

**T.C.**  
**AYDIN ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ**  
**FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**  
**KİMYA ANABİLİM DALI**  
**2020-YL-039**



**İLAC-DNA ETKİLEŞİMİNE DAYALI**  
**ELEKTROKİMYASAL BİYOSENSÖRLERİN**  
**TASARIMI VE UYGULAMALARI**

**Aylin EROL**

**Tez Danışmanı:**  
**Doç. Dr. Mihrican MUTİ**

**AYDIN**



**T.C.**  
**AYDIN ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ**  
**FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜNE**  
**AYDIN**

Kimya Anabilim Dalı Yüksek Lisans Programı öğrencisi Aylin EROL tarafından hazırlanan İlaç-DNA Etkileşimine Dayalı Elektrokimyasal Biyosensörlerin Tasarımı ve Uygulamaları başlıklı tez, 07/07/2020 tarihinde yapılan savunma sonucunda aşağıda isimleri bulunan jüri üyelerince kabul edilmiştir.

	Ünvanı, Adı Soyadı	Kurumu	İmzası
Başkan:	Doç. Dr. Mihrican MUTİ	Aydın Adnan Menderes Üniv.	
Üye:	Prof. Dr. Kubilay GÜÇLÜ	Aydın Adnan Menderes Üniv	
Üye:	Doç. Dr. Hakan KARADENİZ	Ege Üniv.	

Jüri üyeleri tarafından kabul edilen bu Y. Lisans tezi, Enstitü Yönetim Kurulunun .....Sayılı kararıyla .....(tarih) tarihinde onaylanmıştır.

Prof. Dr. Gönül AYDIN

Enstitü Müdürü



**T.C.**  
**AYDIN ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ**  
**FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜNE**

Bu tezde sunulan tüm bilgi ve sonuçların, bilimsel yöntemlerle yürütülen gerçek deney ve gözlemler çerçevesinde tarafımdan elde edildiğini, çalışmada bana ait olmayan tüm veri, düşünce, sonuç ve bilgilere bilimsel etik kuralların gereği olarak eksiksiz şekilde uygun atıf yaptığımı ve kaynak göstererek belirttiğimi beyan ederim.

07/07/2020

Aylin EROL



## ÖZET

### İLAÇ-DNA ETKİLEŞİMİNE DAYALI ELEKTROKİMYASAL BİYOSENSÖRLERİN TASARIMI VE UYGULAMALARI

Aylin EROL

Yüksek Lisans Tezi, Kimya Anabilim Dalı

Tez Danışmanı: Doç. Dr. Mıhrıcan MUTİ

2020, 74 sayfa

DNA'nın ilaç, çevresel kirleticiler vb. bazı kimyasal maddelerle etkileştirilmesi ve geliştirilen yeni yöntemlerle bu etkileşimin incelenmesi, özellikle yeni ilaç tasarımı ve tayinine yönelik metotların geliştirilmesi açısından önemlidir.

Bu çalışmada bir antikanser ilaç olan Bendamustin'in DNA ile etkileşimi, antioksidan madde varlığında ve yokluğunda incelenmiştir. Literatürde Bendamustin'in elektrokimyasal olarak tayinine ilişkin çalışma bulunmamaktadır. Bu tez kapsamında Bendamustin'in elektrokimyasal davranışı literatürde ilk kez belirlenmiş, ayrıca söz konusu antikanser ilacın DNA ile etkileşimi, bu etkileşime antioksidanların etkisi de literatürde ilk kez incelenmiştir.

Kemoterapi gören kanser hastalarının tedavileri süresinde antioksidan içerikli takviye gıdalar ile beslenip beslenmemeleri gerektiği her zaman merak edilmiştir. Antioksidanların, antikanser ilaçların DNA ile etkileşimini etkilediği günümüzde bilinmektedir. Bu çalışmada 4 farklı antioksidan madde varlığında Bendamustin ile DNA etkileşimi incelenmiş ve antioksidanların, ilaç-DNA etkileşimini nasıl değiştirdiği belirlenmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** Bendamustin, ilaç-DNA etkileşimi, antioksidan, Kafeik asit, Kumarik Asit, Troloks, Kuersetin, elektrokimya, kalem grafit elektrot.





## ABSTRACT

### DESIGN AND APPLICATION OF ELECTROCHEMICAL BIOSENSORS BASED ON DRUG-DNA INTERACTION

Aylin EROL

Ms. Thesis, Department of Chemistry

Supervisor: Assoc. Prof. Mihrican MUTİ

2020, 74 pages

The investigation of the interaction between DNA-drug, environmental pollutants, some chemicals and the determination of these interactions by the developed new methods is very important especially in terms of the development of the new methods based on the DNA-drug interaction.

In this study, the interaction of DNA and anticancer drug, Bendamustine, was investigate in the presence and absence of antioxidant. There is no study in the literature regarding the electrochemical determination of Bendamustine. Within the scope of this thesis, the electrochemical behavior of Bendamustine was determined for the first time in the literature, and the interaction of the anticancer drug with DNA and the effect of antioxidants on this interaction were also examined for the first time in the literature.

It has always been wondered whether cancer patients should take antioxidant supplements during their chemotherapy treatment. Now it is known, antioxidants may affect the interaction of anticancer drugs and DNA. In this study, DNA interaction with Bendamustine was investigated in the presence of 4 different antioxidant substances and it was determined how antioxidants changed drug-DNA interaction.

**Key Words:** Bendamustine, drug-DNA interaction, antioxidant, caffeic acid, Coumaric acid, Trolox, Quercetin, electrochemistry, pencil graphite electrode.



## ÖNSÖZ

Her şeyden önce bu lisansüstü eğitimin her aşamasının hayatıma büyük deneyim ve tecrübeler kattığını belirtmek istiyorum. Bu deneyim ve tecrübeleri edinme yolunda desteğini her an yanı başımda hissettiğim, engin bilgi birikiminden faydalandığım, sabrını benden hiçbir zaman esirgemeyen, her zaman güler yüzlü ve sıcakkanlı yaklaşımı ile bir danışmandan çok daha fazlası, bir dert ortağı ve kardeş olan çok değerli danışman hocam Sayın Doç. Dr. Mihrican MUTİ'ye,

Aynı laboratuvarı paylaştığım ve her birinden farklı kazanımlar elde ettiğim arkadaşlarım doktora öğrencisi Baha ÖNDEŞ, yüksek lisans öğrencisi Ataullahi UMAR, ilk kongre deneyimimde çok iyi bir yoldaş ve her zaman güler yüzlü bir kardeş olan kahve arkadaşım yüksek lisans öğrencisi Pelin UYSAL ÇALICIOĞLU'na,

Yüksek lisansa başlamam konusunda beni yüreklendiren ve desteklerini her zaman hissettiğim, her konuda yardımlarını benden esirgemeyen Çine Mesleki ve Teknik Anadolu Lisesi'nde çalışan çok değerli öğretmen arkadaşlarım, kıymetli idarecilerim ve sevgili öğrencilerime,

Hayatım boyunca maddi ve manevi yönden her an yanımda olan, her zaman bana inanan ve her başarımda gururlanan, haklarını hiçbir zaman ödeyemeyeceğim sevgili aileme,

Dünyaya geldikleri günden beri hayatıma yön veren, varlıklarıyla gururlandığım, bu çalışmayı bitirmemde beni kamçılayan, bazen zamanlarından çaldığım sevgili kızım Hayat ve sevgili oğlum Kerem'e,

Tanıdığım günden beri her anlamda yanımda olan, bana her zaman inanan, her türlü zorluğu aşmamda desteğini benden esirgemeyen, varlığıyla huzur bulduğum sevgili eşim Emre'ye sonsuz teşekkür ederim.

Aylin EROL



# İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	vii
ABSTRACT.....	ix
ÖNSÖZ .....	xi
KISALTMALAR DİZİNİ.....	xvii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xviii
ÇİZELGELER DİZİNİ .....	xxi
1. GİRİŞ .....	1
1.1. Elektrokimya .....	2
1.1.1. Kütle Aktarım Yolları .....	5
1.1.2. Elektroanalitik Yöntemler .....	6
1.2. Sensör.....	24
1.2.1. Biyosensör.....	25
1.3. DNA'nın Yapısı .....	29
1.3.1. DNA Biyosensörleri.....	31
2. KAYNAK ÖZETLERİ .....	37
3. MATERYAL VE YÖNTEM .....	39
3.1. Deneylerde Kullanılan Kimyasallar .....	39
3.2. Deneylerde Kullanılan Cihazlar .....	40
3.3. Deneylerde Kullanılan Çözeltiler ve Hazırlanışları .....	40
3.3.1. Tampon Çözeltilerin Hazırlanması .....	40

3.3.2. Redoks Çözeltisinin Hazırlanması.....	41
3.3.3. Stok Çözeltilerin Hazırlanması.....	42
3.4. Deneylerde Kullanılan Çalışma Elektrotların Hazırlanması .....	43
3.4.1. Kalem Grafit Elektrotların (PGE) Hazırlanması .....	43
3.4.2. Kalem Grafit Elektrotların Yüzey Aktivasyonu.....	43
3.5. Elektrotların Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) ile Yüzey Karakterizasyonu.....	44
4. BULGULAR VE TARTIŞMA.....	45
4.1. Elektrokimyasal Davranışların Belirlenmesine Yönelik Çalışmalar .....	45
4.1.1. Antikanser İlaç Bendamustin.....	45
4.1.2. Antioksidanlar (Kafeik Asit, Kumarik Asit, Kuersetin, Troloks) .....	45
4.2. Ölçümlerin Alınacağı Elektrolitin Belirlenmesi.....	48
4.3. BND'nin tek sarmal DNA (ssDNA) ve çift sarmal DNA (dsDNA) ile etkileşim çalışmaları.....	52
4.4. Elektrot Yüzeyine İmmobilize Edilecek Optimum fsDNA Derişiminin Belirlenmesi.....	53
4.5. Yalın ve DNA immobilize Edilmiş Elektrotların Yüzey Karakterizasyonları .....	54
4.6. Etkileşim Çalışmalarında Kullanılacak BND Derişiminin Belirlenmesi ...	55
4.7. Etkileşim Süresinin Belirlenmesi .....	56
4.7.1. DPV ile .....	56
4.7.2. EIS ile .....	59

4.8. BND'nin Antioksidan Varlığında DNA ile Etkileşiminin İncelenmesi .....	60
4.8.1. Kafeik Asit Varlığında .....	60
4.8.2. Kumarik Asit Varlığında .....	61
4.8.3. Kuersetin Varlığında .....	62
4.8.4. Troloks Varlığında .....	63
5. SONUÇ .....	65
KAYNAKLAR .....	67
ÖZGEÇMİŞ .....	74





## KISALTMALAR DİZİNİ

ABS: Asetat Tampon Çözeltisi

BR: Britton-Robinson

BND: Bendamustin

ctssDNA: Buzağı timus tek sarmal DNA

ctdsDNA: Buzağı timus çift sarmal DNA

CPE: Karbon Pasta Elektrot

CV: Dönüşümlü Voltametri

DNA: Deoksiribo Nükleik Asit

DPV: Diferansiyel Puls Voltametri

EIS: Elektrokimyasal Empedans Spektroskopisi

EÖ: Etkileşimden Önce

ES: Etkileşimden Sonra

fsDNA: Balık sperm DNA

GCE: Camsı Karbon Elektrot

PGE: Kalem Grafit Elektrot

SEM: Taramalı Elektron Mikroskobu

SPCE: Perde Baskılı Karbon Elektrot

## ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1. Konveksiyon ile kütle aktarımı .....	5
Şekil 1.2. Elektriksel göç ile kütle aktarımı.....	5
Şekil 1.3. Difüzyon ile kütle aktarımı .....	6
Şekil 1.4. Elektrokimyasal analiz yöntemleri.....	7
Şekil 1.5. Doğrusal Taramalı Voltametri Uyarma Sinyali.....	11
Şekil 1.6. Dönüşümlü Voltametri Uyarma Sinyali.....	12
Şekil 1.7. Diferansiyel Puls Voltametri Uyarma Sinyali .....	13
Şekil 1.8. Kare Dalga Voltametri Uyarma Sinyali .....	13
Şekil 1.9. Üç elektrotlu elektrokimyasal hücre.....	16
Şekil 1.10. Doygun kalomel elektrodun şematik görünümü .....	18
Şekil 1.11. Grafit tozunda bulunan karbon atomlarının dizilimi .....	21
Şekil 1.12. Karbon pasta elektrot .....	23
Şekil 1.13. Kalem grafit elektrot .....	24
Şekil 1.14. Bir biyosensörün yapısı.....	25
Şekil 1.15. DNA çift sarmal yapısı.....	30
Şekil 4.1. 50 µg/mL Bendamustin'in ABS içindeki dönüşümlü voltamogramı....	45
Şekil 4.2. 10 <sup>-2</sup> M Kafeik Asidin pH: 4.8 ABS içinde alınmış dönüşümlü voltamogramı.....	46
Şekil 4.3. 10 <sup>-2</sup> M Kumarik Asidin pH: 4.8 ABS içinde alınmış dönüşümlü voltamogramı.....	46

Şekil 4.4. $10^{-2}$ M Kuersetinin pH: 4.8 ABS içinde alınmış dönüşümlü voltamogramı .....	47
Şekil 4.5. $10^{-2}$ M Troloksun pH: 4.8 ABS içinde alınmış dönüşümlü voltamogramı .....	47
Şekil 4.6. Farklı pH'larda BR tampon çözeltisi içinde alınmış BND yükseltgenme sinyaline ait A) Voltamogram ve B) Voltamogramların ortalamalarından hazırlanmış olan histogramlar. C) Farklı pH'lardaki elektrolitler içinde ölçülmüş BND yükseltgenme potansiyelleri. ....	49
Şekil 4.7. BND ve guaninin etkileşimden önce (EÖ) ve etkileşimden sonra (ES) yükseltgenme sinyallerini gösteren voltamogram ve histogramlar. ....	50
Şekil 4.8. BND ve guaninin etkileşimden önce (EÖ) ve etkileşimden sonra (ES) yükseltgenme sinyallerini gösteren voltamogram ve histogramlar. ....	51
Şekil 4.9. $100 \mu\text{g/mL}$ ctssDNA, ctdsDNA ve fsDNA'nın $50 \mu\text{g/mL}$ BND ile etkileşimden önce ve sonra BND, Guanin ve Adenin yükseltgenme sinyallerini ayrıca yükseltgenme sinyallerindeki % azalmayı gösteren histogramlar. ....	53
Şekil 4.10. Farklı derişimlerde fsDNA çözeltisine daldırılmış olan elektrotlarla ölçülmüş guanin ve adenin yükseltgenme sinyallerini gösteren A) voltamogram ve B) histogramlar. ....	54
Şekil 4.11. Yalın (A, B) ve DNA immobilize edilmiş elektrotların (C, D), 1000X (A, C) ve 2500X (B, D) büyütmelede çekilmiş SEM fotoğrafları. ....	55
Şekil 4.12. Yüzeyine $80 \mu\text{g/mL}$ fsDNA immobilize edilmiş PGE'lerin, farklı derişimlerde BND çözeltisine daldırıldıktan sonra ölçülen BND yükseltgenme sinyallerini gösteren A) voltamogram ve B) histogramlar .....	56
Şekil 4.13. Farklı sürelerde etkileşim sonucu ölçülen BND yükseltgenme sinyallerini gösteren voltamogram ve histogramlar. ....	57
Şekil 4.14. Farklı sürelerde etkileşim sonucu ölçülen Guanin yükseltgenme sinyallerini gösteren voltamogram ve histogramlar. ....	58

Şekil 4.15. Yalın-PGE, DNA-PGE ve BND ile 30 dakika ve 60 dakika etkileştirilmiş DNA-PGE'lere ait A) Nyquist eğrisi B) ortalama Rct değerlerinden çizilmiş histogramlar..... 59



## ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 1. Farklı Elektrolitler içinde etkileşimden önce ve sonra ölçülmüş BND ve Guanin yükseltgenme sinyallerinin sayısal değerleri .....	52
Çizelge 2. Kafeik asit yokluğunda ve varlığında 30 dakikalık etkileşimden önce ve sonra ölçülen guanin yükseltgenme sinyalleri ve %S değerleri .....	60
Çizelge 3. Kumarik asit yokluğunda ve varlığında 30 dakikalık etkileşimden önce ve sonra ölçülen guanin yükseltgenme sinyalleri ve %S değerleri .....	61
Çizelge 4. Kuersetin yokluğunda ve varlığında 30 dakikalık etkileşimden önce ve sonra ölçülen guanin yükseltgenme sinyalleri ve %S değerleri .....	62
Çizelge 5: Troloks yokluğunda ve varlığında 30 dakikalık etkileşimden önce ve sonra ölçülen guanin yükseltgenme sinyalleri ve %S değerleri .....	63



## 1. GİRİŞ

İlaçların DNA ile etkileşime girmesi pek çok farklı yöntemle gerçekleşebilmektedir. İlaç molekülleri DNA ile kovalent, elektrostatik olarak veya interkalasyon yoluyla bağlanabilir (Richards ve Rodgers, 2007). Bir ilaç molekülünün interkalasyon yapma yeteneği, yani yapısında bulunan düzlemsel grupların DNA'nın baz çiftlerinin arasına girip yerleşmesi, oluşan ürüne duyarlı elektrokimyasal DNA biyosensörlerinin tasarımını gündeme getirmiştir. DNA ile ilacın etkileşmesi sonucu, DNA'daki guanin bazının elektrokimyasal sinyalinde artış veya azalma meydana gelmektedir. Bu amaçla kullanılan karbon (camısı karbon) ve civa (asılı civa damla elektrodu) esaslı elektrotlar ile incelenen ilaçların mikromolar hatta nanomolar konsantrasyonlarının dahi güvenli ölçümleri mümkün olmaktadır.

DNA'nın bazı ilaç molekülleriyle (özellikle antikanser özellik taşıyan ilaç molekülleri) etkileşmesi, bu etkileşme sonuçlarının tayininin son yıllarda geliştirilen yeni yöntemlerle yapılması, ilaç tasarımlarının çeşitlenmesini sağlamıştır. İlaç, toksik molekül gibi bu maddelerin DNA'nın çift sarmalı ile interkalasyonu, baza seçimli bağlanma vb. yollarla etkileşimi sonucu bir ürünün meydana gelmesi, bu ürüne duyarlı elektrokimyasal DNA biyosensör tasarımını ortaya çıkarmıştır. DNA ile etkileşim sonrasında DNA'da meydana gelen yan ürünlerin kısa zamanda tespit edilmesi kanser araştırmaları için önemli bir gelişme olmuştur.

Birçok antikanser ilaç, DNA molekülleri ile etkileşmektedir. Bunların bazıları DNA ile kovalent bağ yaparken, bazıları ise kovalent olmayan etkileşimleri kullanarak DNA ile kompleks oluştururlar. Çoğu organik moleküller DNA'nın çift sarmal yapısına interkale olabilmeye özelliğine sahiptir. Örneğin boyar madde olarak sıkça kullanılan organik bir molekül olan etidyum bromür, DNA ile interkale olma özelliğine sahip bir moleküldür. Antitümör ilaçların da birçoğu interkalasyon özelliğine sahiptir (Karadeniz vd., 2003, Özsöz vd., 2002, Wang vd., 2005).

Madde-DNA etkileşimine dayalı yapılan çalışmalarda, tayinin gerçekleştirilebilmesi için iki sinyal ölçülmektedir. Bunlardan biri etkileşimden sonra oluşan madde sinyalidir. Diğeri ise, DNA'daki elektroaktif bir bazın sinyalindeki artma veya azalmadır.

Literatürde DNA ile antikanser-ilaçların etkileşiminin izlenmesine dayalı elektrokimyasal sensör teknolojisinin kullanıldığı pek çok çalışma mevcuttur (Ilkhani vd., 2016; Diculescu vd., 2016; Carvalho vd., 2019) Elektrot yüzeyinin farklı nano malzemelerle modifiye edilmesi sensöre daha düşük tayin sınırı avantajı sağlamakla birlikte daha kararlı bir sensör yüzeyinin oluşmasına da imkan vermektedir (Ekşin vd., 2013; Erdem vd., 2012). Literatürde antikanser ilaç-DNA etkileşim çalışmalarına sık rastlanmakla birlikte, antioksidan madde varlığında bu etkileşimin nasıl değiştiğine dair iki çalışma grubumuza aittir (Muti ve Muti, 2018; Öndeş ve Muti 2020). Oysa kemoterapi tedavisi gören hastaların tedavi süresince antioksidan içerikli takviyeler almalarının tedavi sürecini nasıl etkileyeceği konusunda her zaman şüpheler vardır.

