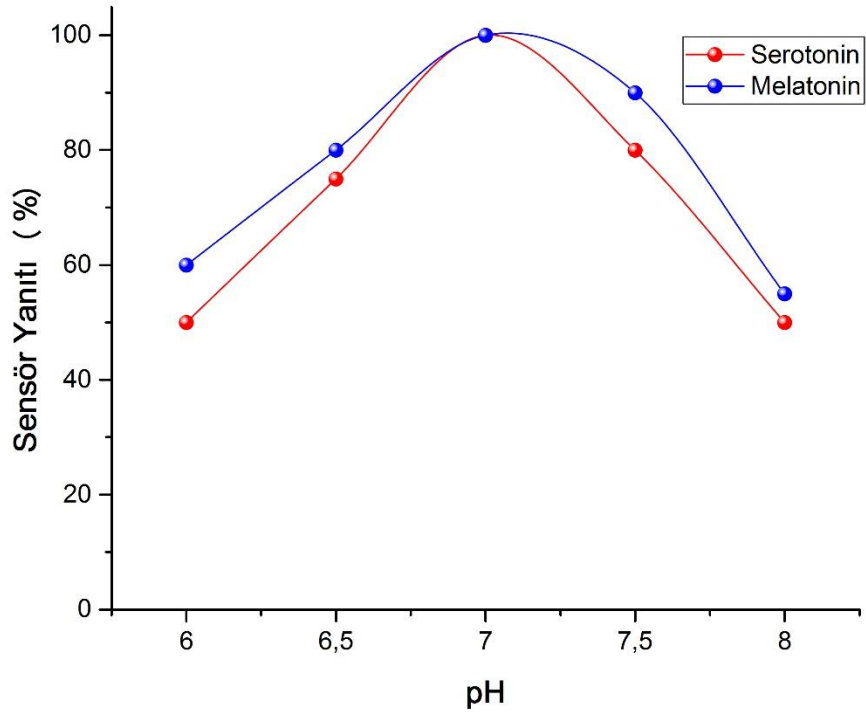
Şekil 4.83. (2 mg/100 µl)- PU-CA-%1 / PU-GA-%1 / PU-CLA-%1, 4 µl-PI-AF-PMDA ve 4 µl-PI-AFE-MWCNT-%5 polimerleri için alınan en yüksek melatonin yanıtlarının karşılaştırılması.

4.6. PU-CA-%1 Polimeri ile Hazırlanan Sensörün Optimizasyon ve Karakterizasyon Çalışmaları

Optimizasyon çalışmaları kapsamında bazı parametrelerin PU-CA-%1 polimeri ile hazırlanan sensör yanıtları üzerindeki etkisi araştırılmıştır. Optimizasyon parametreleri olarak pH ve sıcaklığın sensör yanıtlarına etkisinin incelenmesinin ardından karakterizasyon çalışmalarına geçilmiştir.

4.6.1. PU-CA-%1 polimeri ile hazırlanan sensörün optimum pH değerinin tespiti

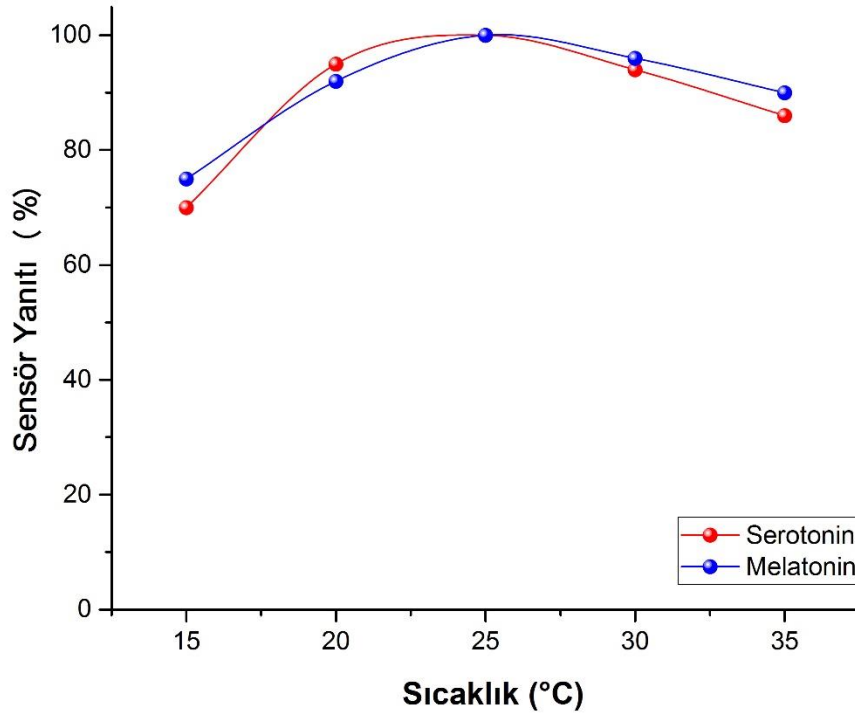
pH'ın PU-CA-%1 sensörü üzerindeki etkisinin test edilmesi amacıyla farklı değerlerde fosfat tamponları (6 – 8) hazırlanarak melatonin ve serotonin ilavesinden sonra pH ve % sensör yanıtları arasında çizilen optimum pH grafiği Şekil 4.84'de gösterilmiştir. Grafikten de anlaşılacağı üzere optimum pH aralığı 7 olarak tayin edilmiştir.



Şekil 4.84. PU-CA-%1 polimeri ile hazırlanan sensörün optimum pH grafiği [2 mg PU-CA-%1; 0,1 M, pH:6 – 8 fosfat tamponu; 25±2 °C].

4.6.2. PU-CA-%1 polimeri ile hazırlanan sensörün optimum sıcaklık değerinin tespiti

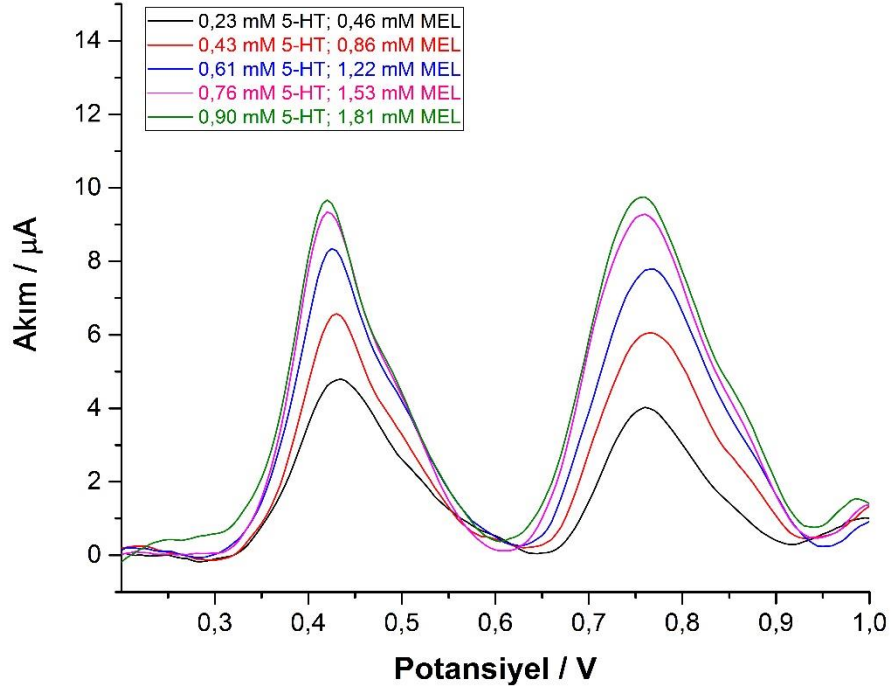
Sıcaklığın PU-CA-%1 sensörü üzerindeki etkisinin belirlenmesi amacıyla farklı sıcaklık değerleri (15°C - 35°C) arasında melatonin ve serotonin analizleri gerçekleştirilmiştir. Bu analizler neticesinde elde edilen sıcaklık ve % sensör yanıtları arasında çizilen optimum sıcaklık grafiği Şekil 4.85’de gösterilmiştir. 25°C ve 30°C sıcaklık değerleri için alınan sensör yanıtlarının birbirlerine çok yakın değerlere sahip olduğu grafikten anlaşılmaktadır.



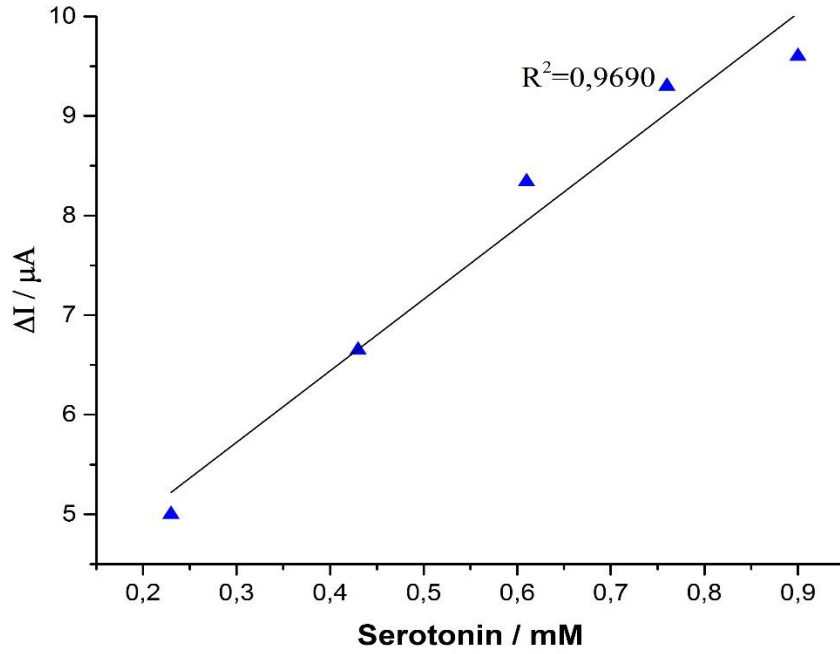
Şekil 4.85. PU-CA-%1 polimeri ile hazırlanan sensörün optimum sıcaklık grafiği [2 mg PU-CA-%1; 0,1 M, pH:7,0 fosfat tamponu; 25 ± 2 °C].

4.6.3. PU-CA-%1 polimeri ile hazırlanan sensörün serotonin ve melatoninin eşzamanlı tayinine yönelik doğrusal tayin aralığının belirlenmesi

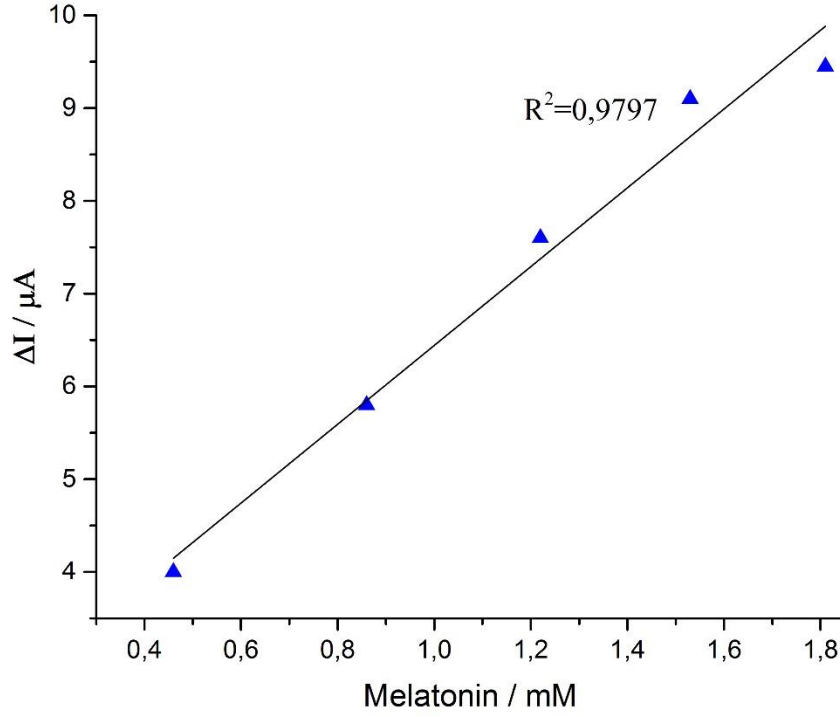
PU-CA-%1 polimeri ile optimum şartlarda hazırlanmış olan sensör ile 1 μ M – 4 mM serotonin ve 0,1 μ M – 8 mM melatonin derişimlerinde ölçümler gerçekleştirildi. Bu ölçümler sonucunda melatonin ve serotoninin eş zamanlı ölçüm sonuçlarında 0,1 mM’ın altındaki ve 1,8 mM’ın üstündeki derişimler için doğrusallıktan sapmalar gözlemlendi. Bu derişim aralığındaki ölçümler grafiğe geçirildiğinde melatonin ve serotoninin eş zamanlı tayinine yönelik DPV eğrileri Şekil 4.86’da ve kalibrasyon grafikleri ise Şekil 4.87 ve Şekil 4.88’de verilmiştir. Elde edilen grafiğin R^2 değerleri sırasıyla 0,9797 ve 0,9690 olarak tespit edilmiştir.



Şekil 4.86. PU-CA-%1 polimeri ile hazırlanan sensörün farklı derişimlerdeki melatonin ve serotoninin tayinine yönelik eş zamanlı DPV eğrileri [2 mg PU-CA-%1; 0,1 M, pH:7 fosfat tamponu; 25 ± 2 °C].



Şekil 4.87. PU-CA-%1 polimeri ile hazırlanan sensörle serotonin tayinine yönelik doğrusal tayin aralığı [2 mg PU-CA-%1; 0,1 M, pH:7 fosfat tamponu; 25 ± 2 °C; +0,42 V, +0,76 V; DPV].



Şekil 4.88. PU-CA-%1 polimeri ile hazırlanan sensörle melatonin tayinine yönelik doğrusal tayin aralığı [2 mg PU-CA-%1; 0,1 M, pH:7 fosfat tamponu; 25 ± 2 °C; +0,42 V, +0,76 V; DPV].

4.6.4. PU-CA-%1 polimeri ile hazırlanan sensörün serotonin ve melatoninin eşzamanlı ölçümü için tekrarlanabilirliği

PU-CA-%1 polimeri ile hazırlanan sensörün tekrarlanabilirliğini incelemek amacı ile 0,61 mM serotonin ve 1,22 mM melatonin derişimleri için ard arda 10 tane ölçüm alınmıştır. Tekrarlanan bu ölçümler neticesinde taban akımı ile ölçülen akım arasındaki farktan ΔI değerleri belirlendi. Elde edilen akım farklarına karşılık gelen melatonin ve serotonin derişimleri ilgili standart grafiklerden okundu. Bu analizler neticesinde elde edilen veriler doğrultusunda hesaplanan ortalama değer, standart sapma ve varyasyon katsayısı serotonin için Çizelge 4.1’de melatonin için ise Çizelge 4.2’de verilmiştir.

Çizelge 4.1. PU-CA-%1 polimeri ile hazırlanan sensörün 0,61 mM’lık serotonin ölçümlerine ait tekrarlanabilirlik sonuçları [2 mg PU-CA-%1; 0,1 M, pH:7 fosfat tamponu; 25±2 °C; +0,42 V].

Ölçüm No	$\Delta I / \mu A$	5-HT / mM
1	7,802	0,589
2	7,842	0,595
3	7,965	0,612
4	8,052	0,624
5	8,181	0,642
6	8,215	0,647
7	8,256	0,653
8	8,312	0,660
9	8,367	0,668
10	8,398	0,672

Ortalama Değer / mM	0,636
Standart Hata	0,009
Varyasyon Katsayısı (%)	4,668

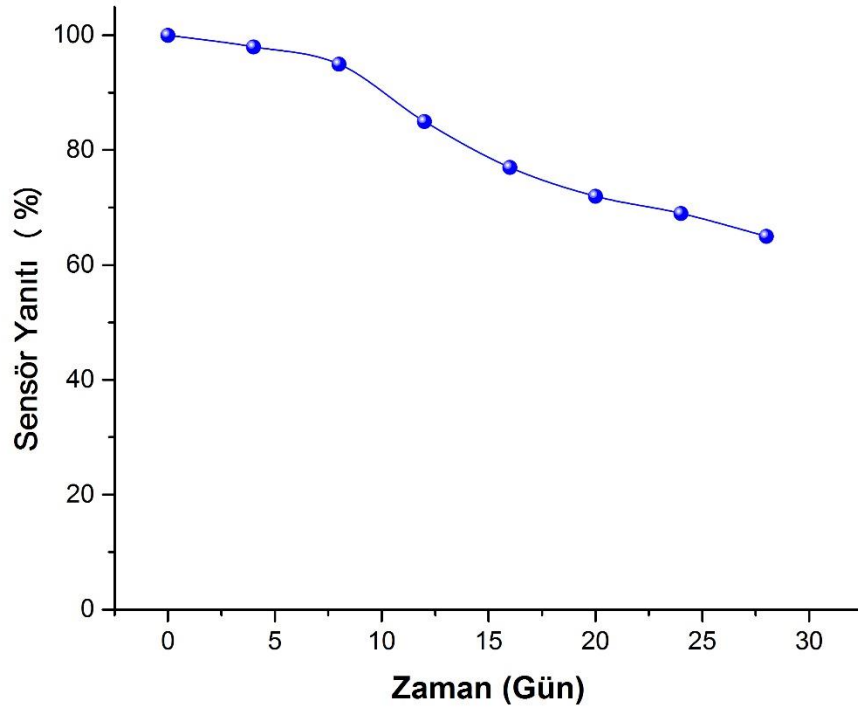
Çizelge 4.2 PU-CA-%1 polimeri ile hazırlanan sensörün 1,22 mM’lık melatonin ölçümlerine ait tekrarlanabilirlik sonuçları [2 mg PU-CA-%1; 0,1 M, pH:7 fosfat tamponu; 25±2 °C; +0,76 V].

