

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

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**ÇOK DUVARLI KARBON NANOTÜPLERLE MODİFİYE EDİLEN BOR
KATKILI ELMAS ELEKTROTLARIN İLE ASKORBİK ASİT VARLIĞINDA
LEVODOPA TAYİNİ**

Tuba KARAGÖZ

KİMYA ANABİLİM DALI

**ANLIURFA
2015**

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

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**ÇOK DUVARLI KARBON NANOTÜPLERLE MODİFİYE EDİLEN BOR
KATKILI ELMAS ELEKTROTLARLA ASKORBİK ASIT VARLIĞINDA
LEVODOPA TAYİNİ**

Tuba KARAGÖZ

KİMYA ANABİLİM DALI

**ANLIURFA
2015**

Prof. Dr. Mehmet ASLANO LU dan, manl, ,nda Tuba KARAGÖZ ün hazırlad, , "Çok duvarlı, karbon nanotüplerle modifiye edilen bor katkılı, elmas elektrotlar ile askorbik asit varlı, ,nda levadopa tayini" konulu bu çalı, ma 13/10/2014 tarihinde a a ,daki jüri taraf,ndan oy birli i ile Harran üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dal,ında YÜKSEK L SANS TEZ olarak kabul edilmi tir

mza

Dan, man : Prof. Dr. Mehmet ASLANO LU í í í í í í í í í

Üye : Prof. Dr. M. rfan YE LNACAR í í í í í í í í í .

Üye : Doç. Dr. Ali hsan ÖZTÜRK í í í í í í í í í

Bu Tezin Kimya Anabilim Dal,ında Yap,ld, ,n, ve Enstitümüz Kurallar,na Göre Düzenlendi ini Onaylar,m.

Prof. Dr. Sinan UYANIK
Enstitü Müdürü

Not: Bu tezde kullan,lan özgün ve ba ka kaynaktan yap,lan bildiri lerin, çizelge, ekil ve foto raflar,n kaynak gösterilmeden kullan,m,, 5846 say,l, Fikir ve Sanat Eserleri Kanunundaki hükümlere tabidir.

Ç İNDEK İLER

Sayfa No

ÖZET	i
ABSTRACT	ii
TEŞEKKÜR	iii
TEŞEKKÜR EKLERİ DİZİNİ	iv
ÇİZELGELER DİZİNİ	v
SİMGELER DİZİNİ	vi
1. GİRİŞ	1
2. ÖNCEK ÇALIŞMALAR	4
2.1. Kimyasal Sensör Kavramı,	4
2.1.1. Elektrokimyasal biyosensörler	5
2.2. Modifiye Elektrotlar	6
2.3. Elektrot kaplaması,	7
2.4. Karbon nanotüpler	8
2.5. Voltametri	9
2.5.1. Dönüştürümlü voltametri	10
2.5.2. Elektrokimyasal hücre	13
2.6. Saptama S, n, r, n, n Hesaplanması,	13
2.7. Bor katkılı, elmas (BDD) elektrot	14
2.7.1. Bor Katkılı, Elmas Elektrotların Sentezi	16
3. MATERYAL ve YÖNTEM	18
3.1. Materyal	18
3.2. Yöntem	18
3.2.1. MWCNT/BDD elektrotun Hazırlanması,	18
3.2.2. Modifiye edilen BDD'lerin hazırlanması,	19
4. ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA	20
4.1. Levo dopan, n yal, n BDD yüzeyindeki elektrokimyasal davranışlar,	20
4.2. Levo dopan, n MWCNT/BDD elektrot yüzeyindeki voltametrik davranışlar,	21
4.2.1. Tarama hızı, z, n, n Levo dopan, n pik potansiyeli ve pik akımına etkisi	23
4.2.2. pH, n LD'ın pik potansiyeline etkisi	24
4.2.3. BDD/MWCNT yüzeyinde Levo dopan, n kalibrasyon eğitimi	26
4.2.4. Askorbik asit (AA) varlığı, n da Levo dopan, n MWCNT/BDD elektrot sistemi ile saptanması,	27
5. SONUÇLAR ve ÖNERİLER	30
5.1. Sonuçlar	30
5.2. Öneriler	30
KAYNAKLAR	32
ÖZGEÇMİŞ	33

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

ÇOK DUVARLI KARBON NANOTÜPLERLE MODİFİYE EDİLEN BOR KATKILI ELMAS ELEKTROTLAR İLE ASKORBİK ASİT VARLI İNDA LEVODOPA TAYİNİ

Tuba KARAGÖZ

Harran Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Kimya Anabilim Dalı,

Danışman: Prof. Dr. Mehmet ASLANOĞLU
Yıl: 2015, Sayfa: 33

Bor katkılı, elmas elektrotlar, levodopan, elektrooksidasyonu ve askorbik asit varlığı, inda seçimli olarak saptanması, için çok duvarlı, karbon nanotüplerle modifiye edilmiştir. Çok duvarlı, karbon nanotüplerle modifiye edilen bor katkılı, elmas elektrotu levodopan, yükseltgenmesine çok yüksek bir elektro katalitik etki göstermiş ve akım cevabında belirgin bir artış, sergilemiştir. Elde edilen modifiye elektrot pH 4,0 olan 0,1 M fosfat tamponunda (PBS) levodopan, saptanması, uygulanmış, tır. Saptama sınırı, 1.97×10^{-9} M olan kalibrasyon grafiği 1.50×10^{-7} - 7.04×10^{-6} M konsantrasyon aralığında doğrusaldır. Karbon nanotüplerle yüzey modifikasyonu türlerin yükseltgenmesi için gereken potansiyeli düşürmüştür, voltametrik davranışları, geliştirmiş ve levodopan, tekrarlanabilir bir şekilde saptanması, imkân vermiştir. Hazırlanan modifiye elektrot sistemi ilaç örneklerine mükemmel bir şekilde uygulanmış, tır.

ANAHTAR KELİMELER: Elektrokimyasal sensör, levodopa karbon nanotüp, bor katkılı, elmas elektrot, askorbik asit

ABSTRACT

Msc Thesis

DETERMINATION OF LEVODOPA IN THE PRESENCE OF ASCORBIC ACID USING BORON DOPED DIAMOND ELECTRODES MODIFIED WITH MULTI-WALLED CARBON NANOTUBES

Tuba KARAGÖZ

**Harran University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Chemistry**

**Supervisor: Prof. Dr. Mehmet ASLANO LU
Year: 2015, Page: 33**

Boron doped diamond electrodes have been modified with multi-walled carbon nanotubes for the electrooxidation of levodopa and its selective determination in the presence of ascorbic acid. The boron doped diamond modified with multi-walled carbon nanotubes A boron doped diamond electrode has been modified multi-walled showed a high electrocatalytic effect towards the oxidation of levodopa and exhibited a marked enhancement of the current response. The modified electrode was used for the determination of levodopa in 0.1 M phosphate buffer solution (PBS) at pH 4.0. The calibration curve is linear in the concentration range from 1.50×10^{-7} to 7.04×10^{-6} M with a detection limit of 1.97×10^{-9} M. The surface modification with MWCNT served to reduce the potential required to oxidize species, improve voltammetric behaviour and enables a reproducible detection for levodopa. The modified electrode system has successfully been applied to the pharmaceutical formulations.

KEY WORDS: Electrochemical sensor, levodopa, carbon nanotubes, boron doped diamond electrode, ascorbic acid

TE EKKÜR

Bu çal, man,n her safhas,nda deste ini esirgemeyen ve bilgi birikimlerini benimle payla an çok de erli hocam ve dan, man,m Say,n Prof. Dr. Mehmet ASLANO LUØ na te ekkürlerimi sunmay, bir borç bilirim. Çal, ma boyunca kahr,m,z, çeken ve tecrübelerini bizimle payla an Say,n Ara . Gör. Ay egül KUTLUAY BAYTAKøa ükranlar,m, sunar,m. Ayn, çal, ma ortam,n, payla t, ,m laboratuvar arkada ,m Songül ARDA -ya te ekkürlerimi sunar,m.



EK LER D Z N

Sayfa No

ekil 1.	Levodopan,n molekül yap,s,	1
ekil 2.1.	Amperometri esasl, biyosensörler	5
ekil 2.2.	Potansiyometrik esasl, biyosensör	6
ekil 2.3.	Çok duvarl, karbon nanotüpler (MWCNT)	8
ekil 2.4.	Bir dönü ümlü voltamogram	11
ekil 2.5.	BDD ve Pt elektrotlar,n dönü ümlü voltametri; 1 M H ₂ SO ₄ ; tarama h,z,; 50 mVs-1 (KAPALKA, 2008.....	15
ekil 2.6.	Elmas ile grafit örgü aras,ndaki farklı,klar.....	16
ekil 2.7.	Kat, ince levha BDD elektrotu	17
ekil 4.1.	4×10 ⁻⁶ M levo dopan,n yal,n BDDE yüzeylerindeki dönü ümlü voltamogramlar,. Destek elektrolit: 0.1 M PBS. pH 4.0. Denge zaman,; 5 s. Tarama h,z,; 50mV/s	20
ekil 4.2.	4×10 ⁻⁶ M LDø,n,n MWCNT/BDDE yüzeylerindeki dönü ümlü voltamogramlar,. Destek elektrolit: 0.1 M PBS. pH 4.0. Denge zaman,; 5 s. Tarama h,z,; 50mV/s	21
ekil 4.3.	0.1 M PBS ve pH 4.0'da 4.0×10 ⁻⁶ M Levo dopan,n MWCNT/BDDE yüzeyinde farkl, tarama h,zlar,ndaki dönü ümlü voltamogramlar, . Tarama h,zlar,; 50 mV/s, 75 mV/s, 100 mV/s, 125 mV/s , 150 mV/s,175mV/s, 200mV/s Denge zaman,; 5 s.....	23
ekil 4.4.	BDDE yüzeyinde LDø,n,n pik ak,m,n,n tarama h,z,na etkisi	24
ekil 4.5.	BDDE yüzeyinde 4×10 ⁻⁶ M LDø,n,n farkl, pHølardaki dönü ümlü voltamogramlar, . Denge süresi: 5 s. Tarama h,z,; 50 mV/ s. Destek elektrolit PBS. pHølar,; 8.0; 7.0; 6.0; 5.0; 4.0 ;3.0	25
ekil 4.6.	BDDE yüzeyinde LDø,n,n pik potansiyeline pH etki.....	25
ekil 4.7.	0.1 M PBS ve pH 4.0'da BDDE yüzeyinde LDø,n,n artan konsantrasyonlar,na ait kare dalga voltamogramlar, . LD konsantrasyonlar,; 1.5 x10 ⁻⁷ M,5.83 x10 ⁻⁷ M, 1.73 x10 ⁻⁶ M, 2.82x10 ⁻⁶ M, 3.87 x10 ⁻⁶ M, 5.19 x10 ⁻⁶ M, 6.13 x10 ⁻⁶ M, 7.04 x10 ⁻⁶ M, Tarama h,z, 50 Mv/s Denge 5 s.....	26
ekil 4.8.	Levo dopan,n artan konsantrasyonlar,na kar , pik ak,m,n,n grafi i	27
ekil 4.9.	1.18437×10 ⁻⁵ M AA ve 4×10 ⁻⁶ M levadopa kar , ,m,n,n yal,n BDDE yüzeylerindeki dönü ümlü voltammogramlar, . Destek elektrolit: 0.1 M PBS, pH 4.0. Tarama h,z,; 50 mV/s	28
ekil 4.10.	1.18437×10 ⁻⁵ M AA ve 4×10 ⁻⁶ M levadopa kar , ,m,n,n MWCNT/BDDE yüzeylerindeki dönü ümlü voltammogramlar, . Destek elektrolit: 0.1 M PBS, pH 4.0. Tarama h,z,; 50mV/s	28
ekil 4.11.	MWCNT/BDDE yüzeyinde 1.18437 ×10 ⁻⁵ M AA varl, ,nda farkl, Levo dopa konsantrasyonlar,n,n dönü ümlü voltammogramlar, . Levo dopa konsantrasyonlar,; (a) 3.9510×10 ⁻⁷ M (b) 7.8988×10 ⁻⁷ M (c) 1.18437×10 ⁻⁶ M. Tarama h,z,; 50 mV/s.....	29