Bendamustin lenfositik lösemi tedavisinde kullanılan antikanser bir ilaçtır (Jamshed ve Cheson 2009). Bu çalışmada, antikanser ilaç olan Bendamustin'in, antioksidan madde varlığında ve yokluğunda DNA ile etkileşim performansı incelenmiş ve antioksidan maddelerin ilaç-DNA etkileşimini nasıl etkilediği araştırılmıştır. Bu amaçla, balık sperminden elde edilen çift sarmal DNA dizisi (fsDNA) tek kullanımlık elektrot yüzeyine immobilize edilerek, antikanser ilaç olan Bendamustin'in fsDNA ile etkileşim parametreleri belirlenmiştir.

Çalışmada öncelikle Bendamustin'in elektrokimyasal davranışı, ölçümlerin alınacağı en uygun elektrolit çözeltisi (elektrolit pH'sı) tespit edilmiştir. DNA ile etkileşim çalışmalarında ise, elektrot yüzeyine en yüksek miktar ve kararlılıkta immobilize edilecek fsDNA derişimi, Bendamustin'in tek ve çift sarmal DNA ile etkileşim performansları Guanin yükseltgenme sinyali ölçülerek belirlenmiştir. Çalışmada ayrıca DNA ile etkileşen optimum ilaç konsantrasyonu, etkileşim süresi, antioksidan madde yokluğunda ve antioksidan içeren elektrolit ortamında ilacın DNA ile etkileşim özellikleri incelenmiştir. Bu çalışma ile 4 farklı antioksidan maddenin, kanser ilacı olan Bendamustin'in DNA ile etkileşimine olan etkileri de araştırılmıştır.

## **1.1. Elektrokimya**

Elektrokimya, genel olarak elektrik enerjisi üreten veya harcayan redoks (redüksiyon/oksidasyon) reaksiyonlarını ve bu esnada elektron transferinden dolayı



meydana gelen elektrokimyasal olayları inceler. Daha ayrıntılı bir tanım yapacak olursak; “maddenin elektrik enerjisi ile etkileşimi sonucu ortaya çıkan kimyasal dönüşümler ile bu esnada meydana gelen fiziksel değişiklikleri ve kimyasal enerjinin elektrik enerjisine çevrilmesini inceleyen bir bilim dalıdır” diyebiliriz (Skoog vd., 1998).

Elektrokimyanın gelişme dönemi 1799’da Volta’nın elektrik pilini keşfi ile başlamıştır. Humphry Davy ve Michael Faraday tarafından 19. yüzyılda Elektrokimya bir bilim dalı olarak ortaya konmuştur. Hermann Helmholtz ve Walther Nernst ise, 1920’de Walther Nernst’in Nobel ödülü almasını sağlayan, elektrot potansiyeli kavramını ve elektrokimyasal polarizasyon olayını açıklamışlardır. Jaroslav Heyrovsky tarafından polarografik metotların bulunması ve geliştirilmesi de damlayan civa elektrotunun keşfiyle mümkün olmuştur. Son yıllarda elektrokimya alanındaki ilerlemeler, bilim ve teknolojinin yeni alanlarının geliştirilmesinde, küresel enerji ve çevre sorunlarının çözümünde önemli rol oynamaktadır (Izutsu, 2002). Jaroslav Heyrovsky tarafından polarografik metotların bulunması ve geliştirilmesi de damlayan civa elektrotunun keşfiyle mümkün olmuştur. Son yıllarda elektrokimya alanındaki ilerlemeler, bilim ve teknolojinin yeni alanlarının geliştirilmesinde, küresel enerji ve çevre sorunlarının çözümünde önemli rol oynamaktadır (Izutsu, 2002).

Elektrokimyasal tepkimeler, elektrokimyasal hücre adı verilen bir hücrede gerçekleştirilen ve elektron transferi sayesinde yükseltgenme-indirgenme olayının meydana geldiği redoks tepkimeleridir (Skoog vd., 1998).

Elektrokimyasal tepkimelerin meydana geldiği elektrokimyasal hücreler iki tiptir. Eğer hücre elektrik enerjisi üretiminde kullanılıyorsa "galvanik hücre", elektriği bir dış kaynaktan alıp harcıyorsa "elektrolitik hücre" adını alır. Deney koşullarında yapılan değişiklikler sayesinde hücreler hem galvanik hem de elektrolitik amaçlarla çalıştırılabilir. Elektrokimyasal hücrelerde iki metalik iletken (elektrot) kullanılır. Bu elektrotlar uygun elektrolit çözeltiler içerisine daldırılır. Aynı zamanda bu elektrotlar elektrik akımı elde edebilmek için dıştan iletken bir tel ile birbirine bağlanır. Ayrıca iki elektrolit çözelti de iyonların geçişini sağlamak için bağlantılı halde bulunmalıdır. Bazı sistemlerde elektrotlar aynı elektrolit çözeltiye daldırılmaktadır. Bir elektrokimyasal hücrede indirgenme reaksiyonu katotta, yükseltgenme reaksiyonu ise anotta gerçekleşmektedir (Skoog vd., 1998).

Elektrokimyasal teknikleri potansiyometrik ve potansiyostatik olarak sınıflandırmak mümkündür. Örneğin, pH metre ile bir çözeltideki protonların ölçülmesi potansiyometrik, elektrot-çözelti ara yüzünde meydana gelen indirgenme/yükseltgenme reaksiyonları potansiyostatik tekniklerdir.

Genel olarak iki tür elektrokimyasal analiz yöntemi vardır. Bunlar, her tür iyonun toplam derişiminden etkilenen bir elektrokimyasal sinyalin elde edildiği yığınsal yöntemler ile elektrot ve ortamın temas yüzeylerinden oluşan ve iyona ya da bileşene özgü sinyallerin elde edildiği yüzeyler arası yöntemlerdir (Skoog, 1998).

### **Elektrokimyasal yöntemlerin, diğer yöntemlere göre avantajları:**

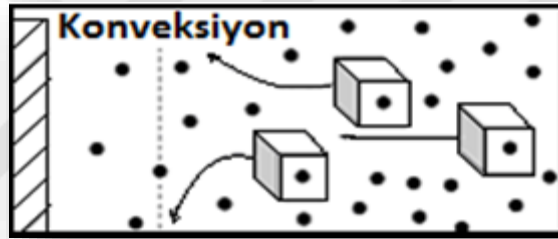
- Elektrokimyasal ölçümler genellikle bir elementin bir yükseltgenme basamağı için spesifiktir
- Elektrokimyasal ölçümlerde reaksiyon hızı kontrol edilebilir.
- Elektrokimyasal yöntemler, genellikle kimyasal türlerin aktiflikleri hakkında bilgi verir.
- Elektrokimyasal yöntemlerde kullanılan cihazlar diğer yöntemlere göre daha ucuzdur.
- Elektrokimyasal yöntemler çevreye zarar vermeyen yöntemlerdir.
- **Elektrokimyasal yöntemlerin, diğer yöntemlere göre dezavantajları:**
- Elektrokimyasal reaksiyonlar özel hücrelere ihtiyaç duyarlar.
- Elektrokimyasal reaksiyonlar heterojen reaksiyonlardır.
- Elektrokimyasal reaksiyonda kullanılan elektrolitler genellikle tekrar kullanılamazlar.

Elektrokimyasal olaylarda maddenin elektron yüzeyine aktarımı olayına **kütle aktarımı** denir. Kütle aktarımının gerçekleşebilmesi için, bir elektrolitteki herhangi bir taneciğe kimyasal, elektriksel ya da mekanik bir kuvvet uygulanması gerekir. Bu kuvvet sayesinde tanecik bir yerden başka bir yere taşınabilir (Tural vd., 2006).

### 1.1.1. Kütle Aktarım Yolları

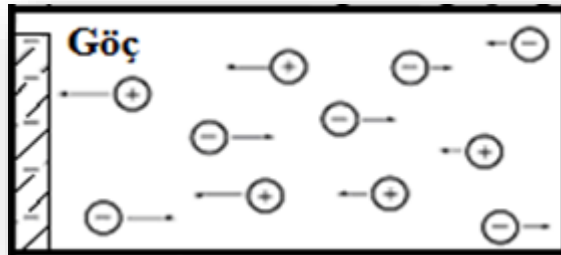
Elektrokimyasal bir reaksiyonda iyonlar veya moleküller, çözelti ile elektrot yüzeyi arasında aktarılırlar. Bu aktarım, konveksiyon (karıştırma), elektriksel göç (migrasyon) ve difüzyon (yayıma) olmak üzere üç yolla gerçekleşir.

**Konveksiyon (Karıştırma):** Elektrokimyasal tepkimelerde sıcaklık veya yoğunluk farkından dolayı, elektrotun yüzeyi ile çözelti arasında meydana gelen doğal bir kütle aktarım yoludur. Aynı zamanda bu aktarım, karıştırma ve çalkalama ile de meydana gelmektedir (Tural vd., 2006; Cin, 2007).



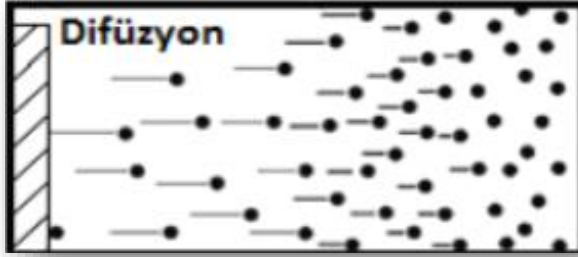
Şekil 1.1. Konveksiyon ile kütle aktarımı

**Elektriksel Göç (Migrasyon):** Elektrokimyasal tepkimelerde iyonlar, elektrik alan altında elektrostatik bir kuvvetle hareket ederler. Bu esnada elektrotlara dışarıdan uygulanan bir gerilim olursa, bu kuvvet sayesinde anyonlar anoda, katyonlar da katoda doğru yönelirler. Bu şekilde meydana gelen taşınmaya elektriksel göç (migrasyon) denir (Tural vd., 2006; Cin, 2007).



Şekil 1.2. Elektriksel göç ile kütle aktarımı

**Difüzyon (Yayılma):** Elektrokimyasal tepkimelerde çözelti ile elektrot yüzeyi arasındaki yoğunluk farkı nedeniyle iyonların yaptıkları hareketten kaynaklanan kütle aktarım yoludur (Tural vd., 2006; Cin, 2007).



Şekil 1.3. Difüzyon ile kütle aktarımı

Elektrokimyasal olaylarda kütle aktarımı gerçekleşirken, deney koşullarına bağlı olarak bu yollardan bir veya birkaç tanesi katkıda bulunabilir.

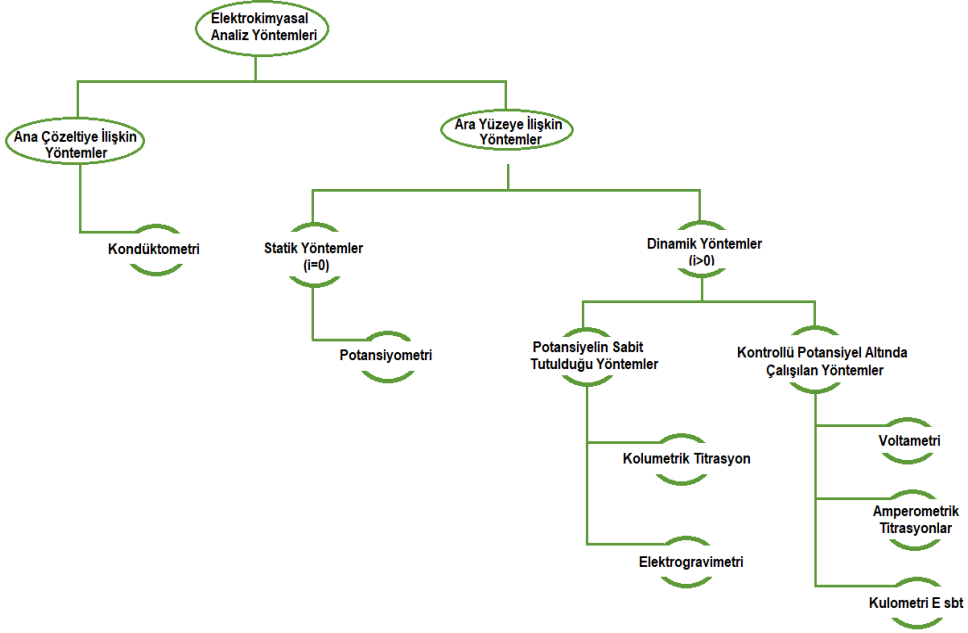
### 1.1.2. Elektroanalitik Yöntemler

Elektroanalitik yöntemler, kalitatif ve kantitatif analizlerin yapılabilmesi için maddelerin elektrokimyasal davranışlarından yararlanılan yöntemlerdir (Henden vd., 2001).

Elektroanalitik yöntemlerde, bir çözeltiliye elektriksel bir etki uygulanmakta ve bu etkiye karşı verilen tepki ölçülmektedir. Bu tepki genellikle akım olarak verilmekte ve sistem hakkında bize bilgi vermektedir. Elektrokimyasal tekniklerin hepsinde potansiyel, akım ve zaman gibi parametreler bulunmakta ve uygulanan teknik bu parametrelere göre adlandırılmaktadır (Duran, 2009). Elektrokimyasal ölçüm teknikleri birçok alanda kullanılmaktadır. Özellikle biyomedikal analiz cihazları, çevresel görüntüleme ve endüstriyel kalite kontrol sistemleri bu alanlardan bazılarıdır. Elektrokimyasal ölçümler, kimyasal ölçümler gibi homojen değil, heterojen (elektrot-çözelti ara yüzeyi) ortamlarda gerçekleştirilmektedir (Wang, 2000).

Elektroanalitik yöntemlerin büyük bir kısmında akım veya potansiyel kontrol edilebilmekte ve genliği değiştirilerek farklı ölçümler yapılabilmektedir. Bu da

elektroanalitik yöntemlere birçok avantaj ve kullanım alanı sağlamaktadır. Bu alanlar, kalitatif ve kantitatif analizler, elektrot mekanizmalarının belirlenmesi, kimyasal ve elektrokimyasal reaksiyon kinetiklerinin incelenmesi, adsorbsiyon olayları, denge sabitlerinin tespiti, difüzyon katsayılarının bulunması olarak sıralanabilir. Elektroanalitik yöntemlerin en yaygın sınıflandırması Şekil 1.4. de görülmektedir.



Şekil 1.4. Elektrokimyasal analiz yöntemleri

### 1.1.2.1. Potansiyometri

Potansiyometrik analiz yöntemleri, elektrokimyasal hücrelerde ve hücreden farkedilir bir akımın geçmediği durumlarda yapılan potansiyel ölçümlerine dayanır. Potansiyometrik analiz yöntemleri, 20. yüzyılın başlarından beri titrasyon tekniğinde dönüm noktasının belirlenmesi için kullanılan yöntemlerdir. Günümüzde ise bu yöntemlerle elektrot potansiyelinin doğrudan ölçülmesi ile iyon derişimleri tayin edilebilmektedir. Bu elektrotlar, önemli ölçüde girişimlere neden olmaksızın, çok sayıda iyonun nicel tayininin hızlı bir şekilde yapılmasına imkân sağlamaktadır.

Elektrokimyasal hücreye dönüştürülen bir çözeltinin üzerinden akım geçmeden potansiyelinin ölçülmesi ve bu ölçüm sayesinde çözelti içinde bulunan maddenin

derişiminin tayin edilmesi prensibine dayanan metodlar topluluğuna potansiyometri denir. Metot, renkli ve renksiz bütün maddelere uygulanabilmektedir.

Potansiyometride kullanılan cihazlara potansiyometre adı verilir ve genelde basit ve ucuz cihazlardır. Başlıca üç kısımdan oluşur. Referans elektrot, İndikatör elektrot ve Potansiyel ölçme cihazı (Skoog, 1998).

### **1.1.2.2. Kulometri**

Kulometrik metotlar, analizi yapılan maddenin bir elektrot üzerinde yeterince kısa bir sürede kantitatif olarak yükseltgenmesi veya indirgenmesi esası üzerine kurulmuştur. Bu işlem sonucu analizi yapılan madde yeni bir yükseltgenme basamağına gelir. Yükseltgenme veya indirgenme basamağı genellikle sıfır (elemental hal) olur. Kulometrik metotlar başlıca üçe ayrılır. Bunlar:

- 1) Elektrogravimetri,
- 2) Sabit potansiyel kulometrisi,
- 3) Sabit akım kulometrisi veya kulometrik titrasyonlardır.

Kulometrik metotlar elektronla ilgili olduğundan, elektron sayısı da kulonla verildiğinden bunlara kulometrik metotlar denir. Kulometride en çok yapılan işlemlerden birisi, bir katyonu bir elektrot üzerinde çöktürmektir. Çöktürülen kısım ya tartarak (elektrogravimetri) veya bu amaçla kullanılan kulon (elektron) sayısından hesaplanır. Kulon sayısının ölçülmesiyle yapılan analizlerde Faraday kanunundan yararlanılır. Faraday kanununa göre bir hücrede meydana gelen değişme, hücreden geçen elektron sayısı ile doğrudan orantılıdır.

Kulometrik yöntemler, genelde orta düzeyde seçicilik, duyarlılık ve hıza sahip olup çoğu zaman binde birkaç mertebesinde belirsizlik sağladıkları için kimyacıların kullandığı en kesin ve doğru yöntemler arasında yer alır (Skoog, 1998).

### **1.1.2.3. Voltametri**

Voltametri, bir çalışma elektrodu ile bir karşılaştırma elektrodu arasında meydana gelen ve değeri zamanla değişen bir potansiyele bağlı olarak, elektrotlar arasındaki

akımın ölçülmesine dayanan ve analit hakkında bilgi veren elektroanalitik bir yöntemdir. Ortaya çıkan akım, üç elektrotlu hücrelerde çalışma elektrodu ile yardımcı elektrot, iki elektrotlu hücrelerde ise çalışma elektrodu ile karşılaştırma elektrodu arasından ölçülmektedir. Bir elektrokimyasal olayda analitin içerisine daldırılan elektroda uygulanan gerilimin sınırları, çalışma elektrodunun, çözücünün ve elektrolitin türüne bağlıdır. Voltametriye en çok tercih edilen çalışma elektrotları mikroelektrotlardır. Yüzey alanı çok küçük olan bu elektrotlar polarizasyonu arttırmak için tercih edilmektedir (Skoog vd., 1998; Yıldız ve Genç, 1993).

Voltametrinin tarihsel gelişimi, 1920'li yıllarda Çekoslovak kimyacı Jaroslav Heyrovsky'nin polarografi tekniğini bulması ile başlamıştır. O dönemde voltametri, birçok organik ve inorganik türün tayini için kullanılan en önemli metodlardan birisi olmuştur. Ancak 1950'li yıllarda spektroskopik yöntemler voltametriye göre önem kazanmıştır. Daha sonra 1960'ların ortalarında klasik voltametrik yöntemlerde, yöntemin duyarlılığını ve seçiciliğini önemli ölçüde artıran birçok ana değişiklik geliştirilmiştir. Bu değişiklikler sayesinde voltametrik yöntemlerin kullanıldığı uygulama alanları (farmosötik, çevre vb.) artmıştır.

Voltametrik yöntemlerin düşük derişimlerde bile metallerin, organik ve inorganik bileşiklerin saptanmasına olanak sağlaması (Fifield, 2000), elektroaktif (elektrot tepkimesine katılan) türlere karşı seçici (Barek vd., 2001) ve ekonomik olması gibi avantajları vardır.

Elektrokimyasal hücreye uygulanan belli bir gerilim sırasında devreden geçen akım, analitin difüzyon tabakasının dış kısmından elektrot yüzeyine taşınma hızı ile kontrol edilir ve bu hız  $\partial C_A / \partial x$  ile verilir. Burada x, cm cinsinden elektrottan olan uzaklığı göstermektedir.