Ölçüm No	$\Delta I / \mu A$	MEL / mM
1	7,412	1,228
2	7,504	1,250
3	7,587	1,269
4	7,635	1,281
5	7,696	1,295
6	7,723	1,301
7	7,755	1,309
8	7,788	1,317
9	7,825	1,325
10	7,864	1,335

Ortalama Değer / mM	1,291
Standart Hata	0,011
Varyasyon Katsayısı (%)	2,633

4.6.5. PU-CA-%1 polimeri ile hazırlanan sensörün depo kararlılığı

Hazırladığımız sensörün melatonin ve serotonin yanıtlarının zaman içerisinde ne kadar değiştiğinin belirlenmesi amacı ile 0,61 mM serotonin ve 1,22 mM melatonin derişimleri için 30 gün boyunca belli aralıklarla ölçümler yapılmıştır. Elde edilen sonuçlar Şekil 4.89’de verilmiş olup 30.günün sonunda sensörün başlangıç yanıtının % 35’ini kaybettiği görülmüştür.



Şekil 4.89. PU-CA-%1 polimeri ile hazırlanan sensörün depo kararlılığı [2 mg PU-CA-%1; 0,1 M, pH:7 fosfat tamponu; 25 ± 2 °C; +0,42 V, +0,76 V; DPV].

4.6.6. PU-CA-%1 polimeri ile hazırlanan sensörün girişim etkilerinin incelenmesi

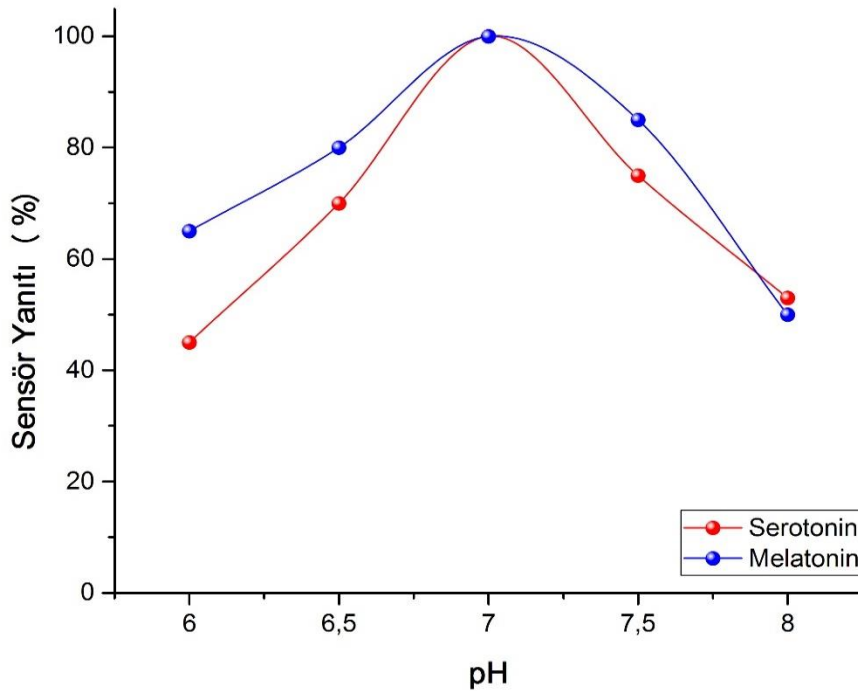
PU-CA-%1 polimeri ile hazırlanan sensörün optimum şartlarda elde edilen sensör yanıtları üzerine biyolojik sıvılarda girişim etkisi yapabilecek bazı maddelerin etkileri incelenmiştir. 1 mM olacak şekilde askorbik asit, ürik asit ve glukoz çözeltileri kullanılmış olup sensör cevabında ancak % 1’lik bir düşüş meydana geldiği tespit edilmiştir.

4.7. PU-GA-%1 Polimeri ile Hazırlanan Sensörün Optimizasyon ve Karakterizasyon Çalışmaları

Optimizasyon çalışmaları kapsamında bazı parametrelerin PU-GA-%1 polimeri ile hazırlanan sensör yanıtları üzerindeki etkisi araştırılmıştır. Optimizasyon parametreleri olarak pH ve sıcaklığın sensör yanıtlarına etkisinin incelenmesinin ardından karakterizasyon çalışmalarına geçilmiştir.

4.7.1. PU-GA-%1 polimeri ile hazırlanan sensörün optimum pH değerinin tespiti

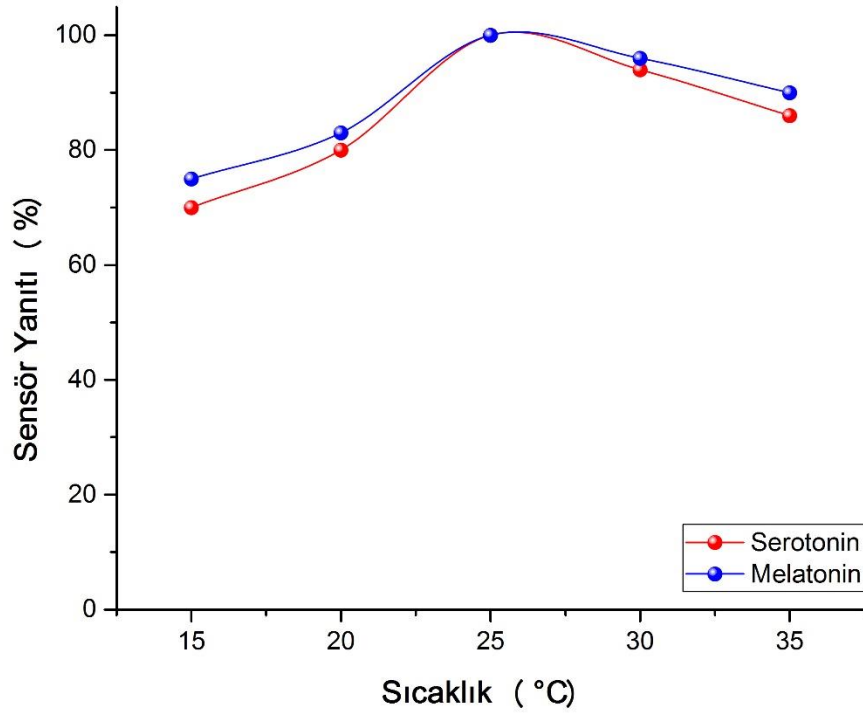
pH'ın PU-GA-%1 sensörü üzerindeki etkisinin test edilmesi amacıyla farklı değerlerde fosfat tamponları (6 – 8) hazırlanarak melatonin ve serotonin ilavesinden sonra pH ve % sensör yanıtları arasında çizilen optimum pH grafiği Şekil 4.90'da gösterilmiştir. Grafikten de anlaşılabacağı üzere optimum pH aralığı 7 olarak tayin edilmiştir.



Şekil 4.90. PU-GA-%1 polimeri ile hazırlanan sensörün optimum pH grafiği [2 mg PU-GA-%1; 0,1 M, pH:6 – 8 fosfat tamponu; 25±2 °C].

4.7.2. PU-GA-%1 polimeri ile hazırlanan sensörün optimum sıcaklık değerinin tespiti

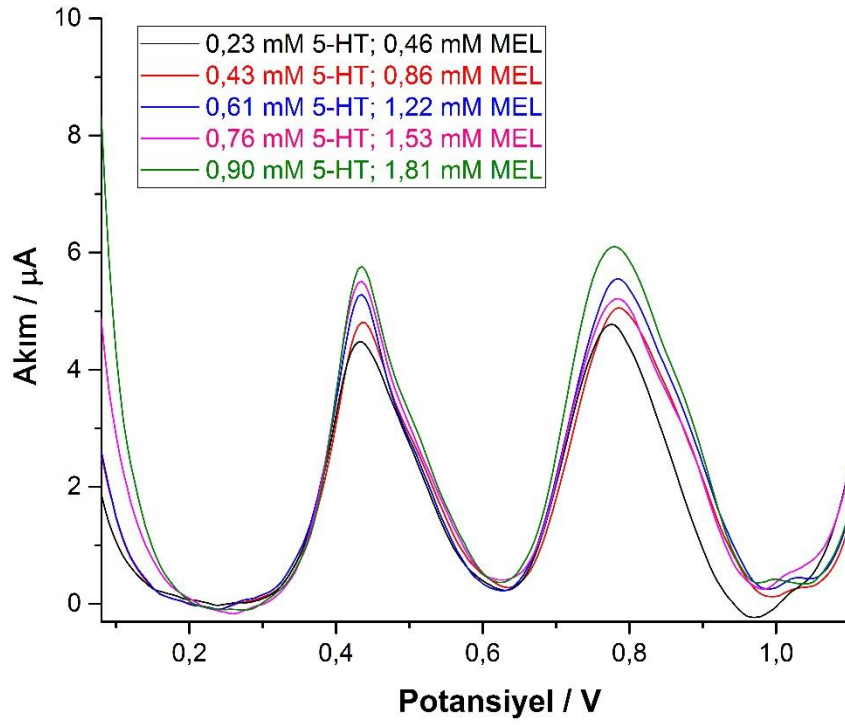
Sıcaklığın PU-GA-%1 sensörü üzerindeki etkisinin belirlenmesi amacıyla farklı sıcaklık değerleri (15°C - 35°C) arasında melatonin ve serotonin analizleri gerçekleştirilmiştir. Bu analizler neticesinde elde edilen sıcaklık ve % sensör yanıtları arasında çizilen optimum sıcaklık grafiği Şekil 4.91'de gösterilmiştir. 25°C ve 30°C sıcaklık değerleri için alınan sensör yanıtlarının birbirlerine çok yakın değerlere sahip olduğu grafikten anlaşılmaktadır.



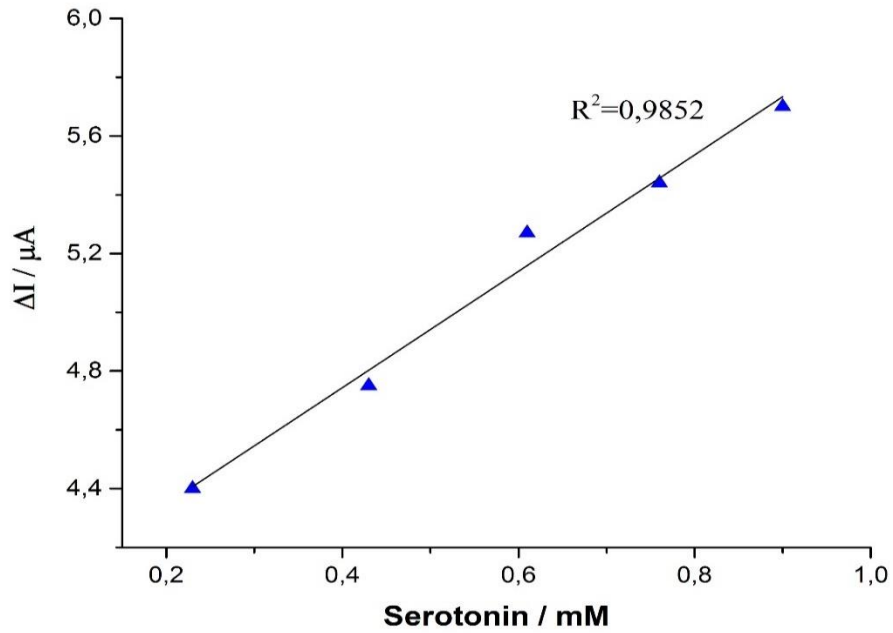
Şekil 4.91. PU-GA-%1 polimeri ile hazırlanan sensörün optimum sıcaklık grafiği [2 mg PU-GA-%1; 0,1 M, pH:7,0 fosfat tamponu; 25±2 °C].

4.7.3. PU-GA-%1 polimeri ile hazırlanan sensörün serotonin ve melatonin eş zamanlı tayinine yönelik doğrusal tayin aralığının belirlenmesi

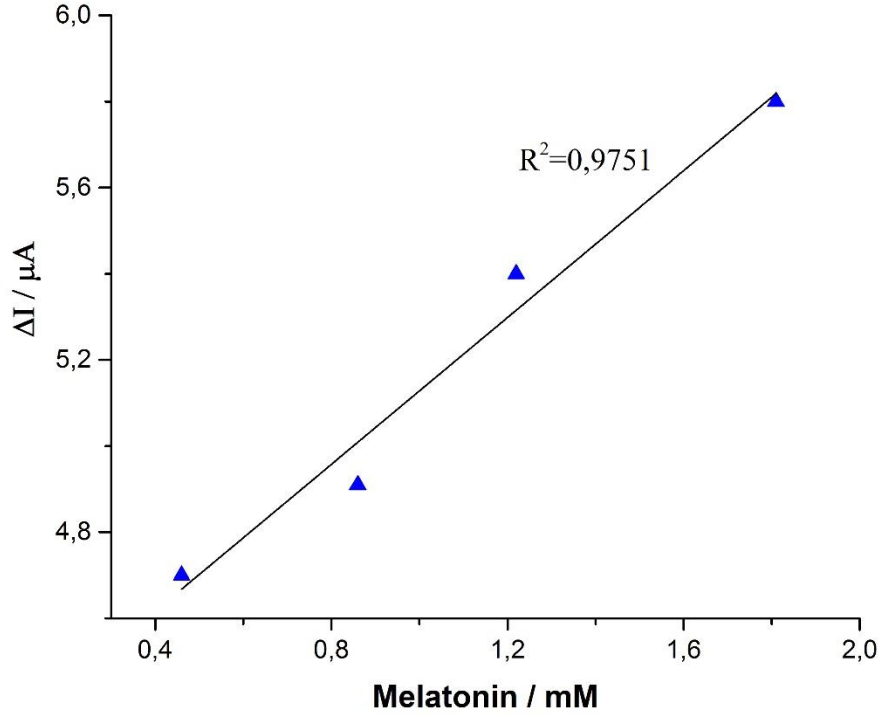
PU-GA-%1 polimeri ile optimum şartlarda hazırlanmış olan sensör ile 1 μ M – 4 mM serotonin ve 0,1 μ M – 8 mM melatonin derişimlerinde ölçümler gerçekleştirildi. Bu ölçümler sonucunda melatonin ve serotoninin eş zamanlı ölçüm sonuçlarında 0,1 mM’in altındaki ve 1,8 mM’in üstündeki derişimler için doğrusallıktan sapmalar gözlemlendi. Melatonin yanıtlarında önemli derecede doğrusallıktan sapmalar gözlemlenmektedir. Bu derişim aralığındaki ölçümler grafiğe geçirildiğinde melatonin ve serotoninin eş zamanlı tayinine yönelik DPV eğrileri Şekil 4.92’de ve kalibrasyon grafikleri ise Şekil 4.93 ve Şekil 4.94’de verilmiştir. Elde edilen grafiğin R^2 değerleri sırasıyla 0,9852 ve 0,9751 olarak tespit edilmiştir.



Şekil 4.92. PU-GA-%1 polimeri ile hazırlanan sensörün farklı derişimlerdeki melatonin ve serotoninin tayinine yönelik eş zamanlı DPV eğrileri [2 mg PU-GA-%1; 0,1 M, pH:7 fosfat tamponu; 25±2 °C].



Şekil 4.93. PU-GA-%1 polimeri ile hazırlanan sensörle serotonin tayinine yönelik doğrusal tayin aralığı [2 mg PU-GA-%1; 0,1 M, pH:7 fosfat tamponu; 25±2 °C; +0,43 V, +0,78 V; DPV].



Şekil 4.94. PU-GA-%1 polimeri ile hazırlanan sensörle melatonin tayinine yönelik doğrusal tayin aralığı [2 mg PU-GA-%1; 0,1 M, pH:7 fosfat tamponu; 25 ± 2 °C; +0,43 V, +0,78 V; DPV].

4.7.4. PU-GA-%1 polimeri ile hazırlanan sensörün serotonin ve melatoninin eşzamanlı ölçümü için tekrarlanabilirliği

PU-GA-%1 polimeri ile hazırlanan sensörün tekrarlanabilirliğini incelemek amacı ile 0,61 mM serotonin ve 1,22 mM melatonin derişimleri için ard arda 10 tane ölçüm alınmıştır. Tekrarlanan bu ölçümler neticesinde taban akımı ile ölçülen akım arasındaki farktan ΔI değerleri belirlendi. Elde edilen akım farklarına karşılık gelen melatonin ve serotonin derişimleri ilgili standart grafiklerden okundu. Bu analizler neticesinde elde edilen veriler doğrultusunda hesaplanan ortalama değer, standart sapma ve varyasyon katsayısı serotonin için Çizelge 4.3’de melatonin için ise Çizelge 4.4’de verilmiştir.

Çizelge 4.3. PU-GA-%1 polimeri ile hazırlanan sensörün 0,61 mM’lık serotonin ölçümlerine ait tekrarlanabilirlik sonuçları [2 mg PU-GA-%1; 0,1 M, pH:7 fosfat tamponu; 25±2 °C; +0,43 V].