Ç ZELGELER D Z N

Sayfa No

Çizelge: 4.1. MWCNT/BDDE yüzeyinde levodopa'ya ili kin önerilen reaksiyon 22

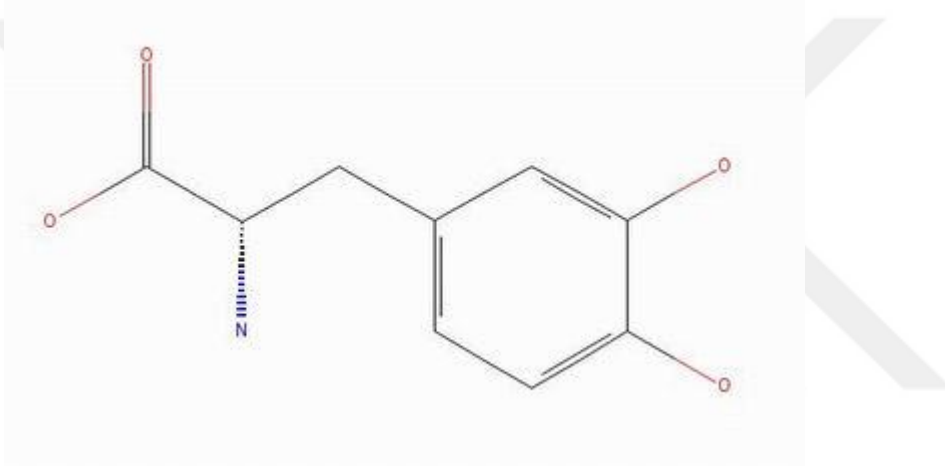


S İMGELER DİZİNİ

AA	: Askorbik Asit
ACT	: Asetaminofen
Ag/ AgCl	: Gümü -gümü klorür
Au	: Altın
BDDE	: Bor katkı, Elmas Elektrot
C	: Konsantrasyon
CNT	: Karbon nanotüp
CV	: Dönü ümlü voltametri
DNA	: Deoksiribonükleik asit
E _{pa}	: Anodik pik potansiyeli
E _{pc}	: Katodik pik potansiyeli
I _{pc}	: Katodik pik akım,
I _{pa}	: Anodik pik akım,
E _p	: Pik potansiyelleri arasındaki fark
LD	: Levodopa
m	: Kalibrasyon grafiğinin eğimi
MWCNT	: Çok duvarlı, karbon nanotüpleri
PBS	: Fosfat Tampon Çözeltisi
pH	: Çözeltinin H ⁺ yonu Konsantrasyonu
Pt	: Platin elementi
S _{bl}	: Standart sapma, tanınan sinyali
s _{bl}	: Standart sapma,
S _m	: Belirlenen en küçük ortalama analitik sinyal

1. G R

L-Dopa olarak bilinen Levodopamin, IUPAC ismi (S)-2-amino-(3,4dihidroksifenil) propanoik asittir. Molekül formülü C₉H₁₁NO₄ olan L-dopan, 197,19 gr/mol molekül ağırlığına sahiptir. Formülde görüldüğü gibi L Dopa 3, 4 dihidroksifenilalanin bir amino asit türevidir. Dopamin sentezinde bir ara üründür. Levodopa, merkezi sinir sisteminin ajanıdır. Bu dopamin biyosentezinde önemli bir rol oynar ve Parkinson hastalığının tedavisi ve yönetimi için tavsiye edilmektedir.



ekil 1. Levodopan, n molekül yapısı,

L-Dopan, n teröpatik kullanımı: Dopamin eksikliği görülen Parkinson ve Dopa duyarlı distoni hastalarında beyindeki dopamin miktarını artırmak için kullanılır. Levodopa dopaminin geçemediği kan beyin bariyerini geçebilir ve merkezi sinir sistemini geçtikten sonra aromatik dekarboksilaz enzimi tarafından dopamine dönüşür. Vitamin B6 dekarboksilasyon için kofaktör olarak kullanılmaktadır. Dopamine dönüşüm periferel dokularda olur beyin dokusu gibi dokular buna örnektir.

Levodopay etkileyen ilaçlar antiasit, hipertansiyon ilaçları, nöbetler (Dilantin, Peganone, Mesantoin) tedavisinde kullanılan ilaçlar, papaverin (Pavabid, Cerespan), B6 vitamini ya da piridoksin ve antidepresanlar sayılabilir.

L-Dopan,n ters etkileri: Olas, ters ilaç reaksiyonlar, içeri i; özellikle yüksek dozajda yüksek tansiyon, nadiren Arrhythmias, Nausea ve Gastrointestinal kanama, huzursuz ve düzensiz solunum, saç dökülmesi, yüksek duygusal stres (özellikle endi e, a ,r, libido), parlak rüyalar ya da parçal, uykular, görsel ve belki i itsel halüsinasyonlar, uykusuzluk ve uyku ataklar., amfetamin piskoza benzer artlar, çal, an haf,zada geli me, doz bitiminde hareketlerin kötüle mesi, sal,n,m, hareket esnas,nda donma, doz yetmezli i, a ,r, dozda Dyskinesia (hareket bozukluklar,).

L-Dopan,n toksisitesi: Baz, ara t,rmac,lar levodopa ile tedavi edilmi fare fekromositoma PCI2 hücrelerinde sitotoksisite belirleyicilerinde art, gözlemlenir. Ba ka bir toksit etkisi de; dopamine dönü üm esnas,nda kinonlar,n oto-oksidasyonla artmas, ve orta beyine ait hücre kültürlerinde sonradan ortaya ç,kan hücre ölümüdür.

L-Dopan,n biyosentezi: L-dopa; trozin hidroksilaz enzimi taraf,ndan trozin aminoasidinden üretilir. Ayr,ca, katekolonin nörotransmitter dopamin, nörepinefrin ve hormon epinefrin için öncü moleküldür. Dopamin, L-Dopan,n dekarboksilasyonu ile olu ur. L-Dopa, kate olo-metil transferaz (COMT) ile direkt olarak 3-o-metildopa (3-OMD) ve sonra vanilaktik aside (VLA) metabolize olur. Bu metabolik yol sa l,kl, vücutta yoktur; fakat Parkinsonu olan hastalarda ya da ho kokulu L-aminoasit dekarboksilaz enzimi eksikli i olan hastalarda periferal L-DOPA yöntemi sonras, önemlidir.

L-Dopa içeren ilaveler: L-Dopa içeren ilaveler standart dozdad,r ve reçetesiz kullan,labilir. Bu ilaveler internette ve Amerikaøda oldukça popüler ve ula ,labilir olmaktadır. En çok bilinen bitkisel kaynak bakla (Mucuna pruriens) tohumudur.

ki popüler üründen -DopaBeanø Solaray taraf,ndan; -Mucunaø ise, Physicia Formulas Inc. Taraf,ndan marketlere sunulmu tur. Bunlar kapsül halindedir. Bir kapsülün dozu 50 mgødir ve günde iki kapsül kullan,lmas, tavsiye edilir. Üçüncü ürün -L-Dopa Unigue Nutritionø taraf,ndan piyasaya sunulmu tur ve daha yüksek

olarak 250 mg'dır. Bir de America Nutrition NutraceuticalsRx etiketli % 40 L-Dopa içeren ürünü vardır.

Madopar tabletler levodopa ve benserazid ad, verilen iki ilaç içermektedir. Parkinson hastaları, tedavi etmek için kullanılır. Parkinson hastaları, olan kiilerin beyinlerini belli kısımlarında yeterli dopamin bulunmamaktadır. Bu hareketlerin yavaşlamasına kaslarda uyumsuzluk, göz kapaklarında hareket kısıtlılığına ve kasların katılaşmasına yol açar. Madopar vücudumuzda levodopa dopamine çevrilir. Dopamin Parkinson hastaları, tedavisinde etkin ilaçtır. Benserazid, dopamine dönüşümüne önce daha fazla levodopanın beynimize girmesini sağlar. Tedavinin amacı, yetersiz olan dopamini artırmaktır. Dopamin kan beyin bariyerini geçemediğinden prekürsörü olan levodopa kullanılır. Levodopa periferde büyük oranda dekarboksilasyonla dopamine dönüşümüne bulantı, kusma aritmi hipertansiyona yol açar. Ağız yoluyla alınan levodopanın %90'unun, dopa dekarboksilaz MAO ile gastrointestinal kanalda ilk geçiş etkisine uğrar %9 serumda ve periferde dopamine çevrilir. Bunu önlemek için beraberinde dopadekarboksilaz inhibitörü karpido ve benserazid verilir. Dopa dekarboksilaz inhibitörleri santral sinir sistemine geçişini %10 kadar çektirebilir. Tedavi ilk yıllarda etkilidir, ancak etkinliği dopaminergik nöronlardaki dejenerasyonun devam etmesine bağlı olarak 3-5 yıllarda azalabilir. Levodopa tedavisinin erken başlamasıyla birlikte nöronlardaki dejenerasyonu daha yavaş gerçekleştirebilir. Levodopanın etkisi 1-2 saattir. Bu nedenle günde 3-4 doza bölünmüş inhibitörü kullanıldığında bu 4-8 kat azaltılabilir. L-ösin gibi büyük amino asitler levodopa ile beraber absorpsiyonla ve kan beyin bariyerini geçiş için yararlıdır. Etkinliğinin azalmaması için aç karnı alınmalıdır.

2. ÖNCEK ÇALI MALAR

L-Dopan,n tarihçesi: Arvid Carlsson 2000 y,l,nda hayvanlar üzerinde yapt, , deneylerle L-Dopan,n Parkinson belirtilerini indirgedi ini bularak Nobel ödülü alm, t,r. Nörolog Oliver Sacks bu tedavinin insan üzerinde olan,na "Awakenings" isimli kitab,nda yer vermi tir. 2001 y,l,ndaki kimya dal, Nobel dördüncülük ödülünü L-Dopa ile ilgili çal, mas, ile William S. Knowles ald,. Sinir iletiminin saptanmas, ve ölçülmesi sinir sistemi aktivitesinin de erlendirilmesine ve birçok hastal, ,n tespitinde kolayl,k sa lanm, t,r (Fotopoulou ve ark., 2002). Moleküller üzerinde durulmu (Zen ve ark., 2004; Zhao ve ark., 2001; Jin ve ark., 2004; Zhao ve ark.; 2002; Zhu ve ark., 1999). Bu molekül tayininde HPLC cihaz, kullan,lm, t,r (Waarmann ve ark., 2002; Zhang ve ark., 2003; Li ve ark., 2003), florometri (Yang ve ark., 1998; Salem, 1999; Zhu ve ark., 2003) ve 2001 y,llarda spektrofotometrik (Nagaraja ve ark., 2001) metotlar, kullan,lm, t,r.

2.1. Kimyasal Sensör Kavram,

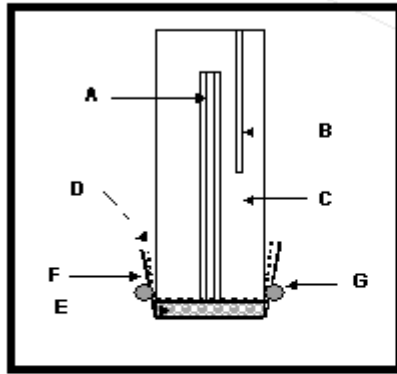
Kimyasal türlerin saptanmas, ve ölçümü için artan gereksinimlere cevap veren iki önemli analitik cihaz sistemi geli mi tir. Bunlardan birincisi, kimyasal türlemede e it ekilde belli farklıl,klar ile geni bir aral,ktaki numunelerin analizinde kullan,lan do al olarak çok say,da çözümlene birimine sahip cihaz sistemidir. Günümüzdeki bilimsel ve teknik ilerlemeler, elektrokimyasal sensör teknolojisinde önemli geli melere yol açarak bu sensörlerin birçok alanda yayg,n olarak kullan,lm,na neden olmu tur. Klorür, pH, kalsiyum, nitrat, sodyum, potasyum, magnezyum, amonyum duyarl, kimyasal sensörler ve amonyak, laktat, glikoz, DNA, üre ve kreatinin gibi biyosensörler çevre ve biyolojik örneklerde rutin olarak kullan,lan sensörlere örnek gösterilebilir. Kromatografi, spektroskopi gibi analiz sistemlerin ekspert gerektirmesi ve pahal, olmalar,, elektrokimyasal sensör sistemlerinin ekonomik olmas, ve birçok yeni türün analizi için ümit vermesi bu sensor sistemlerine olan ilgiyi art,rarak devam ettirmektedir.