Bir elektrot, elektrolit çözeltisine daldırıldığında negatif yükle yüklenir. Bu esnada çözeltideki katyonlar da elektrostatik çekim nedeniyle elektroda doğru yönelir. Bundan dolayı ara yüzeyde oluşan gerilim farkı nedeniyle bir elektriksel tabaka meydana gelir. Ve bu tabaka, bir alternatif akım kaynağına (kapasitör) dönüşür. Burada oluşan reaksiyona bağlı olmayan ve sistemden kaynaklanan bu akıma kapasitif akım ( $I_c$ ) denir. Kapasitif akımın küçük olması ölçümün doğruluğunu artırır.

Elektrolit çözeltisine daldırılan elektrot ile elektrolit çözelti arasında akımın iletimi sırasında, elektrotlardan biri yükseltgenirken, diğeri indirgenir ve bu esnada elektronlar doğrudan aktarılarak akım iletilir. Bu şekilde oluşan akıma da faradayik akım ( $I_f$ ) denir.

$I = I_f + I_c$  olduğundan  $I_c$  azalırsa duyarlılık artar.

Analit derişiminin  $10^{-3}$  M ve daha büyük olduğu durumlarda;  $I_c < I_f$  olur ve yapılan analiz doğru sonuç verir. Analit derişimi  $10^{-4}$  M ise kısmen iyi bir sonuç alınabilir. Eğer analit derişimi  $10^{-5}$  M ve daha düşük olursa,  $I_c \gg I_f$  olacağı için doğru sonuç alınamaz.

### **Voltametik Yöntemler**

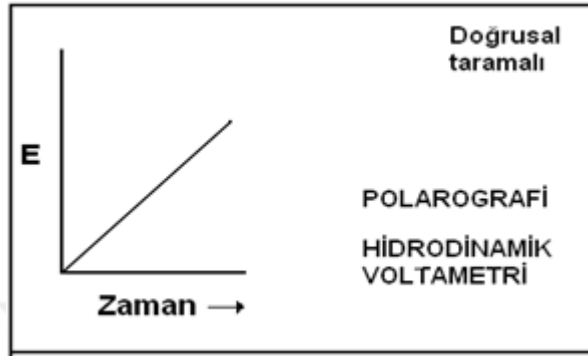
Bir elektrolit çözelti ve bir mikroelektrottan oluşan elektrokimyasal bir hücreye gönderilen değışken bir potansiyele karşılık, karakteristik bir akım cevabı alınır. Buradan hareketle, en çok tercih edilen dört uyarma sinyali ve buna bağılı olarak kullanılan dört voltametik yöntem mevcuttur. Bunlar:

- Doğrusal Taramalı Voltametri (LSV)
- Diferansiyel Puls Voltametri (DPV)
- Kare Dalga Voltametri (SWV)
- Dönüşümlü Voltametri (CV)

### **Doğrusal Taramalı Voltametri (LSV)**

Doğrusal taramalı voltametricide, elektroaktif bir madde içeren bir çözeltide bulunan çalışma elektrodu ile referans elektrot arasına değıeri zamanla doğrusal değışen bir potansiyel uygulanarak, çalışma elektrodu ile karşıt elektrot arasında oluşan akım tespit edilir. Elde edilen potansiyel-akım cevap eğrisine doğrusal voltamogram adı verilir (Yıldız vd., 1997).





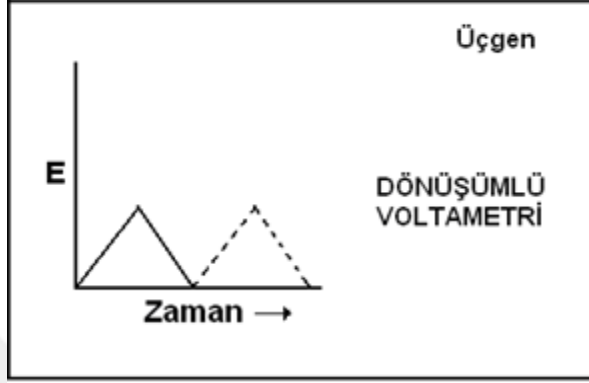
Şekil 1.5. Doğrusal Taramalı Voltametride Uyarma Sinyali

### **Dönüşümlü Voltametri (CV)**

Dönüşümlü voltametri, yüzey alanı küçük olan bir mikroelektrota belli bir hızla döngüsel bir potansiyel uygulanmasıdır. Dönüşümlü voltametri yönteminde, ileri yönde uygulanan potansiyel taraması belirli bir değere ulaştıktan sonra yine doğrusal olarak azalacak biçimde ters çevrilir. Böylece analitin yükseltgenme ve indirgenme özellikleri aynı anda incelenebilir. Dönüşümlü voltametride ileri ve geri yöndeki potansiyel tarama hızları aynı tutulabildiği gibi farklı tarama hızları da kullanılabilir. İleri ve geri yönde yapılan tarama bir kez ya da birçok kez yapılabilir. Bu yöntemle elde edilen potansiyel-akım cevap eğrisine de dönüşümlü voltamogram denir (Yıldız vd., 1997).

Bu tarama işlemi deney şartlarına bağlı olarak bazen tek bir döngüyle, bazen de ardışık döngülerle gerçekleştirilebilir.

Bu tarama işlemi deney şartlarına bağlı olarak bazen tek, bazen de ardışık döngülerle gerçekleştirilebilir.



Şekil 1.6. Dönüşümlü Voltametri Uyarma Sinyali

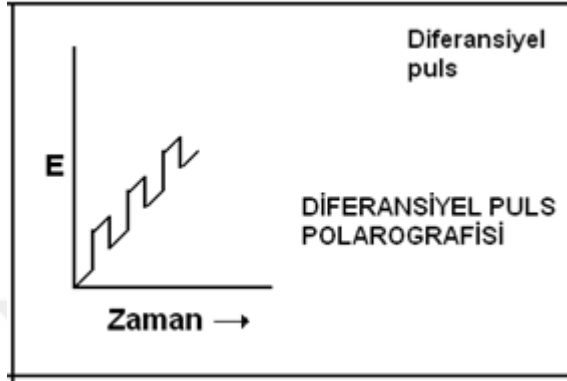
### Diferansiyel Puls Voltametri (DPV)

En çok tercih edilen tekniklerden biridir. Bu teknikte yavaşça yükselen bir doğru akım sinyali üzerine yükseklikleri sabit voltaj pulslarının biniştirilmesi ile oluşan uyarıcı bir sinyal kullanılmaktadır. Oluşan akım değerleri pulstan hemen önce ve pulsun sonuna doğru iki kere ölçülerek bunlar arasındaki fark sinyal olarak kaydedilmektedir. Gerilime karşı elde edilen bu sinyaller grafiğe geçirilerek diferansiyel puls eğrisi pik şeklinde elde edilir. Her bir analite ait yarı dalga potansiyeli;

$$EP = E_{1/2} - \Delta E/2$$

eşitliğinden hesaplanabilir. Buradaki  $\Delta E$ , puls genişliğidir. Duyarlılığı arttırabilmek için puls genişliğinin ve potansiyelin iyi seçilmesi gerekir. Genellikle 50 mV'luk bir potansiyel farkı piklerin birbirinden ayırt edilebilmesi için uygun olmaktadır.

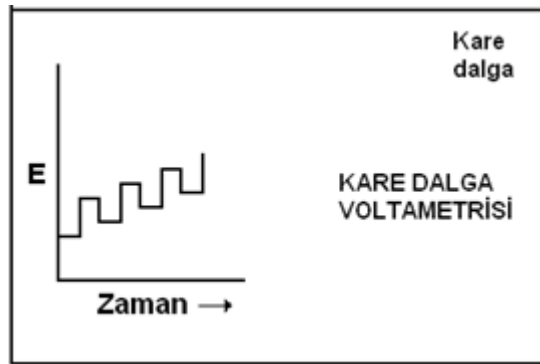
Diferansiyel puls tekniği elektroaktif türlerin eser miktarlarının tayini için oldukça sık kullanılan tekniklerdendir. Bu tekniğinin avantajı, akımın örneklediği noktalarda kapasitif akımın minimum olmasıdır. Bu nedenle sinyal/gürültü oranı iyileştirilmiş olup,  $10^{-7}$ - $10^{-8}$  M derişimlerin tayinine imkân vermektedir.



Şekil 1.7. Diferansiyel Puls Voltametrinde Uyarma Sinyali

### Kare Dalga Voltametri (SWV)

Çalışma elektroduna uygulanan basamak sinyali ile pulsun toplamı kare dalga formunu verir. Oldukça hızlı ve duyarlı olduğu için tercih edilen bir tekniktir. Voltamogram çok kısa sürede elde edildiğinden, birkaç sinyalin ortalaması alınır. Tayin sınırları  $10^{-7}$ - $10^{-8}$  M arasındadır (Wang, 2000; Skoog vd., 1998).



Şekil 1.8. Kare Dalga Voltametrinde Uyarma Sinyali

#### 1.1.2.4. Elektrokimyasal Empedans Spektroskopisi (EIS)

Elektrokimyasal empedans spektrometri (EIS), frekansın bir fonksiyonu olarak, elektrot-elektrolit ara yüzeyinde elektron transferine karşı oluşan direncin ölçüldüğü önemli bir elektrokimyasal karakterizasyon tekniğidir. Elektrokimyasal empedans ölçümleri, elektrokimyasal sistemlerin incelenmesinde sıklıkla kullanılan güçlü bir tekniktir. Aynı zamanda uygulanan potansiyelin genliği çok düşük olduğundan

modifiye yüzeydeki moleküllerin zarar görmeden karakterize edilmesini sağlamaktadır Bard ve Faulkner 2001).

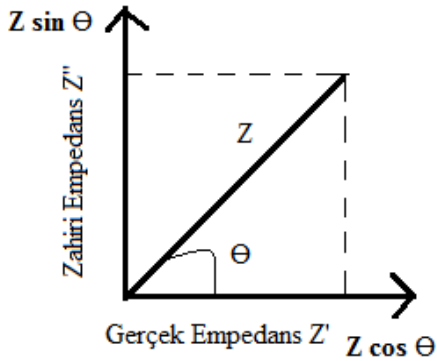
Empedans “Z” ile gösterilir ve;

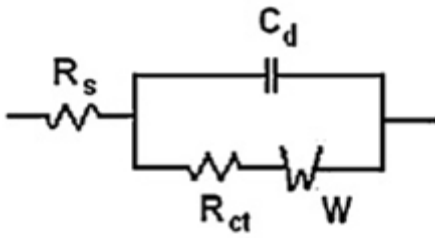
$$Z = \frac{E}{I} \quad \text{eşitliği ile ifade edilir.}$$

Empedansın gerçek ve zahiri empedans olmak üzere iki bileşeni vardır;

$$Z = Z_r + jZ_i \quad (j=\sqrt{-1})$$

Bu eşitlikte, faz içi  $Z_r$  bileşeni, sistemdeki herhangi bir direnç nedeniyle oluşan bileşeni, faz dışı  $Z_i$  bileşeni ise yalıtım tabakalarının ( elektrokimyasal çift katman ya da ek bariyer) oluşumu ile daha çok ilişkilidir. İmpedimetrik veriler, farklı grafiksel gösterimleri olmasına rağmen en yaygın olarak Nyquist eğrisi ile gösterilmektedir. Bu gösterimde, empedans  $Z''$  ' nin zahiri bölümü,  $Z_r'$  ' nin gerçek bölümüne karşı grafiğe geçirilmiştir ve  $\Theta$  açısı da devrede sinusoidal karakterdeki potansiyel ile akım arasında oluşan faz açısını ifade etmektedir (Bonanni ve Valle, 2010)





Eşdeğer elektrik devresi

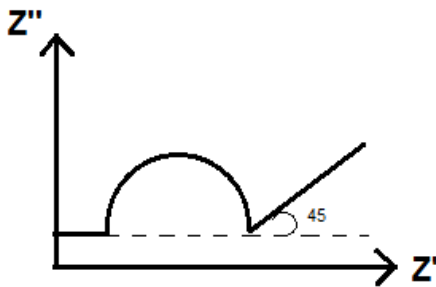
$R_{ct}$ : Rezistans yük akışına karşı oluşan engel

$R_s$ : Çözelti direnci

$C$ : Kapasitans

$W$ : Warburg

İdeal bir Nyquist eğrisi aşağıdaki şekilde gösterilmektedir.



### Voltametrik Cihazlar

Voltametrik analiz yapabilmek için kullanılan cihaz, elektrokimyasal bir hücre bölümüne sahiptir. Bunun yanında analit ve iletkenliği sağlayan elektrolit çözelti içine daldırılmış üç elektrottan meydana gelmektedir. Bu elektrotlar, çalışma (indikatör) elektrodu, karşılaştırma (referans) elektrotu ve yardımcı (karşıt) elektrottur. Çalışma elektrodunun gerilimi zamanla doğrusal olarak değişkenlik gösterirken, karşılaştırma elektrotunun gerilimi ölçüm süresince sabit kalmaktadır. Yardımcı elektrot ise, sinyal kaynağından gönderilen elektrik akımının, çözeltinin içinden geçerek çalışma elektrotuna aktarılmasını sağlamaktadır.

Voltametrik cihazlarda, hücrede gerilim oluşumunu sağlayan bir polarize akım bulunmaktadır. Bunun yanında bir de hücre akımının izlenmesi ile ölçülen ikinci bir akımın varlığından söz edilmektedir. Üç elektrotlu sistemlerde hücre direnci büyük

ölçüde ortadan kalkmakta ve bu direncin neden olduğu hatalar en aza indirilebilmektedir.

Bu sistemlerde akımın çözelti içinde taşınmasını sağlayan yardımcı elektrottur. Çalışma elektrotu ile yardımcı elektrodun hücreye simetrik olarak yerleştirilmesi gerekmektedir. Ölçüm esnasında karşılaştırma elektrodu ile çalışma elektrodunun birbirlerine en yakın konumda bulunmaları önemlidir. Bu sayede karşılaştırma elektrodundan akım geçmez, dolayısıyla hücredeki omik gerilim (IR) en aza inmekte ama tamamen yok olmamaktadır. Yani ölçülen gerilimlerde az da olsa IR'nin etkisi bulunmaktadır (Skoog vd., 1998; Wang, 2000).



Şekil 1.9. Üç elektrotlu elektrokimyasal hücre

## Voltametrik Cihazlarda Kullanılan Elektrotlar

### 1. Karşılaştırma (Referans) Elektrotları

Yarı hücre potansiyeli bilinen ve diğer elektrotların potansiyellerinin bu elektrot referans alınarak ölçüldüğü elektrotlardır. Elektrodun bilinen bu potansiyel değerinin, analit derişiminden bağımsız olması gerekmektedir. İdeal bir karşılaştırma elektrodunun sahip olması gereken bazı özellikler vardır. Öncelikle

tersinir olmalı ve mutlaka Nernst eşitliğine uymalıdır. Bunun yanında gerilimi zamanla değişkenlik göstermemelidir ve tekrarlanabilir olmalıdır. Aynı zamanda gerilimin sıcaklıkla değişim katsayısı da olabildiğince küçük olmalıdır ve polarize olmamalıdır.

**Yaygın olarak kullanılan karşılaştırma (referans) elektrotları:**

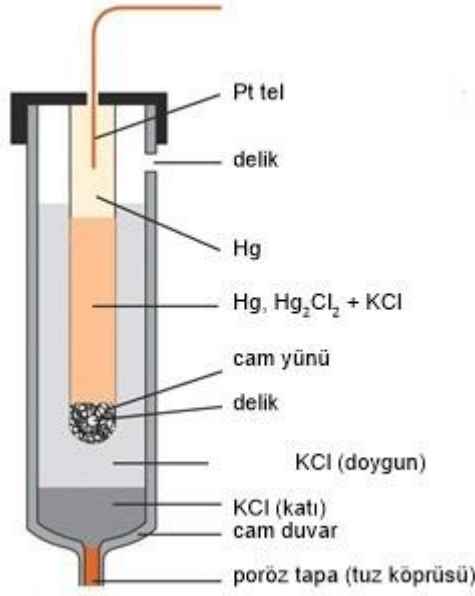
**Doymun Kalomel Elektrot (SCE):** Kalomel elektrotlar, derişimi bilinen potasyum klorür (KCl) içinde doymun civa (I) klorür ( $Hg_2Cl_2$ ) ile etkileşimde olan civadan oluşmaktadır.

$1/2 Hg_2Cl_2 + e^- \leftrightarrow Hg(k) + Cl^-$  yarı tepkimesine sahip olan elektrodun şematik gösterimi;

Hg/ $Hg_2Cl_2$ (doymun), KCl(xM) //

şeklindedir.

Yalnız klorür iyonunun aktifliğine bağlı olan elektrot gerilimi, sıcaklıkla çok az da olsa değişmektedir. Kolay hazırlandığı için analitik kimyada çokça tercih edilmektedir.



Şekil 1.10. Doymuş kalomel elektrodun şematik görünümü

**Gümüş/Gümüş Klorür Elektrot:** Bu elektrotlar, derişimi bilinen potasyum klorür (KCl) içinde gümüş klorür ile kaplanmış bir gümüş telden oluşmaktadır.

$\text{AgCl} + e^- \leftrightarrow \text{Ag}^+ + \text{Cl}^-$  yarı tepkimesine sahip olan elektrodun şematik gösterimi;

$\text{Ag}/\text{AgCl} (\text{doymun}), \text{KCl} (xM) //$

şeklindedir.

Karşılaştırma elektrotlarının kullanımında, gümüş ya da civa (I) iyonları ile analit çözeltisi arasındaki tepkimeyi engellemek için elektrot çözeltisinin seviyesinin örnek çözeltinin üstünde olması gerekmektedir. Bu durum aynı zamanda elektrot çözeltisinin kirlenmesini de önlemektedir.

## 2. Yardımcı (Karşıt) Elektrotlar

İki elektrotlu sistemlerdeki polarlanmayan elektrot, üzerinden akım geçtiğinden yüksek akımlarda polarlanır. Ayrıca eğer çözelti direnci yüksek ise bu direnci yenmek için gerekli potansiyel önemli düzeye çıkacağından çalışma elektrodunun



polarizasyon potansiyeli yanlış algılanabilir. Bu karışıklığın önlenmesi için üçüncü bir elektrodun yani yardımcı (karşıt) bir elektrodun kullanılması gerekir. Çalışma elektrodu ve yardımcı elektrottan akım geçirilip çalışma elektrodunun potansiyeli karşılaştırma elektroduna karşı sıfır akım altında saptanır. Akım yardımcı elektrot üzerinden geçtiği için bu elektrotların platin, grafit, tantal ve tungsten gibi soymetal olmaları gerekmektedir.

Helezon şeklinde sarılmış bir Pt tel, elektriğin kaynaktan gelerek çözelti içinden mikroelektroda aktarılmasını sağlayan karşıt elektrot olarak çalışır. Karşıt elektrotun çalışma elektrotundaki reaksiyona etkisi olmaz, sadece onu elektronlarla besler (Türe, 2008; Cin, 2007).

### **3. Çalışma (İndikatör) Elektrotları**

Voltametriye çok çeşitli çalışma elektrotları kullanılmaktadır. Bunlar civa, altın, platin, bizmut, grafit, camsi karbon, pirolitik karbon, lif karbon ve modifiye elektrotlar şeklinde sıralanabilir. Bu elektrotlar, yüzey alanı çok küçük olan mikroelektrotlardır. Yüzey alanının küçüklüğü polarlanmanın olabilmesi için önemlidir. Mikroelektrotlar sayesinde analitin çok az bir miktarı tepkimeye girmektedir. Bu da analitin tekrar tekrar voltamogramının alınabilmesini sağlamaktadır (Yıldız vd., 1997; Tural vd., 2006).

#### **Yaygın olarak kullanılan çalışma (indikatör) elektrotları:**

##### **Civa Elektrotlar**

Civa kökenli elektrotların yaygın olarak kullanılmasının bir çok sebebi vardır. Bunlardan biri civa elektrodun geniş bir potansiyel aralığında uygulanabilir olmasıdır. Bu özelliğinden dolayı negatif potansiyellerde de kullanılabilir. Ayrıca sürekli yeni bir yüzey oluşturabildiği için önceki işlemlerden kalan safsızlıklar civa yüzeyinden uzaklaştırılabilmektedir. Tekrarlanabilir civa damlalarının oluşması sonucunda da tekrarlanabilir akımlar elde edilmektedir. Bu elektrot sayesinde birçok metal civa ile amalgam oluşturarak indirgenmektedir. Bu esnada kendisi kolay yükseltgendiğinden fazlaca toksik etki meydana getirmektedir ki bu da civa elektrotların dezavantajı olarak görülmektedir.