Ölçüm No	$\Delta I / \mu A$	5-HT / mM
1	5,115	0,588
2	5,158	0,609
3	5,214	0,638
4	5,287	0,674
5	5,324	0,693
6	5,339	0,701
7	5,387	0,725
8	5,407	0,735
9	5,426	0,745
10	5,437	0,750

Ortalama Değer / mM	0,686
Standart Hata	0,018
Varyasyon Katsayısı (%)	8,392

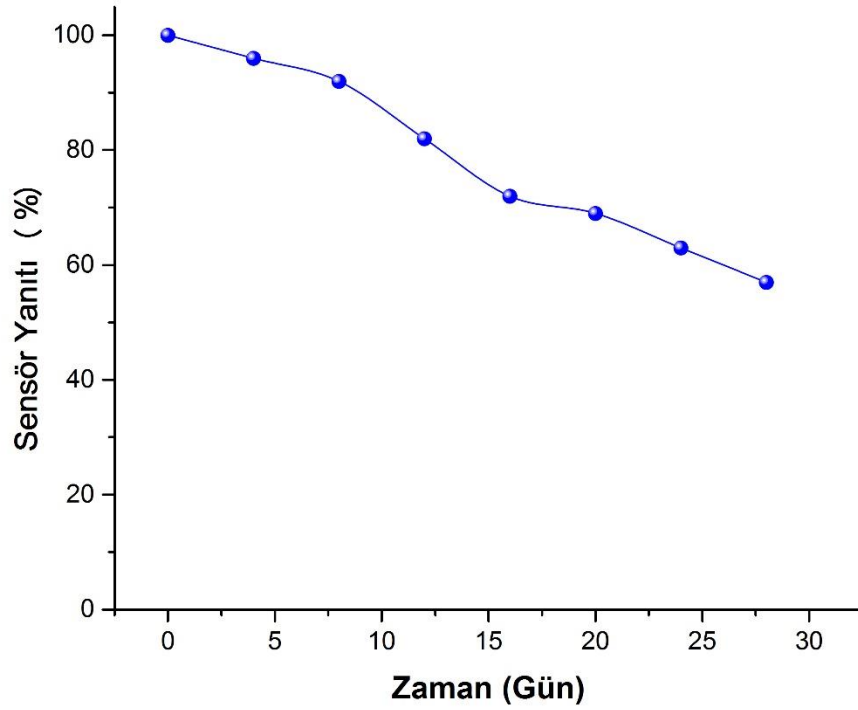
Çizelge 4.4. PU-GA-%1 polimeri ile hazırlanan sensörün 1,22 mM’lık melatonin ölçümlerine ait tekrarlanabilirlik sonuçları [2 mg PU-GA-%1; 0,1 M, pH:7 fosfat tamponu; 25±2 °C; +0,78 V].

Ölçüm No	$\Delta I / \mu A$	MEL / mM
1	5,342	1,251
2	5,385	1,302
3	5,425	1,349
4	5,474	1,406
5	5,496	1,432
6	5,537	1,480
7	5,571	1,520
8	5,597	1,550
9	5,618	1,575
10	5,637	1,597

Ortalama Değer / mM	1,446
Standart Hata	0,038
Varyasyon Katsayısı (%)	8,217

4.7.5. PU-GA-%1 polimeri ile hazırlanan sensörün depo kararlılığı

Hazırladığımız sensörün melatonin ve serotonin yanıtlarının zaman içerisinde ne kadar değiştiğinin belirlenmesi amacı ile 0,61 mM serotonin ve 1,22 mM melatonin derişimleri için 30 gün boyunca belli aralıklarla ölçümler yapılmıştır. Elde edilen sonuçlar Şekil 4.95’de verilmiş olup 30.günün sonunda sensörün başlangıç yanıtının % 43’ini kaybettiği görülmüştür.



Şekil 4.95. PU-GA-%1 polimeri ile hazırlanan sensörün depo kararlılığı [2 mg PU-GA-%1; 0,1 M, pH:7 fosfat tamponu; 25±2 °C; +0,43 V, +0,78 V; DPV].

4.7.6. PU-GA-%1 polimeri ile hazırlanan sensörün girişim etkilerinin incelenmesi

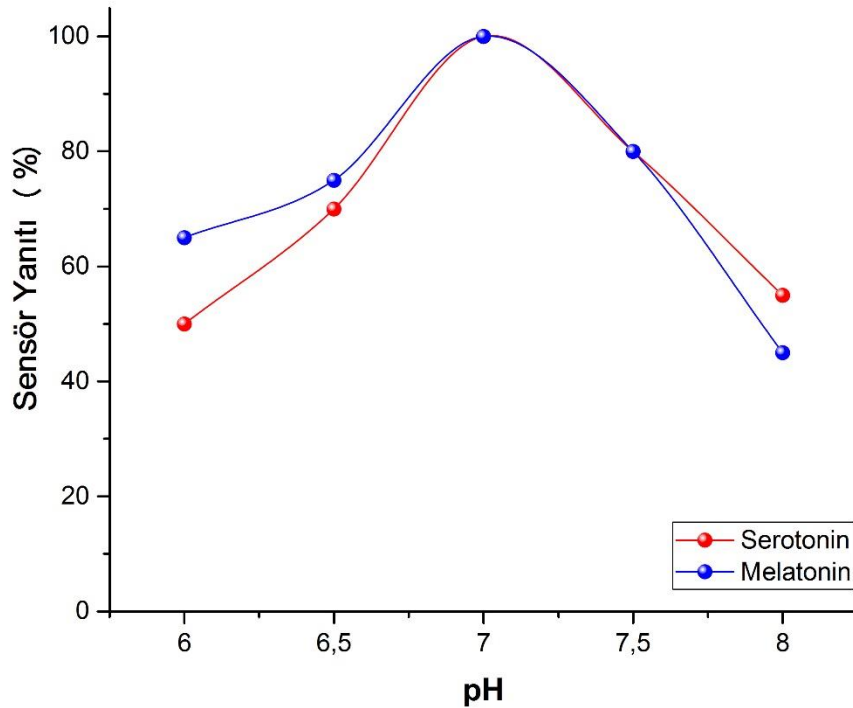
PU-GA-%1 polimeri ile hazırlanan sensörün optimum şartlarda elde edilen sensör yanıtları üzerine biyolojik sıvılarda girişim etkisi yapabilecek bazı maddelerin etkileri incelenmiştir. 1 mM olacak şekilde askorbik asit, ürik asit ve glukoz çözeltileri kullanılmış olup sensör cevabında ancak % 2’lik bir düşüş meydana geldiği tespit edilmiştir.

4.8. PU-CLA-%1 Polimeri ile Hazırlanan Sensörün Optimizasyon ve Karakterizasyon Çalışmaları

Optimizasyon çalışmaları kapsamında bazı parametrelerin PU-CLA-%1 polimeri ile hazırlanan sensör yanıtları üzerindeki etkisi araştırılmıştır. Optimizasyon parametreleri olarak pH ve sıcaklığın sensör yanıtlarına etkisinin incelenmesinin ardından karakterizasyon çalışmalarına geçilmiştir.

4.8.1. PU-CLA-%1 polimeri ile hazırlanan sensörün optimum pH değerinin tespiti

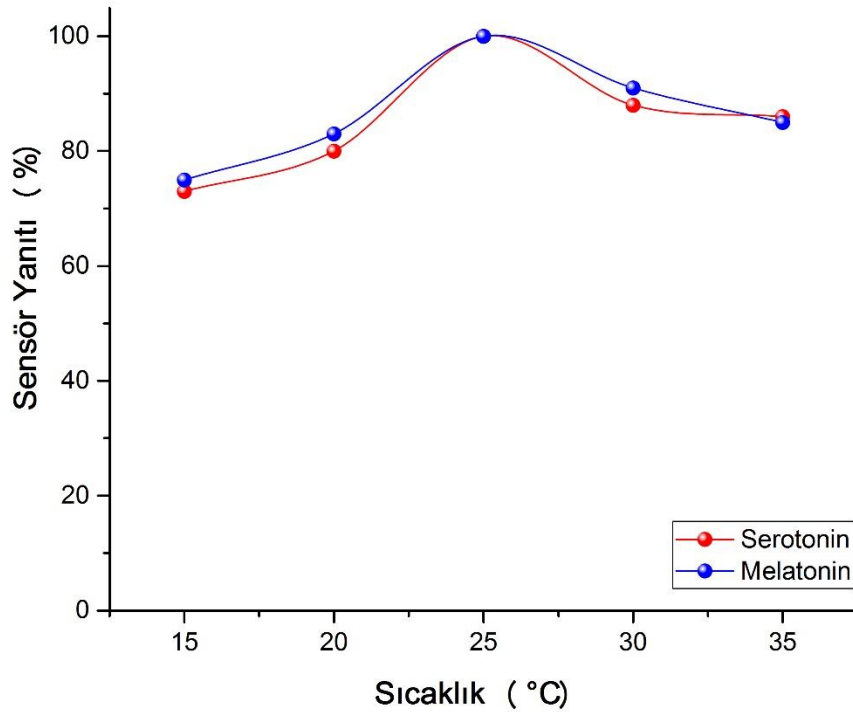
pH'ın PU-CLA-%1 sensörü üzerindeki etkisinin test edilmesi amacıyla farklı değerlerde fosfat tamponları (6 – 8) hazırlanarak melatonin ve serotonin ilavesinden sonra pH ve % sensör yanıtları arasında çizilen optimum pH grafiği Şekil 4.96'da gösterilmiştir. Grafikten de anlaşılabacağı üzere optimum pH aralığı 7 olarak tayin edilmiştir.



Şekil 4.96. PU-CLA-%1 polimeri ile hazırlanan sensörün optimum pH grafiği [2 mg PU-CLA-%1; 0,1 M, pH:6 – 8 fosfat tamponu; 25±2 °C].

4.8.2. PU-CLA-%1 polimeri ile hazırlanan sensörün optimum sıcaklık değerin tespiti

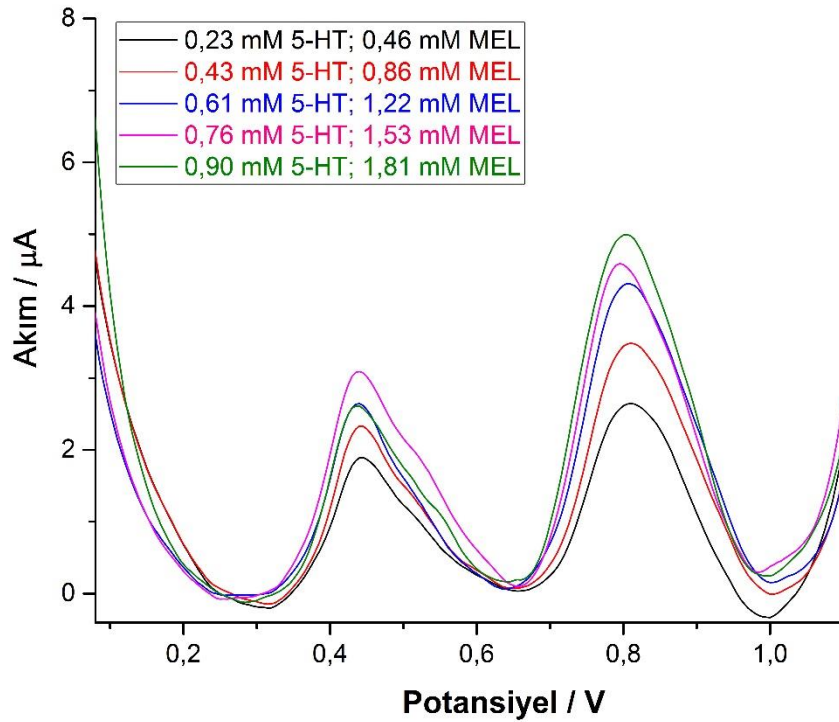
Sıcaklığın PU-CLA-%1 sensörü üzerindeki etkisinin belirlenmesi amacıyla farklı sıcaklık değerleri (15°C - 35°C) arasında melatonin ve serotonin analizleri gerçekleştirilmiştir. Bu analizler neticesinde elde edilen sıcaklık ve % sensör yanıtları arasında çizilen optimum sıcaklık grafiği Şekil 4.97’de gösterilmiştir. 25°C ve 30°C sıcaklık değerleri için alınan sensör yanıtlarının birbirlerine çok yakın değerlere sahip olduğu grafikten anlaşılmaktadır.



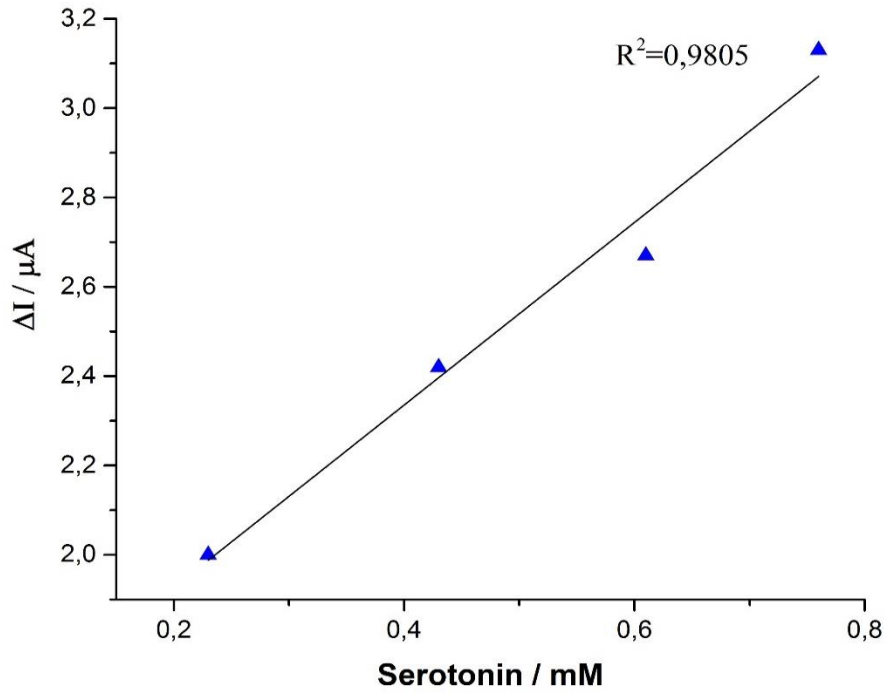
Şekil 4.97. PU-CLA-%1 polimeri ile hazırlanan sensörün optimum sıcaklık grafiği [2 mg PU-CLA-%1; 0,1 M, pH:7,0 fosfat tamponu; 25±2 °C].

4.8.3. PU-CLA-%1 polimeri ile hazırlanan sensörün serotonin ve melatoninin eşzamanlı tayinine yönelik doğrusal tayin aralığının belirlenmesi

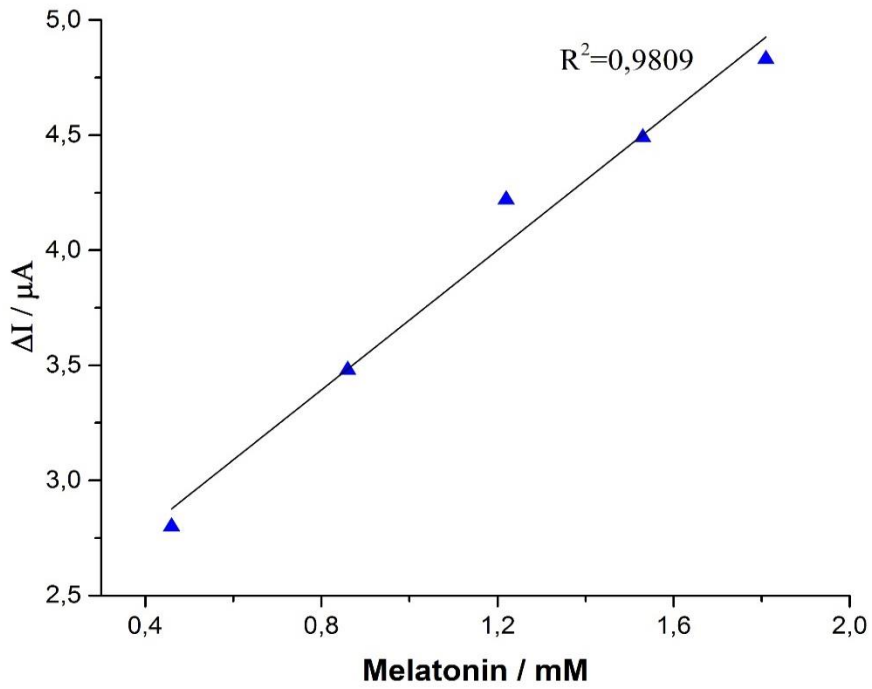
PU-CLA-%1 polimeri ile optimum şartlarda hazırlanmış olan sensör ile 1 μ M – 4 mM serotonin ve 0,1 μ M – 8 mM melatonin derişimlerinde ölçümler gerçekleştirildi. Bu ölçümler sonucunda melatonin ve serotoninin eş zamanlı ölçüm sonuçlarında 0,1 mM'ın altındaki ve 1,8 mM'ın üstündeki derişimler için doğrusallıktan sapmalar gözlemlendi. Serotonin yanıtları elektrot yüzeyindeki birikmelerden dolayı 5.ölçümden itibaren düşüş eğilimindedir. Bu derişim aralığındaki ölçümler grafiğe geçirildiğinde melatonin ve serotoninin eş zamanlı tayinine yönelik DPV eğrileri Şekil 4.98'da ve kalibrasyon grafikleri ise Şekil 4.99 ve Şekil 4.100'de verilmiştir. Elde edilen grafiğin R^2 değerleri sırasıyla 0,9805 ve 0,9809 olarak tespit edilmiştir.