Birçok analitik i lemde, kimyasal sensörler gaz veya s,v, fazda ilgili kimyasal türlerin aktivite veya konsantrasyonlar,n, izlemde kullan,lmaktad,r. Bundan dolayı,, kimyasal sensörler sürekli kimyasal analiz gerektiren klinik te hisler, çevre kirlili inin izlenmesi, yiyecek ve ilaçlar,n analizinde kullan,m alan, bulmaktad,r.

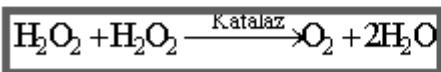
2.1.1 Elektrokimyasal biyosensörler

Doksanl, y,llarda yap,lan çal, mada kimyasal bile iklerin konsantrasyonlar,na ba l, olarak seçici ve tersinir olarak cevap veren elektriksel sinyaller olu turur (Camman ve ark., 1991). Elektrokimyasal sensörler çe itli biyolojik maddelerin yani hücre, nükleik asitler, mikroorganizmalar, enzim, doku, antikor vb maddelerin eklenmesi yayg,n olarak kullan,lan biyosensörler olu ur (Turner, A.P.F 1987).

Amperometri Esasl, Biyosensörler Amperometri genel anlamda belli bir potansiyeldeki ak,m iddetinin ölçümünü esas al,r. Söz konusu ak,m yo unlu u çal, ma elektrodunda yükseltgenen ya da indirgenen elektroaktif türlerin konsantrasyonunun bir fonksiyonu olarak tan,m lan,r. kinci elektrot referans elektrot olarak i görür. Kalibrasyondan sonra, ak,m yo unluklar,ndan ilgili türlerin konsantrasyonlar,n,n belirlenmesinde yararlan,l,r



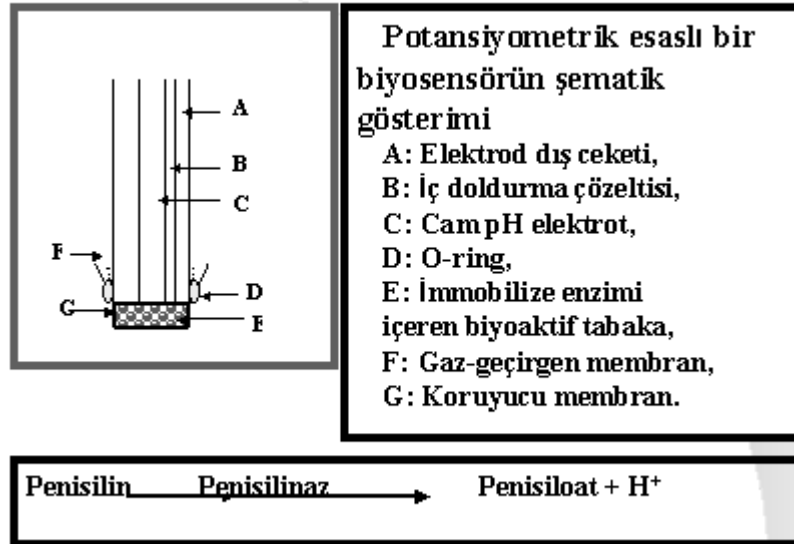
Amperometrik esaslı bir biyosensörün şematik gösterimi
A: Çalışma elektrodu(Pt),
B: Referans elektrot (Ag/AgCl),
C: Elektrolit çözelti(KCl),
D: İç gaz geçirgen membran(Teflon),
E: İmmobilize enzimi içeren biyoaktif tabaka
F: Dış koruyucu membran(Selüloz asetat v.s)



ekil.2.1.Amperometri esaslı, biyosensörler

letici sistem olarak bir amperometrik sensörün kullanılması, durumunda potansiyometrik sensörlerden en büyük fark, ürünlerden sinyal oluşturan türün elektrot yüzeyinde tüketilmesidir.

Potansiyometri Esaslı, Biyosensörler: Potansiyometri bilindiği gibi en genel anlamda bir çalıştırma ve referans elektrot arasındaki potansiyel farkın ölçümünü esas alır. Elektrot potansiyelinin belirlenmesi doğrudan analit konsantrasyonunu tanımlar. Potansiyometrik biyosensörlerde kullanılan temel sensörler pH ya da tek yönlü iyonlara duyarlı cam elektrotlar, anyon ya da katyonlara duyarlı iyon seçimli elektrotlar ve karbondioksit ya da amonyağa yönelik gaz duyarlı elektrotlardır.



ekil.2.2.Potansiyometrik esaslı, biyosensör

2.2. Modifiye Elektrotlar

Modifiye edilmiş elektrotlar, iletken bir substratın modifikasyonu ile istenilen özellikler kazandıran, olur ve böylece modifiye edilmemiş elektrotlardan farklı niteliklere sahip olur. Elektrot yüzeylerine çeşitli türlerin kuvvetli ve tersinmez olarak absorbe olmasıyla elektrotların elektrokimyasal davranışlarında önemli gözlemler yapılır.

Kimyasal olarak modifiye edilmi elektrotlar, elektro katalizlerde kullan,labilmesi, ilginin bu elektrotlarda yo unla mas,na sebep olmu tur. Elektrot yüzeyindeki elektron aktar,m h,zlar,n, de i tirmek için elektrot yüzeylerinin tabaka ve filmlerle kaplanmas, gerekmektedir. Modifikasyon, malzemeleri korozyona kar , korur.

Modifiye elektrotlar, genellikle iletken bir substrata organik ve inorganik ekilde ba lanmas,yla haz,rlanm, olur. Substrat,n yüzeyi bir k,s,m türlerde enerji bak,m,ndan çözültidekine göre daha uygun oldu u için çözültiden substrat,n yüzeyine absorbe olur. Yüzeye tutunan türler yükseltgenme ve indirgenme meydana getirebilir.

Kararlı,klar,n,n kimyasal ve mekanik olarak yüksek olmas,ndan dolayı, Pt, Au ve C elektrot materyalleri çok s,k kullan,lmaktad,r. Kararlı,klar,n,n kimyasal ve mekanik olarak yüksek olmas, kulan,m süresi boyunca elektrot yüzeyinin de i memesini sa lar.

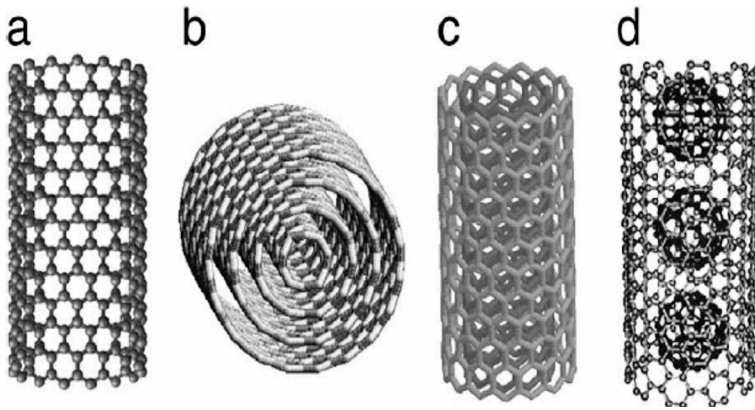
2.3. Elektrot kaplamas,

Elektrot kaplamas, çe itli yöntemlerle gerçekleştirilir. Bunlardan birincisi, elektrot üzerinde küçük moleküllerin birbirine kovalent ba l, tabakalar halinde yer ald, , durumdur. Bu tip modifikasyon için kullan,lan en yayg,n reaktif organosilanlard,r; bunlarda elektrodun oksitli yüzeyine silil fonksiyonel grubu ba l,d,r. kinci olarak, elektrodun daha kal,n bir polimer tabakas, ile kapl, oldu u elektroaktif iletken polimer film kaplamas, gelmektedir. Bu tip filmler aromatik bile iklerin oksidasyonu ile meydana getirilebilir. Sonucusu, büyük aromatik bile iklerin ve polimerlerin tersinmez adsorpsiyonu ile gerçekleştirilen modifikasyon yöntemidir.

2.4. Karbon nanotüpler

Karbon nanotüpler, nanometre ölçe inde çapa sahip, karbondan yapılan tüp şeklindeki malzemelerdir. Karbon nanotüpler farklı boyda, kalınlıkta, çok katmanlı ve spiral tipte pek çok farklı yapıya sahiptir. Tek bir grafit plakasının silindirik şeklinde kıvrılmasıyla ibaret ve 1-5 nm çapa sahip tek duvarlı nanotüpler ve ortak eksenli tüplerin bir araya gelmesinden elde edilen iç çapı: 1,5-15 nm, dış çapı: 2,5-30 nm olan çok duvarlı nanotüpler, karbon nanotüp çeşitleridir. Aynı grafit katmanından oluşurlar, ancak elektriksel özellikleri geometrilerine göre değişir, metal ve yarıiletken olabilirler. Küçük çaplı (yaklaşık 1-2 nanometre) tüplerden oluşur ve bir demeti koparabilmek için uygulanan çekme kuvveti, yaklaşık 36 gigapaskaldır. Buna göre, nanotüp fiberler, gerilmeye karşı en sağlam malzeme özelliğini taşımaktadır.

Düzgün karbon nanotüp yapılarında, atomlar birbirleriyle sp^2 şeklinde (Grafit plakada olduğu gibi) bağlanıyor. Atomlar sadece altıgen geometri oluşturuyor ve her atomun sadece üç komşusu bulunuyor. Karbon tüplerin, makroskopik büyüklüklerde oluşmaları mümkün ise de, bunlar çok kıvrılgandır. Ancak nanometre boyutlarında sahip tüpler, çok esnek ve sağlamdır.



ekil 2.3. Çok duvarlı karbon nanotüpler (MWCNT)

Karbon elektrotlar üç ekilde hazırlanır. İlk yöntem: Kuru kompozit, modifiye edici madde ile cam, karbon toz\grafit\karbon nanotüple ile birlikte basınç altında sıkılarak disk elektrolit haline getirilir. Bu elektrotlar ço unlukla susuz ortamda gerçekleştirir. Modifiye edici olarak metaloporfirin, metaloftalasiyano boyar maddeler kullanılır.

İkinci yöntem ise cam, karbon toz\grafit\ karbon nanotüple modifiye edici madde ile mineral ya uygun oranlarda karıştırıldıktan sonra homojen pasta haline getirilir ve cam veya teflondan yapılmış bir boruya doldurulur. Elektrot yüzeyi temiz ve düzgün temiz bir tartım kâğıdıyla parlatılarak, elektrokimyasal çalınmaya hazırlanır.

Üçüncü yöntem özellikle karbon nanotüp için uygundur. CNT kararlaştırılan süspansiyonların oluşturulması için ultrasonik banyoda toluen, THF, DMF gibi organik çözücü içinde yarım saat kadar bekletilir. Bu süspansiyondan alınan 10-20 µL GCE, Au, Pt gibi bir destek üzerine damlatılır ve çözücü etüvde 50°C de yaklaşık 2 saat kurutulur.

2.5. Voltametri

Bir indikatör veya çalınma elektrodunun polarize olduğu durumlarda, uygulanan potansiyelin bir fonksiyonu olarak akımın ölçülmesi ile analit hakkında bilgi edinilen bir grup elektroanalitik yöntemi kapsar. Voltametri, çeşitli ortamlarda meydana gelen yükseltgenme ve indirgenme olaylarının, yüzeylerdeki absorpsiyon olaylarının ve kimyasal olarak modifiye elektrot yüzeyindeki elektron aktarım mekanizmalarının temel çalınmalarını kapsayan ve çok başvurulan bir yöntem haline gelmiştir. Voltametri mikroelettrot içeren elektrokimyasal hücreye de gerçekleştirilebilir bir potansiyel uyarma sinyali uygulanır. Bu hücre, analiti ve destek elektrot adı verilen reaktif olmayan elektrotun arasında bulunan bir çözeltiye daldırılmış üç elektrot sisteminden meydana gelmiştir. Üç elektrottan biri, zamanla potansiyeli dorusal olarak değişebilen çalınma elektrotudur. Çok çeşitli tür ve ekilde çalınma elektrotlar kullanılır. İkinci elektrot potansiyeli sabit kalan bir referans elektrottur. Referans

elektrot olarak genellikle Ag\AgCl elektrotu kullanılır. Üçüncü olarak da elektriksel sinyal kaynağından çözelti içerisine geçerek mikroelektrota iletilmesini sağlayan karbon elektrotur. Uygulanan potansiyelle karşılaştıkça, akım grafiğine voltamogram denir.