Civa elektrotlarda civanın akış hızı mekanik bir iğne yardımıyla ayarlanmaktadır. Bu iğnenin kontrolü ise ya yer çekimi etkisi (haznenin yüksekliğinin değiştirilmesi)

ile ya da manyetik etki ile yapılmaktadır. Civa damlasının düşürülmesi de mekanik bir çekiç aracılığıyla yapılmaktadır (Tural vd., 2006). Civa elektrotlar dörde ayrılır. Bunlar, damlayan civa elektrodu, asılı civa damla elektrodu, durgun civa damla elektrodu ve civa film elektrodudur. Ancak durgun civa damla elektrodu çok tercih edilen bir elektrot değildir.

### **Katı Elektrotlar**

Civa elektrotların anodik gerilim sınırının düşük olmasından dolayı kolay yükseltgenebilen bileşiklerin davranışlarını incelemek bu elektrotlarla çok mümkün olmamaktadır. Bu bileşikler için daha geniş bir anodik gerilime sahip olan katı elektrotların kullanımı daha çok tercih edilmektedir. Katı elektrotların durgun, dönen ve titreşen çeşitleri mevcuttur. Bu elektrotlar tel, levha veya disk şeklinde olabilmektedir.

Katı elektrotlarda yanıtın verimi ve tekrarlanabilirliği elektrot yüzeyine bağlıdır. Heterojen bir yüzeye sahip olmalarından dolayı kullanım öncesinde bu elektrotlara elektrot temizleme ön-işlemi ve parlatma işlemi uygulanmalıdır. Bu işlemler elektrodun türüne göre değişiklik göstermekle birlikte dönüşümlü gerilim taraması ve mekanik parlatma en çok kullanılan tekniklerdir. Ayrıca yüzey aktivasyonunu sağlamak için kimyasal, elektrokimyasal ve termal yüzey yöntemleri de kullanılmaktadır (Wang vd., 2000).

Katı elektrotların da en yaygın kullanılan iki çeşidi vardır. Bunlar; metal elektrotlar ve karbon elektrotlardır.

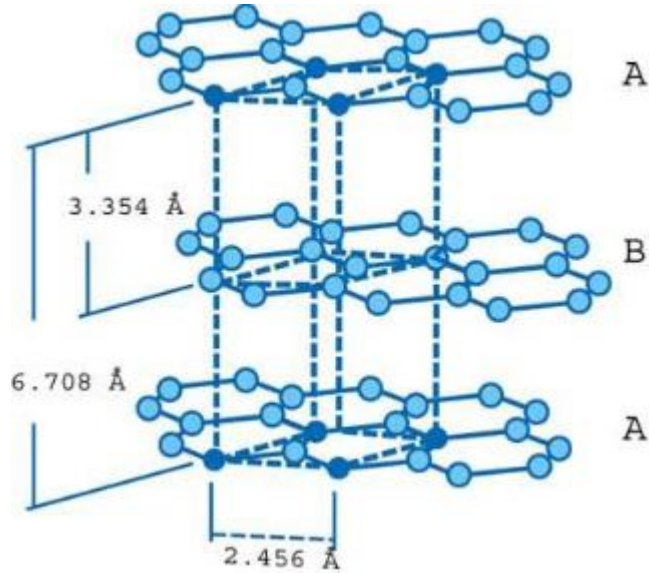
### ***Metal Elektrotlar***

Metal elektrotlar, soy metallere yapılmış olan elektrotlardır. Metal elektrot yapımında en çok kullanılan soy metaller altın ve platindir. Nadiren bakır, nikel ya da gümüş de kullanılabilir. Bunun yanında çinko, indiyum, iridyum, rutenyum oksit gibi metal oksitlerin kullanıldığı çalışmalara da rastlanmaktadır. Metal elektrotların kullanım aralığı oldukça düşüktür. Ortamının pH'ına göre çok küçük negatif gerilimlerde (-0.2V/-0.5V) kullanılabilirler. Özellikle altın ve platin elektrotların biyosensör teknolojisindeki kullanımı son yıllarda artış göstermiştir.

Bunun nedeni tiyol gruplarının bu elektrotlara olan ilgisi ve modifiye edilebilir olmalarıdır (Wang, 2000).

### ***Karbon Elektrotlar***

Karbon temelli elektrotlar, elektrokimyasal analizlerde en çok tercih edilen katı elektrotlardır. Çünkü karbon elektrotlar geniş bir gerilim aralığına sahiptir. Ayrıca yüzeyinin zengin bir bileşime sahip olması ve ucuzluğu da tercih sebeplerinden biridir. Karbon elektrotlar kimyasal tepkimelere karşı isteksiz ve düşük artık akım vermeleri ve yüksek duyarlılığa sahip olmaları açısından da çok kullanılan elektrotlardır. Metal elektrotlara göre elektron aktarım hızları oldukça yavaştır. Karbon elektrot yüzeyindeki grafit tozunun bileşiminde bulunan aromatik halkaların aktif oksijen uçları, çeşitli fonksiyonel grupları (hidrojen, hidroksil, karboksil grupları ve hatta kinonlar) karbon yüzeyine bağlayarak elektrot yüzeyinin kirlenmesine neden olmaktadır (Wang, 2000).



Şekil 1.11. Grafit tozunda bulunan karbon atomlarının dizilimi

Karbon elektrotlar beş gruba ayrılır. Bunlar, camsı karbon elektrot, karbon pasta elektrot, perde baskılı karbon elektrot, karbon-fiber elektrot ve kalem grafit elektrottur.

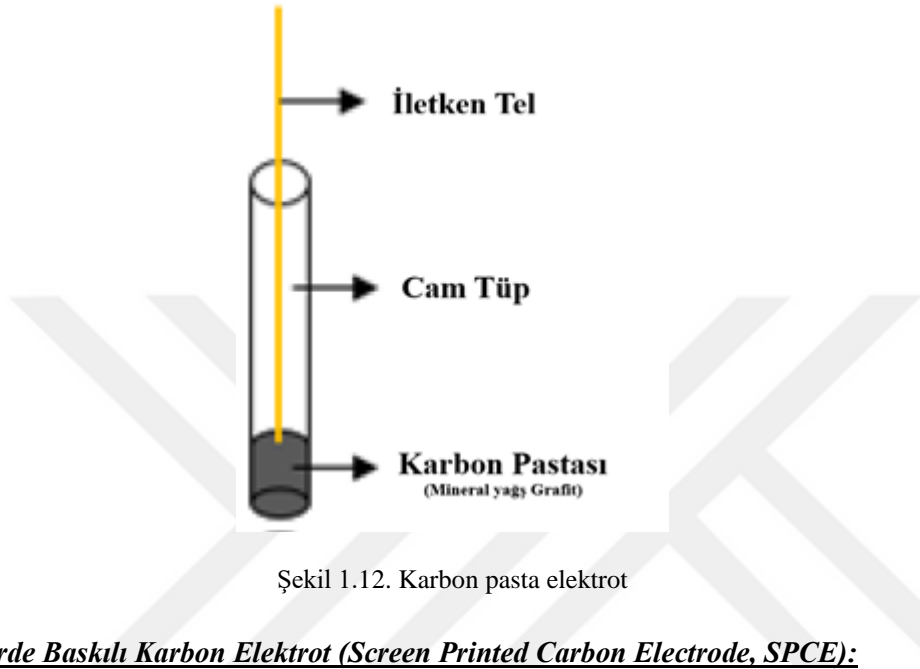
**Camsı Karbon Elektrot (Glassy Carbon Electrode, GCE):**

Camsı karbon elektrot, kullanım açısından çok yaygındır. Yaygın kullanılmasının en önemli nedenlerinin başında mekaniksel ve elektriksel özelliklerinin çok iyi olması gelmektedir. Ayrıca gerilim çalışma aralığının geniş olması, kimyasal açıdan inert olması ve tekrar edilebilirliğinin yüksek olması da yaygın kullanım nedenleri arasında sayılabilir. Elektrot gövdesi inert bir malzemeden oluşur. Camsı karbon, bu gövde içine elektrot yüzeyinden 1–2 mm konumuna kadar sıkıştırılarak elde edilmektedir. Camsı karbon elektrot ya fenol-formaldehit polimerlerinin kontrollü ısıtılmasıyla (300–1200 °C) ya da poliakrilonitrilin yüksek sıcaklık (1000–3000 °C) ve basınç altında karbonizasyona uğratılması ile elde edilmektedir. Eğer bu elektrot yüzey ön işlemine tabi tutulursa, elektrodun analitik performansında artış görülür. (Wang, 2000; Şahinçi, 2005).

**Karbon Pasta Elektrot (Carbon Paste Electrode, CPE):**

Karbon pasta elektrotlar da çok tercih edilen elektrotlardandır. En önemli tercih nedenlerinden biri kolay yenilenebilir olmaları ve yüzeylerinin modifiye edilebilir olmasıdır. Oluşturdukları artık akımın düşük olması ve ucuz olmaları da çok tercih edilme nedenlerindedir. Bu elektrotlarda karbon pastası denilen kısım, grafit tozunun suda karışmayan çeşitli organik bağlayıcılarla (mineral yağ, parafin yağı, silikon yağı, bromonaftalin) karıştırılması ile hazırlanmaktadır. Bu karışım camdan yapılmış elektrot gövdesi içerisine sıkıştırılır. Aynı zamanda iletken bir tel de gövdenin 2/3'ne kadar yerleştirilerek iletkenlik sağlanmış olur.

Karbon pastası adı verilen kısmın içeriği, elektrodun aktifliğini fazlasıyla etkilemektedir. En iyi performansı veren karışım, mineral yağ ve grafit karışımıdır. Geniş bir gerilim aralığında çalışmaya olanak sağlayan karbon pasta elektrot, kısa sürede ve kolay hazırlanan bir elektrottur. Ancak diğer elektrotlara göre tekrar edilebilirliği düşüktür. Ayrıca, kullanılan çözelti yüksek oranda organik çözücü içeriyorsa, karbon pastası çözeltide dağılabilmektedir (Urbaniczky ve Lundstrom, 1984; Wang, 2000; Kalcher, 1990)



**Perde Baskılı Karbon Elektrot (Screen Printed Carbon Electrode, SPCE):**

Geleceğin elektrotları olarak gösterilen perde baskılı elektrotların, özellikle biyosensör teknolojisinde önemi büyüktür (Lucarelli vd., 2002). Perde baskılı karbon elektrotlar, çeşitli mürekkeplerin poliester esnek film, seramik ya da plastik materyaller üzerine baskısından oluşur. Çalışma elektrodunu baskılamak için genellikle karbon ve platin mürekkep baskılı olanlar kullanılırken, karşılaştırma elektrodunun baskısında gümüş baskılı olanlar tercih edilmektedir (Hart, 1997; Prudenziati, 1994).

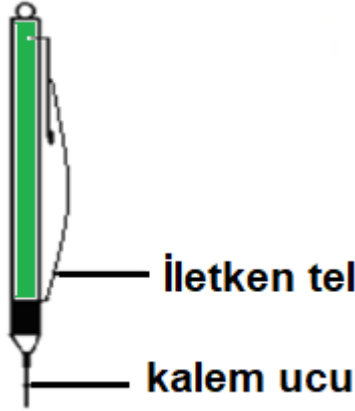
**Karbon Fiber Elektrot (Carbon Fiber Electrode, CFE):**

Karbon fiber elektrotlar, çok küçük boyutlara sahip olmalarından dolayı, mikro ve nano problemlerin üretimini olanaklı hale getirmekte ve bu da belli avantajlar sağlamaktadır. Örneğin, bu elektrotların tek hücre gibi küçük hacimli ortamlarda kullanımı canlı doku analizlerinde kullanılan diğer problemlere nazaran (örneğin mikrodializ problemleri) çok daha az zarar vermektedir. Elektroanalitik uygulamaların çoğunda 5–20 µm çapında karbon fiberler kullanılmaktadır. Bunlar istenilen doğrultuda difüzyonun gerçekleşmesini sağlamaktadır. Karbon fiber elektrot, küçük boyutları nedeniyle çeşitli mikro, çevresel ölçümlerin yapılmasına katkıda bulunmaktadır (Wang, 2000).

### **Kalem Grafit Elektrot (Pencil Graphite Electrode, PGE):**

Elektrot olarak sertliği ve çapı farklılık gösteren mekanik kurşun kalem uçları kullanılır. Bu uçlar, kil ve balmumu karışımı içerisinde grafit tozunun dağılması ve ardından ısıtılarak şekillendirilmesi ile üretilir. Burada kil yerine selüloz kullanılarak oksijensiz ortamda yanma işlemi uygulanırsa, selüloz karbona dönüşür elastiki bir yapı meydana gelir. PGE'ler, karbon pasta ve pirolitik karbon kadar kırılğan değildir. Camsı karbon kadar da sert değildir.

Tüm katı elektrotlarda olduğu gibi karbon elektrotlarla çalışılırken de bazı bileşiklerin yükseltgenme ürünleri elektrot üzerinde birikerek ince bir film tabakası oluşturur. Bu tabaka ölçümün doğruluğunu ve tekrarlanabilirliğini azaltır. 20. yüzyılın sonlarından bu yana el-yapımı kalem grafit (kalem ucu) elektrotlar (PGE) diğer karbon elektrotlara göre daha çok tercih edilmektedir (Wang vd., 2000; Wang ve Kawde, 2001). Tek kullanımlık olmaları ve kolaylıkla yeni bir elektrot yüzeyinin oluşturulabilmesinden dolayı elektrot temizleme işlemlerine gerek yoktur.



Şekil 1.13. Kalem grafit elektrot

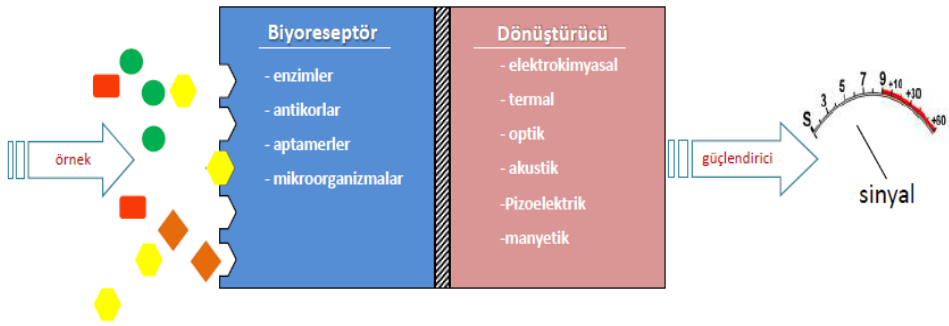
## **1.2. Sensör**

Bulunduğu ortamda, sıcaklık, basınç, mesafe gibi değerleri algılayabilen ve doğrudan ölçüm yapabilen cihazlardır. Sensörlerin, incelenen örneği etkilememesi önemlidir. İyi bir sensör tersinir olmalı ve devamlı yanıt alma yeteneğine sahip olmalıdır. Bir sensörün bölümleri şu şekilde sıralanabilir;

Tanıyıcı bölüm, çevirici bölüm ve elektronik bölüm.

### 1.2.1. Biyosensör

Analiz çözeltisi (örnek) ile biyolojik bileşen (biyoreseptör) arasında biyokimyasal bir reaksiyon gerçekleşir. Bu reaksiyon sonucunda oluşan sinyaller, dedektörde (dönüştürücü) elektrik sinyaline çevrilir. Buradan okunan sinyal sayesinde kalitatif veya kantitatif analizler gerçekleştirilir.



Şekil 1.14. Bir biyosensörün yapısı

Bir biyosensörün çalışabilmesi için biyolojik bir örneğe ihtiyaç vardır. Biyosensörler tasarlanırken, öncelikle biyosensörün hangi analiti tanıyacağı saptanmalıdır. Daha sonra analite uygun biyoreseptör seçilmelidir. Seçilen biyoreseptörün dönüştürücüye sabitlenmesinde kullanılacak uygun bir immobilizasyon metodu belirlenir. Biyoreseptörün analiti tanımasıyla kimyasal veya fiziksel sinyaller oluşur. Çeviriciler oluşan bu sinyalleri okunabilir sinyallere dönüştürür.

#### İdeal bir biyosensörün sahip olması gereken özellikler

**Duyarlılık:** Bir cihazın veya bir yöntemin duyarlılığı bir analit derişimindeki küçük farkları ayırt edebilme kabiliyetinin bir ölçüsüdür.

**Seçicilik:** Bir cihazın veya yöntemin seçiciliği, karmaşık bir matris içinde bulunan analiti diğer türlerden etkilenmeden ölçebilme kabiliyetidir. İdeal bir biyosensör mutlaka yeterli seçicilik düzeyine sahip olmalıdır.

**Ölçüm aralığı:** Kalibrasyon grafiğinin doğrusallık gösterdiği derişim aralığıdır.

**Ölçüm süresi:** Analit konsantrasyonundaki bir basamak değişime karşı cihazın yanıt vereceği ölçüm süresidir. Cihazın ölçme hızını gösterir.

**Tekrarlanabilirlik:** Aynı koşullarda yapılan deneyler sonucu elde edilen verilerin birbiri arasındaki uyum derecesi olarak ifade edilebilir. Tekrarlanabilirliğin iyi olması, biyosensörün ne kadar doğru sonuç verdiğinin bir göstergesi olarak kabul edilebilir.

**Tayin sınırı:** Cihazın veya yöntemin tayin edebileceği en düşük analit konsantrasyonunu ifade eder. Bu sınırı etkileyen bazı faktörler vardır. Bunlar, elektrot yüzeyinin büyüklüğü, biyolojik materyalin tayin edilecek maddeye afinitesi ve elektrot yüzeyine immobilize edilen madde miktarıdır.

**Kullanım Ömrü:** Cihazın, analit miktarına karşı verdiği yanıtın kabul edilebilir sınırlar içinde aynı kalma süresini gösterir. Eğer biyolojik çeviricinin aktivitesinde azalma meydana gelirse kullanım ömrü bundan etkilenir.

**Kararlılık:** Cihazın analit konsantrasyonuna verdiği yanıtın belirli bir süre içinde aynı kalma kabiliyetidir. Burada önemli olan biyolojik materyalin fiziksel dayanıklılığıdır.

**Kalibrasyon Gereksinimi:** İdeal bir biyosensör kalibrasyona gerek duymamalıdır.

**Hızlı Yanıt Zamanı:** Bir biyosensörün elektrodunun yanıt zamanı önemlidir. Bu değer elde edilen akım-zaman eğrilerine bakılarak tespit edilir.

**Basitlik ve Ucuzluk:** İdeal bir biyosensörün tasarımı basit ve ucuz, kullanımı da kolay olmalıdır.

**Küçültülebilirlik ve sterilize edilebilirlik:** Elektrotların sterilizasyonu ve boyutlarının küçük olması bir biyosensör için önemli bir ayrıntıdır. Ancak, sterilizasyonu engelleyen en önemli faktör biyolojik materyalin fiziksel dayanıklılığıdır (Hall, 1990).

### 1.2.1.1. Biyosensör Çeşitleri

Biyosensörler, genel olarak aşağıdaki şekilde sınıflandırılabilir:



### ***i. Manyetik Biyosensörler***

Ortamdaki manyetik değişiklikleri algılayan ve buna bağlı olarak çıkışında gerilim üreten sistemlerdir. Alan yoğunluğu, akım yoğunluğu, manyetik moment, geçirgenlik gibi manyetik alana bağlı değişkenlerin ölçümlerini kapsar.

### ***ii. Optik Biyosensörler***

Biyokimyasal bir tepkime sonrasında soğurulan ya da yayılan ışık dalgaları optik fiberlerle detektöre iletilmekte ve burada frekans ölçümü yapılmaktadır (Chaubey ve Malhotra, 2002).

### ***iii. Kütle Duyarlı Biyosensörler***

Kütle duyarlı biyosensörler, piezoelektrik madde üzerine uygulanan elektrik alan sayesinde maddedeki yükün ilerlemesi ile oluşan manyetik alan frekansının ölçümüne dayanmaktadır.