Şekil 4.98. PU-CLA-%1 polimeri ile hazırlanan sensörün farklı derişimlerdeki melatonin ve serotoninin tayinine yönelik eş zamanlı DPV eğrileri [2 mg PU-CLA-%1; 0,1 M, pH:7 fosfat tamponu; 25 ± 2 °C].



Şekil 4.99. PU-CLA-%1 polimeri ile hazırlanan sensörle serotonin tayinine yönelik doğrusal tayin aralığı [2 mg PU-CLA-%1; 0,1 M, pH:7 fosfat tamponu; 25 ± 2 °C; +0,44 V, +0,8 V; DPV].



Şekil 4.100. PU-CLA-%1 polimeri ile hazırlanan sensörle melatonin tayinine yönelik doğrusal tayin aralığı [2 mg PU-CLA-%1; 0,1 M, pH:7 fosfat tamponu; 25 ± 2 °C; +0,44 V, +0,8 V; DPV].

4.8.4. PU-CLA-%1 polimeri ile hazırlanan sensörün serotonin ve melatoninin eşzamanlı ölçümü için tekrarlanabilirliği

PU-CLA-%1 polimeri ile hazırlanan sensörün tekrarlanabilirliğini incelemek amacı ile 0,61 mM serotonin ve 1,22 mM melatonin derişimleri için ard arda 10 tane ölçüm alınmıştır. Tekrarlanan bu ölçümler neticesinde taban akımı ile ölçülen akım arasındaki farktan ΔI değerleri belirlendi. Elde edilen akım farklarına karşılık gelen melatonin ve serotonin derişimleri ilgili standart grafiklerden okundu. Bu analizler neticesinde elde edilen veriler doğrultusunda hesaplanan ortalama değer, standart sapma ve varyasyon katsayısı serotonin için Çizelge 4.5’de melatonin için ise Çizelge 4.6’da verilmiştir.

Çizelge 4.5. PU-CLA-%1 polimeri ile hazırlanan sensörün 0,61 mM’lık serotonin ölçümlerine ait tekrarlanabilirlik sonuçları [2 mg PU-CLA-%1; 0,1 M, pH:7 fosfat tamponu; 25 ± 2 °C; +0,44 V].

Ölçüm No	ΔI / μA	5-HT / mM
1	2,485	0,473
2	2,498	0,480
3	2,537	0,499
4	2,584	0,522
5	2,634	0,546
6	2,674	0,566
7	2,765	0,610
8	2,812	0,633
9	2,857	0,655
10	2,893	0,673

Ortalama Değer / mM	0,566
Standart Hata	0,023
Varyasyon Katsayısı (%)	13,020

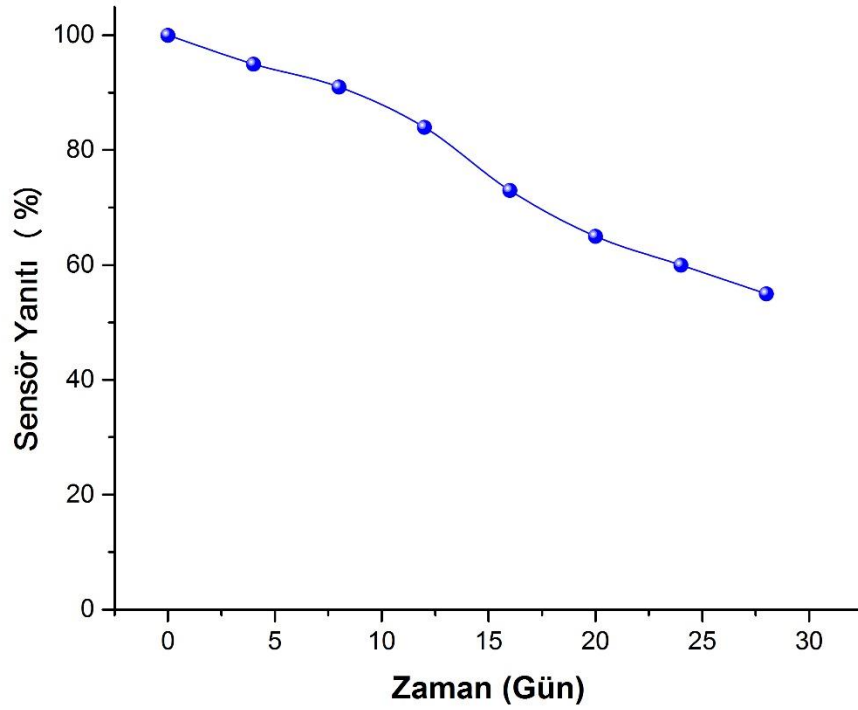
Çizelge 4.6. PU-CLA-%1 polimeri ile hazırlanan sensörün 1,22 mM’lık melatonin ölçümlerine ait tekrarlanabilirlik sonuçları [2 mg PU-CLA-%1; 0,1 M, pH:7 fosfat tamponu; 25±2 °C; +0,8 V].

Ölçüm No	$\Delta I / \mu A$	MEL / mM
1	4,058	1,238
2	4,124	1,281
3	4,187	1,323
4	4,234	1,354
5	4,296	1,395
6	4,367	1,442
7	4,393	1,459
8	4,467	1,507
9	4,578	1,581
10	4,597	1,593

Ortalama Değer / mM	1,417
Standart Hata	0,038
Varyasyon Katsayısı (%)	8,546

4.8.5. PU-CLA-%1 polimeri ile hazırlanan sensörün depo kararlılığı

Hazırladığımız sensörün melatonin ve serotonin yanıtlarının zaman içerisinde ne kadar değiştiğinin belirlenmesi amacı ile 0,61 mM serotonin ve 1,22 mM melatonin derişimleri için 30 gün boyunca belli aralıklarla ölçümler yapılmıştır. Elde edilen sonuçlar Şekil 4.101’de verilmiş olup 30.günün sonunda sensörün başlangıç yanıtının % 45’ini kaybettiği görülmüştür.



Şekil 4.101. PU-CLA-%1 polimeri ile hazırlanan sensörün depo kararlılığı [2 mg PU-CLA-%1; 0,1 M, pH:7 fosfat tamponu; 25±2 °C; +0,44 V, +0,8 V; DPV].

4.8.6. PU-CLA-%1 polimeri ile hazırlanan sensörün girişim etkilerinin incelenmesi

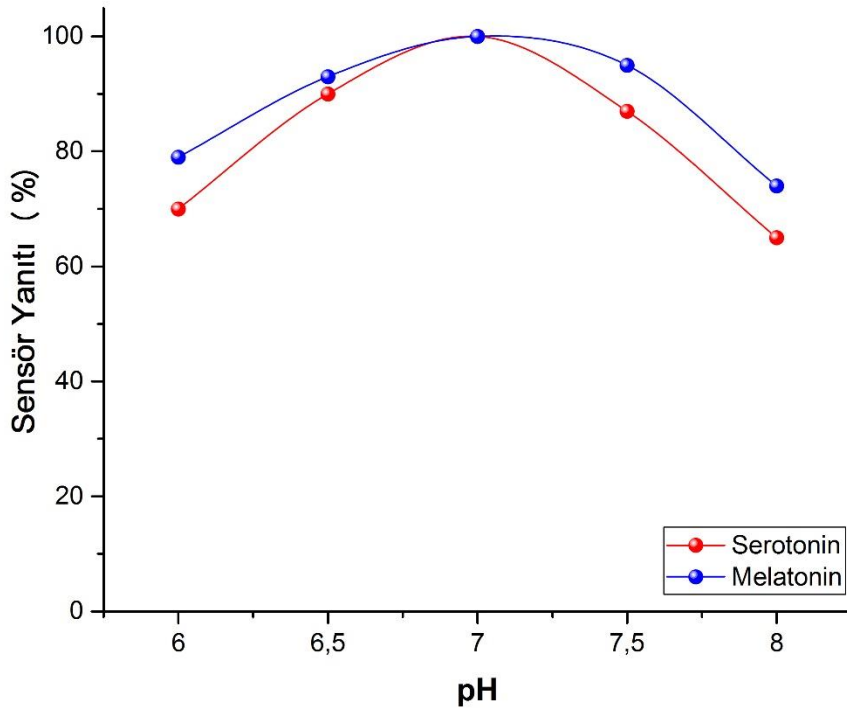
PU-CLA-%1 polimeri ile hazırlanan sensörün optimum şartlarda elde edilen sensör yanıtları üzerine biyolojik sıvılarda girişim etkisi yapabilecek bazı maddelerin etkileri incelenmiştir. 1 mM olacak şekilde askorbik asit, ürik asit ve glukoz çözeltileri kullanılmış olup sensör cevabında ancak % 2,5'lik bir düşüş meydana geldiği tespit edilmiştir.

4.9. PI-AF-PMDA Poliimid Serileriyle Hazırlanan Sensörün Optimizasyon ve Karakterizasyon Çalışmaları

Optimizasyon çalışmaları kapsamında bazı parametrelerin PI-AF-PMDA polimeri ile hazırlanan sensör yanıtları üzerindeki etkisi araştırılmıştır. Optimizasyon parametreleri olarak pH ve sıcaklığın sensör yanıtlarına etkisinin incelenmesinin ardından karakterizasyon çalışmalarına geçilmiştir.

4.9.1. PI-AF-PMDA polimeri ile hazırlanan sensörün optimum pH değerinin tespiti

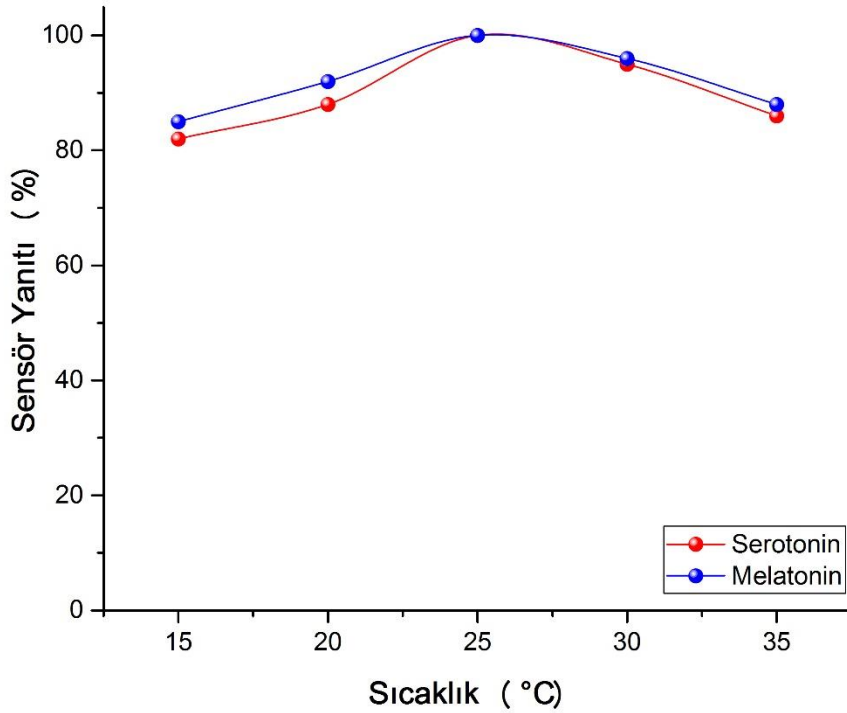
pH'ın PI-AF-PMDA sensörü üzerindeki etkisinin test edilmesi amacıyla farklı değerlerde fosfat tamponları (6 – 8) hazırlanarak melatonin ve serotonin ilavesinden sonra pH ve % sensör yanıtları arasında çizilen optimum pH grafiği Şekil 4.102'de gösterilmiştir. Grafikten de anlaşılabacağı üzere optimum pH aralığı 7 olarak tayin edilmiştir.



Şekil 4.102. PI-AF-PMDA polimeri ile hazırlanan sensörün optimum pH grafiği [4 µL PI-AF-PMDA; 0,1 M, pH:6 – 8 fosfat tamponu; 25±2 °C].

4.9.2. PI-AF-PMDA polimeri ile hazırlanan sensörün optimum sıcaklık değerinin tespiti

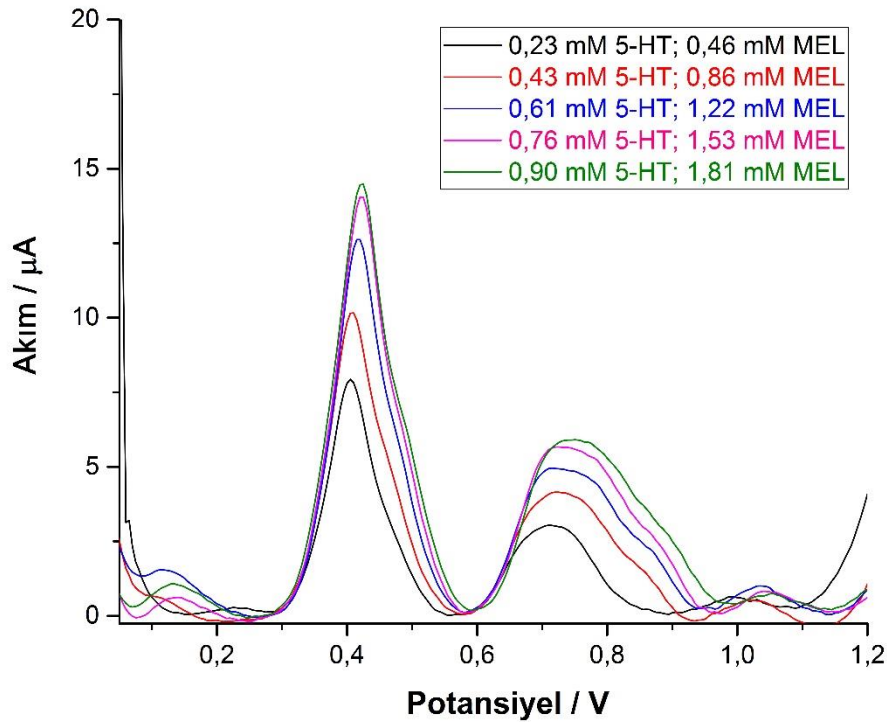
Sıcaklığın PI-AF-PMDA sensörü üzerindeki etkisinin belirlenmesi amacıyla farklı sıcaklık değerleri (15°C - 35°C) arasında melatonin ve serotonin analizleri gerçekleştirilmiştir. Bu analizler neticesinde elde edilen sıcaklık ve % sensör yanıtları arasında çizilen optimum sıcaklık grafiği Şekil 4.103’de gösterilmiştir. 25°C ve 30°C sıcaklık değerleri için alınan sensör yanıtlarının birbirlerine çok yakın değerlere sahip olduğu grafikten anlaşılmaktadır.



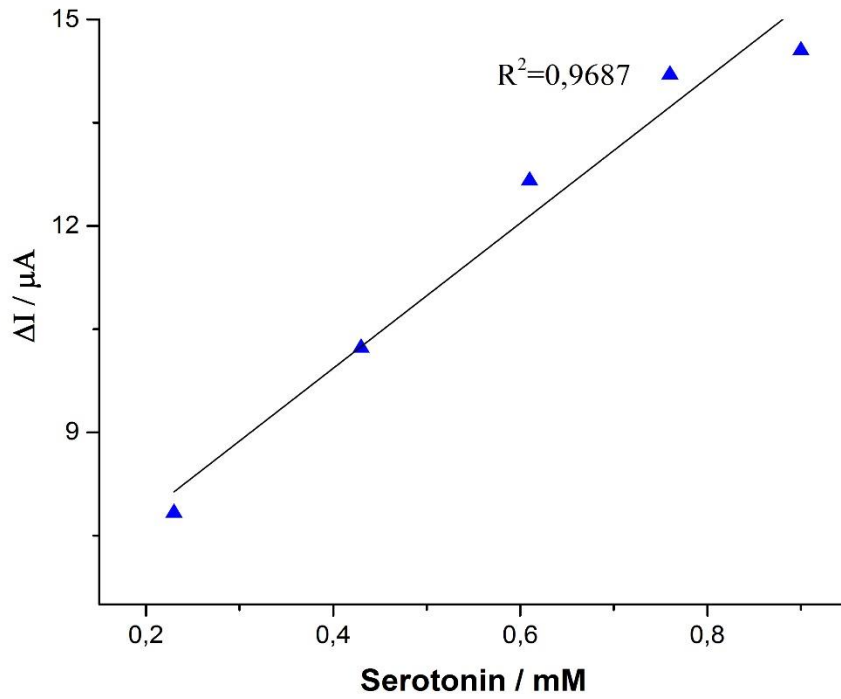
Şekil 4.103. PI-AF-PMDA polimeri ile hazırlanan sensörün optimum sıcaklık grafiği [4 µL PI-AF-PMDA; 0,1 M, pH:6 – 8 fosfat tamponu; 25±2 °C].