Voltametri, çalışılan elektrodunun gerilimi, sistematik olarak değiştirilirken akım ölçülür. Elektroda, zamana göre değiştirilen gerilimler uygulandığında elde edilen potansiyel-zaman fonksiyonlarına uyarma sinyali denir. Şekil 2.2.8'de bu sinyallerin en basiti, çalışılan elektrodunun potansiyelinin zamanla doğrusal olarak değiştirildiği doğrusal taramadır (a). Diğer ikisinde ise uyarma sinyali puls tipidir (b ve c). Sonuncusu ise üçgen şeklindeki dalga iki diğer arasında devreder (d). Önce bir maksimuma kadar doğrusal olarak artar ve sonra aynı eğilimle orijinal değerine doğrusal olarak azalır. Bu eğilim, akımın zamanın bir fonksiyonu olarak kaydedilirken defalarca tekrarlanabilir.

Nernst eaditli voltametrimin temeli olup tersinir bir reaksiyon için kullanılabilir. Bu eadilikte, O yükseltgenmi ve R indirgenmi türleri ifade etmektedir.

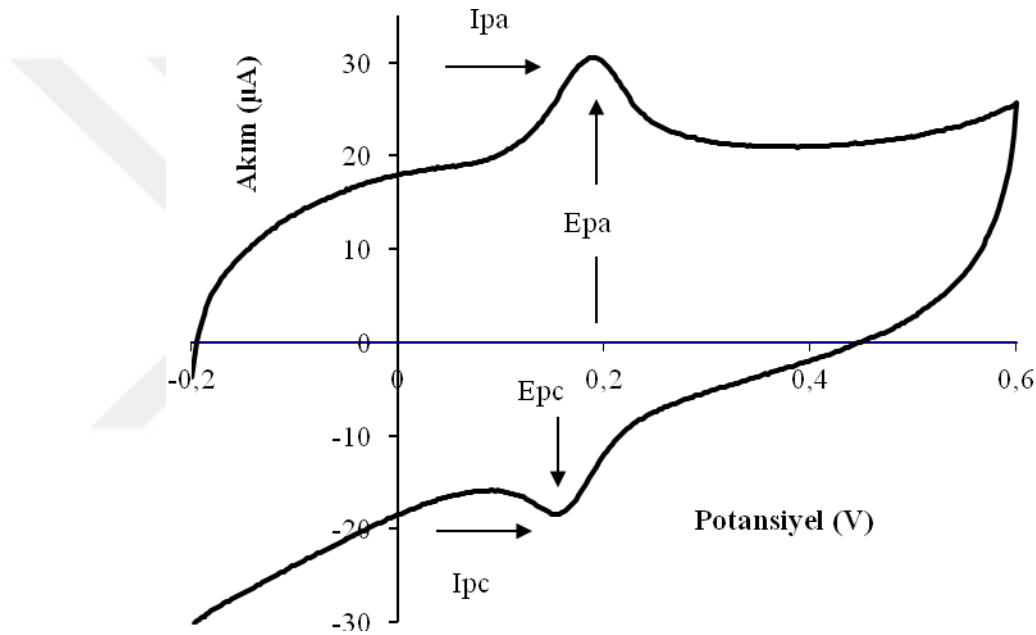
$$E = E^0 - \frac{RT}{nF} \ln \frac{C_R}{C_O}$$

burada, R, molar gaz sabiti; T, mutlak sıcaklık; n, elektron sayısı; F, faraday sabiti; E, uygulanan potansiyel ve E⁰ ise standart elektrot potansiyelidir.

2.5.1. Dönümlü voltametri

Dönümlü voltametri (CV), en yaygın kullanılan bir elektroanalitik tekniktir. Nicel amaçlarla kullanılmı, nadir olmakla birlikte, yükseltgenme-indirgenme reaksiyonlarının incelenmesinde ve elektrotlarda oluşan ürünlerin oluşum sonrası reaksiyonların yakalamada çok yaygın olarak uygulanmaktadır. CV yönteminde, uygulanan potansiyel önce bir yerde, sonra ters yönde taranırken akım ölçülür. Bir CV deneyinde tek bir tam döngü veya birçok döngüler kullanılabilir.

Bir CV deneyinde, küçük boyutlu statik bir elektrot, durgun bir çözeltide ekil 2.4.ø de görülene benzer dalga formuna sahip bir potansiyel de i imi uygulanarak, bir ak,m sinyali vermesi sa lan,r. Üçgen dalga formu ileri ve bunun tersi yöndeki potansiyel taramas,n, temsil eder. ekil 2.4.ø deki örnekte, potansiyel önce -0.2 Vø den -0.6 Vø ta de i tirilir. Daha sonra tarama yönü terse çevrilip potansiyelin ba lang,çtaki -0.2 V de erine geldi i yerde tarama durdurulur. Bu örnekteki tarama h,z,, her iki yönde de 50 mV/sø dir. Genellikle, bu döngü defalarca tekrarlan,r.



ekil 2.4. Bir dönü ümlü voltamogram

Taraman,n ters döndü ü potansiyellere dönü potansiyeli denir. Belli bir deneyde, dönü potansiyelleri bir veya daha çok say,da türün difüzyon kontrollü yükseltgenmesinin veya indirgenmesinin gözlemlenmesini mümkün hale getirecek ekilde seçilir. İlk taraman,n yönü numunenin bile imine ba l, olarak ekilde görüldü ü gibi negatif yönde olabilece i gibi pozitif yönde de olabilir. Daha negatif potansiyellere do ru giderek tarama yap,l,yorsa buna ileri tarama, tersi yöndekine ise geri tarama denir. Tarama süreleri 1 ms veya daha k,sa de erlerden ba layarak, 100 s veya daha uzun de erlere ç,kabilir. Dönü ümlü voltamogramda önemli parametreler,

katodik pik potansiyeli (E_{pc}), anodik pik potansiyeli (E_{pa}), katodik pik ak,m, (I_{pc}) ve anodik pik ak,m,d,r (I_{pa}). Bu parametreler ekil 2.4. üzerinde aç,kça görülmektedir. Tersinir bir elektrot reaksiyonunda, anodik ve katodik pik ak,m,lar, yakla ,k birbirine e ittir, ancak i aretleri z,tt,r. Yine ayn, zamanda tersinir bir elektrot reaksiyonu için 25 °C'da pik potansiyelleri aras,ndaki fark,n (E_p),

$$E_p = E_{pa} - E_{pc} = \frac{0.059}{n}$$

olmas, beklenir. Burada n , yar, reaksiyonda kullan,lan elektron say,s,d,r. Elektron transfer kineti i çok yava oldu u zaman E_p beklenen de erden daha büyük ç,kar. Bir elektron transfer reaksiyonu, dü ük tarama h,z,lar,nda tersinir gibi görülürken, tarama h,z, büyüdükçe E_p büyüyorsa, bu sa lam bir tersinmezlik göstergesidir. Bu nedenle, elektrot aktar,m kineti inin yava olup olmad, ,n, gözlemek ve h,z sabitini elde etmek için farklı tarama h,z,lar,ndaki E_p de erleri hesaplan,r.

Nicel bilgi için, Randles-Sevcik e itli i kullan,l,r. 25 °C'da bu e itlik a a ,da verilmi tir:

$$I_p = 2.686 \times 10^5 n^{3/2} ACD^{1/2} v^{1/2}$$

Burada, I_p , pik ak,m,, A , elektrot yüzey alan,, D , difüzyon katsay,s,, C , konsantrasyon ve v ise tarama h,z,d,r. Dönü ümlü voltametri konsantrasyon, elektrot yüzey alan, ve tarama h,z, biliniyorsa, difüzyon katsay,s,n,n hesaplanmas, için uygun bir yoldur.

Dönü ümlü voltametri tekni inde, tarama h,z, önemli bir parametrelere biridir ve tarama h,z, pik ak,m de i iminden yararlan,larak absorpsiyon, difüzyon ve heterojen elektrot reaksiyonun özellikleri incelenebilir,,

2.5.2. Elektrokimyasal hücre

Elektrokimyasal hücre, katot, anot, s, v, veya çözünerek iyonları ayırma, birleştirme, olan kimyasal maddelerin oluşturduğu elektrolit ve elektrotlardan oluşan sistem uygulanan potansiyel fark, ile ortamdaki iyonların elektrotta toplanmasıyla elektrottaki iyonların ayrıştırılması sağlayan sistemdir.

Elektroliz hücreleri, dışarıdan uygulanan elektrik enerjisini kimyasal enerjiye dönüştüren (-) yüklü katot ve (+) yüklü anotta oluşan sistemdir. Devrede akım (-) kutuptan art, (+) akar yani anotta katotta akar. Anot yükseltgenmenin olduğu kutup iken katot indirgenme olayının gerçekleştiği kutuptur.

Elektroliz ortamında elektrolit içinde çözünmüş olan tuzların elektrokimyasal ayrıştırılması gerçekleşir. Anotta ve katotta genellikle metal veya bir yarı iletken kullanılmaktadır.

Elektrolitten elektrik akımı geçirildiğinde çözümlerde bulunan katyonlar indirgenerek katotta, anyonlar yükseltgenerek anotta toplanırlar. Elektroliz hücresinde birden fazla katyon bulunuyorsa bu katyonlardan öncelikle indirgenme potansiyeli en büyük olan bir başka deyişle en kolay indirgenen madde indirgenir ve indirgenme süreci böyle devam eder.

2.6. Saptama sınırlarının hesaplanması,

En düşük tayin edilebilir sınırların, analitik sinyal büyüklüğünün tan, k sinyalindeki istatistiksel sapma oranına bağlıdır. Diğer bir ifadeyle, analitik sinyal rastgele hatalardan kaynaklanan gürültü sinyalindeki sapmanın 3 katı kadar büyük olmadığı sürece, analitik sinyali belirli bir kesinlikle görmek imkansızdır. Böylece gözlenebilir sınırların yaklaşık olarak analitik sinyal ve standart sapması tan, k sinyaline (S_{bl}) ve standart sapmasına (S_{bl}) yaklaşık olarak . Belirlenen en küçük ortalama analitik sinyal (S_m), ortalama tan, k sinyali (S_{bl}) ile tan, k standart sapmasının 3 katı toplamına eşit olarak alınır. Yani;

$$S_m = S_{bl} + 3S_{bl}$$

S_m , gözlenebilme s,n,r, sinyali konsantrasyona dönüşümü, $C_m = S_m - S_{bl}/m$ (m = kalibrasyon grafi i e imi) ile saptama s,n,r, hesaplan,r.

2.7. Bor Katk,l, Elmas (BDD) Elektrot

iletken bor katk,l, elmas (BDD) elektrotlar yüksek derecede kararlı,, düşük ak,m ve geni bir potansiyel aral, ,nda çal, may, sa layan, karbon elektrotlara göre yeni bir alternatiftir.

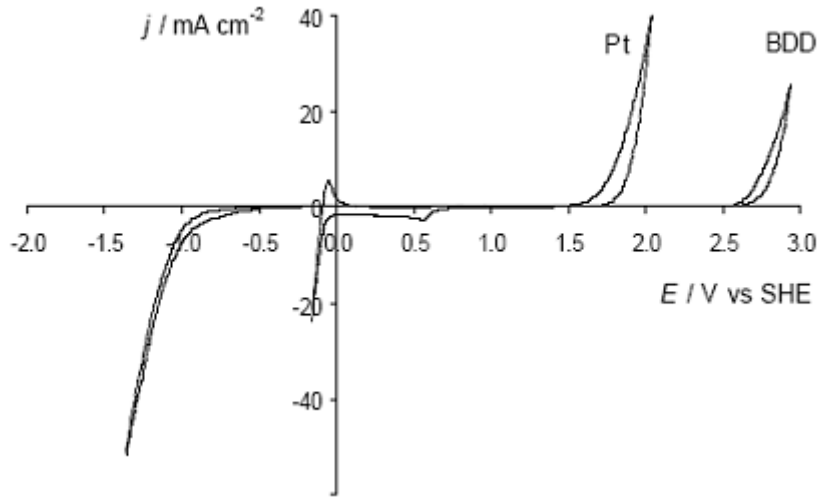
BDD elektrotlar bozulmaya kar , dayanıkl,d,r, gerekli elektriksel iletkenli i sa lar ve anodik oksidasyon için at,ksu ar,t,m,, su dezenfeksiyonu ve sterilizasyonu için kullan,lmaktad,r. Do ada pasif olan organik kirleticilerle tepkime veremez. BDD yüksek O₂ gerilimine sahiptir ve elektroliz s,ras,nda fazla miktarda OH radikalleri çok güçlü oksitleyicilerdir ve organik moleküllerin parçalanmalar,na olanak sa larlar. iletken BDD elektrodu, grafit veya cams, karbon gibi geleneksel karbon elektrotlardan daha üstün özelliklere sahip bir elektrottur. Elmas elektrotlar,n ba l,ca özellikleri geni potansiyelerde çal, ma aral, ,na sahip olmas,, düşük kapasitans ve kararlı,k göstermesidir. Ayr,ca elmas filmlerin hidrojen/oksijen ç,k, , ile ilgili potansiyel aral, , neredeyse 4 V kadard,r. BDD elektrot, platin elektrot ile k,yasland, ,nda BDD elektrodun potansiyel aral, , platin elektroda göre 2 V kadar daha fazlad,r. Asidik çözeltide elektrokimyasal oksijen ç,k, ,n,n ilk basama ,n,n genellikle suyun ayr, mas,yla olu an hidroksil radikalinin oldu u dü ünülmektedir.