### ***iv. Isıl (Termal) Biyosensörler***

Biyokimyasal bir tepkime sırasında reaksiyon sıcaklığı ve adsorpsiyon sıcaklığındaki değişimin ölçülmesi ile analitin tayininin yapılması ilkesine dayanır (Chaubey ve Malhotra, 2002).

### ***v. Elektrokimyasal Biyosensörler***

Elektrokimyasal biyosensörlerde bir biyokimyasal tepkime sırasında, elektrokimyasal türlerin oluşturduğu sinyaller, bir dedektör tarafından ölçülebilen elektriksel sinyallere dönüştürülerek harcanır veya üretilir.

Elektrokimyasal biyosensörler, çevirici (transistör) ölçüm türüne göre üç gruba ayrılırlar. Bunlar, amperometrik biyosensörler, potansiyometrik biyosensörler, kondüktometrik biyosensörlerdir.

### ***Amperometrik Biyosensörler***

Bir türün, elektrokimyasal reaksiyonu sonucu meydana gelen akımın ölçülmesi prensibine dayalı bir biyosensördür. Çalışma elektrodu üzerine sabit bir gerilim uygulanmakta ve bu gerilim değerinde hücreden geçen akım değeri ölçülerek

kaydedilmektedir. Meydana gelen sinyalinin büyüklüğü elektroaktif türün derişimine bağlıdır. Amperometrik biyosensörlerin bazı üstünlükleri vardır. Bunlar, oldukça duyarlı, hızlı ve ucuz olmalarıdır.

### **Potansiyometrik Biyosensörler**

Potansiyometrik ölçümler çalışma elektrodu ile karşılaştırma elektrodu arasındaki gerilim farkının ölçülmesine dayanmaktadır. Bazı durumlarda da iki karşılaştırma elektrodu arasına geçirgen bir membran yerleştirilmekte ve burada meydana gelen gerilim farkı ölçülebilmektedir. Ölçülen bu değer örneğin bileşimi hakkında bilgi vermektedir.

### **Kondüktometrik Biyosensörler**

Kondüktometrik biyosensörler, ana çözelti veya elektrot yüzeyindeki ince film tabaka üzerinde meydana gelen elektrik iletkenliğinin değişimi üzerine kurulmuştur. Temelinde seçici olmayan bu yöntemde; elektrot yüzeyine uygulanan modifikasyon ve aletsel düzeyde yapılan gelişmeler, seçiciliğin artmasını sağlamıştır (Thevenot vd.,1999; Stradiotto vd., 2003).

Elektrokimyasal biyosensörler biyolojik tanıma unsuruna göre iki gruba ayrılırlar, Biokatalitik biyosensörler ve Afinite biyosensörleri.

***Biyokatalitik Biyosensörler:*** Biyokatalitik biyosensörlerde, biyoreseptör olarak enzim, doku ve bakteriler kullanılmaktadır. Bu nedenle bu biyosensörler, enzim temelli elektrotlar ile doku ve bakteri elektrotları olarak ikiye ayrılmaktadır.

***a- Enzim Temelli Elektrotlar:*** Enzimlerin görevi canlı organizmalarda kimyasal reaksiyonları katalizlemektir. Bu katalizörler çok seçici oldukları için birçok duyarlı uygulama alanında tanıma yüzeyi olarak kullanılmaktadırlar. Bir enzim tabakasının uygun bir elektrotla biraraya getirilmesi sonucu enzim temelli elektrotlar meydana gelmektedir. Bu işlem bir diyaliz membran ve elektrot arasına enzim çözeltilisinin immobilize edilmesiyle gerçekleştirilmektedir.

***b- Doku ve Bakteri Elektrotları:*** Bazı sistemlerde enzimlerin saf halde bulunamaması ya da saflaştırılmış enzimlerin sınırlandırılmış kararlılığı ve pahalı

olmaları gibi sebeplerden dolayı bu biyosensörlerin kullanımına ilişkin bazı sınırlamalar söz konusudur. Bu gibi durumlarda enzimler yerine bitki dokuları veya bakteriyel hücreler kullanılabilir. Bu elektrotların çalışma prensibi enzim temelli elektrotlar ile genel olarak aynıdır.

**Afinite biyosensörleri:** Afinite deyince akla, seçici bağlanma olayı gelmektedir. Bu biyosensörlerde antikor, reseptör, polinükleotit gibi biyomoleküller, hedef analitlere seçici olarak bağlanmaktadır. Bağlanma sonucunda oluşan elektrokimyasal sinyal ölçülmektedir. Bu sistem kullanılarak çok duyarlı ve seçici biyosensörler yapılmaktadır. Afinite biyosensörleri de üç grupta incelenebilir. Antikor temelli biyosensörler (immünosensörler), reseptör temelli biyosensörler ve nükleik asit temelli biyosensörler.

**a- Antikor temelli biyosensörler (immünosensörler):** Antikorlar, organizmaya dışarıdan giren yabancı moleküllerin (antijen vb.) bağlanması için üretilen proteinlerdir. Bağlanma sonucunda antikor ya da antijen derişimindeki değişiklik kaydedilmekte ve bu sayede tayin yapılmaktadır. Burada meydana gelen bağlanma tepkimeleri genellikle tersinmezdir. Bu nedenle bu biyosensörler yeniden kullanılamamaktadırlar. Dolayısıyla antikor temelli biyosensörler pahalı oldukları için çok tercih edilmemektedir.

**b- Reseptör temelli biyosensörler:** Hedef analiti özel olarak bağlamaya yarayan reseptörlerin, hücresel membrana yerleştirilmesiyle elde edilen proteinlerdir. Reseptör ile analit arasındaki seçici bağlanma sırasında iletkenlik değerleri ölçülerek tayin yapılmaktadır.

**c- Nükleik asit temelli biyosensörler:** RNA ve DNA temelli biyosensörlerdir. Bu biyosensörlerde iki şekilde sinyal alınarak tayin gerçekleştirilmektedir. Bunlardan biri, DNA'nın ikili sarmal yapısı arasına analitin girmesi, diğeri ise DNA'nın yapısındaki guaninin bazındaki değişimin doğrudan ölçülmesidir. Geleneksel yöntemlere göre daha hızlı ve ucuzdur. Bu analizler sayesinde bir çok genetik bilgi açığa çıkarılmıştır (Thevenot vd., 1999; Wang, 2000; Stradiotto vd., 2003).

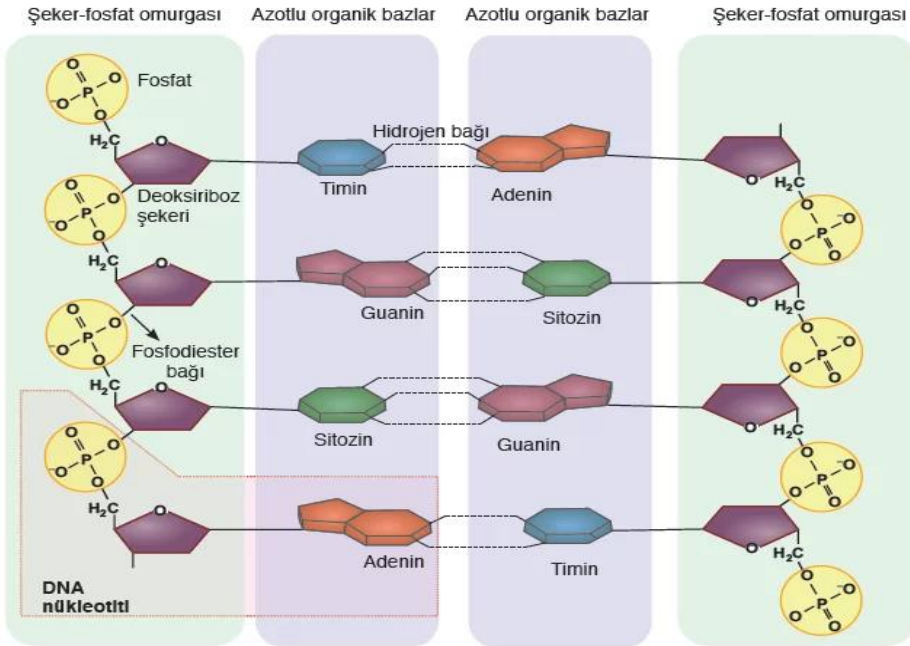
### 1.3. DNA'nın Yapısı

DNA (deoksiribonükleik asit) bütün canlı organizmaların hücrelerinde bulunan ve canlılığın tüm genetik özelliklerini taşıyan moleküldür. DNA molekülünün kendini

eşleme (replikasyon), bilgi depolama, toplanan bilgiyi ifade etme ve mutasyonla çeşitleme (varyasyon) gibi bazı özellikleri vardır.

İsviçreli kimyacı Friedrich Miescher tarafından ilk olarak 1868 yılında balık hücrelerinin çekirdeğinden yalıtılan DNA, 1900'lü yılların ortalarında yapılan çalışmalarla genetik madde olarak kabul edilmiştir. Hücre çekirdeğinde bulunan her bir kromozomda tek ve uzun bir DNA zincirine rastlanmaktadır. Bir DNA molekülünde belirli bir genetik özelliği içeren bölge gen adını almaktadır (Klug ve Cumming, 2007).

DNA molekülü, adenin, guanin, sitozin ve timin bazlarından oluşmaktadır. Ayrıca beş karbonlu şeker ve fosfat grupları içermektedir. DNA molekülünün başlıca görevi, canlıların genetik şifresini taşımak ve nesilden nesile aktarmaktır. DNA molekülünde pürin adı verilen adenin ve guanin bazları, pirimidin adı verilen sitozin ve timin bazlarına hidrojen bağları ile bağlanmaktadır. Adenin ile timin arasında ikili hidrojen bağı, guanin ile sitozin arasında üçlü hidrojen bağı bulunmaktadır.



Şekil 1.15. DNA çift sarmal yapısı

DNA molekülündeki adenin ve guanin bazlarının elektroaktif özelliği ilk kez Palecek tarafından bulunmuştur (Palecek, 1960). Günümüzde bu özelliğinden faydalanarak DNA'nın nitel ve nicel analizi yapılabilmektedir. Bu amaç için biyosensörler geliştirilmiştir. Geliştirilen bu biyosensörlerde tanıma yüzey katmanı olarak DNA kullanılmaya başlanmıştır (Brabec, 1983; Brabec ve Koudelka, 1980; Cai vd., 1996).

Biyo-tanıma yüzeyi olarak nükleik asit içeren biyosensörlere genosensör adı verilir. Genosensör, gene dayalı tayin yapan sensörlerdir. Genosensörler, sensörün tanıma yüzeyi ile etkileşen analitin (karsinojen maddeler, ilaçlar vb.) miktar tayininin yapılması, DNA'da meydana gelen hibridizasyon olaylarının izlenmesi gibi amaçlarla kullanılabilir (Muti vd., 2010, 2011; Erdem vd., 2012; Ekşin vd., 2013).

### **1.3.1. DNA Biyosensörleri**

DNA biyosensörleri, nükleik asit tanıma tabakasının bir çevirici ile birleştirilmesi sonucu meydana gelmektedir. Aletsel bir düzenek, moleküler bir tanıma tabakası, sinyal çevirici ve uygun bir okuyucudan oluşan sistemlerdir (Drummond vd., 2003).

Bu sistemlerde, hedefin DNA tanıma yüzeyine tutturulması ile meydana gelen hibritleşme sonucunda oluşan elektrik sinyalinden yararlanılarak analiz yapılmaktadır. DNA biyosensörlerinin çalışması baz dizisi belirli bir oligonükleotidin biyotanyıcı katmana immobilize edilmesi ile hedef dizinin belirlenmesi temeline dayanmaktadır (Tomschik vd., 1999; Molinier-Jumel vd., 1978).

DNA biyosensörlerinin bulunması, genlerin ve türlerin uğradıkları mutasyonun incelenmesi, DNA'yla etkileşen ilaçların mekanizmalarının belirlenmesi, bazı hastalıkların tayini gibi daha birçok alanda yapılan çalışmalar için önemli bir gelişme olmuştur.

Son yıllarda moleküler biyoloji ve biyoteknoloji alanındaki çalışmalar, DNA biyosensörleri için bir gelişim basamağı olmuştur.

#### **1.3.1.1. Elektrokimyasal DNA Biyosensörleri:**

Elektrokimyasal DNA biyosensörleri, iki başlık altında incelenebilir.

1. Madde-DNA etkileşimine dayalı biyosensörler
2. Nükleik asit hibridizasyonuna dayalı biyosensörler

### **Madde-DNA Etkileşimine Dayalı Biyosensörler**

DNA'nın, ilaç, toksik madde vb. bazı kimyasal maddeler ile etkileşimini inceleyerek, ilaç tasarımı, çevresel toksik madde analizleri ve çeşitli kimyasal savaş ajanlarının tayininde kullanılan biyosensörlerdir.

#### **a) İlaç-DNA Etkileşimine Dayalı DNA Biyosensörleri**

İlaç molekülleri ile DNA'nın etkileşmesi ve bu etkileşimin tayini, elektrokimyasal DNA biyosensörlerinin gelişimini sağlamıştır. Yeni sentezlenen ilaçların DNA ile etkileşmesinin tayini, kısa sürede ve hassas şekilde biyosensörlerle gerçekleştirilebilmektedir.

İlaç molekülünün dsDNA ile etkileşimi üç şekilde gerçekleşmektedir;

- ✓ Negatif yüklü şeker-fosfat grubu ile elektrostatik olarak etkileşim,
- ✓ Çift sarmalın büyük ve küçük oluklarına bağlanma veya
- ✓ İnterkalasyondur.

Bu sayede etkisini DNA'ya bağlanarak gösteren antikanser ilaçların etkileşim mekanizmalarının aydınlatılması da mümkün olmaktadır.

Elektrokimyasal biyosensörlerle yapılan ilaç-DNA etkileşimine dayalı çalışmalardan duyarlı bir tayin yapılabilmesi için DNA ile etkileşen ilacın kendi sinyalindeki değişim ve elde edilen sinyalde bir azalma veya artma gözlenmesi gerekir. Ayrıca, DNA bazları guanin veya adenin sinyallerindeki değişim de dikkate alınır. Yeni antibiyotik, antiviral, antitümör ilaç ve antisens oligonükleotidlerine dayalı ilaç hedefleme çalışmalarına yön vermek veya bir ilaç ham maddesinin detaylı analizinin duyarlı şekilde gerçekleştirilmesini sağlamak gibi amaçlarla madde-DNA etkileşimine dayalı biyosensörleri geliştirme çalışmaları devam etmektedir.

### **b) Toksik Madde-DNA Etkileşimine Dayalı DNA Biyosensörleri**

Toprak, su ve hava gibi çevresel ortamlarda oluşan toksik maddelerin canlı DNA'sına verdikleri zararın tespiti için de DNA biyosensörleri kullanılmaktadır. Toksik etkisi incelenecek maddenin, DNA ile sensör yüzeyinde veya çözelti bazında etkileşimi sonrasında, elde edilen sinyal farklanmaları incelenmektedir.

### **c) Kimyasal Savaş Ajanlarının Tayinine Yönelik Biyosensörler**

Kimyasal silah amacıyla kullanılan maddeler de benzer şekilde biyosensörlerle tayin edilebilir. Özellikle organofosfat bileşimine sahip maddelerin DNA'ya verdikleri büyük hasar, biyosensör kullanarak saptanabilmektedir ve bu alanda Wang ve arkadaşları akışa enjeksiyon yöntemi kullanarak nitroaromatik patlayıcılar ve organofosfatlı sinir gazlarının tayinini tek kanal mikroçip sisteminde gerçekleştirmişlerdir.

### **Nükleik Asit Hibridizasyonuna Dayalı Biyosensörler**

DNA hibridizasyon tayini için tasarımı yapılacak biyosensörlerin hedefteki tek bazda meydana gelecek farklılığı yakalamaya imkan verecek şekilde seçimliliğe ve düşük tayin sınırına sahip olması gerekmektedir.

İnsan, virüs ve bakteri DNA'sının baz dizilimlerinin aydınlatılmasıyla pek çok kalıtsal hastalığa sebep olan mutasyonlar artık saptanabilmektedir. Diziye özgü DNA biyosensörleri, bir çevirici sistem ile beraber DNA probundan oluşmaktadır. Tek sarmal kısa oligonükleotit içeren ve aranan hedefin baz dizisinin karşılığı olan proplar, çözelti içerisinde kendisine seçimli bağlanacak kısmı seçerek hibritleşirler.

### **DNA Biyosensörlerinde Prob Dizilerinin Elektrot Yüzeyine Tutturulma Yolları**

Hibridizasyon tayininin daha kolay gerçekleşmesi için, prob dizisinin elektrot yüzeyine güçlü ve düzenli bir şekilde bağlanması gerekmektedir. Bunun için DNA biyosensörlerinde 15-30 bazlı kısa DNA dizileri (oligonükleotidler), prob olarak elektrot yüzeyine tutturulmaktadır.

**a) Elektrostatik Yolla Prob Tutturulması**

Elektrot yüzeyine pozitif (+) potansiyel uygulanarak, negatif (-) yüklü fosfat omurgasına sahip olan DNA'nın elektrokrostatik çekim sayesinde, elektrot yüzeyine paralel olarak tutunması ilkesine dayanır. Kullanılan kimyasalların ucuz olmasından dolayı maliyeti düşük bir yöntemdir.

**b) Kovalent Yolla Prob Tutturulması**

Prob dizilerinin elektrot yüzeyine kovalent bağlanma ajanları kullanılarak tutturulması ilkesine dayanır. Bu yöntemle elektrot yüzeyinde oldukça düzenli ve dayanıklı bir prob tabakası oluşmaktadır. Bu durum hibridizasyon tayini için önemlidir. Fakat kullanılan kimyasalların pahalı olması ve diğer yöntemlere göre daha uzun sürmesinden dolayı çok tercih edilmemektedir.

**c) Afinite Yoluyla Prob Tutturulması**

Streptavidin ile kaplanmış çeşitli elektrot yüzeylerine ya da manyetik partiküller gibi yüzeyler üzerine, biyotin ile işaretlenmiş proplar, streptavidin ve biyotin arasındaki güçlü afinite nedeniyle spesifik (enzim-substrat) bir şekilde tutturulmaktadır.

**DNA Biyosensörleriyle Dizi Algılama Yöntemleri**

DNA biyosensörlerini kullanarak biyolojik örneklerden DNA dizisinin saptanması, özellikle moleküler tıp alanının önemli ölçüde ilerlemesini sağlamıştır (Thayer, 1999). Bu sayede insan, virüs, bakteri gibi biyolojik örneklerdeki baz diziliminin tayini yapılarak, bir çok kalıtsal hastalığın nedeni saptanabilmektedir. Bu şekilde tasarlanan biyosensörler, DNA bazlarının hibridizasyonu prensibine dayanmaktadır (Herne ve Tarlov, 1997; Wang vd, 1998a).

Biyosensörün hedef çözeltiliye daldırılması sonucu elektrot yüzeyinde bir hibrit meydana gelir. Oluşan bu hibrit, iki farklı yöntemle tayin edilebilmektedir. Bunlar; indikatöre dayalı algılama yöntemleri ve indikatörsüz algılama yöntemleri şeklinde sınıflandırılabilir. İndikatöre dayalı dizi algılama yönteminde elektrot, indikatörü içeren çözeltiliye daldırılarak indikatör ile elektrot yüzeyindeki hibritin



birbirine bağlanması sağlanır. Bağlanma düzeylerine bakılarak tayin gerçekleştirilir. (Del Pozo vd., 2005; Millan ve Mikkelsen, 1993). İndikatörsüz algılama yönteminde ise, DNA bazlarından biri olan elektroaktif guanin bazının +1.0 V'da verdiği yükseltgenme sinyaline bakılır. Bağlanma öncesi ve sonrasında guanin bazından alınan sinyalin farklanmasına bakılarak tayin gerçekleştirilir (Brett vd., 1998; Wang vd., 1998b).

### **a) İndikatöre Dayalı DNA Dizi Algılama Yöntemleri**

İndikatöre dayalı DNA dizisi algılanması, DNA'ya interkalasyon ile bağlanma veya DNA dizisindeki bazlarla özgün etkileşme olmak üzere iki farklı şekilde meydana gelmektedir. Her iki yöntemde de indikatör olarak elektroaktif maddeler kullanılmaktadır. Bu yöntemde, elektrot yüzeyindeki hibrit ile indikatörün etkileşmesi sonucu meydana gelen elektrokimyasal yanıtın artması ya da azalmasına bakılarak tayin gerçekleştirilmektedir.