4.9.3. PI-AF-PMDA polimeri ile hazırlanan sensörün serotonin ve melatoninin eşzamanlı tayinine yönelik doğrusal tayin aralığının belirlenmesi

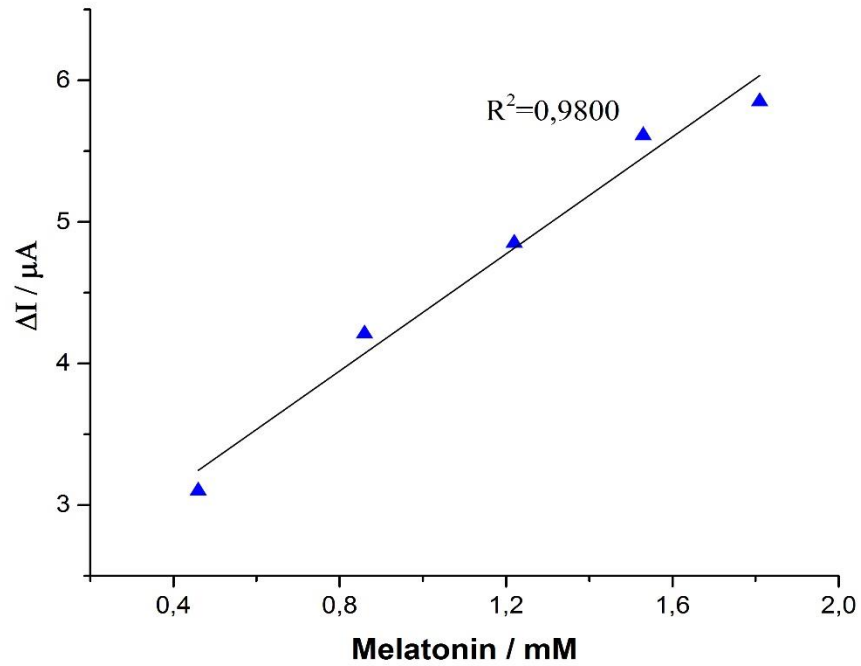
PI-AF-PMDA polimeri ile optimum şartlarda hazırlanmış olan sensör ile 1 μ M – 4 mM serotonin ve 0,1 μ M – 8 mM melatonin derişimlerinde ölçümler gerçekleştirildi. Bu ölçümler sonucunda melatonin ve serotoninin eş zamanlı ölçüm sonuçlarında 0,1 mM'ın altındaki ve 1,8 mM'ın üstündeki derişimler için doğrusallıktan sapmalar gözlemlendi. Bu derişim aralığındaki ölçümler grafiğe geçirildiğinde melatonin ve serotoninin eş zamanlı tayinine yönelik DPV eğrileri Şekil 4.104'da ve kalibrasyon grafikleri ise Şekil 4.105 ve Şekil 4.106'da verilmiştir. Elde edilen grafiğin R^2 değerleri sırasıyla 0,9805 ve 0,9809 olarak tespit edilmiştir.



Şekil 4.104. PI-AF-PMDA polimeri ile hazırlanan sensörün farklı derişimlerdeki melatonin ve serotoninin tayinine yönelik eş zamanlı DPV eğrileri [4 μ L PI-AF-PMDA; 0,1 M, pH:7 fosfat tamponu; 25 $\pm$ 2 $^{\circ}$ C].



Şekil 4.105. PI-AF-PMDA polimeri ile hazırlanan sensörle serotonin tayinine yönelik doğrusal tayin aralığı [4 μ L PI-AF-PMDA; 0,1 M, pH:7 fosfat tamponu; 25 ± 2 °C; +0,42 V, +0,72 V; DPV].



Şekil 4.106. PI-AF-PMDA polimeri ile hazırlanan sensörle melatonin tayinine yönelik doğrusal tayin aralığı [4 μ L PI-AF-PMDA; 0,1 M, pH:7 fosfat tamponu; 25 ± 2 °C; +0,42 V, +0,72 V; DPV].

4.9.4. PI-AF-PMDA polimeri ile hazırlanan sensörün serotonin ve melatoninin eşzamanlı ölçümü için tekrarlanabilirliği

PI-AF-PMDA polimeri ile hazırlanan sensörün tekrarlanabilirliğini incelemek amacı ile 0,61 mM serotonin ve 1,22 mM melatonin derişimleri için ard arda 10 tane ölçüm alınmıştır. Tekrarlanan bu ölçümler neticesinde taban akımı ile ölçülen akım arasındaki farktan ΔI değerleri belirlendi. Elde edilen akım farklarına karşılık gelen melatonin ve serotonin derişimleri ilgili standart grafiklerden okundu. Bu analizler neticesinde elde edilen veriler doğrultusunda hesaplanan ortalama değer, standart sapma ve varyasyon katsayısı serotonin için Çizelge 4.7’de melatonin için ise Çizelge 4.8’de verilmiştir.

Çizelge 4.7. PI-AF-PMDA polimeri ile hazırlanan sensörün 0,61 mM’lık serotonin ölçümlerine ait tekrarlanabilirlik sonuçları [4 μ L PI-AF-PMDA; 0,1 M, pH:7 fosfat tamponu; 25 ± 2 °C; +0,42 V].

Ölçüm No	ΔI / μ A	5-HT / mM
1	12,458	0,639
2	12,494	0,643
3	12,581	0,651
4	12,637	0,656
5	12,702	0,663
6	12,784	0,670
7	12,806	0,672
8	12,971	0,688
9	13,013	0,692
10	13,146	0,705

Ortalama Değer / mM	0,668
Standart Hata	0,022
Varyasyon Katsayısı (%)	3,251

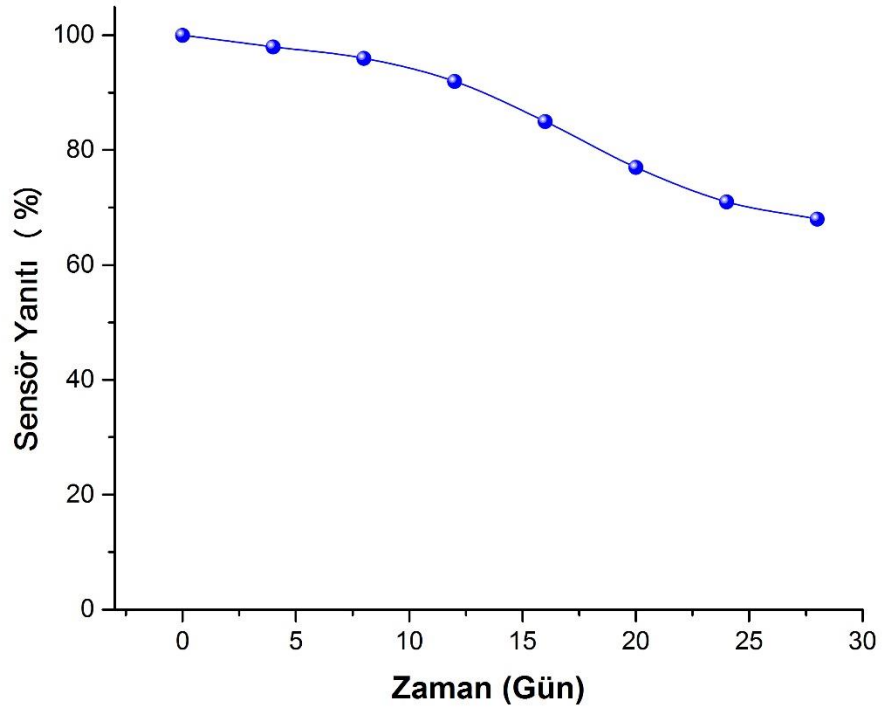
Çizelge 4.8. PI-AF-PMDA polimeri ile hazırlanan sensörün 1,22 mM’lık melatonin ölçümlerine ait tekrarlanabilirlik sonuçları [4 µL PI-AF-PMDA; 0,1 M, pH:7 fosfat tamponu; 25±2 °C; +0,72 V].

Ölçüm No	$\Delta I / \mu A$	MEL / mM
1	4,775	1,199
2	4,784	1,203
3	4,803	1,212
4	4,842	1,231
5	4,894	1,256
6	4,932	1,275
7	4,963	1,290
8	4,996	1,306
9	5,015	1,315
10	5,024	1,319

Ortalama Değer / mM	1,261
Standart Hata	0,015
Varyasyon Katsayısı (%)	3,724

4.9.5. PI-AF-PMDA polimeri ile hazırlanan sensörün depo kararlılığı

Hazırladığımız sensörün melatonin ve serotonin yanıtlarının zaman içerisinde ne kadar değiştiğinin belirlenmesi amacı ile 0,61 mM serotonin ve 1,22 mM melatonin derişimleri için 30 gün boyunca belli aralıklarla ölçümler yapılmıştır. Elde edilen sonuçlar Şekil 4.107’de verilmiş olup 30.günün sonunda sensörün başlangıç yanıtının % 32’ini kaybettiği görülmüştür.



Şekil 4.107. PI-AF-PMDA polimeri ile hazırlanan sensörün depo kararlılığı [4 μ L PI-AF-PMDA; 0,1 M, pH:7 fosfat tamponu; 25 ± 2 °C; +0,42 V, +0,72 V; DPV].

4.9.6. PI-AF-PMDA polimeri ile hazırlanan sensörün girişim etkilerinin incelenmesi

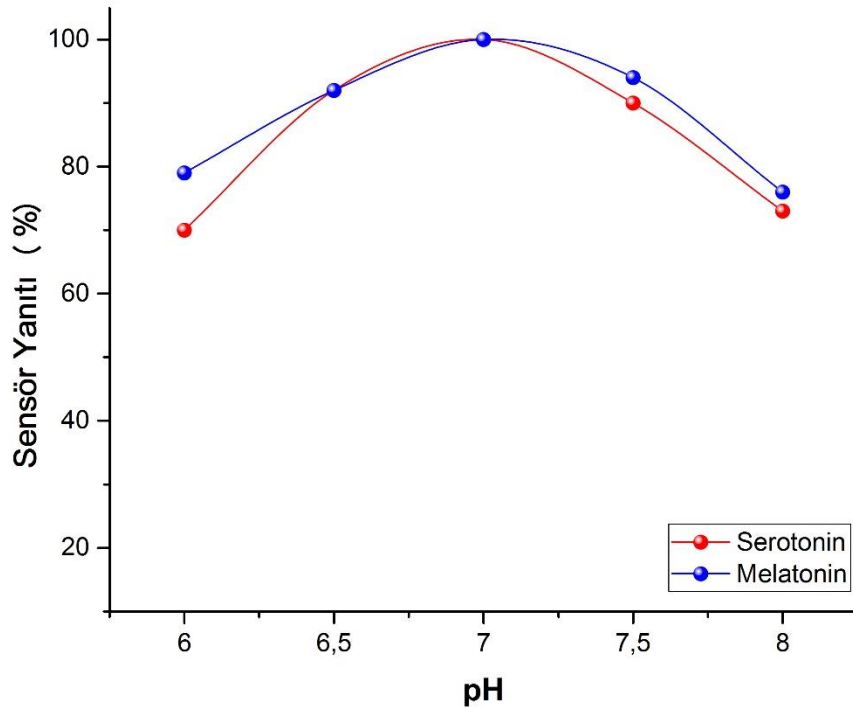
PI-AF-PMDA polimeri ile hazırlanan sensörün optimum şartlarda elde edilen sensör yanıtları üzerine biyolojik sıvılarda girişim etkisi yapabilecek bazı maddelerin etkileri incelenmiştir. 1 mM olacak şekilde askorbik asit, ürik asit ve glukoz çözeltileri kullanılmış olup sensör cevabında ancak % 1'lik bir düşüş meydana geldiği tespit edilmiştir.

4.10. PI-AFE-MWCNT-%5 Poliimid Serileriyle Hazırlanan Sensörün Optimizasyon ve Karakterizasyon Çalışmaları

Optimizasyon çalışmaları kapsamında bazı parametrelerin PI-AFE-MWCNT-%5 polimeri ile hazırlanan sensör yanıtları üzerindeki etkisi araştırılmıştır. Optimizasyon parametreleri olarak pH ve sıcaklığın sensör yanıtlarına etkisinin incelenmesinin ardından karakterizasyon çalışmalarına geçilmiştir.

4.10.1. PI-AFE-MWCNT-%5 polimeri ile hazırlanan sensörün optimum pH değerinin tespiti

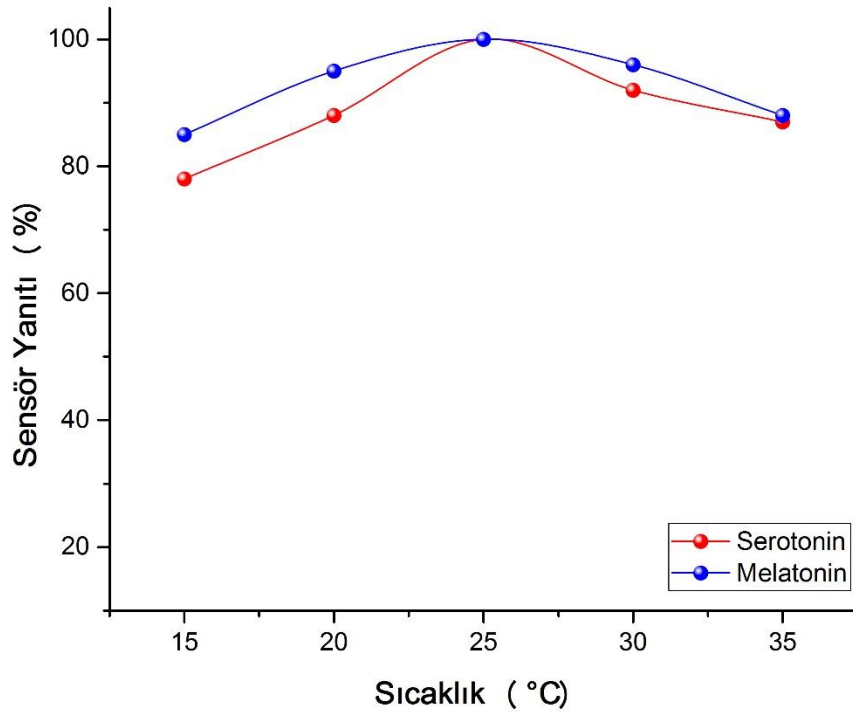
pH'ın PI-AFE-MWCNT-%5 sensörü üzerindeki etkisinin test edilmesi amacıyla farklı değerlerde fosfat tamponları (6 – 8) hazırlanarak melatonin ve serotonin ilavesinden sonra pH ve % sensör yanıtları arasında çizilen optimum pH grafiği Şekil 4.108'de gösterilmiştir. Grafikten de anlaşılabacağı üzere optimum pH aralığı 7 olarak tayin edilmiştir.



Şekil 4.108. PI-AFE-MWCNT-%5 polimeri ile hazırlanan sensörün optimum pH grafiği [4 µL PI-AFE-MWCNT-%5; 0,1 M, pH:6 – 8 fosfat tamponu; 25±2 °C].

4.10.2. PI-AFE-MWCNT-%5 polimeri ile hazırlanan sensörün optimum sıcaklık değerinin tespiti

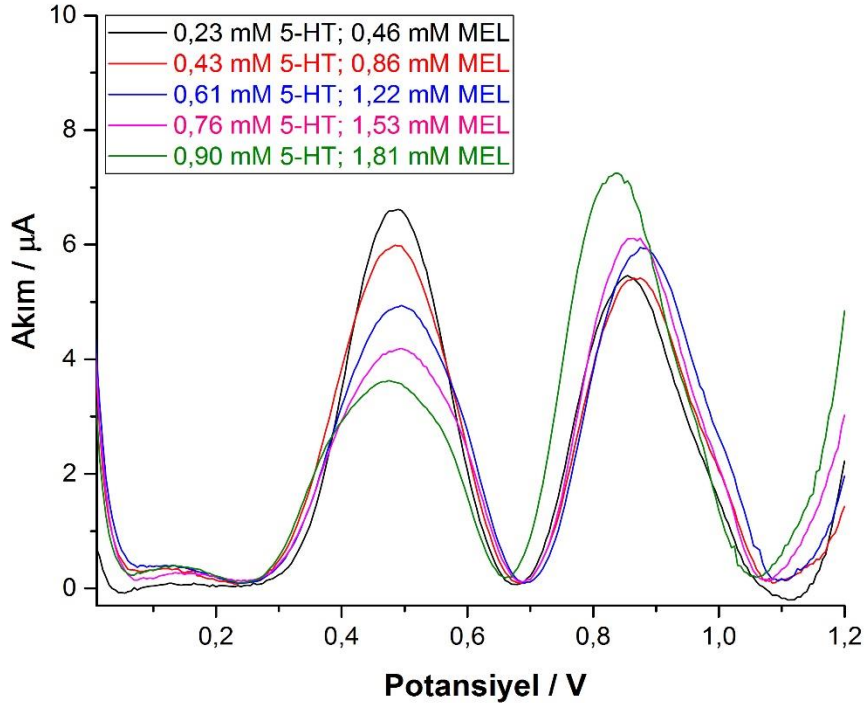
Sıcaklığın PI-AFE-MWCNT-%5 sensörü üzerindeki etkisinin belirlenmesi amacıyla farklı sıcaklık değerleri (15°C - 35°C) arasında melatonin ve serotonin analizleri gerçekleştirilmiştir. Bu analizler neticesinde elde edilen sıcaklık ve % sensör yanıtları arasında çizilen optimum sıcaklık grafiği Şekil 4.109’da gösterilmiştir. 25°C ve 30°C sıcaklık değerleri için alınan sensör yanıtlarının birbirlerine çok yakın değerlere sahip olduğu grafikten anlaşılmaktadır.