Aromatik bile iklerin anodik oksidasyonunda BDD elektrotlar,n kullan,lmaz, konusunda son y,llarda ba ar,l, çal, malar yap,lm, t,r. Literatürde ara t,rmac,lar 2,6-dimetoksifenol ve 1,3,5-trimetilbenzen metanol ve formik asit, fenol, karboksilik asit, 4-klorofenol, 3-metilpiridin, benzoik asit, 2-naftol, polihidroksi benzen, poliakrilat, 4-klorofenoksiasetik asit , pestisit] ve yüzey aktif maddeler gibi farklı,

bileşikler üzerinde çalışılmaktadır. Bu çalışmaların sonuçlarında, elmas anotla elektrokimyasal oksidasyonun diğer elektrokimyasal oksidasyon çalışmalarına göre yüksek verime ulaşıldığı ve organik karbon gideriminin yüksek olduğu belirtilmiştir.

BDD elektrotlar, yüksek sıcaklıkta kimyasal buhar biriktirme yöntemiyle oluşturulmuş polikristal elmastan yapılmıştır. Kimyasal buhar biriktirme, bir yüzey üzerine gaz fazından oluşan malzemeler için kullanılan bir tekniktir. Tetrahedral elmas örgü kristal yapısının oluşturulması için her C atomu komşusuna sp^3 ekinde kovalent bağlanmıştır.



Şekil 2.5. BDD ve Pt elektrotların dönlümlü voltametri; 1 M H₂SO₄; tarama hızı, 50 mVs⁻¹ (KAPALKA, 2008)

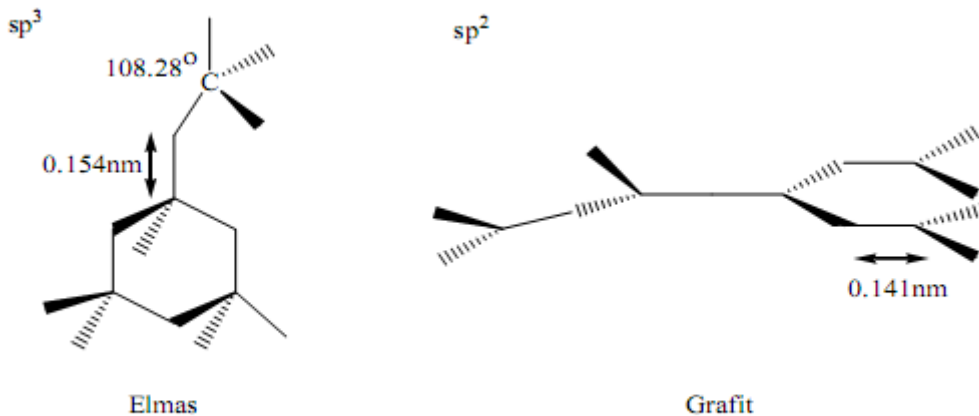
Asidik çözeltide BDD elektrotunun yüksek anodik kararlılığından dolayı, güçlü oksidant ürünleri üretir. BDD elektrotunun en değerli özelliklerinden birisi yüksek anodik potansiyellerde hidroksil radikallerini elektriksel olarak üretmesidir. Elmas elektrotların ana uygulamaları, elektrosentez, organik kirliliklerin elektrokimyasal arıtılması, elektroanaliz ve ağır metallerin geri kazanılmasıdır (Comminellis ve ark., 2005).

2.7.1 Bor katkı, l, elmas elektrotlar, n sentezi

Organik ve inorganik bileşiklerin oksidasyonu için elektrokimyasal özelliklere sahip elektrotlardır. Bu elektrotlar bozulmaya karşı dayanıklıdır. BDD elektrotlar gerekli elektriksel iletkenliği sağlar ve anodik oksidasyonu için atık su arıtım, su dezenfeksiyonu ve sterilizasyonu için uygundur. Doğada pasif olup organik kirleticiler ile etkileşime girmez ya da kirleticilerin oksidasyonunu katalizlemezler. BDD elektrotlar, geniş bir aralıkta oksitleyici türler ve özellikle hidroksil radikalleri üretirler. BDD elektrotların temel avantajı, sulu elektrolit içerisinde organik bileşiklerin oksidasyonuna izin veren geniş elektrokimyasal potansiyel aralıktır. Yüksek elektrot potansiyellerinde hidroksil radikalleri üretilebilmekte ve bu radikaller güçlü oksitleyici türler olarak bilinip şu şekilde anot olarak oluşturulmaktadır:

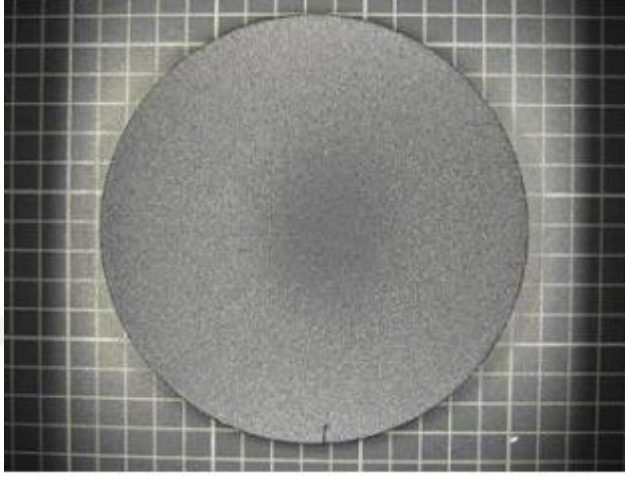


BDD elektrotlar, yüksek sıcaklıkta kimyasal buhar biriktirme yöntemiyle oluşturulmuş polikristal elmasan yapılmıştır. Kimyasal buhar biriktirme, bir yüzey üzerine gaz fazından oluşan malzemeler için kullanılan bir tekniktir. Tetrahedral elmas örgü kristal yapısının oluşturulması için her C atomu komşusuna sp^3 ekinde kovalent bağlanmıştır (ekil 2.6.).



ekil 2.6. Elmas ile grafit örgü arasındaki farklılıklar.

BDD elektrotlar, kat, ince levhalar ekinde ya da silikon, tungsten, niyobyum ve tantal içerebilen uygun substratlar üzerine kaplanm, olarak kullan,labilmektedir (K,sac,k, 2010). Bir kat, ince levha BDD elektrot örne i ekil 2.7.ø de gösterilmektedir.



ekil 2.7. Kat, ince levha BDD elektrotu

3.MATERYAL ve YÖNTEM

3.1. Materyal

Levodopa, askorbik asit, Fluka (Almanya) firmas,ndan al,nd,. Potasyum klorür, ise, Merck (Almanya) firmas,ndan al,nd,. Bunlar,ndaki di er bütün kimyasallar da, Merck (Almanya) ve Fluka (Almanya) firmalar,ndan al,nd,. Levodopa ilaçlar, çe itli eczanelerden sat,n al,nd,. Levodopa, askorbik asit, Asetoaminofen, Alfamet çözeltileri pH 4.0, 0.1 M fosfat tamponunda (PBS) haz,rland,. Deneylerde destile su kullan,ld,. Ayr,ca hücrede bulunan çözeltiden her defas,nda saf azot gaz, geçirildi. Voltametik deneyler (Software paket 4.9) Eco- Chemie Autolab PGSTAT 12 potentiostat/ galvanostat (Utrecht, The Netherlands) kullan,larak yap,ld,. Cams, karbon elektrotlar çal, ma elektrodu (3 mm çap,nda Bioanalytical Systems, Lafayette, USA), Pt tel yard,mc, elektrot ve Ag/AgCl ise referans elektrot olarak kullan,ld,.

3.2. Yöntem

3.2.1. MWCNT/BDD elektrodun haz,rlanması,

Elektrokimyasal modifikasyondan önce, Bor Katk,l, Elmas elektrot (BDDE), bir temizleme pedinde 0.05µm boyutundaki alümina ile temizlendi. Saf su ile y,kand,ktan sonra. Etilalkol veya kloroformda ultrasonic banyoda 20 dk bekletildi. Sonra tekrar saf sudan geçirilip kullanmaya haz,r hale getirildi. Kullan,lacak olan Bor Katk,l, Elmas elektrot mekanik olarak temizlenip, elektrokimyasal olarak aktifle tirildikten sonra 1 mg/ 5 mL olacak ekilde CNTø nin kloroform içindeki süspansiyonu haz,rlandı ve 30 dk ultrasonic banyoda çözülmesi sa land,ktan sonra belirli miktarlarda CNT süspansiyon çözeltilisinden mikropipet yard,m,yla al,n,p daha önce temizlenen BDDE yüzeyine damlat,l,p, oda artlar,nda kurumamas, için bekletilmi tir. Daha sonra saf su ile y,kan,p, kullan,ma haz,r hale getirilmi tir.

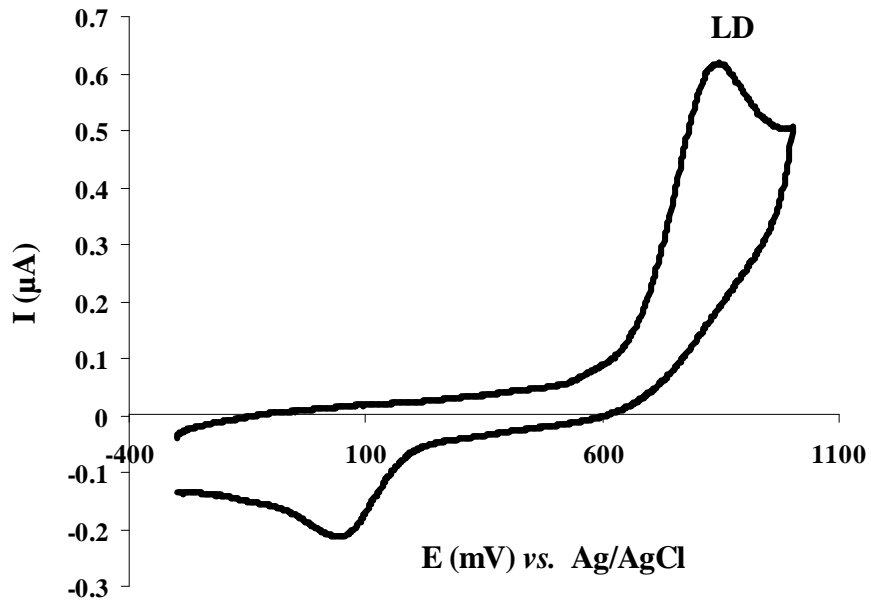
3.2.2. Modifiye edilen elektrotlar,n saklanmas,

Bu çal, mada, haz,rlanan MWCNT/BDDE ile levodopa için tekrarlanabilir ak,mlar elde etmek için elektrotlar,n çok dikkatli kullan,lm, gerekmektedir. Dönü ümlü voltametri ile 0.1 M PBS içinde yakla ,k 10-15 tarama yapıld, ,nda kullan,lm, bir elektrot ile tekrar taze bir background voltamogram elde edilmiştir. Ayrıca, modifiye elektrot kullan,lmad, , zaman 0.1 M PBS içinde muhafaza edilen modifiye elektrotlar tekrar kullan,ld, ,nda, üç hafta sonra pik ak,mlar,nda sadece % 4-6 civar,nda bir dü me oldu u gözlenmiştir ve haz,rlanan modifiye elektrotlar,n tekrarlanabilirli inin mükemmel oldu unu, aynı elektrotla tekrar tekrar çal, ma yapılabildi ini göstermiştir.