İndikatör olarak kullanılan elektroaktif maddeler, ssDNA (tek sarmal) ve dsDNA (çift sarmal) ile etkileştiklerinde birbirlerinden farklı yanıtlar vermektedir. Genellikle hibridizasyon indikatörü olarak kullanılan maddeler, Ru(II), Co(III), Os(II), Os(IV)'un 1,10-Fenantrolin ve 2,2'-piridin şelatları olarak sıralanabilir (Kadayıfçılar, 2003).

**İnterkalasyon ile DNA dizisi algılama yöntemi:** Bir maddenin DNA çift sarmal yapısındaki bazlar arasına yerleşmesine interkalasyon adı verilir. Eğer madde ssDNA ve dsDNA ile ayrı ayrı etkileşime sokulduğunda, maddenin dsDNA ile etkileşiminden elde edilen sinyal, ssDNA ile etkileşiminden elde edilen sinyale göre çok yüksek çıkarsa bu maddenin DNA'ya bağlanırken interkale olduğunu, dolayısıyla maddenin dsDNA'ya bağlanma eğiliminde olduğunu göstermektedir.

### **DNA bazlarıyla etkileşim sonucu DNA dizisi algılama yöntemi:**

Hibridizasyon indikatörü olarak kullanılan madde, DNA'nın bazlarından biriyle, özellikle de guanin ile özgün olarak etkileşim göstermektedir. Bu durumda ssDNA ile etkileşimde meydana gelen madde sinyali, bazların açıkta olması nedeniyle, dsDNA ile etkileşimde meydana gelen madde sinyaline göre çok yüksektir. Çünkü ssDNA'da bazlar açıkta olduğu için hibridizasyon çok daha kolay gerçekleşmektedir.

**b) İndikatörsüz ortamda DNA dizisi algılama yöntemleri**

İndikatörün kullanılmadığı durumlarda elektrot yüzeyine tutturulan tek sarmal prob diziye (ssDNA) ait guanin bazlarının verdiği elektrokimyasal yanıt (guanin bazının yükseltgenme sinyali) ile probun komplementeriyle birleşmesinden sonra oluşan çift sarmal DNA'ya ait guanin bazlarından alınan elektrokimyasal yanıt arasında büyük bir farklanma oluşmaktadır. Bu farklanma sayesinde hibridizasyon tayini yapılabilmektedir.



## 2. KAYNAK ÖZETLERİ

Literatürde, çeşitli antikanser ilaç ile DNA etkileşimine dayalı çalışmalar mevcuttur.

Bir antikanser ilaç olan methotrexate (MTX)'ın 3 farklı biyolojik tür ile etkileşiminin incelendiği çalışmada methotrexate immobilize edilmiş grafen modifiye yüzeyde ilacın, buzağı timüs bezi DNA'sı (ctDNA), fare 4T1 meme tümörü, insan sünnet derisi hücreleri ile etkileşimi incelenmiştir. Grafen yüzeye immobilize edilen MTX miktarının immobilizasyonun türünü belirlediği, modifiye MTX'in ctDNA'ya yüksek afinite ile bağlandığı, DNA'nın etkileşiminin elektrostatik ve/veya muhtemelen MTX'in sahip olduğu O-H, N-H ve C-O grupları üzerinden DNA'ya H bağı ile gerçekleştiği bildirilmektedir (Shervedani vd., 2018).

Antikanser ilaç olan mitomisin C (MMC) ile DNA etkileşiminin incelendiği çalışmada MMC'nin geniş bir spektrumda anti tümör aktivite gösterdiği, DNA ile etkileşimi sonucu MMC metabolitlerinin DNA'da hasar meydana getirdiği ve meydana gelen hasar sonucu açığa çıkan 8-oxo Guanin ve 2,8-oxo Adenin'in tespit edilebildiği bildirilmiştir (Bruzaca vd., 2017).

Bir antikanser ilaç ile DNA etkileşimine dayanan bir başka çalışma, Saljooqi ve arkadaşları tarafından yapılmıştır. Söz konusu çalışmada yüzeyi Ag-4-ATP-MWCNT nanokompozit ile modifiye edilmiş karbon pasta elektrot yüzeyine çift sarmal DNA immobilize edilmiş ve elde edilen yeni yüzey, daunorubisin ile DNA'nın etkileşimini tespit etmek için kullanılmıştır. Çalışmada doğrusal çalışma aralığı  $0.1 \times 10^{-8}$ - $1.0 \times 10^{-5}$  mol/L, tayin ve gözlenebilir sınırları ise sırasıyla  $3 \times 10^{-10}$  ve  $1 \times 10^{-9}$  mol/L olarak bildirilmiştir (Saljooqi vd., 2017).

Diğer bir çalışmada bir anthracycline grubu antikanser ilacı olan daunorubisin (DNR) ile bir nörotransmitter olan dopamin (DA)'ın DNA ile etkileşimi incelenmiştir. Çalışmada kompleks bağlanma sabitlerinin amperometrik titrasyon ile tespit edildiği rapor edilmiştir (Ribeiro vd., 2015).

Polianilin modifiye camsı karbon elektrot yüzeyinde gerçekleştirilen bir başka çalışma Kulikova ve arkadaşları tarafından rapor edilmiştir. Bu çalışmada camsı karbon elektrot yüzeyine önce DNA immobilize edilmiştir. Söz konusu yüzeye antikanser ilaçtan önce metilen mavisi damlatıldığı ve metilen mavisi ile doxorubisin arasındaki yarışmalı reaksiyon nedeniyle doxorubisinin DNA'ya daha

yüksek oranda bağlandığı, bunun sonucunda da doxorubisin tayini için daha düşük tayin sınırları elde edildiği bildirilmiştir (Kulikova vd., 2019).

6-Tioguanin kanser tedavisinde kullanılan bir başka antikanser ilaçtır. 6-Tioguanin ile DNA etkileşiminin incelendiği çalışma Ünal ve arkadaşları tarafından gerçekleştirilmiştir. Bu çalışmada Kalem grafit elektrot yüzeyi tek duvarlı karbon nanotüp (SWCNT) ile modifiye edilmiş, elde edilen nanoyüzey 6-Tioguaninin çift sarmal DNA ile etkileşiminde kullanılmıştır (Ünal vd., 2017).

Tek duvarlı karbon nanotüp modifiye tek kullanımlık kalem grafit elektrot yüzeyinde gerçekleştirilen bir başka çalışmada antikanser ilaç lumazin ile DNA etkileşimi incelenmiştir. Yazarlar bu çalışmada Diferansiyel Puls Voltametri ve Elektrokimyasal Empedans Spektrometri tekniklerini kullanmışlardır (Karadeniz vd., 2019).

Antikanser ilaç daunomycin ile DNA etkileşiminin Kafeik asit varlığında incelendiği bir çalışmada yazarlar, kafeik asidin DNA'nın minor oluklarına bağlandığı bu nedenle de kafeik asit varlığının antikanser ilaç daunomisin DNA ile etkileşimini engellediğini bildirmişlerdir (Muti ve Muti, 2018).

### 3. MATERYAL VE YÖNTEM

#### 3.1. Deneylerde Kullanılan Kimyasallar

Kullanılan Kimyasallar	Marka
Bendamustin	Sigma-Aldrich
Asetik Asit ( $\text{CH}_3\text{COOH}$ )	Sigma-Aldrich
Fosforik Asit ( $\text{H}_3\text{PO}_4$ )	Sigma-Aldrich
Borik Asit ( $\text{H}_3\text{BO}_3$ )	Merck
Sodyum hidroksit ( $\text{NaOH}$ )	Sigma-Aldrich
Sodyum klorür ( $\text{NaCl}$ )	Sigma-Aldrich
Potasyum hegzasiyanoferrat ( $\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ )	Sigma-Aldrich
Potasyum hegzasiyanoferrit ( $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ )	Sigma-Aldrich
Potasyum klorür ( $\text{KCl}$ )	Sigma-Aldrich
Tris (hidroksimetil) aminometan hidroklorür	Sigma-Aldrich
Kafeik Asit	Aldrich
Kumarik Asit	Aldrich
Kuersetin	Sigma
Troloks	Sigma
Etanol	Sigma Aldrich
Buzağı timüs bezi DNA'sı çift sarmal ctdsDNA)	Sigma

Buzağı timüs bezi DNA'sı tek sarmal (ctssDNA)	Sigma Aldrich
Balık spermi DNA'sı (fsDNA)	Sigma Aldrich

### 3.2. Deneyleerde Kullanılan Cihazlar

Kullanılan Cihazlar	Marka
Elektrokimyasal analizör	Ivium Compact Stat
pH metre	Orion Star, Thermo Scientific
Analitik Hassas terazi	XB Serisi, Precisa
Vorteks	Classic, Velp Scientifica
Manyetik karıştırıcı	Misung Scientific Co, MS 3000 serisi
Ultrasonikatör	Bandelin Sonorex
Ultra saf su cihazı	LABCONCO WaterPro PS
Cell Stand	C3-BASI
Ag/AgCl Referans Elektrot	BASI
Pt Karşıt Elektrot	BASI

### 3.3. Deneyleerde Kullanılan Çözeltiler ve Hazırlanışları

#### 3.3.1. Tampon Çözeltilerin Hazırlanması

Tüm tampon çözeltilerin hazırlanmasında ultra saf su kullanıldı. Tampon çözeltiler hazırlandıktan sonra cam şişelerde, buzdolabında saklandı.

### **3.3.1.1. 0.1 M Britton-Robinson (BR) Tampon Çözeltisinin Hazırlanması**

6.1830 g  $H_3BO_3$ , 6.75 mL  $H_3PO_4$  (% 85,  $d=1.71$  g/mL), 5.75 mL  $CH_3COOH$  (% 100,  $d= 1.05$  g/mL) ve 7.45 g KCl karıştırılarak ultra saf su ile 1000 mL'ye tamamlandı. Hazırlanan stok tampon çözeltiden alınan 250 mL'lik kısımlar üzerine 2 M NaOH çözeltisinden damla damla ilave edilerek pH'sı istenilen değere ayarlandı.

### **3.3.1.2. 0.5 M Asetat Tampon Çözeltisinin (ABS) Hazırlanması**

28.9 mL asetik asit ultra saf su ile 1000 mL'ye tamamlandı. Asetat tamponunun hazırlanması ve çözeltinin pH'sının 4.8 değerine ayarlanması işlemi, 2 M NaOH çözeltisinden damla damla ilave ederek pH metre kullanılarak gerçekleştirildi. Çözeltiye 1.168 g NaCl (0.02 mol) eklenerek çözelti hazır hale getirildi.

### **3.3.1.3. Tris-EDTA Tampon Çözeltisinin Hazırlanması**

Oligonükleitid çözeltilerinin hazırlanması için kullanılan Tris EDTA tampon çözeltisi, litresinde 1.576 g Trizma HCl ve 0.372 g EDTA içermektedir. Çözeltinin pH'sının 8.0 değerine ayarlanması, 0.1 N NaOH ve /veya 0.1 N HCl ilavesiyle, pH metre ile ölçülerek gerçekleştirilmiştir.

### **3.3.1.4. Tris HCl Tampon Çözeltisinin (TBS) hazırlanması**

Kullanılan 0.02 M Tris HCl tampon çözeltisi (TBS) litresinde 3.152 g Trizma HCl ve 1.168 g NaCl (0.02 mol) içermektedir. Çözeltinin pH'sının 7.0 değerine ayarlanması 0.1 N NaOH ve /veya 0.1 N HCl ilavesiyle pH metre ile ölçülerek gerçekleştirildi.

### **3.3.2. Redoks Çözeltisinin Hazırlanması**

Empedans ölçümlerinde kullanılan redoks çözeltisi, litresinde 0.822 g  $K_3Fe(CN)_6$ , 1.040 g  $K_4Fe(CN)_6$  ve 7.45 g KCl içerecek şekilde ultra saf suda hazırlandı.

### **3.3.3. Stok Çözeltilerin Hazırlanması**

#### **3.3.3.1. Stok Bendamustin Çözeltisinin Hazırlanması**

BND stok çözeltisi 1000 mg/L konsantrasyonunda ultrasaf su içerisinde hazırlandı ve gerekli seyreltmeler 20 mM Tris-HCl tampon çözelti içerisinde yapıldı (TBS, pH 7.2).

#### **3.3.3.2. Stok DNA Çözeltilerinin Hazırlanması**

Stok DNA çözeltileri (ctssDNA, ctdsDNA ve fsDNA) derişimleri 1000 mg/L olacak şekilde Tris-EDTA tampon çözeltisi (10 mM Tris-HCl, 1 mM EDTA, pH 8.00) içinde hazırlandı ve buzlukta saklandı. Gerekli seyreltmeler 20 mM NaCl içeren 0.5 M ABS içerisinde yapıldı.

#### **3.3.3.3. Kafeik Asit Çözeltisinin Hazırlanması**

Kafeik asit stok çözeltisi günlük olarak 10 mM derişimde etanol+su karışımında (1:1) 15 dakika ultrasonikatörde bekletilerek hazırlandı.

#### **3.3.3.4. Kumarik Asit Çözeltisinin Hazırlanması**

Kumarik asit stok çözeltisi günlük olarak 10 mM derişimde etanol+su karışımında (1:1) 15 dakika ultrasonikatörde bekletilerek hazırlandı.

#### **3.3.3.5. Troloks Çözeltisinin Hazırlanması**

Troloks stok çözeltisi günlük olarak 10 mM derişimde etanol+su karışımında (1:1) 15 dakika ultrasonikatörde bekletilerek hazırlandı.

#### **3.3.3.6. Kuersetin Çözeltisinin Hazırlanması**

Kuersetin stok çözeltisi günlük olarak 10 mM derişimde etanol+su karışımında (1:1) 15 dakika ultrasonikatörde bekletilerek hazırlandı.



### 3.4. Deneylerde Kullanılan Çalışma Elektrotların Hazırlanması

#### 3.4.1. Kalem Grafit Elektrotların (PGE) Hazırlanması

Çalışmalarda kullanılan kalem grafit elektrotlar (Tombo, 0.5 HB), Live firmasından satın alındı ve kalem uçlarının 3.0 cm boyutunda kesilmesiyle hazırlandı. Elektrokimyasal hücre içerisinde 1.0 cm kalacak şekilde kalem içerisine yerleştirildi.

#### 3.4.2. Kalem Grafit Elektrotların Yüzey Aktivasyonu

Kalem grafit elektrotlar, 0.5 M asetat tampon çözeltisi (ABS) içerisinde + 1.4 V potansiyel uygulanarak 30 s süre ile çözelti karıştırılmadan yüzeyleri aktive edildi. Bu işlem ile karbon elektrotların yüzeyindeki gruplar, karboksil gruplarına yükseltgenmiştir.

### 3.5. Elektrokimyasal Ölçümler

Tüm elektrokimyasal ölçümlerde üçlü elektrot sistemi kullanılmıştır. Çalışma elektrodu olarak kalem grafit elektrot, referans elektrot olarak Ag/AgCl elektrot, yardımcı elektrot olarak ise platin tel kullanılmıştır.

#### 3.5.1. Voltametik Ölçümler

Tüm voltametik ölçümler 0.5 M ABS içerisinde diferansiyel puls voltametri (DPV) tekniği kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

*Diferansiyel Puls Voltametri (DPV) Koşulları:*

$E_{\text{başlangıç}}$	0 V	Puls Genişliği	50 mV
$E_{\text{son}}$	1.5 V	$E_{\text{adım}}$	20 mV
Puls Süresi	50 ms	Tarama Hızı	50 mV/s

### **3.5.2. Elektrokimyasal Empedans Spektrometri (EIS) Ölçümleri**

Empedans ölçümleri 0.1 M KCl içeren 2.5 mM  $\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-/3-}$  (1:1) karışımı içerisinde Faraday kafesinde gerçekleştirildi. Empedans spektrometrisinde, uygulanan 100 mHz -100 kHz frekans aralığında 98 farklı frekansta, elektrot yüzeyinde elektron transferine karşı oluşan direnç ölçüldü.

### **3.5. Elektrotların Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) ile Yüzey Karakterizasyonu**

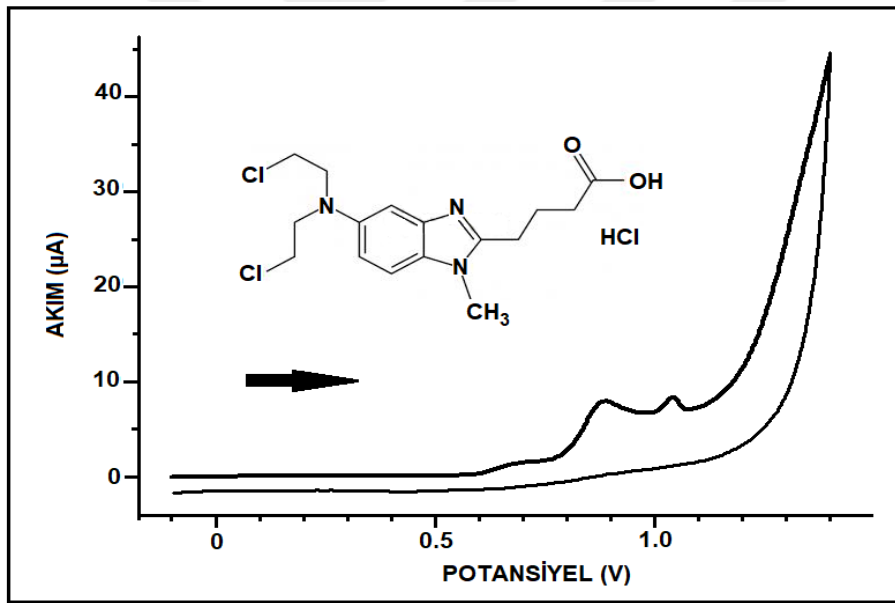
Yalın ve yüzeyine DNA immobilize edilmiş PGE yüzeylerinin mikroskobik karakterizasyonu, JEOL JSM-7600F alan emisyonu taramalı elektron mikroskobu (hızlandırma potansiyeli 15.0 KV) kullanılarak, Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi Malzeme Araştırma Laboratuvar'nda uzman personel tarafından gerçekleştirildi.

## 4. BULGULAR VE TARTIŞMA

### 4.1. Elektrokimyasal Davranışların Belirlenmesine Yönelik Çalışmalar

#### 4.1.1. Antikanser İlaç Bendamustin

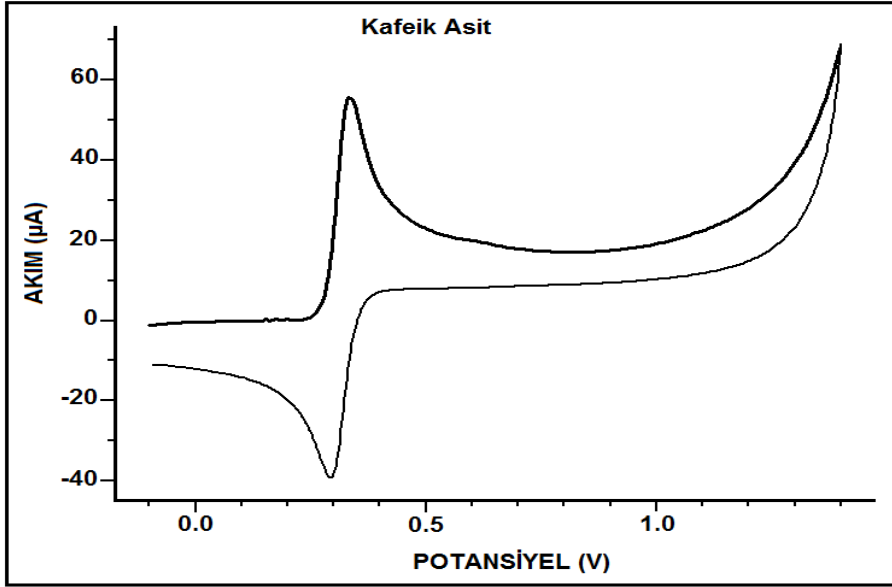
Bendamustinin (BND) elektrokimyasal davranışını belirlemek için pH. 4.8 ABS içerisinde hazırlanmış olan 50 mg/L BND çözeltisine PGE daldırılarak -0.1 V ile +1.4 V potansiyel aralığında dönüşümlü voltamogramı alındı. Elde edilen sonuç, şekil 4.1 'de gösterilmektedir.