Şekil 4.109. PI-AFE-MWCNT-%5 polimeri ile hazırlanan sensörün optimum sıcaklık grafiği [4 µL PI-AFE-MWCNT-%5; 0,1 M, pH:6 – 8 fosfat tamponu; 25±2 °C].

4.10.3. PI-AFE-MWCNT-%5 polimeri ile hazırlanan sensörün serotonin ve melatoninin eşzamanlı tayinine yönelik doğrusal tayin aralığının belirlenmesi

PI-AFE-MWCNT-%5 polimeri ile optimum şartlarda hazırlanmış olan sensör ile $1 \mu\text{M} - 4 \text{ mM}$ serotonin ve $0,1 \mu\text{M} - 8 \text{ mM}$ melatonin derişimlerinde ölçümler gerçekleştirildi. Bu ölçümler sonucunda melatonin ve serotoninin eş zamanlı ölçüm sonuçlarında serotoninin artan derişimlerine karşılık sensör yanıtlarında düşüş gözlemlenmiştir. Melatonin de her ne kadar artan derişimlere karşın sensör yanıtlarında artış gözlemlense de doğrusal bir grafik elde edilememiştir. Bu derişim aralığındaki ölçümler grafiğe geçirildiğinde melatonin ve serotoninin eş zamanlı tayinine yönelik DPV eğrisi Şekil 4.110'da verilmiştir. Kalibrasyon grafiklerinin çizilmesine ihtiyaç duyulmamıştır. PI-AFE-MWCNT-%5 polimeri ile optimum şartlarda hazırlanmış olan sensöre ilişkin yanıtların doğrusal olmamasından dolayı tekrarlanabilirlik, depo kararlılığı ve girişim etkileri incelenemediğinden dolayı grafikleri çizilmemiştir.



Şekil 4.110. PI-AFE-MWCNT-%5 polimeri ile hazırlanan sensörün farklı derişimlerdeki melatonin ve serotoninin tayinine yönelik eş zamanlı DPV eğrileri [$4 \mu\text{L}$ PI-AFE-MWCNT-%5; $0,1 \text{ M}$, pH:7 fosfat tamponu; $25 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$].

5. SONUÇLAR VE TARTIŞMA

Melatonin karanlığın antioksidan gücü olarak tanımlanabilir. Melatonin sentezi üçüncü göz olarak tanımlanan ve mistik anlamlar yüklenen pineal bezden yapılmaktadır. Sirkadiyen ritim, uyku durumu, üreme, antikanserojen özellikleri gibi birçok biyolojik fonksiyonlarda işlev gören bir hormondur. Uykusuzluk, jetlag ve sirkadiyen ritmin düzenlenmesinde ilaç olarak kullanılmaktadır. Serotonin ise üzerinde en çok araştırma yapılan nörotransmitter olup duygu durum fizyolojisi, vasküler fonksiyon ve mide bağırsak hazım bozuklukları için anahtar bir mediatördür. Hatta kan, serum ve plazmada ki serotonin düzeyleri depresyon için biyokimyasal bir belirteç olarak kullanılabilir. Beyin serotonin düzeylerinin farmakolojik yöntemler dışında artırılması bireyin ruhsal durumu ve pozitif sosyal davranışlarını olumlu yönde etkileyebilmektedir. Melatonin genellikle serotoninin varlığında görüldüğü ve her ikisi de aynı metabolik yolda bulunduğundan dolayı eş zamanlı tayinleri biyolojik sistemleri anlama da önem arz etmektedir (Gomez vd., 2015).

Ali Babaei ve ark. multi-wall karbonnanotüp ve kobalt hidroksit nano parçacıkları ile modifiye edilen karbon iyonik sıvı elektrot kullanarak hazırladıkları elektrokimyasal sensör ile melatoninin tespitine yönelik çalışmalar yapmışlardır. Bu sayede elektron transfer reaksiyonlarının hızının arttığı tespit edilmiştir. pH 7.5 PBS tamponunda yapılan çalışmalarda tayin sınırını 0.004 μM olarak belirlemişlerdir (Babaei vd., 2013).

Andrew T. Ball ve Bhavik Anil Patel'in yaptıkları çalışmada bağımsız olarak melatonin tabletlerinin hızlı bir şekilde izlenmesi için bor kaplı elmas elektrotlar kullanılarak voltametrik tayin yapılmıştır. Melatoninin 0,8 V'luk bir potansiyelde oksitlendiği belirtilmiştir. 3 mg melatonin tablet içeren tüm çözeltiler (dikalsiyum fosfat, karboksi metil selüloz, magnezyum stearat, silika ve mikrokristalin selüloz) 1M potasyum klorürde hazırlanarak hızlı ve pratik bir şekilde analizlenmiştir (Ball & Patel, 2012).

Jiang ve arkadaşları okside polipirrol ile modifiye edilmiş camı karbon elektrot üzerine altın nanokümleri kaplayarak geliştirdikleri elektrokimyasal biyosensör ile dopamin ve serotonin'in anlık tayinlerini yaparak serotonin için tayin sınırını 1.10^{-9} M

olarak belirlemişlerdir. Tasarladıkları bu sensörü insan kan serumunda başarılı bir şekilde uyguladıklarını bildirmişlerdir (Jiang & Lin, 2005).

Khan ve arkadaşları indium kalay oksit elektrot kullanarak yeni bir potansiyometrik metot geliştirmişlerdir. Elektrot aminopropil silan ve disüksiniimidil suberat ile yüzey işlemine tabi tutulmuştur. Bu metotla PBS (pH 7.5) tampon çözeltisinde melatonin ve serotonin tayinini yapmışlardır. Minimum tayin sınırı olarak serotonin için 0,1 nM, melatonin için ise 1 nM olarak belirlemişlerdir (Khan vd., 2011).

Melatonin ve serotonin tayini için HPLC, kapiler elektroforez, kütle spektrometrisi, ELISA ve florometri gibi yöntemler kullanılmıştır. Bu yöntemler her ne kadar hassas olsalar da klinik düzeyde çok sayıda numunenin analizi için yüksek maliyetli ve zaman alıcıdır. Ayrıca zayıf seçicilik, karmaşık örnek hazırlama prosedürleri, uzun analiz süreleri ve uzman personel gereksinimi gibi dezavantajlara sahiptirler (Hasanzadeh vd., 2013). Bu metotlara alternatif olarak elektrokimyasal yöntemler düşük maliyet, nispeten yüksek hassasiyet, basitlik, gerçek-zamanlı analize uygunluğu ve kısa ölçüm süreleri gibi sebeplerden dolayı son zamanlarda sıklıkla tercih edilen analiz yöntemleri olmuştur.

Bu çalışma kapsamında poliüretan ve poliimid yapısının da polimerler sentezlenerek melatonin ve serotoninin eşzamanlı tayini için bir sensör geliştirilmiştir. Çalışmalarımızda perde baskılı karbon elektrotlar, düşük maliyetli, portatif, kolay taşınabilir, her çalışmadan sonra kolaylıkla değiştirilebilmesi ve düşük hacimlerde çalışılabilir olması gibi nedenlerden dolayı tercih edilmiştir. Biyolojik matrislerde bulunan askorbik asit, ürik asit ve glukoz gibi girişim yapabilecek türlerin varlığında melatonin ve serotoninin eş zamanlı tayinleri gerçekleştirilmiştir. Serotoninin oksidatif yan ürünlerinin elektrot hassasiyetini azalttığı bilinmektedir. Bu türlerin elektrot yüzeyleri tarafından absorbe edilerek geri dönülmez yüzey kirliliklerine sebep olabilmektedir. Ayrıca girişim yapan askorbik asit ve ürik asit'in yükseltgenme potansiyelleri serotoninin yükseltgenme potansiyeline çok yakındır. Tüm bu olumsuz etkileri giderip, serotonin ve melatonin pik potansiyellerinin bir birinden belirgin şekilde ayrımlarını sağlamak amacı ile poliüretan ve poliimid polimerler sentezlenmiştir.

Sensör hazırlanırken kafeik asit (PU-CA-%), gallik asit (PU-GA-%), klorogenik asit (PU-CLA-%), poli[2,7-diaminofloren-piromellitimid] (PI-AF-PMDA), poli[2,7-diaminofloren-3,3',4,4'-benzofenontetrakarboksilikdiimid] (PI-AF-BPDA), poli[2,7-diaminofloren- 4,4'-oksidifitalikdiimid] (PI-AF-ODPA) ve poli[4,4'-diaminodifenileter- piromellitimid] (%-MWCNT) polimer serileri kullanılmıştır. En iyi yanıtların alındığı polimerler ile optimizasyon ve karakterizsyon işlemleri kapsamında melatonin ve serotonin doğrusal tayin aralıkları, girişim etkileri, sıcaklık ve pH etkileri, tekrarlanabilirlik ve depo karalılığı belirlenmiştir.

Üç farklı poliüretan ve iki farklı poliimid serileri ile kaplanarak hazırlanan sensörler için melatonin ve serotoninin eşzamanlı yanıtları incelenmiştir. Çalışma elektrodu üzerinde farklı yoğunlukta polimerik filmler oluşturmak için poliüretanlar 2, 4 ve 6 mg alınıp 100 µL NMP'de çözülüp 3 µL olacak şekilde elektrot yüzeylerine damlatılmıştır.

Kafeik asit temelli poliüretan serileri için yapılan ölçümlerde en yüksek yanıtlar 2 mg kaplanan elektrotlar ile alındığı görülmüştür. 2 mg PU-CA-%1, 2 mg PU-CA-%3 ve 2 mg PU-CA-%5 ile kaplanan elektrotların yanıtları karşılaştırıldığında 2 mg PU-CA-%1 ve 2 mg PU-CA-%3 serilerinin serotonin yanıtlarının aynı olduğu ancak melatonin yanıtlarının 2 mg PU-CA-%3'lük seride % 65'lik bir düşüş yaşadığı görülmüştür. 2mg PU-CA-%5'lik seride ise serotonin yanıtlarında % 55, melatonin yanıtlarında ise % 75'lik bir düşüş gözlenmiştir. Bu nedenlerle 2 mg PU-CA-%1 poliüretanlar ile hazırlanan sensörlerle çalışılmaya karar verilmiştir.

Gallik asit temelli poliüretan serileri için yapılan ölçümlerde en yüksek yanıtlar 2 mg kaplanan elektrotlar ile alındığı görülmüştür. 2 mg PU-GA-%1, 2 mg PU-GA-%3 ve 2 mg PU-GA-%5 ile kaplanan elektrotların yanıtları karşılaştırıldığında 2 mg PU-GA-%3'e ait serotonin yanıtların ve 2 mg PU-GA-%1'den % 4 daha yüksek olduğu ancak melatonin yanıtlarının PU-GA-%3'lük seride % 70'lik bir düşüş yaşadığı görülmüştür. 2mg PU-GA-%5'lik seride ise serotonin yanıtlarında % 62, melatonin yanıtlarında ise % 75'lik bir düşüş gözlenmiştir. Bu nedenlerle 2 mg PU-GA-%1 poliüretanlar ile hazırlanan sensörlerle çalışılmaya karar verilmiştir.

Klorogenik asit temelli poliüretan serileri için yapılan ölçümlerde en yüksek yanıtlar 2 mg kaplanan elektrotlar ile alındığı görülmüştür. 2 mg PU-CLA-%1, 2 mg

PU-CLA-%3 ve 2 mg PU-CLA-%5 ile kaplanan elektroların yanıtları karşılaştırıldığında en iyi serotonin yanıtının 2 mg PU-CLA-%1'e ait olduğu ve PU-CLA-%3'te % 10'luk, PU-CLA-%5'te ise % 15'lik düşüş meydana geldiği görülmüştür. Melatonin yanıtlarında ise 2 mg PU-CLA-%3'te % 16'lık, 2mg PU-CLA-%5'lik seride % 60'lık bir düşüş gözlenmiştir. Bu nedenlerle 2 mg PU-CAL-%1 poliüretanlar ile hazırlanan sensörlerle çalışmaya karar verilmiştir.

Çalışma elektrodu üzerine PI-AF-PMDA, PI-AF-BPDA ve PI-AF-ODPA poliimidleri 2, 3 ve 4 µL damlatılarak farklı film kalınlıklarında polimerik filmler oluşturulmuştur. Perde baskılı karbon elektrotların çalışma, karşıt ve referans elektrotları birbirlerine yakın mesafede olduklarından dolayı 4 µL'nin üzerinde ki damlatmalarda diğer elektrotlara doğru taşma söz konusu olduğundan dolayı tercih edilmemiştir. 2 ve 3 µL damlatılarak kaplanan elektrot yüzeylerinde farklı kalınlıkta ve seçicilikte membran oluşturulamamış, polimerin yüzeyde iyi derecede tutunamadığı gözlemlenmiş olup girişim yapan türlerin de etkileri ile eş zamanlı sensör yanıtları alınamamıştır. En iyi sonuç 4 µL PI-AF-PMDA ile alınmıştır.

PI-AFE-PMDA, PI-AFE-MWCNT-%3 ve PI-AFE-MWCNT-%5 poliimidleri çalışma elektrodu üzerine 2, 3 ve 4 µL damlatılarak farklı kalınlıklarda polimerik filmler oluşturulmuştur. 2 µL polimer damlatılan elektrotlar üzerinde yeterli seçicilikte film tabakası oluşturulamamış olup girişim etkileri gözlemlenmiştir. En iyi yanıtlar PI-AFE-MWCNT-%5 ile alınmış olup 4 µL PI-AFE-MWCNT-%3 ve 4 µL PI-AFE-PMDA ile alınan serotonin sonuçlarında sırasıyla % 60'lık ve % 73'lük, melatonin yanıtlarında ise sırasıyla % 56'lık ve % 38'lik düşüş görülmüştür. En iyi sonuç 4 µL PI-AFE-MWCNT-%5 ile alınmıştır. Karbon nanotüp oranı ve film kalınlığı arttıkça sensör yanıtlarının yükseldiği gözlemlenmiştir. Daha ince film kalınlıklarında polimerlerin yüzeyde tutunamadığı ve zamanla dağıldığı görülmüş olup buna bağlı olarak çalışma elektrodunun bütünlüğünün bozularak doğrusal yanıtlar alınamamıştır.

Optimum pH ve sıcaklığın sensör yanıtlarına olan etkisi incelenmesi amacıyla analizler yapılmıştır. Farklı pH'larda yapılan melatonin ve serotonin analizlerinde en yüksek sensör yanıtlarının alındığı pH değeri 7,0 olarak bulunmuştur. Daha asidik ve bazik bölgelere gidildikçe sensör yanıtlarında azalmalar görülmüştür. Aynı şekilde optimum sıcaklığın tespiti için farklı sıcaklık değerlerinde ölçümler alınmış 25 °C ve

30 °C sıcaklıklardaki sensör yanıtlarının birbirine yakın olduğu bulunmuş olup standart oda sıcaklığında yani 25 ± 2 °C optimum sıcaklık değeri olarak belirlenmiştir.

Sensörün doğrusal tayin aralığının belirlenmesi amacı ile optimize edilen şartlarda gerçekleştirilen ölçümlerde 0,2 mM – 1,8 mM arasında değişen melatonin ve serotonin ölçümlerinde doğrusal sonuçlar elde edilmiştir.

Hazırlanan sensörün tekrarlanabilirlik sonuçları yani analiz sonuçlarının birbirine yakınlığının ifadesi standart sapmaları hesaplanması ile ifade edilmiştir. 0,61 mM serotonin ve 1,22 mM melatonin ölçümleri için elde edilen veriler ışığında ortalama değer, standart hata ve varyasyon katsayısı hesaplanmıştır.

Beş farklı polimer türü ile hazırlanan sensörün ölçüm ortamında oluşabilecek farklı türlerin varlığından ölçüm sonuçlarının davranışları incelenmiş en iyi sonuçların alındığı 2 mg PU-CA-%1 ve 4 µL PI-AF-PMDA ile hazırlanan sensör yanıtlarının en fazla % 1 oranında düşüş yaşadığından dolayı sensörün seçici-geçirgen özelliklerinin çok iyi olduğu gösterilmiştir.

Ölçüm alınmadığı zamanlarda elektrotlar oda sıcaklığında saklanmışlardır. 30 günlük periyot sonunda sensör yanıtlarının % 32 ile % 45 arasında düşüş yaşadığı görülmüştür. Özellikle bu düşüşler büyük oranda 10.günden itibaren başlamıştır.

Bu beş farklı polimer serileri ile alınan yanıtlar kıyaslandığında hem elde edilen pik yükseklikleri hem de melatonin ve serotonin piklerinin belirgin bir şekilde birbirlerinden ayrılmaları ve girişim etkilerinin en aza indirildiği yanıtlar 2 mg PU-CA-%1 ve 4 µL PI-AF-PMDA ile alındığı tespit edilmiştir.