4. ARA TIRMA BULGULARI ve TARTI MA

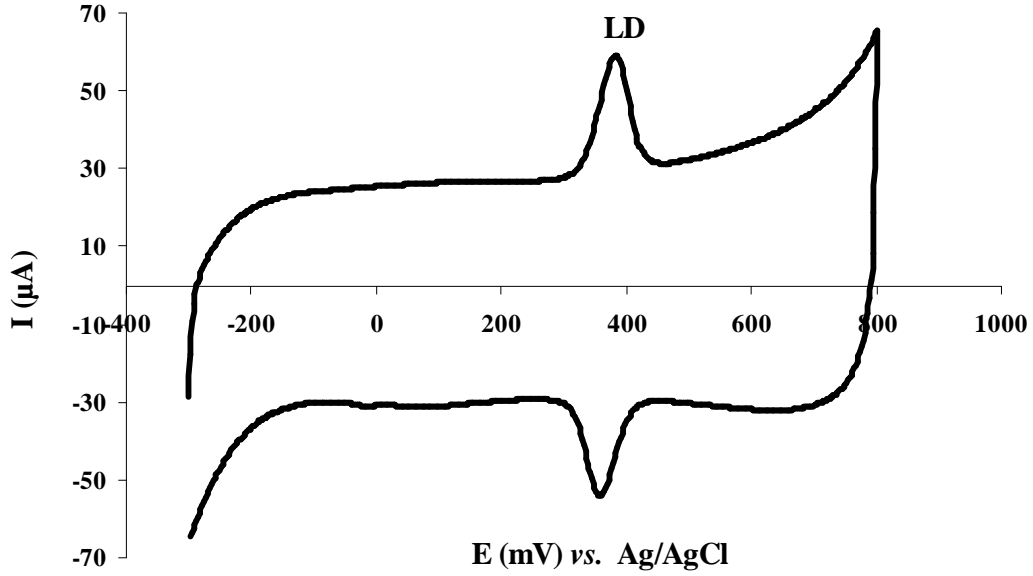
4.1. Levodopa'nın yalın BDDE Yüzeyindeki Elektrokimyasal Davranış,

Yalın BDDE yüzeyinde levodopa'nın dönüşümlü voltamogramı, ekil 4.1. de görülmektedir. Levodopa'nın 0.833 V civarında bir yükseltgenme piki verirken, 0.029 V civarında ise bir adet indirgenme piki vermektedir. Pik potansiyelleri arasında fark 0.804 V olarak elde edilmiştir. Pik keskinliği ile ölçülecek özellikler net bir şekilde anlaşılmamaktadır.



ekil 4.1. 4×10^{-6} M levodopa'nın yalın BDDE yüzeyindeki dönüşümlü voltamogramları. Destek elektrolit: pH 4.0 0.1 M PBS. Denge zamanı: 5 s. Tarama hızı: 50 mV/s

4.2. Levodopa'nın MWCNT/BDD elektrot yüzeyindeki voltametrik davranış,



ekil 4.2. 4×10^{-6} M LD'nin MWCNT/BDD yüzeylerindeki dönüşümlü voltamogramlar. Destek elektrolit: 0.1 M PBS. pH 4.0. Denge zamanı: 5 s. Tarama hızı: 50mV/s

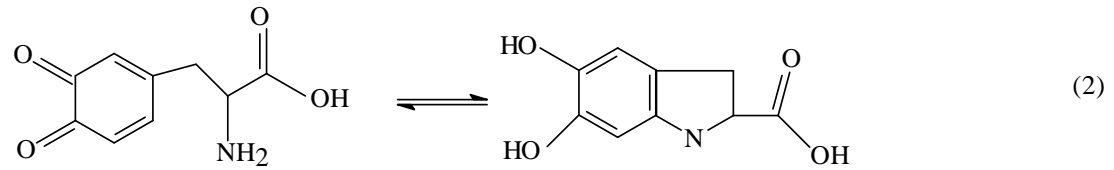
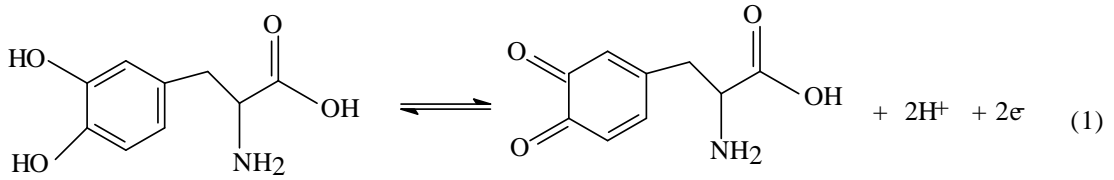
0.1 M pH 4.0 olan PBS'de MWCNT ile modifiye edilen BDD yüzeyinde levodopa'nın dönüşümlü voltamogramları, ekil 4.2'de verilmiştir.

MWCNT/BDD yüzeyinde levodopa'nın elektrokimyasal cevap, büyük oranda artma göstermiştir. BDD yüzeyinde levodopa'nın elektrokimyasal cevap, büyük oranda artma göstermiştir. MWCNT/BDD yüzeyinde yükseltgenme $E_{pa} = +0,3812$ V civarında gerçekleşirken, indirgenme ise $E_{pc} = +0,3690$ V olarak ortaya çıkmıştır. BDD yüzeyinde LD için pik potansiyelleri arasındaki fark, $E_p = 0,0122$ V olarak hesaplanmıştır. Bu da MWCNT/ BDD ile modifiye edilen elektrotun LD'nin

elektron transfer hızı, anodiktir, bu da göstermektedir. Ayrıca modifiye elektrot yüzeyinde pik akımı da artmıştır, görülmektedir. Akım cevabındaki büyük artış, elektrodun geniş yüzey alanı, salınımından ve elektron transfer prosesindeki tersinirliğin önemli ölçüde düzelmesinden dolayı gözlenmiştir (Selveraju ve ark., 2003, Wang ve ark., 2001; Niu ve ark., 2005).

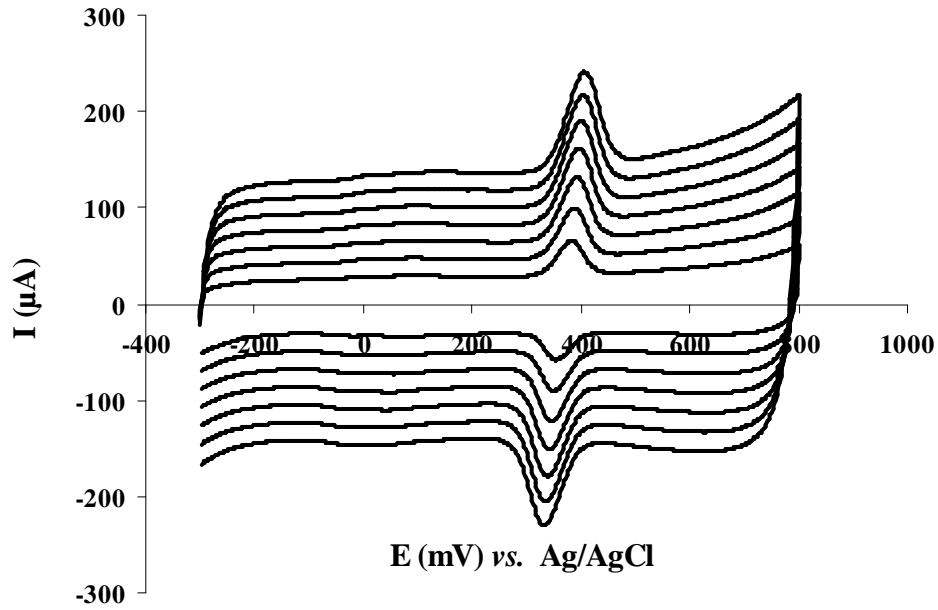
Levodopa'nın MWCNT/BDDE yüzeyindeki elektrokimyasal reaksiyonu (Şema 4.1.)de verilmiştir. Levodopa'nın elektrokimyasal davranışı, şöyle açıklanabilir. Dopamin eksikliği görülen Parkinson ve Dopa-duyarlı distoni hastalarında beyindeki dopamin miktarını artırmak için dopamin sentezinde öncü molekül görevi üstlenebilen L-DOPA molekülü kullanılır. Pik akımlar, 50-200 mV/s arasındaki tarama hızıyla doğru orantılı olarak artmaktadır. Tarama hızının artması ile levodopa'nın pik potansiyelinde herhangi bir değişim gözlenmemiştir. Bu sonuçlar, levodopa'nın elektrot prosesinin adsorpsiyon kontrollü olduğunu göstermektedir. Özellikle daha keskin pik elde edilebilmesi için uygun yöntemdir.

Çizelge 4.1. MWCNT/BDDE yüzeyinde levodopaya ilişkin önerilen reaksiyon

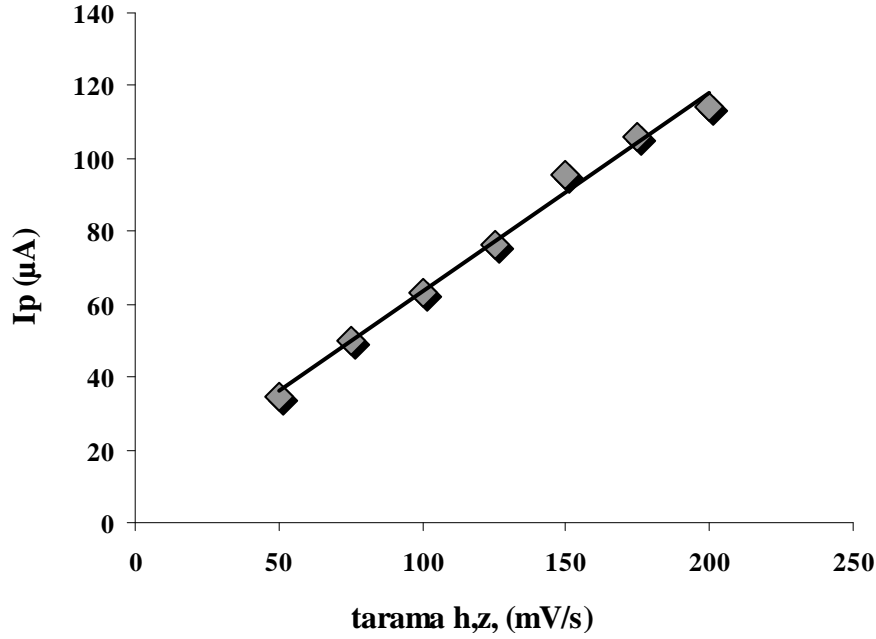


4.2.1. Tarama h,z,n,n Levodopaø,n,n pik potansiyeli ve pik ak,m,na etkisi

Tarama h,z,n,n MWCNT/BDDE yüzeyinde levodopan,n elektrokimyasal davran, ,na etkisi ekil 4.3ø te verilmi tir. Pik ak,m,n,n 50-200 mV/s aras,ndaki tarama h,z, ile do ru orant,l, olarak artt, , ekil 4.4.øte de gösterilmi tir. Tarama h,z,n,n artmas, ile levodopan,n pik potansiyelinde herhangi bir de i me olmad, , gözlenmi tir. Ayn, zamanda, log Ipø nin log vø ye kar , grafi inin e imi > 0,5 olarak hesaplan, t,r. Bu sonuçlar, elektrot prosesinin adsorpsiyon kontrollü oldu unu göstermi tir.



ekil 4.3. 0.1 M PBS ve pH 4.0ø da 4.0×10^{-6} M Levodopan,n MWCNT/BDDE yüzeyinde farklı tarama h,z,lar,ndaki dönü ümlü voltamogramlar,. Tarama h,z,lar,,: 50 mV/s, 75 mV/s, 100 mV/s, 125 mV/s, 150 mV/s, 175mV/s, 200mV/s Denge zaman,,: 5 s