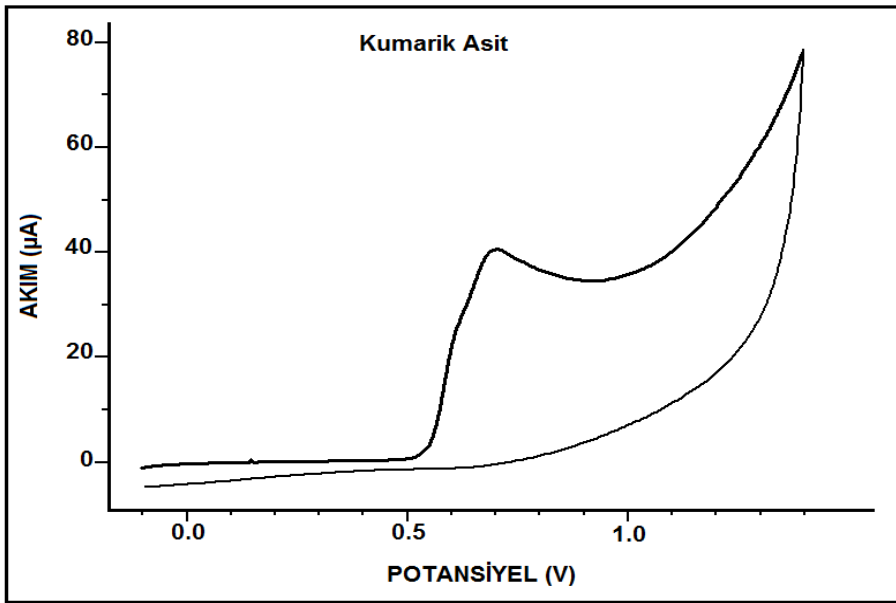
Şekil 4.1. 50 µg/mL Bendamustin'in ABS içindeki dönüşümlü voltamogramı

#### 4.1.2. Antioksidanlar (Kafeik Asit, Kumarik Asit, Kuersetin, Troloks)

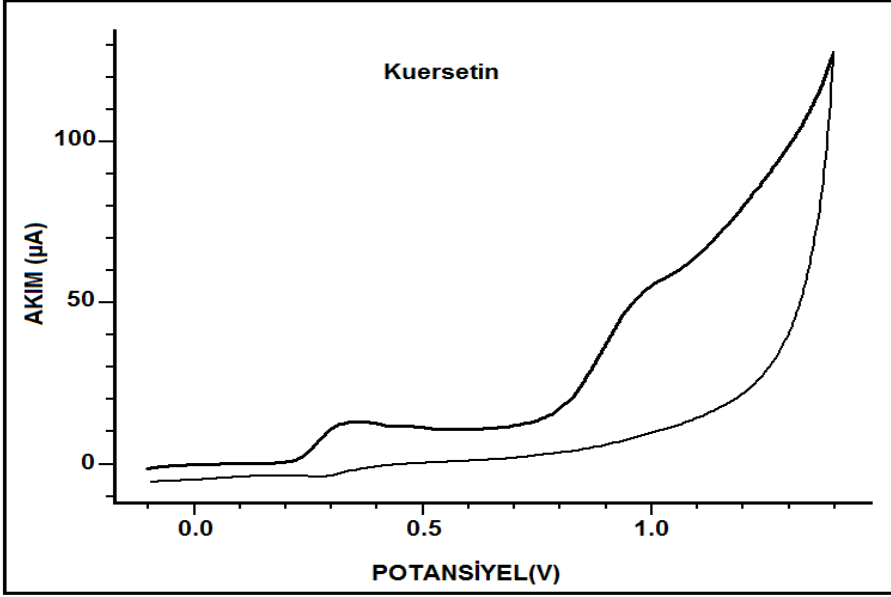
Tüm antioksidanlar  $10^{-2}$  M olacak şekilde etanol su karışımı içinde hazırlandı. Aktive edilmemiş kalem grafit elektrot bu çözeltilere daldırıldı ve dönüşümlü voltametri tekniği kullanılarak antioksidanların elektrokimyasal davranışları belirlendi. Her bir antioksidana ait dönüşümlü voltamogramlar Kafeik asit, Kumarik Asit, Kuersetin ve Troloks için sırasıyla şekil 4.2, 4.3, 4.4, ve 4.5 te görülmektedir.



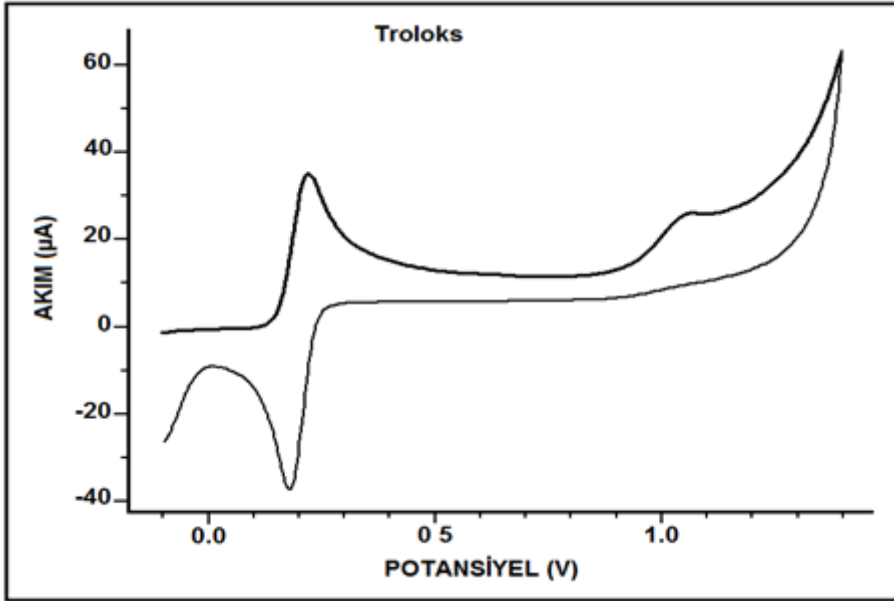
Şekil 4.2.  $10^{-2}$  M Kafeik Asidin pH: 4.8 ABS içinde alınmış dönüşümlü voltamogramı



Şekil 4.3.  $10^{-2}$  M Kumarik Asidin pH: 4.8 ABS içinde alınmış dönüşümlü voltamogramı



Şekil 4.4.  $10^{-2}$  M Kuersetinin pH: 4.8 ABS içinde alınmış dönüşümlü voltamogramı



Şekil 4.5.  $10^{-2}$  M Troloksun pH: 4.8 ABS içinde alınmış dönüşümlü voltamogramı

## 4.2. Ölçümlerin Alınacağı Elektrolitin Belirlenmesi

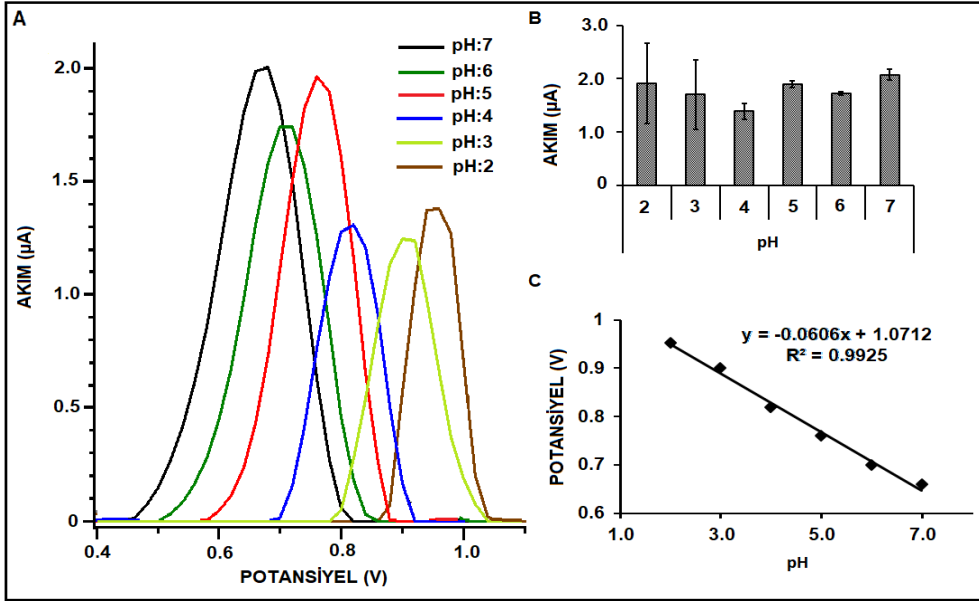
BND ile DNA arasındaki etkileşimin hangi elektrolit içerisinde ölçüleceğini tespit etmek için pH değeri 2-7 arasında değişen BR tamponu içerisinde BND yükseltgenme sinyali ölçüldü. Elde edilen voltamogram ve bu voltamogramların ortalama değeri kullanılarak hazırlanmış olan histogram şekil 4.6'da görülmektedir. Çalışmada kullanılan elektrolit, geniş bir pH aralığında tampon çözelti hazırlanmasına imkan veren Britton-Robinson (BR) tamponudur. İyonik şiddetten kaynaklanan farklanmayı önlemek amacıyla ölçümler pH değerleri farklı olan BR tampon çözeltisi içinde alınmıştır.

pH'ın BND oksidasyon potansiyeli ve akımı üzerindeki etkisi, farklı pH değerlerinde (2.0-7.0 arasında 6 farklı pH'ta) Britton Robinson (BR) tampon çözeltisinde DPV tekniği kullanılarak incelenmiştir. Şekil 4.6-A ve B'de anlaşılabilceği gibi, en yüksek oksidasyon sinyali pH:5 ve 7 olan elektrolit içerisinde ölçülmüştür.

BND'nin yükseltgenme pik potansiyeli, pH artışı ile daha negatif potansiyel değerlerine kaymaktadır (Şekil 4.6-C). Bu davranış, BND'nin oksidasyon mekanizmasının proton transferinin yanı sıra elektron transferini içerdiğini gösterir. Doğrusal ilişkinin ( $E_p$ ) pH değeri ile ilişkili en yüksek potansiyeli:

$$E_p = -0.0606\text{pH} + 1.0712 \quad (R^2 = 0.9925).$$

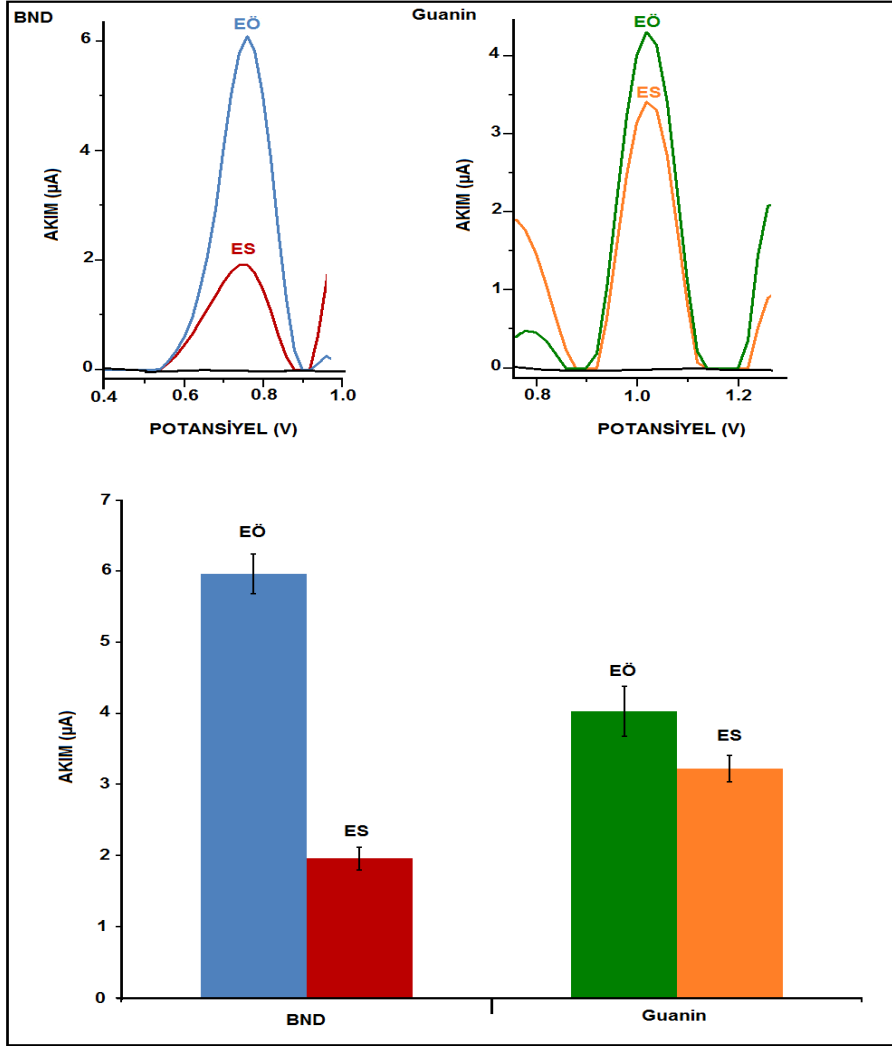
Bu denklemin eğimi ( $0.0606\text{V} / \text{pH}$ )  $0.059 \text{ V} / \text{pH}$  teorik değeri ile hemen hemen aynıdır ve bu sonuç, elektrot reaksiyon mekanizmasında, aktarılan elektron ve proton sayılarının eşit olduğunu göstermektedir.



Şekil 4.6. Farklı pH'larda BR tampon çözeltisi içinde alınmış BND yükseltgenme sinyaline ait A) Voltamogram ve B) Voltamogramların ortalamalarından hazırlanmış olan histogramlar. C) Farklı pH'lardaki elektrolitler içinde ölçülmüş BND yükseltgenme potansiyelleri (n=3).

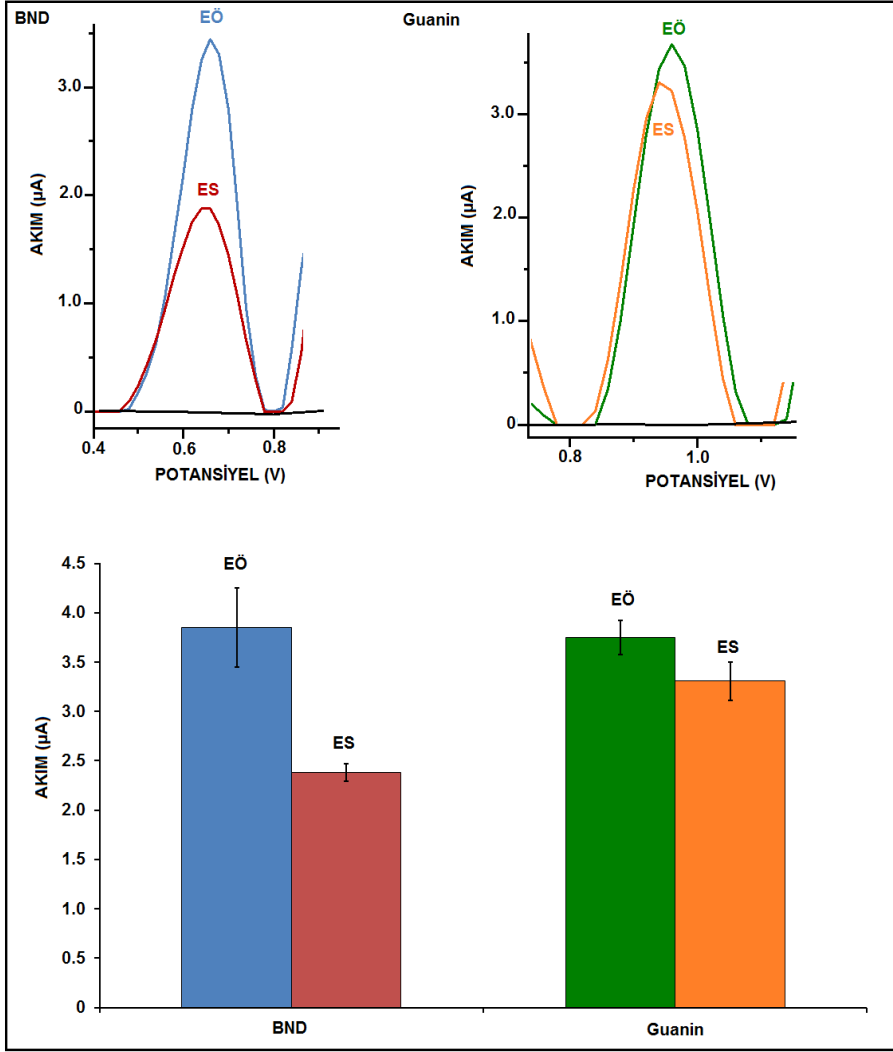
Şekilden de görüldüğü gibi BND'ye ait yükseltgenme sinyalinin en yüksek olduğu pH değerinin pH 7 olduğu görülmektedir. Ancak etkileşimin en fazla hangi pH değerine sahip elektrolit içinde gerçekleştiğini belirlemek amacıyla ayrıca pH:5 ve pH:7 BR içinde etkileşim çalışmaları yapılmış ve hem BND hem de Guanin sinyalindeki düşmeler hesaplanarak bundan sonraki ölçümlerin hangi elektrolit içinde alınması gerektiğine karar verilmesi planlanmıştır.

Şekil 4.7, pH 5'te ölçülmüş etkileşimden önce ve sonraki BND ve Guanin sinyallerini, şekil 4.8 ise pH:7'de ölçülmüş BND ve Guanin yükseltgenme sinyallerini göstermektedir.



Şekil 4.7. BND ve guaninin etkileşimden önce (EÖ) ve etkileşimden sonra (ES) yükseltgenme sinyallerini gösteren voltamogram ve histogramlar. Elektrolit: pH:5 BR. Siyah voltamogram tampon sinyalini göstermektedir.





Şekil 4.8. BND ve guaninin etkileşimden önce (EÖ) ve etkileşimden sonra (ES) yükseltgenme sinyallerini gösteren voltamogram ve histogramlar. Elektrolit: pH:7 BR. Siyah voltamogram tampon sinyalini göstermektedir.

Aşağıdaki çizelgede ayrıca etkileşimden önce ve sonraki BND ve Guanin yükseltgenme sinyalleri, % bağıl standart sapma (%BSS) ve ölçüm sayısı (n) gösterilmektedir. Ayrıca etkileşim sonrası BND ve Guanin sinyallerindeki azalmalar da % olarak çizelgede gösterilmiştir.

Çizelge 1. Farklı Elektrolitler içinde etkileşimden önce ve sonra ölçülmüş BND ve Guanin yükseltgenme sinyallerinin sayısal değerleri

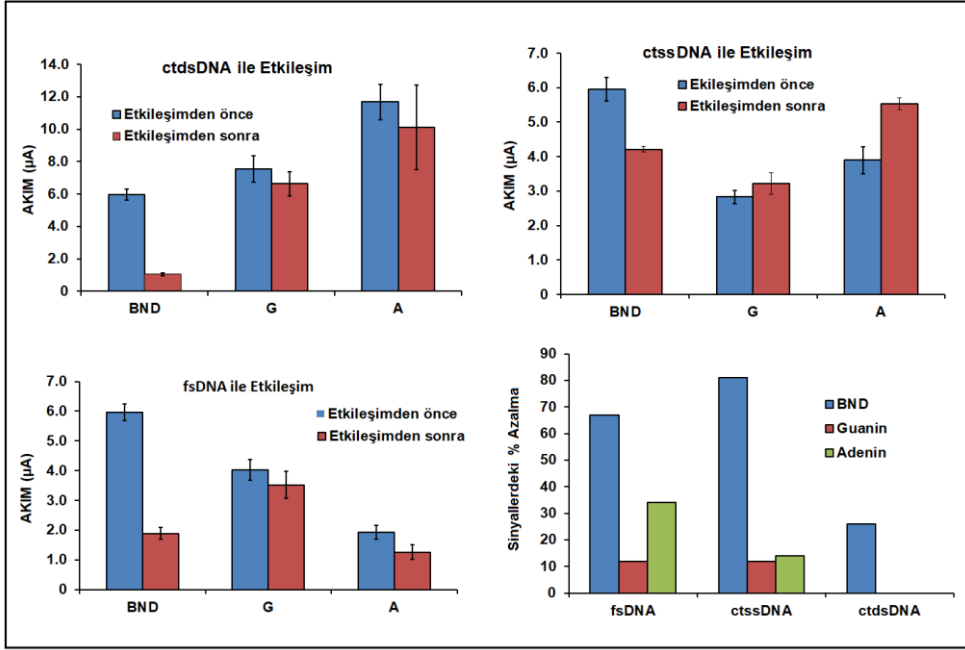
Elektrolit	Yükseltgenme sinyalleri ( $\mu\text{A}$ )					
	Etkileşimden önce		Etkileşimden sonra		% Azalma	
	BND	G	BND	G	BND	G
BR						
pH:5	<b>5.96</b>	<b>4.03</b>	<b>1.96</b>	<b>3.22</b>	<b>67.1</b>	<b>20.1</b>
	%BSS= 4.7	%BSS=8.7	%BSS=8.2	%BSS=5.8		
	n=5	n=4	n=4	n=3		
pH: 7	<b>3.85</b>	<b>3.75</b>	<b>2.38</b>	<b>3.31</b>	<b>38.2</b>	<b>11.7</b>
	%BSS=10.5	%BSS=4.6	%BSS=3.7	%BSS=5.9		
	n=4	n=3	n=4	n=5		

Şekillerden ve çizelgeden de görüleceği gibi hem BND hem de guanin sinyalindeki en fazla düşüş pH 5 BR tamponunda gerçekleşmiştir. Bunun sebebi BND'nin zayıf asidik ortamda yükseltgenmesi olarak gösterilebilir.