Sonuç olarak seçiciliği yüksek, girişimlerin baskılandığı ve eş zamanlı tayinlerde önemli bir parametre olan pik potansiyellerinin birbirlerinden belirgin şekilde ayrımının sağlandığı bir sensör geliştirilmiştir. Elde edilen poliüretan ve poliimid yapıları elektrotlar kıyaslandığında poliüretan yapıları elektrotlarda melatonin ve serotoninin eş zamanlı olarak tespitinde herhangi bir sorun görülmemiştir. Melatonin ve serotonin yanıtları birbirinden ayrı olarak belirlenebilmiştir. Poliimid yapısı kullanıldığında saf polimid ile yapılan ölçümlerde daha yüksek pik şiddetleri elde edilmiş ancak MWCNT katkılı poliimid membran kullanıldığında eş zamanlı okumalarda serotonin yanıtlarının düzensiz olduğu gözlenmiştir. Bu düzensizliğin en önemli nedeni literatürde de belirtildiği gibi çok kaviteli elektrot yüzeyinde serotoninin oksidatif yan ürünlerinin yüzeyde birikmesidir. Poliüretan ve saf poliimid yüzeylerinde ise yüzey kaviteleri, MWCNT kaviteleri kadar yüksek olmadığı için serotonin yan ürünlerinin birikmesi oldukça minimumdur.

Poliüetan sensör yapılarının melatonin ve serotonin duyarlılığı olarak değerlendirildiğinde en yüksek duyarlılığa sahip elektrotların kafeik asit yapısında elde edildiği görülmüştür. En düşük sensör yanıtları ise klorogenik asit temelli poliüretan filmlerden elde edilmiştir. Bu durum sensörlerin R^2 ve kalibrasyon eğrilerinden doğrulanmıştır.

Poliimid yapılarında ise en iyi duyarlılık PI-AF-PMDA polimerinden elde edilmiştir. Genel olarak değerlendirildiğinde ise bu polimer eş zamanlı okumak için oldukça duyarlı ve seçiciliği oldukça iyi ve pek çok teknolojik kullanıma uygun olarak görülmüştür. Ayrıca tekrarlanabilirliği ve raf ömründe literatürdeki benzer sensörler içerisinde oldukça yüksektir. Özellikle poliimid yapısı inert olması nedeniyle iğne elektrot formasyonunda gerçek zamanlı okumalar içinde kullanılabilir özellik taşımaktadır.

Sonuç olarak bu çalışmada polimerlerin istifleme yoğunluğu, yük dağılımı ve farklı yapıları sayesinde her bir molekül için farklı geçiş yolları sunularak hazırlanan polimerik filmlere seçicilik ve farklı difüzyon özellikleri kazandırılarak hazırlanan sensörün, melatonin ve serotoninin eş zamanlı ölçümünde uygun birer araç olarak kullanılabilirliği ortaya konmuştur. Elde edilen sonuçlar hem perde baskılı elektrotların hem de adezyona ve film özelliği yüksek, kararlı polimerik yapılar olan poliüretan ve polimid filmlerinin biyolojik olarak önemli moleküllerin tayininde eş zamanlı olarak kullanılabileceğini bize göstermiştir. Ayrıca bu çalışma aynı metabolik yoldaki birden fazla hormonun veya ilaç etken maddeleri ve bunların ikincil metabolitlerinin eş zamanlı tayinine yönelik araştırmalar için yol gösterici olmuştur.

6. KAYNAKLAR

- Abuja, P., & Albertini, R. (2001). Methods for monitoring oxidative stress, lipid peroxidation and oxidation resistance of lipoproteins. *Clinica Chimica Acta*, **306**, 1-17.
- Aksoy, B., Paşahan, A., Güngör, Ö., Köytepe, S., & Seçkin, T. (2017). A novel electrochemical biosensor based on polyimide-boron nitride composite membranes. *Int. Journal of Poly. Materials and Poly. Biomater.*, **66**(4), 203-212.
- Alocilja, E., & Muhammad-Tahir, Z. (2008). Label-Free Microbial Biosensors Using Molecular Nanowire Transducers. *Principles of bacterial detection: biosensors, recognition receptors and microsystems*, Springer, New York.
- Andreescu, S., & Marty, J. (2006). Twenty years research in cholinesterase biosensors: From basic research to practical applications. *Biomolecular Engineering*, **23**, 1-15.
- Arwin, H. (2001). Is Ellipsometry Suitable for Sensor Applications? *Sensors and Actuators A*, **92**, 43-51.
- Arya, S., Datta, M., & Malhotra, B. (2008). Recent advances in cholesterol biosensor. *Biosens. and Bioelectro.*, **23**, 1083-1100.
- Aynacı, E. (2015). *Asetilkolin biyosensörünün hazırlanması, alzheimer tedavisi için yeni asetilkolinesteraz inhibitörlerinin sentezi, spektrofotometrik ve elektrokimyasal yöntemlerle inhibisyon özelliklerinin incelenmesi*, Doktora Tezi, Gazi Üniversitesi, Ankara.
- Babaei, A., Taheri, A., & Farahani, I. (2013). Nanomolar simultaneous determination of levodopa and melatonin at a new cobalt hydroxide nanoparticles and multi-walled carbon nanotubes composite modified carbon ionic liquid electrode. *Sensors and Actuators B: Chemical*, **183**, 265-272.
- Ball, A., & Patel, B. (2012). Rapid voltammetric monitoring of melatonin in the presence of tablet excipients. *Electrochimica Acta*, **83**, 196-201.
- Baskett, J., Wood, P., Broad, J., Duncan, J., English, J., & Arendt, J. (2001). Melatonin in older people with age-related sleep maintenance problems: a comparison with age matched normal sleepers. *Sleep*, **24**, 418-424.
- Bendz, L., & Scates, A. (2010). Melatonin treatment for insomnia in pediatric patients with attention-deficit/hyperactivity disorder. *Ann Pharmacother*, **44**, 185-191.
- Bergveld, P. (1970). Development of An Ion-Sensitive Solid-State Device for Neurophysiological Measurements. *IEEE Transactions on Biomedical Engineering*, **17**(1), 70-71.

- Bloomfield, V., Crothers, D., & Tinoco Jr, I. (2000). *Nucleic acids : structures, properties and functions*.
- Boutin, J., Delagrangé, P., & Rettori, M. (2000). Melatonin: molecular pharmacology and therapeutic applications. *Medicographia*, **22**, 72-80.
- Brooks, B., Devenish, J., Lutze-Wallace, C., Milnes, D., Robertson, R., & Berlie-Surujballi, G. (2004). Evaluation of a monoclonal antibody-based enzyme-linked immunosorbent assay for detection of *Campylobacter fetus* in bovine preputial washing and vaginal mucus samples. *Veterinary Microbiology*, **103**, 77-84.
- Buerk, D. (1993). *Biosensors: Theory and Applications*, ABD: CRC Press, 6- 16.
- Campuzano, S., Kuralay, F., & Wang, J. (2012). Ternary Monolayer Interfaces for Ultrasensitive and Direct Bioelectronic Detection of Nucleic Acids in Complex Matrices. *Electroanalysis*, **24**, 483-493.
- Carlo, G., Trani, A., Zane, D., Ingo, G., Pasquali, M., Dell'era, A., & Curulli, A. (2014). Influence of Different Biological Environments on Serotonin (5-HT) Electrochemical Behavior at Gold Screen Printed Electrodes. *Electroanalysis*, **26**, 1409-1418.
- Carriere, C., Kang, N., & Niles, L. (2016). Chronic low-dose melatonin treatment maintains nigrostriatal integrity in an intrastriatal rotenone model of Parkinson's disease. *Brain Research*, **1633**, 115-125.
- Cass, A., Davis, G., Francis, G., Hill, H., Aston, W., Higgins, I., . . . Turner, A. (1984). Ferrocene-Mediated Enzyme Electrode for Amperometric Determination of Glucose. *Anal. Chem.*, **56**(4), 667-671.
- Ceylan, M., & Oral, E. (2001). Duygudurum Bozuklukları. *Araştırma ve Klinik Uygulamada Biyolojik*, 4.Cilt, 72-135.
- Choi, M. (2004). Progress in Enzyme-Based Biosensors Using Optical Transducers. *Microchimica Acta*, **148**, 107-132.
- Clark Jr, L., & Lyons, C. (1962). Electrode systems for continuous monitoring in cardiovascular surgery. *Annals of The New York Academy of Sciences*, **102**, 29.
- Clark, L. (1956). Monitor and Control of Blood and Tissue Oxygen Tensions. *Transactions of the American Society for Artificial Internal Organs*, **2**, 41-48.
- Curie, J., & Curie, P. (1880). An oscillating quartz crystal mass detector. *Rendu*, **91**, 294.
- Çetin, E. (2005). Melatonin ve bağışıklık sistemi. *Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, **2**, 119-123.

- Emamgholipour, S., Hossein-nezhad, A., Sahraian, M., Askarisadr, F., & Ansari, M. (2016). Evidence for possible role of melatonin in reducing oxidative stress in multiple sclerosis through its effect on SIRT1 and antioxidant enzymes. *Life Sciences*, **145**, 34-41.
- Erdem, A. (2007). Genosensor technology for electrochemical sensing of nucleic acids by using different transducers. *Comprehensive Analytical Chemistry*, **49**, 403-411.
- Erdem, A., & Ozsoz, M. (2001). Interaction of the anticancer drug epirubicin with DNA. *Analytica Chimica Acta*, **437**, 107-114.
- Erdem, A., & Ozsoz, M. (2002). Electrochemical DNA Biosensors Based on DNA-Drug Interactions. *Electroanalysis*, **14**, 965-974.
- Erdem, A., Duruksu, G., Congur, G., & Karaoz, E. (2013). Genomagnetic assay for electrochemical detection of osteogenic differentiation in mesenchymal stem cells. *Analyst*, **138**, 5424-5430.
- Erdoğan, A. (2014). *Nitrit ve nitrat tayinine yönelik polimer membran temelli tek elektrotlu biyosensör sisteminin hazırlanması ve uygulamaları*, Doktora Tezi, İnönü Üniversitesi, Elazığ.
- Filho, O., & Vieira, I. (2000). L-Ascorbic acid determination in pharmaceutical formulations using a biosensor based on carbon paste modified with crude extract of zucchini. *J. Braz. Chem. Soc.*, **11**, 412-418.
- Gauglitz, G. (2010). Direct optical detection in bioanalysis: an update. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, **398**, 2363-2372.
- Gomez, F., Martin, A., Silva, M., & Escarpa, A. (2015). Screen-printed electrodes modified with carbon nanotubes or graphene for simultaneous determination of melatonin and serotonin. *Microchim Acta*, **182**, 1925-1931.
- Goswami, S., & Haldar, C. (2015). Melatonin as a possible antidote to UV radiation induced cutaneous damages and immune-suppression: An overview. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, **153**, 281-288.
- Grivas, T., & Savvidou, O. (2007). Melatonin the "light of night" in human biology and adolescent idiopathic scoliosis. *Scoliosis*, **2**(6), 1-14.
- Gross, T., Bode, B., Einhorn, D., Kayne, D., Reed, J., White, N., & Mastrototaro, J. (2000). Performance Evaluation of the MiniMed Continuous Glucose Monitoring System During Patient Home Use. *Diabetes Technol. Ther*, **2**, 49-56.

- Gu, H., Xu, K., Xu, C., & Xu, B. (2006). Biofunctional magnetic nanoparticles for protein separation and pathogen detection. *Chemical Communications*, **9**, 941-949.
- Guan, J., Miao, Y., & Zhang, Q. (2004). Impedimetric Biosensors. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, **97**(4), 219-226.
- Guilbault, G., & Montalvo, J. (1969). Urea-Specific Enzyme Electrode. *Journal of the American Chemical Society*, **91**(8), 2164-2165.
- Hasanzadeh, M., Shadjou, N., & Omidinia, E. (2013). A novel electroanalytical method for simultaneous detection of two neurotransmitter dopamine and serotonin in human serum. *Journal of Neuroscience Methods*, **219**, 52-60.
- Hikuma, M., Obana, H., Yasuda, T., Karube, I., & Suzuki, S. (1980). A Potentiometric Microbial Sensor Based on Immobilized Escherichia Coli for Glutamic Acid. *Analytica Chimica Acta*, **116**(1), 61-67.
- Hotchkiss, A., & Nelson, R. (2002). Melatonin and immune function: hype or hypothesis? . *Crit Rev Immunol*, **22**, 351-371.
- Huang, X., O'Mahony, A., & Compton, R. (2009). Microelectrode Arrays for Electrochemistry: Approaches to Fabrication. *Small*, **5**, 776-788.
- Ianas, O., Olivescu, R., & Badescu, I. (1991). Melatonin involvement in oxidative processes. *Rom J Endocrinol*, **29**, 117-123.
- Ivnitski, D., Abdel-Hamid, I., Atanasov, P., Wilkins, E., & Stricker, S. (2000). Application of electrochemical biosensors for detection of food pathogenic bacteria. *Electroanalysis*, **12**, 317-325.
- Jiang, X., Lin, X. (2005). Overoxidized polypyrrole film directed DNA immobilization for construction of electrochemical micro-biosensors and simultaneous determination of serotonin and dopamine. *Anal. Chim. Acta*, **537**, 145-151.
- Kara, A., Akman, S., Ozkanlar, S., Tozoglu, U., Kalkan, Y., Canakci, C., & Tozoglu, S. (2013). Immune modulatory and antioxidant effects of melatonin in experimental periodontitis in rats. *Free Radical Biology and Medicine*, **55**, 21-26.
- Khan, R., & Dhayal, M. (2009). Chitosan/polyaniline hybrid conducting biopolymer base impedimetric immunosensor to detect Ochratoxin-A. *Biosensors and Bioelectronics*, **24**, 1700-1705.
- Khan, Z.H., Nakanishi, T., Osaka, T. (2011). Potentiometric Detection of Serotonin, Melatonin, and Their Precursors/Metabolites with Monolayer-Modified

- Indium Tin Oxide Electrode and Their Concentration Dependency. *Sensor Lett.*, **9(5)**, 1849-1852.
- Kim, D., & Camilleri, M. (2000). Serotonin: a mediator of the brain-gut connection. *The American Journal of Gastroenterology*, **95(10)**, 2698-2709.
- Ko, W., Yim, C., Jung, N., Joo, J., Jeon, S., Seo, H., . . . Park, J. (2011). A visible light-induced photocatalytic silver enhancement reaction for gravimetric biosensors. *Nanotechnology*, **22**, 405-502.
- Kum, M., Joshi, K., Chen, W., Myung, N., & Mulchandani, A. (2007). Biomolecules-carbon nanotubes doped conducting polymer nanocomposites and their sensor application. *Talanta*, **74**, 370-375.
- Kuralay, F., Erdem, A., Abacı, S., Özyörük, H., & Yıldız, A. (2009). Poly(vinylferrocenium) coated disposable pencil graphite electrode for DNA hybridization. *Electrochem Commun*, **11**, 1242-1246.
- Kuralay, F., Özyörük, H., & Yıldız, A. (2005). Potentiometric enzyme electrode for urea determination using immobilized urease in poly(vinylferrocenium) film. *Sensors and Actuators B: Chemical*, **109**, 194-199.
- Kwon, H., Han, K., Hwang, K., Lee, J., Kim, T., Yoon, D., & Yang, E. (2007). Development of a peptide inhibitor-based cantilever sensor assay for cyclic adenosine monophosphate-dependent protein kinase. *Analytica Chimica Acta*, **585**, 344-349.
- Lam R.W., Bercowitz, A., Berga, S., Clark, C., Kripke, D., & Gillin, J. (1990). Melatonin suppression in bipolar and unipolar mood disorders. *Psychiatry Research*, **33**, 129-134.
- Lam, D., Garfield, A., Marston, O., & vd. (2010). Brain serotonin system in the coordination of food intake and body weight. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, **97**, 84-91.
- Lee, K., Povlich, L., & Kim, J. (2010). Recent advances in fluorescent and colorimetric conjugated polymer-based biosensors. *Analyst*, **135**, 2179-2189.
- Liebmann, P., Wölfler, A., Felsner, P., Hofer, D., & Schauenstein, K. (1997). Melatonin and the immune system. *Int Arch Allergy Immunol*, **112**, 203-211.
- Liedberg, B., Nylander, C., & Lundstrom, I. (1983). Surface-Plasmon Resonance for Gas-Detection and Biosensing. *Sensors and Actuators*, **4(2)**, 299-304.
- Lin, Y., Lu, F., Tu, Y., & Ren, Z. (2004). Glucose Biosensors Based on Carbon Nanotube Nanoelectrode Ensembles. *Nanoletters*, **4(2)**, 191-195.
- Lissoni, P., Barni, S., Tancini, G., Mainini, E., Piglia, F., & Maestroni, G. (1995). Immunoendocrine therapy with low-dose subcutaneous interleukin-2 plus

melatonin of locally advanced or metastatic endocrine tumors. *Oncology*, **52**, 163-166.

Liu, M., Xiang, J., Zhou, J., & Ding, H. (2010). A disposable amperometric sensor for rapid detection of serotonin in the blood and brain of the depressed mice based on Nafion membrane-coated colloidal gold screen-printed electrode. *Journal of Electroanalytical Chemistry*, **640**, 1-7.

Liu, Y., Matharu, Z., Howland, M., Revzin, A., & Simonian, A. (2012). Affinity and enzyme-based biosensors: recent advances and emerging applications in cell analysis and point-of-care testing. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, **404**, 1181-1196.

Maestroni, G. (2001). The immunotherapeutic potential of melatonin. *Expert Opin Investig Drugs*, **10**, 467-476.

Maksimovich, A. (2002). Structure and function of the vertebrate pineal gland. *J. Evol. Biochem*, **38**, 1-15.

Mohammed-Zadeh, L., Moses, L., & Gwaltney-Brant, S. (2008). Serotonin: a review. *Journal of veterinary pharmacology and therapeutics*, **31**(3), 187-199.