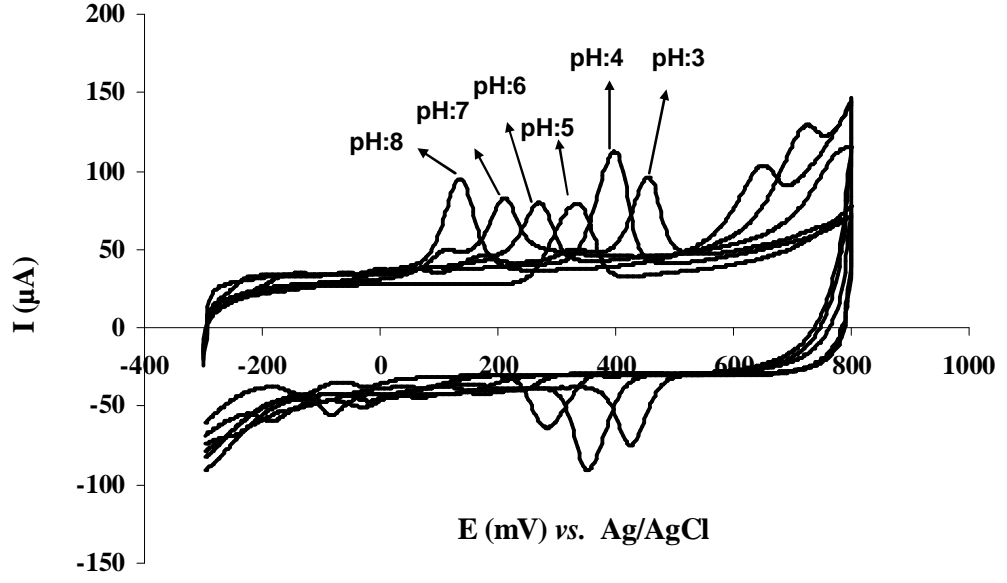


ekil 4.4. BDDE yüzeyinde LDØn,n pik ak,m,n,n tarama h,z,na etkisi

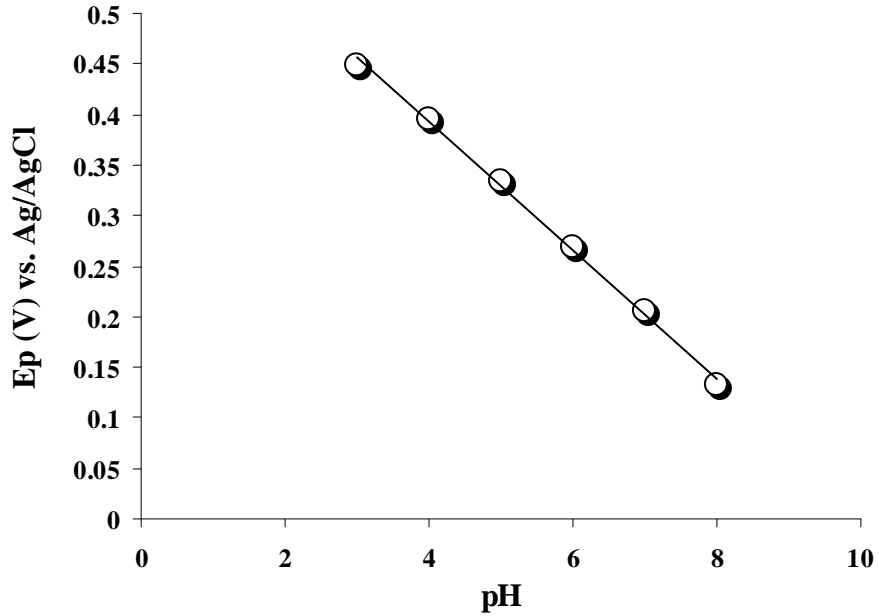
4.2.2. pHØn,n LDØn,n pik potansiyeline etkisi

MWCNT/BDDE yüzeyinde levodopan,n pik potansiyeline pH etkisi 0,1 M PBS tamponunda incelendi. PBSØ nin pH de eri ve levodopan,n yükseltgenme pik potansiyeli aras,ndaki ili ki ekil 4.5.Ø te verilmi tir. Çözeltinin pHØ s, art,kça LevodopaØ n,n pik potansiyelinin negatif yöne do ru kayd, , ekil 4.4.Ø te verilen dönü ümlü voltamogramlarda gösterilmi tir. Bu durum, levodopan,n redoks çiftinin yükseltgenme ve indirgenme s,ras,nda proton transferi içerdi ini göstermektedir.

ekil 4.6Øn,n e imi yakla ,k 0,0635 mV/ pHØ d,r. Bu durum reaksiyonlarda elektron ve proton oran,n,n 1:1 oldu unu göstermektedir. Elektrot reaksiyonunda, elektron say,s, ve proton say,s, e it olaca ,ndan, toplam elektrot reaksiyonundaki hidrojen iyonlar,n,n say,s, 2 olmaktadır.



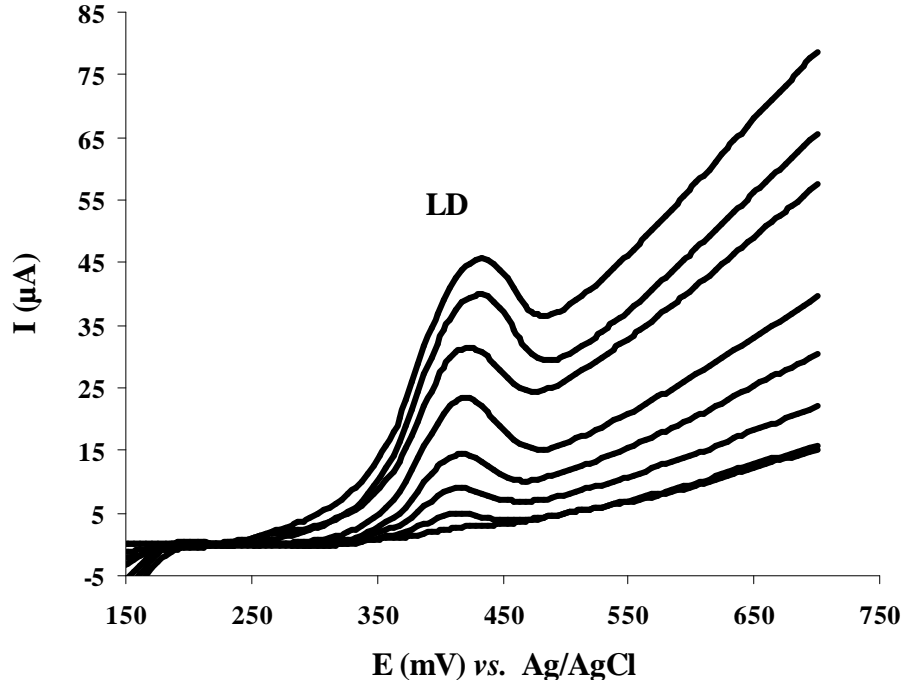
ekil 4.5. BDDE yüzeyinde 4×10^{-6} M LD δ n,n farklı, pH δ lardaki dönü ümlü voltamogramlar,. Denge süresi: 5 s. Tarama h,z,: 50 mV/ s. Destek elektrolit PBS. pH δ lar,: 8.0; 7.0; 6.0; 5.0; 4.0 ;3.0



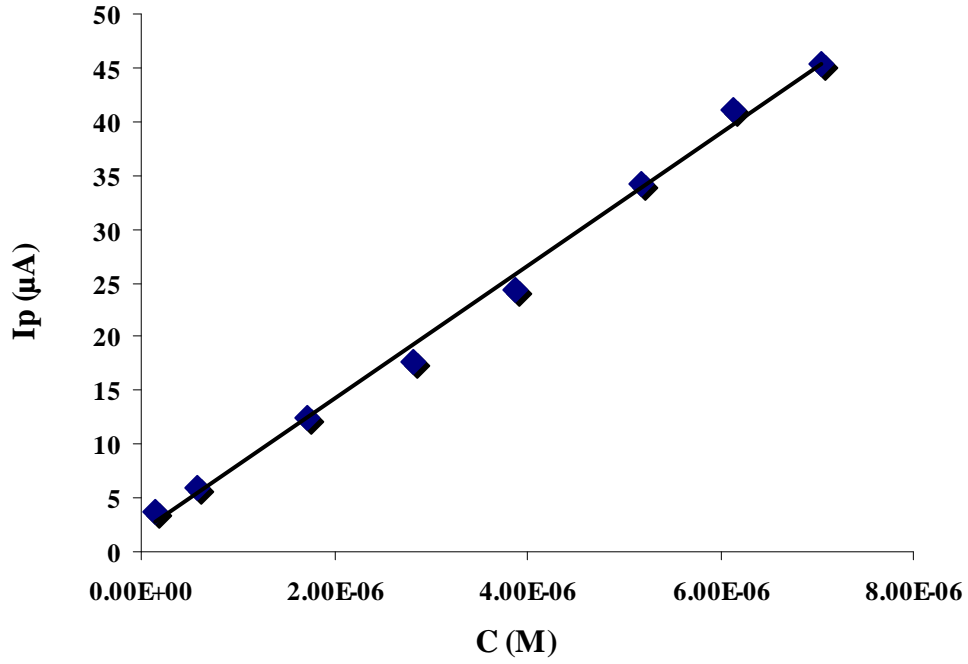
ekil 4.6. BDDE yüzeyinde LD δ n,n pik potansiyeline pH etki

4.2.3. BDDE/MWCNT yüzeyinde levodopan,n kalibrasyon e itli i

BDDE yüzeyinde levodopan,n saptanmas, kare dalga kullan,larak gerçekleştirildi. 0.1 M PBS ve pH 4,0da MWCNT/BDDE yüzeyinde levodopan,n farklı konsantrasyonlar,n,n kare dalga voltamogramlar, alınm, t,r. MWCNT/BDDEde levodopan,n anodik pik ak,m, 1.5×10^{-7} M ~ 7.04×10^{-6} M aral, nda do rusald,r. ekil 4.7.ø de elde edilen kalibrasyon grafi i için, korelasyon katsay,s, 0.9978. Saptama s,n,r, 5.2×10^{-9} M olarak bulunmu tur. Artan konsantrasyonlara kar , okunan pik ak,m,lar,yla çizilen ekil 4.8.ødeki kalibrasyon grafi i elde edilmi tir.



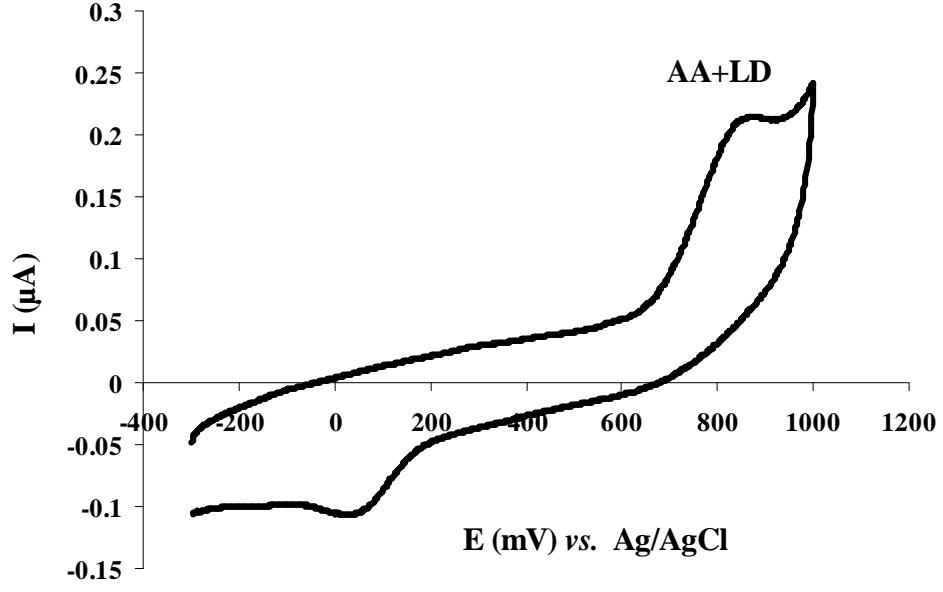
ekil 4.7. 0.1 M PBS ve pH 4.0da BDDE yüzeyinde LDø n,n artan konsantrasyonlar,na ait kare dalga voltamogramlar,. LD konsantrasyonlar,; 1.5×10^{-7} M, 5.83×10^{-7} M, 1.73×10^{-6} M, 2.82×10^{-6} M, 3.87×10^{-6} M, 5.19×10^{-6} M, 6.13×10^{-6} M, 7.04×10^{-6} M, Tarama h,z, 50 Mv/s Denge 5



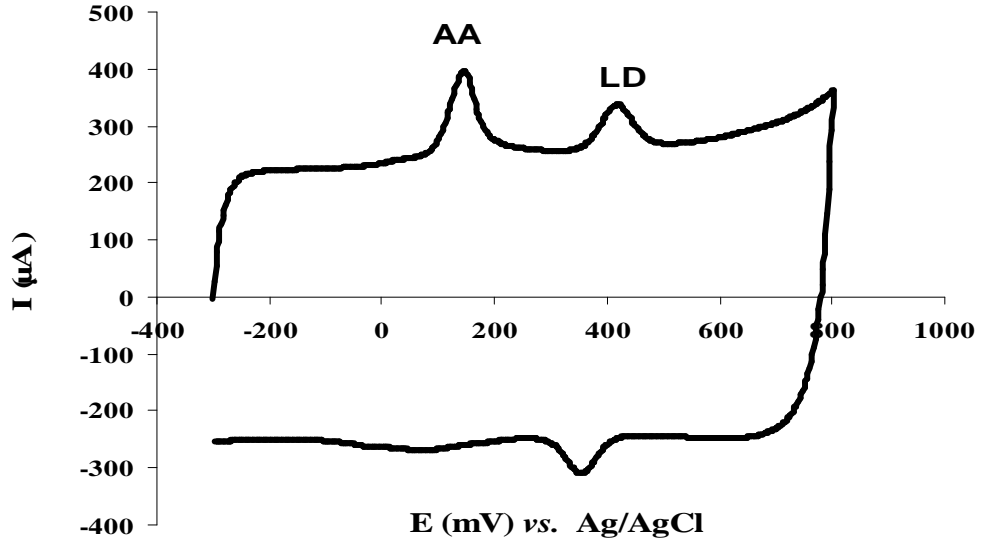
ekil 4.8. Levodopa'nın artan konsantrasyonlarına karşın, pik akımlarının grafiği.

4.2.4. Askorbik asit (AA) varlığına levodopanın MWCNT/BDD elektrot sistemi ile saptanması,

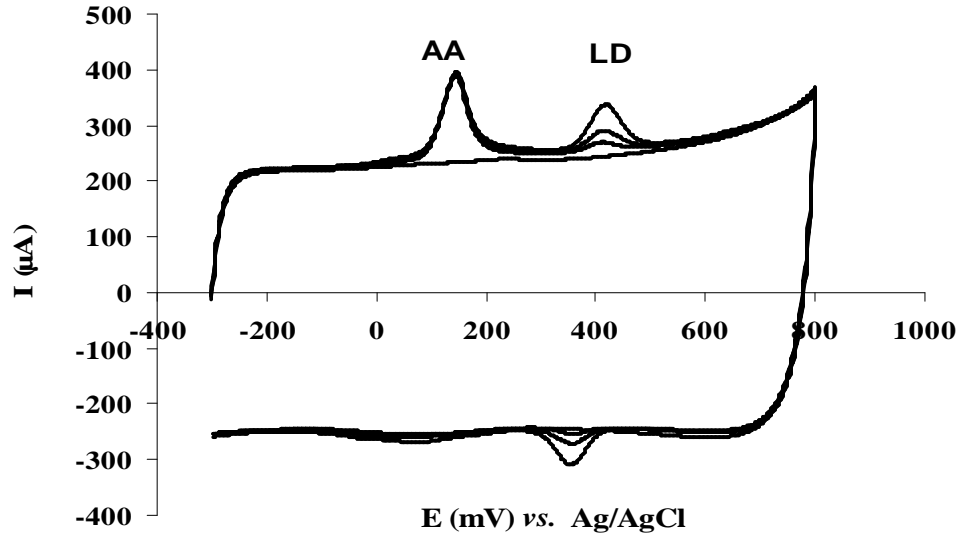
Askorbik asit varlığına levodopanın kolaylıkla saptanabilmesi için MWCNT/BDDE elektrot sistemi kullanıldı. Bunun için sabit askorbik varlığına de i en levodopa konsantrasyonlarında elde edilen voltammogramlar gösteriyor ki, MWCNT/BDDE elektrot sistemi ile askorbik asit varlığına levodopa elektrokimyasal özellikleri etkilenmemektedir. Yalnız elektrot yüzeyinde 0.750 V civarında yalnızca geni bir pik gözlenirken (ekil 4.9.), modifiye edilmiş elektrot yüzeyinde iki adet mükemmel yükseltgenme piki gözlenmiştir. (ekil 4.10). Ayrıca askorbik asit konsantrasyonu sabit tutulduğunda, de i en konsantrasyonlardaki levodopaya ait dönüşümlü voltammogramlar, AA'nın levodopa'nın tayin edilmesinde engel teşkil etmediği ekil 4.11. de açıkça görülmektedir.



ekil 4.9. 1.18437×10^{-5} M AA ve 4×10^{-6} M levodopa karışımının BDDE yüzeylerindeki döngüsel voltammogramları. Destek elektrolit: 0.1 M PBS, pH 4.0. Tarama hızı: 50mV/s.



ekil 4.10. 1.2×10^{-5} M AA ve 4×10^{-6} M levodopa karışımının MWCNT/BDDE yüzeylerindeki döngüsel voltammogramları. Destek elektrolit: 0.1 M PBS, pH 4.0. Tarama hızı: 50mV/s.



ekil 4.11. MWCNT/BDDE yüzeyinde 1.2×10^{-5} M AA varl, ,nda farklı, levodopa konsantrasyonlar,n,n dönü ümlü voltammogramlar,. levodopa konsantrasyonlar,: (a) 3.9×10^{-7} M (b) 7.9×10^{-7} M (c) 1.2×10^{-6} M. Tarama h,z,: 50 mV/s.

5. SONUÇLAR ve ÖNERİLER

5.1. Sonuçlar

Bu çalışmada, bor katkılı, elmas elektrotlar, karbon nanotüplerle modifiye edilerek levodopan,ın elektrokimyasal davranışları, incelenmesine uygulanmış ve bu levodopan,ın biyolojik süreçlerde saptanması, zorla taşıyan AA gibi girişimci bir molekül varlığı, burada saptanması,na uygulanmış, tır.

Yalnız elektrotlar ile karşılaştırıldığında, modifiye edilmiş elektrot hem levodopa ve hem askorbik asit mükemmel bir elektrokatalitik etki sağlayarak bu maddelerin yükseltgenmelerinin gerçekleştirildiği pik potansiyellerini negatif yönde kaydırılmış ve daha düşük potansiyellerde yükseltgenmelerini sağlamıştır, tır.

MWCNT/BDDE sistemi, ilaç örneklerindeki levodopan,ın saptanması,na uygulandı. Elde edilen sonuçlar hem ilaç örneklerindeki doz ile uyumlu hem de İngiliz (Pharmacopeia, 2000) ve Çin standart ilaç analiz (Pharmacopeia of China, 1995) yöntemleriyle karşılaştırılabilir olduğu görülmektedir. Önerilen yöntem ile elde edilen değerler, literatür verileri ile karşılaştırıldığında önerilen yöntemin mükemmel olduğunu göstermektedir. Yöntemin basitliği, yüksek kararlılığı ve elektrodun uzun süre tekrarlanabilir sonuçlar vermesinden dolayı, MWCNT/BDDE sistemi ilaç örneklerinde LD₅₀,ın tayini için rahatlıkla kullanılabilir.

5.2. Öneriler

Öneri olarak; bu tür modifiye elektrotların iletkenliklerinin artırılması, ve daha küçük akımlar, okumasını sağlamak amacıyla başka türler ile desteklenmesi yeni araştırma konusu olacaktır. Hazırlanan modifiye elektrotların iletkenliklerinin ne ölçüde değiştiğini incelemek için bir impedans ölçer cihazını kullanılması, gerekir. Laboratuvarımızda impedans ölçer olmadıkça, için hangi elektrotun ne derecede iletkenliğinin artması, saptama olanağı olmayacaktır. Ancak bu önemli özellik bir

sonraki ara tırma konusu olmalıdır. Ayrıca bu tür ilaçların analizi için iletkenliği daha fazla olan karbon nanotüp modifiye elektrot sistemi kullanılarak da incelenebilir.



KAYNAKLAR

- ASLANO LU, M., ABBASO LU, S., KARABULUT, S., and KUTLUAY, A., 2007. Electrochemical Determination of Dopamine in the Presence of Ascorbic Acid Using a Poly(3-Acetylthiophene) Modified Glassy Carbon Electrode., *Acta Chim. Slov.*, 54: 834-839.
- CAMMAN, K., LEMKE, U., ROHEN, A., SANDER, J., W LKEN, H., W NTER, B., 1991. Chemical Sensors and Biosensors-Principles and Applications, *Angew. Chem. Int. De Engl.* 30: 516-539.
- COMNINELLIS, C., DUO, I., MICHAUD, P-A., MARSELLI, B., PARK, S-M., 2005. Application of Synthetic Boron-Doped Diamond Electrodes in Electrooxidation Processes (Prof. A. Fujishima., Prof. Y. Einaga., Dr. T.N. Rao., Dr. D.A. Tryk., editörler). *Diamond Electrochemistry, BKC and ELSEV ER, Japan*, s. 449-476.
- DA DEV REN, S., 2011.Yüksek lisans tezi. Elektrokimyasal sensörlerin analitik uygulamalar,, Askorbik asit ve ürik asit varl, nda dopaminin karbon nanotüp temelli voltametrik sensörlerle tayini.
- FOTOPOULOU, M. A., and IOANNOU, P. C., 2002. Post-Column Terbium Complexation and Sensitized Fluorescence detection for the Determination of Norepinephrine, Epinephrine and Dopamine Using High-Performance Liquid Chromatography. *Anal. Chim. Acta*, 462: 179-85.
- HSIEH, M., and CHANG, H. T., 2005. Discontinuous Electrolyte Systems for Improved Detection of Biologically Active Amines and Acids by Capillary Electrophoresis with Laser Induced Native Fluorescence Detection. *Electrophoresis*, 26:187-95.
- KARATA , Y., 2005. Farmakoloji AD, Çukurova Üniversitesi T,p Fakültesi, Türkiye Klinikleri J Int Med Sci;1(44):67-75.
- KISACIK, ., 2010 benzenin bor katkı, elmas (bdd) elektrot üzerinde elektrooksidasyonu Yüksek lisans tezi, s. 9-11.
- SELVARAJU T., RAMAJ R., 2003. Simultaneous Determination of Dopamine and Serotonin in the Presence of Ascorbic Acid and Uric Acid at Poly(O-phenylenediamine) Modified Electrode. *J. Appl. Electrochem.*, 33: 759-62.
- SUN, W. LI, Y., YANG, M., LI, J., and JIAO, K., 2008. Application of carbon ionic liquid electrode for the electrooxidative determination of catechol., *Sensors and Actuators B*, 133:387-92.
- TURNER, A. P. F., 1987. Biosensors: Fundamentals and Applications, Turner, A. P. F., Karube, I. and Wilson, G. S. (Ed); Oxford University Press, Oxford, sayfa v-vii.
- ZHANG, W., HE, L., GU, Y., LIU, X., and JIANG, S., 2003. Effect of Ionic Liquids as Mobile Phase Additives on Retention of Catecholamines in Reversed-Phase High Performance Liquid Chromatography. *Anal. Lett.*, 36:827-38.

ÖZGEÇM

KİŞİSEL BİLGİLER

Ad, Soyad, : Tuba KARAGÖZ
Uyru u : T.C.
Do um Yeri ve Tarihi : MALATYA / 1990
Telefon : 0541 400 44 63
e-mail : tuba_krgz44@hotmail.com.

EĞİTİM

Derece	Ad,, İçe, l	Bitirme Y,l,
Lise	: Gölba , Lisesi, Gölba ,, Ad,yaman	2007
Üniversite	: Harran Üniversitesi, Kimya Bölümü, .Urfa	2012
Yüksek Lisans:	Harran Üniversitesi, Kimya Anabilim Dal,, . Urfa	2015

DENEY MLER

Y,l	Kurum	Görevi
2012-	Dershanede Ö retmen	Ö retmen

UZMANLIK ALANI

Analitik kimya

YABANCI D LLER

ngilizce