Molaakbari, E., Mostafavi, A., & Beitollahi, H. (2015). Simultaneous electrochemical determination of dopamine, melatonin, methionine and caffeine. *Sensors and Actuators B: Chemical*, **208**, 195-203.

Mosbach, K. (1991). Thermal biosensors. *Biosensors and Bioelectronics*, **6**, 179-182.

Nelson, J., & Griffin, E. (1916). Adsorption of Invertase. *Journal of the American Chemical Society*, **35**(5), 1109-1115.

Nishida, K., Shimoda, S., Ichinose, K., Araki, E., & Shichiri, M. (2009). What is Artificial Endocrine Pancreas? Mechanism and History. *World Journal of Gastroenterology*, **15**(33), 4105-4110.

Odacı, D. (2010). *Karbohidrat analizine yönelik biyosensör sistemlerinin geliştirilmesi, karakterizasyon ve uygulamaları*, Doktora Tezi, Ege Üniversitesi, İzmir.

Özöner, Ş. (2010). *Horseradish Peroxidase Enzimi Kullanılarak Amperometrik Fenol Biyosensörlerinin Geliştirilmesi*, Doktora Tezi, Gebze Yüksek Teknoloji Enstitüsü Mühendislik ve Fen Bilimleri Enstitüsü, Gebze, 30-56.

Palecek, E. (1960). Oscillographic Polarography of Highly Polymerized Deoxyribonucleic Acid. *Nature*, **188**, 656-657.

Pfeiffer, E., Thum, C., Beischer, W., Meissner, C., Tamas, G., & Clemens, A. (1975). Artificial Pancreas—Application to Experimental and Clinical Research. *Diabetologia*, **11**(4), 369-370.

- Pitcher, D., & Fry, N. (2000). Molecular Techniques for the Detection and Identification of New Bacterial Pathogens. *Journal of Infection*, **40**, 116-120.
- Pohanka, M., & Skladal, P. (2008). Electrochemical biosensors – principles and applications. *Journal of Applied Biomedicine*, **6**, 57-64.
- Raghavendra, V., Singh, V., Kulkarni, S., & Agrewala, J. (2001). Melatonin enhances Th2 cell mediated immune responses: lack of sensitivity to reversal by naltrexone or benzodiazepine receptor antagonists. *Mol Cell Biochem*, **221**, 57-62.
- Reiter, R., Tan, D., Erren, T., Fuentes-Bruto, L., & Paredes, S. (2009). Light-mediated perturbations of circadian timing and cancer risk: a mechanistic analysis. *Integr Cancer Ther*, **8**, 354-360.
- Reiter, R., Tan, D., Kim, S., & Wenbo, Q. (1998). Melatonin as a pharmacological agent against oxidative damage to lipids and DNA. *Proc West Pharm Soc*, **41**, 229-236.
- Reiter, R., Tan, D., Terron, M., Flores, L., & Czarnocki, Z. (2007). Melatonin and its metabolites: new findings regarding their production and their radicalscavenging actions. *Acta Biochim Pol*, **54**, 1-9.
- Riedel, K., Neumann, B., & Scheller, F. (1992). Microbial Sensors Based on Respiration Measurements. *Chemie Ingenieur Technik*, **64**, 518-528.
- Robinson, O., & Sahakian, B. (2009). A Double Dissociation in the Roles of Serotonin and Mood in Healthy Subjects. *Biological Psychiatry*, **65**, 89-92.
- Rodriguez-Lazaro, D., D'Agostino, M., Herrewegh, A., Pla, M., Cook, N., & Ikonopoulou, J. (2005). Real-time PCR-based methods for detection of *Mycobacterium avium* subsp. paratuberculosis in water and milk. *International Journal of Food Microbiology*, **101**, 93-104.
- Sack, R., Lewy, A., & Hughes, R. (1998). Use of melatonin for sleep and circadian rhythm disorders. *Ann Med*, **30**, 115-121.
- Sassolas, A., Blum, L., & Leca-Bouvier, B. (2012). Immobilization strategies to develop enzymatic biosensors. *Biotechnology Advances*, **30**, 489-511.
- Savan, E., Paşahan, A., Aksoy, B., Güngör, Ö., Köytepe, S., & Seçkin, T. (2016). Preparation and properties of selective polyurethane films and their use for the development of biomedical dopamine sensor. *International Journal of Polymeric Materials and Polymeric Biomaterials*, **65**(8), 402-408.
- Schultz, J. (1982). Optical Sensor for Plasma Constituents. *US Patent No*, 4344438.
- Şener, G. (2010). Karanlığın hormonu: melatonin. *Marmara Eczacılık Dergisi*, **14**(3), 112-120.

- Şener, G., Özgür, E., Yılmaz, E., Uzun, L., Say, R., & Denizli, A. (2010). Quartz crystal microbalance based nanosensor for lysozyme detection with lysozyme imprinted nanoparticles. *Biosensors and Bioelectronics*, **26**, 815-821.
- Tamam, L., & Zeren, T. (2002). Depresyonda Serotonerjik Düzenekler. *Klinik Psikiyatri*, **4**, 11-18.
- Telefoncu, A. (1999). Biyosensörler. *Ege Üniversitesi Yayınları*.
- Telefoncu, A., & Kılınç, A. (2012). Biyosensörler: Metodlar, Uygulamalar ve Son Gelişmeler. *İzmir: Ege Üniversitesi Basımevi*, 1-189.
- Telefoncu, A., & Kılınç, A. (2012). Biyosensörler: Metodlar, Uygulamalar ve Son Gelişmeler, Biyosensörler: Metodlar, Uygulamalar ve Son Gelişmeler Lisans Üstü Yaz Okulu. 1-36.
- Toker, L., Amar, S., & Bersudsky, Y. v. (2010). The Biology of Tryptophan Depletion and Mood Disorders. *Isr J Psychiatry Relat Sci*, **47**, 46-55.
- Tsuzuki, K., Okamoto-Miunu, K., & Mizuno, K. (2004). Effects of humid heat exposure on sleep, thermoregulation, melatonin and microclimate. *Journal of Thermal Biology*, **29**, 31-34.
- Waldhauser, F., Frisch, H., Waldhauser, M., Weiszenbacher, G., Zeitlhuber, U., & Wurtman, R. (1984). Fall in nocturnal serum melatonin during prepuberty and pubescence. *Lancet*, **1**, 362-365.
- Walton, P., O'Flaherty, M., Butler, M., & Compton, P. (1993). Gravimetric biosensors based on acoustic waves in thin polymer films. *Biosensors and Bioelectronics*, **8**, 401-407.
- Wang, J. (2001). Glucose Biosensors: 40 years of Advances and Challenges. *Electroanalysis*, **13**(12), 983-988.
- Wang, J. (2005). Carbon-Nanotube Based Electrochemical Biosensors: A Review. *Electroanalysis*, **17**, 7-14.
- Wang, J. (2008). Electrochemical Glucose Biosensors. *Chem. Reviews*, **108**(2), 814-825.
- Wang, J., & Kawde, A. (2002). Amplified label-free electrical detection of DNA hybridization. *Analyst*, **127**, 383-386.
- Wang, X., Lu, X., & Chen, J. (2014). Development of biosensor technologies for analysis of environmental contaminants. *Trends in Environ. Anal. Chem.* **2**, 25-32.

- Wiley, J., & Sons. (2013). Review Article: Melatonin and the theories of aging: a critical appraisal of melatonin's role in antiaging mechanisms. *Journal of Pineal Research*, **55**, 325-356.
- Wood, R. (1902). On a remarkable case of uneven distribution of light in a diffraction grating spectrum. *The London, Edinburgh, and Dublin Philosophical Magazine and Journal of Science*, **4**, 396-402.
- Yazıcı, C., & Köse, K. (2004). Melatonin: Karanlığın Antioksidan Gücü. *Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi*, **13**, 56-65.
- YÜCE, N. (2012). *Depresyon hastalarında sertralin'nin farmakogenetik yönden araştırılması ve plazma ilaç ve metabolitinin tayini*, Doktora Tezi, Ankara Üniversitesi, Ankara.
- Zhang, Z., Yang, W., Wang, J., Yang, C., Yang, F., & Yang, X. (2009). A sensitive impedimetric thrombin aptasensor based on polyamidoamine dendrimer. *Talanta*, **78**, 1240-1245.
- Zhou, A., Zhang, J., Xie, Q., & Yao, S. (2000). Impedance analysis for the investigation of the behaviors of piezoelectric quartz crystal in the liquid at harmonic resonance. *Sensors and Actuators B: Chemical*, **67**, 68-75.

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı: Ensar EREL

Doğum Tarihi: 27.12.1976

Öğrenim Durumu: Doktora

Derece	Alan	Üniversite	Yıl
Ön Lisans	Bilgisayar Programcılığı	Fırat	1997
Lisans	Kimya Bölümü	Fırat	2004
Y. Lisans	Kimya – Analitik Kimya	Fırat	2007
Doktora	Kimya – Biyokimya	İnönü	2018

Çalıştığı Kurum: Elazığ İl Özel İdaresi – AB Proje Koordinasyon Birimi

Yayın Listesi

Uluslararası hakemli dergilerde yayımlanan makaleler (SCI & SSCI & Arts and Humanities)

- Yaman, M., **Erel, E.** (2013). Determination of Fe, Zn and Cu in ambient air by combining pre-concentration methods and FAAS. *Int. J. Environ. Res.*, 7(4) 989-994.
- Yaman, M., **Erel, E.** (2012). Combining of Preconcentration Methods for the Determination of Lead and Nickel in Ambient Air by FAAS. *Atomic Spectroscopy*. 33(6), 212-217.
- Yaman, M., Ince, M., **Erel, E.**, Cengiz, E., Bal, T., Er, C., Kilicel, F. (2011). Distribution study of U, V, Mo and Zr in different sites of Lakes Van and Hazar, river and seawater samples from the eastern of Turkey by ICP-MS. *Clean - Soil, Air, Water*, 39 (6), 530-536.

Uluslararası bilimsel toplantılarda sunulan ve bildiri kitabında (*Proceedings*) basılan bildiriler

- **Erel, E.,** Karaaslan, M.G., Koytepe, S., Ates, B., Yılmaz I. Synthesis, Characterization and Dopamine Selective Properties Of Polyurethane Films Containing Chlorogenic Acid, *46th IUPAC World Polymer Congress*, 17-21 July 2016, Istanbul, Turkey.
- **Erel, E.,** Koytepe, S., Ates, B., Yılmaz I. Synthesis and Characterization of Polyimide-MWCNT Composite Membranes For Serotonin Sensor Application, The International Joint Science Congress of Materials & Polymers, 25-28 August 2017, Ohrid, Macedonia.

Ulusal bilimsel toplantılarda sunulan ve bildiri kitabında basılan bildiriler

- **Erel, E.,** İnce, M., Yaman, M. Hava Örneklerinde Eser Metallerin Tayini, IV. Ulusal Analitik Kimya Kongresi, 25-27 Haziran 2008, Elazığ.
- **Erel, E.,** Şap, A., Bakır, A., Akkuş, Ş., Yaman, M. Şekersiz Doğal Ürün Adıyla Marketlerde Satılan Marmelatların Şeker Türleri Yönünden Kontrolü, V. Ulusal Analitik Kimya Kongresi, 21-25 Haziran 2010, Erzurum.
- **Erel, E.,** Ateş, B., Köytepe, S., Karaaslan, M.G., Gürses, C., Balcıoğlu, S., Gülgen, S. Medikal Malzemelerin Kaplanması Kullanılmak Üzere Hexametilen Diizosiyanat ve Gallik Asit Temelli Biyouyumlu Poliüretanların Hazırlanması, *XXVII. Ulusal Kimya Kongresi*, 23-28 Ağustos 2015, Çanakkale.
- **Erel, E.,** Karaaslan, M.G., Koytepe, S., Ates, B., Yılmaz, I. Investigation of Alpha-Lipoic Acid Selective Properties of Cellulose based Polyurethanes in Electrochemical Sensor Application, SANKO University Innovation in Medicine Summit-3 (Uluslararası katılımlı), 11-13 May 2017, Gaziantep, Turkey.
- Yılmaz, İ., **Erel, E.,** Köytepe, S., Ateş, B. MWCNT/Poliimid Kompozit İle Modifiye Edilmiş Perde Baskılı Elektrotlarla Melatoninin Elektrokimyasal Belirlenmesi, Uluslararası Katılımlı 6. İlaç Kimyası: İlaç Etkin Maddesi Tasarımı, Sentezi, Üretimi ve Standardizasyonu Kongresi, 22-25 Mart, 2018, Belek, ANTALYA.

- Çakmen, A.B., **Erel, E.**, Özcan, İ., Köytepe, S., Ateş, B. Yılmaz, İ. Poliimid Modifiye MWCNT/Screen-Printed Elektrotlar İle Serotoninin Tayini İçin Elektrokimyasal Sensor Geliştirilmesi. Uluslararası Katılımlı 6. İlaç Kimyası: İlaç Etkin Maddesi Tasarımı, Sentezi, Üretimi ve Standardizasyonu Kongresi, 22-25 Mart, 2018, Belek, ANTALYA.
- **Erel, E.**, Karaaslan, M.G., Köytepe, S., Ateş, B. Yılmaz, İ. Kafeik Asit Katkılı Poliüratanlarla Modifiye Edilmiş Tek Kullanımlık Perde Baskılı Elektrotlar ile Melatonin ve Serotoninin Eş Zamanlı Tayini (***Sözlü Sunum***). Uluslararası Katılımlı 6. İlaç Kimyası: İlaç Etkin Maddesi Tasarımı, Sentezi, Üretimi ve Standardizasyonu Kongresi, 22-25 Mart, 2018, Belek, ANTALYA.

Ödüller

- **Poster Ödülü (1.'lik ödülü):** **EREL, E.**, Karaaslan, M.G., Koytepe, S., Ates, B., Yılmaz, İ. Investigation of Alpha-Lipoic Acid Selective Properties of Cellulosebased Polyurethanes in Electrochemical Sensor Application, SANKO University Innovation in Medicine Summit-3 (Uluslararası katılımlı), 11-13 May 2017, Gaziantep, Turkey.

Katıldığı Seminerler, Eğitimler ve Çalıştaylar.

- “İş Sağlığı ve Güvenliği Semineri” Türkiye İş Kurumu Genel Müdürlüğü, Katılım Sertifikası, 2008, Elazığ.
- TS EN ISO 9001:2008 Kalite Yönetim Sistemi Temel Eğitimi, 2010, Elazığ.
- Avrupa Birliği Temel Uzmanlık Eğitimi, Ankara Üni. Avrupa Toplulukları Araştırma ve Uygulama Merkezi, Eğitim Sertifikası, 31.10-04.11 2011, Antalya.
- “İl Özel İdareler AB’ye Hazırlanıyor Projesi” Hayat Boyu Öğrenme Eğitim Semineri, 12-16 Kasım 2012, Antalya.
- “Oksidatif Stres, DNA Hasarı, DNA Onarımı ve Hastalıklarla İlişkisi” Eğitim Sertifikası, 22-25 Mayıs 2012, İzmir.
- “Yüzey Analizi Teknikleri ve Uygulama Semineri” İnönü Üniversitesi, 2013, Malatya

- “Basic Training on Procurement for End Recipients” Technical Assistance on Institutional Building for the Implementation of RCOP in Turkey, Bilim, Sanayi ve Teknoloji Bakanlığı, 2013, Ankara.
- “Deney Hayvanları Kullanım Sertifikası”, İnönü Üniversitesi, Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Etik Kurulu, 04-12 Mayıs 2013, Malatya.
- “TUBİTAK 1001-1002 Programları Kapsamında Proje Hazırlama Eğitimi”, Katılım Sertifikası, 02-04 Mayıs 2014, Elazığ.
- “Avrupa Birliği İletişim ve Görünürlük Eğitim Programı”, Bilim, Sanayi ve Teknoloji Bakanlığı, Eğitim Sertifikası, Mayıs 2014, Malatya.
- “Uygulamalı Biyokimyada Güncel Konular” Eğitim Sertifikası, Biyokimya Lisansüstü Yaz Okulu, 22-24 Ağustos 2014, Aksaray.
- “Advanced Technologies on Health Sciences Symposium” Certificate of participation, Hacettepe University, 15-16 September 2014, Ankara.
- Tıpta İnovasyon Buluşmaları-2, Sanko Üniversitesi, 5-7 Mayıs 2016, Katılım Sertifikası, Gaziantep.
- “Afinite Temelli Sensörler” Katılım Sertifikası, Hacettepe Üniversitesi, Fen Fakültesi, Kimya Bölümü, Biyokimya Anabilim Dalı, 7-8 Haziran 2017, Ankara.

Tezler ve Seminerler

- **Doktora Tezi:** “Biyomedikal Uygulamalarda Kullanılmak Üzere Melatonin ve Serotonin Eş Zamanlı Tayini için Polimerik Sensörlerin Geliştirilmesi” İnönü Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, 2018.
- **Yüksek Lisans Tezi:** Şehir İçi Toz Ve Hava Örneklerinde Toksik Metal Miktarlarının Tayini, Fırat Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, 2007.
- **Doktora Seminer Konusu:** Oksidatif DNA Hasarı ve Tayin Yöntemleri, İnönü Üniversitesi, 2012.
- **Doktora Seminer Konusu:** Biyokimyasal Açıdan Bor, İnönü Üniversitesi, 2013.
- **Yüksek Lisans Seminer Konusu:** HPLC – MS, Fırat Üniversitesi, 2005.