#### 4.3. BND'nin tek sarmal DNA (ssDNA) ve çift sarmal DNA (dsDNA) ile etkileşim çalışmaları

BND'nin hem tek sarmal (ssDNA) hem de çift sarmal (dsDNA ve fsDNA) ile etkileşiminin incelendiği bu çalışmada hem tek sarmal hem de çift sarmal olarak buzağı timus bezinden elde edilen DNA (ctssDNA, ctdsDNA) ve balık sperminden elde edilen çift sarmal DNA, fsDNA) ile ilaç etkileşim çalışmaları yapıldı. Üç DNA

dizisi ile de elde edilen voltamogramlara ilişkin histogramlar ve BND, Adenin ve Guanin yükseltgenme sinyallerindeki % düşme şekil 4. 9'da görülmektedir.



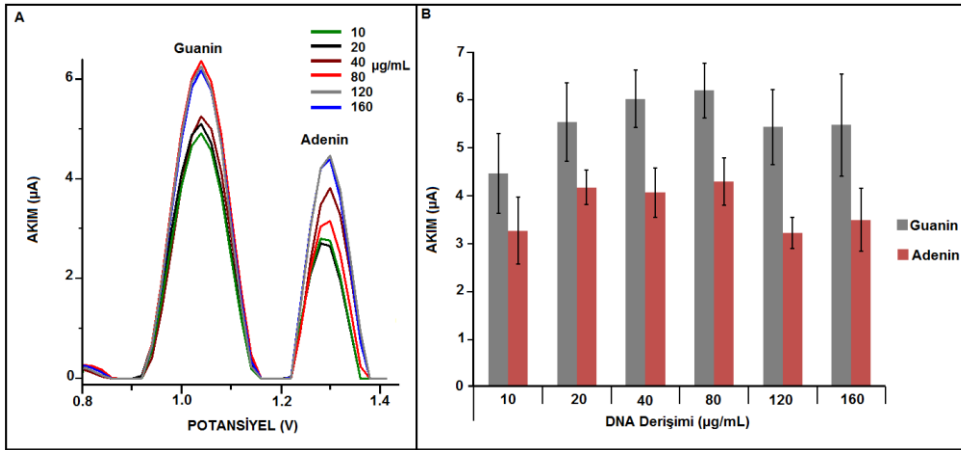
Şekil 4.9. 100  $\mu\text{g}/\text{mL}$  ctssDNA, ctdsDNA ve fsDNA'nın 50  $\mu\text{g}/\text{mL}$  BND ile etkileşimden önce ve sonra BND, Guanin ve Adenin yükseltgenme sinyallerini ayrıca yükseltgenme sinyallerindeki % azalmayı gösteren histogramlar.

BND ile çift sarmal DNA dizilerinin (ctdsDNA ve fsDNA) daha yüksek oranda etkileştiği, hem etkileşimden önceki hem de sonraki BND sinyallerinin farklanmasından, ayrıca sinyallerdeki % azalma histogramlarından kolayca anlaşılmaktadır. Guanin ve Adenin sinyallerindeki farklanma BND sinyalindeki kadar yüksek değildir. Adenin sinyalinde ise ctssDNA ile etkileşim sonucu artış gözlenmiştir. Bu nedenle ctssDNA ile etkileşim sonucu adeninde meydana gelen farklanma % azalma histogramında gösterilmemiştir. Çalışmanın bundan sonraki bölümlerinde BND ile DNA etkileşim çalışmalarına fsDNA ile devam edilmiştir.

#### 4.4. Elektrot Yüzeyine İmmobilize Edilecek Optimum fsDNA Derişiminin Belirlenmesi

Aktive edilmiş PGE yüzeyini en fazla miktar ve kararlılıkta immobilize edilecek DNA derişimini belirlemek amacıyla PGE'ler derişimi 10 ile 160  $\mu\text{g}/\text{mL}$  arasında değişen fsDNA çözeltilerine 1 saat süre ile daldırılan elektrotlar 1 saatin sonunda

çıkarılmış ve yüzeydeki spesifik olmayan bağlanmaları uzaklaştırmak için elektrotlar pH 5 BR tamponunda 3 kez daldırıp çıkarmak suretiyle yıkanmış ve DPV ile guanin ve adenin yükseltgenme sinyalleri ölçülmüştür. Elde edilen voltamogramlar ve bu voltamogramların ortalamasından hazırlanmış olan histogramlar şekil 4. 10'da gösterilmektedir.

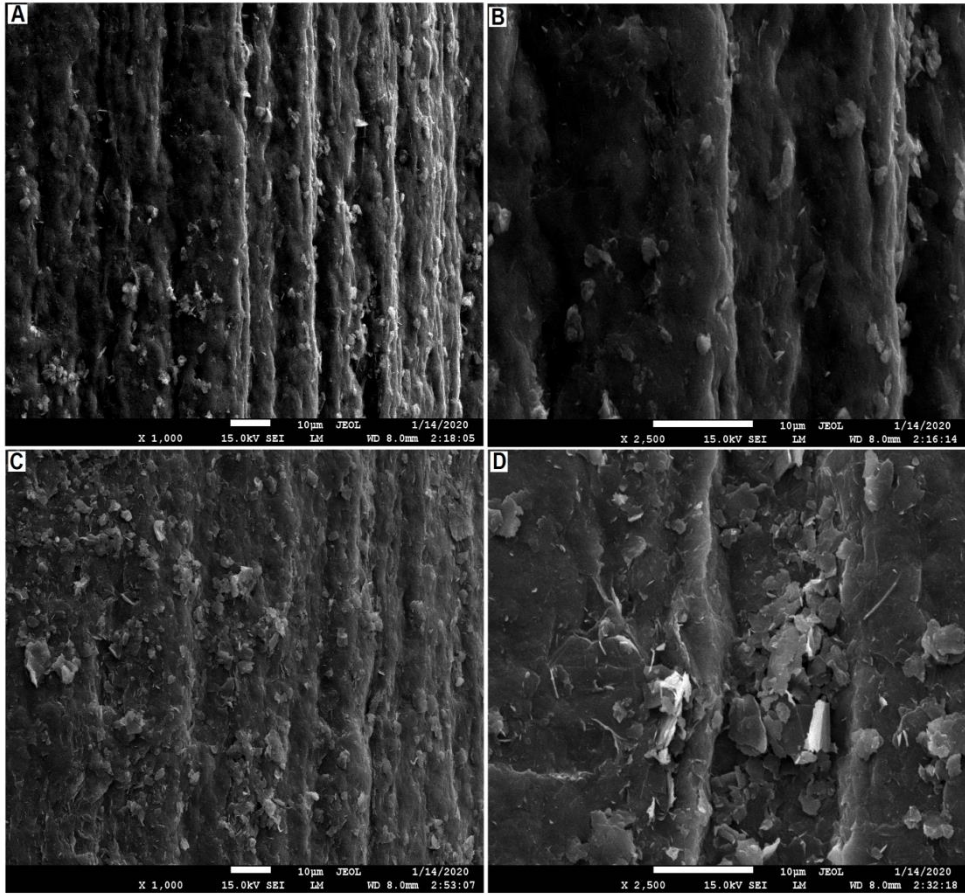


Şekil 4.10. Farklı derişimlerde fsDNA çözeltisine daldırılmış olan elektrotlarla ölçülmüş guanin ve adenin yükseltgenme sinyallerini gösteren A) voltamogram ve B) histogramlar.

Şekildeki voltamogram ve histogramlar incelendiğinde hem guanin hem de adenin sinyalinin en yüksek olduğu derişimin 80 µg/mL olduğu görülmektedir. Bu nedenle bundan sonraki çalışmalarda elektrot yüzeyine DNA immobilizasyonunda 80 µg/mL fsDNA kullanılmıştır.

#### 4.5. Yalın ve DNA immobilize Edilmiş Elektrotların Yüzey Karakterizasyonları

Yüzeyine 80 µg/mL fsDNA immobilize edilmiş elektrotların yüzeyinde meydana gelmiş olan değişimler taramalı elektron Mikroskobu (SEM) kullanılarak karakterize edilmiştir. Farklı büyütme oranlarında çekilmiş SEM fotoğrafları şekil 4.11'de gösterilmektedir.



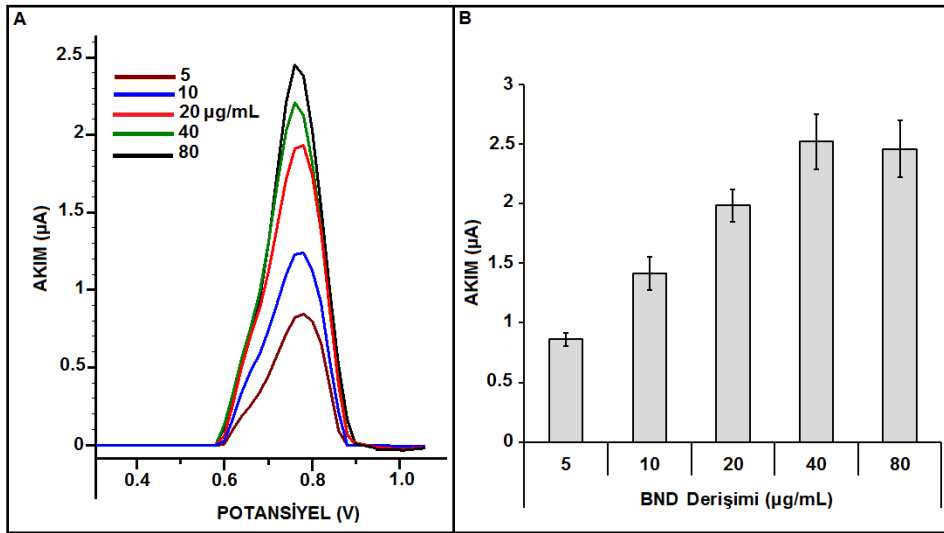
Şekil 4.11. Yalın (A, B) ve DNA immobilize edilmiş elektrotların (C, D), 1000X (A, C) ve 2500X (B, D) büyütmelerde çekilmiş SEM fotoğrafları.

SEM fotoğrafları incelendiğinde yalın elektrotların yüzeyindeki pürüzlülüğün (Şekil 4.11-A ve B), elektrotların yüzeyine DNA immobilize edilmesiyle yüksek oranda azaldığı (şekil 4.11-C ve D) görülmektedir. Pürüzlülüğün neredeyse tamamen kaybolması DNA'nın elektrot yüzeyine immobilizasyonunun bir kanıtı olarak düşünülebilir.

#### 4.6. Etkileşim Çalışmalarında Kullanılacak BND Derişiminin Belirlenmesi

Yüzeyine 80 µg/mL fsDNA immobilize edilmiş PGE'ler farklı derişimlerde BND çözeltilerine daldırıldı ve BND'nin 0.760 V'taki yükseltgenme sinyali DPV tekniği

ile ölçüldü. Elde edilen voltamogramlar ve ilişkili histogramlar Şekil 4.12’de görülmektedir.



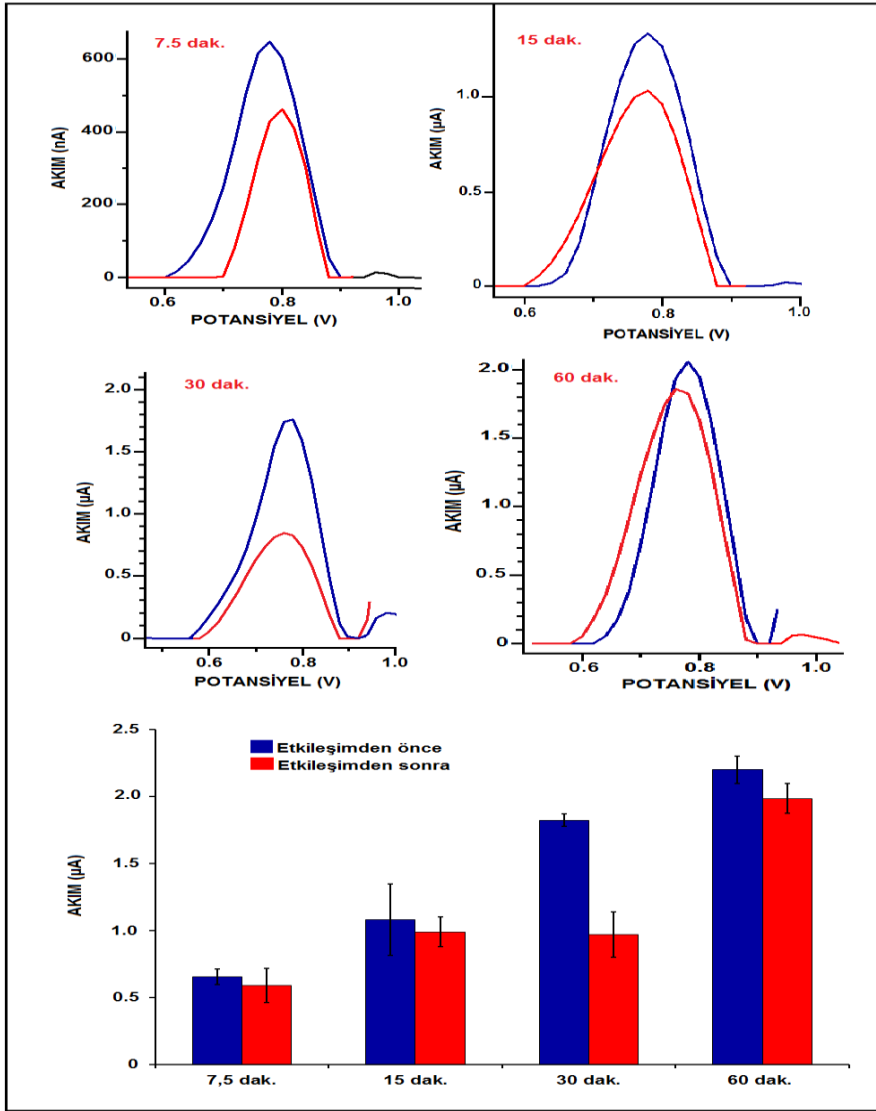
Şekil 4.12. Yüzeyine 80  $\mu\text{g/mL}$  fsDNA immobilize edilmiş PGE’lerin, farklı derişimlerde BND çözeltisine daldırıldıktan sonra ölçülen BND yükseltgenme sinyallerini gösteren A) voltamogram ve B) histogramlar (n= 5).

80  $\mu\text{g/mL}$  fsDNA ile en yüksek miktar ve kararlılıkta etkileşecek BND derişimi 40  $\mu\text{g/mL}$  olarak bulunmuştur.

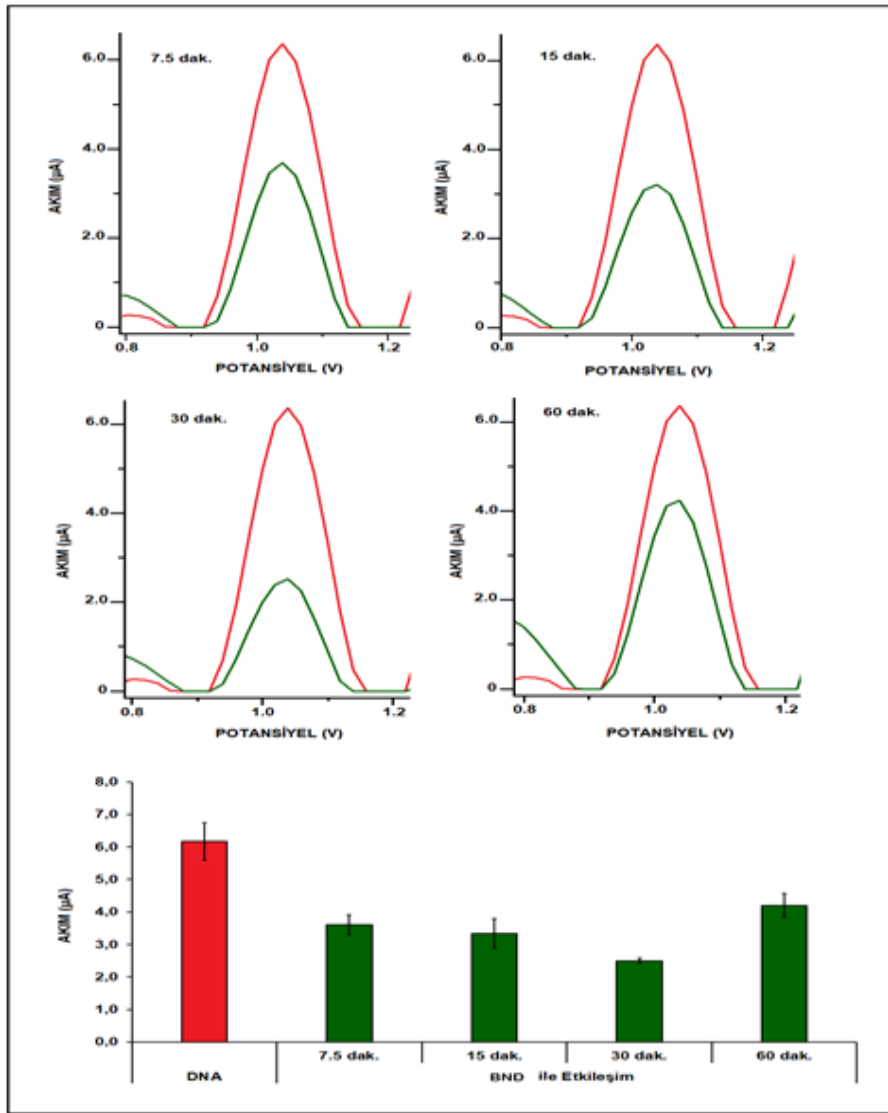
## 4.7. Etkileşim Süresinin Belirlenmesi

### 4.7.1. DPV ile

BND ile DNA arasındaki optimum etkileşim süresini belirlemek amacıyla 40  $\mu\text{g/mL}$  BND 7.5, 15, 30 ve 60 dakika süre ile elektrot yüzeyine immobilize edildi. Aynı derişimde BND çözeltisine aynı sürelerle, yüzeyine 80  $\text{mg/L}$  fsDNA immobilize edilmiş PGE’ler daldırıldı. Her bir süre sonunda guanin yükseltgenme sinyalindeki azalma hesaplandı. Şekil 4.13’te farklı süre etkileşim sonucu BND sinyalindeki azalmalar, Şekil 4.14’te ise Guanin sinyalindeki azalmalar voltamogram ve histogram olarak görülmektedir.



Şekil 4.13. Farklı sürelerde etkileşim sonucu ölçülen BND yükseltgenme sinyallerini gösteren voltamogram ve histogramlar. fsDNA derişimi: 80  $\mu\text{g}/\text{mL}$ , BND derişimi: 40  $\mu\text{g}/\text{mL}$



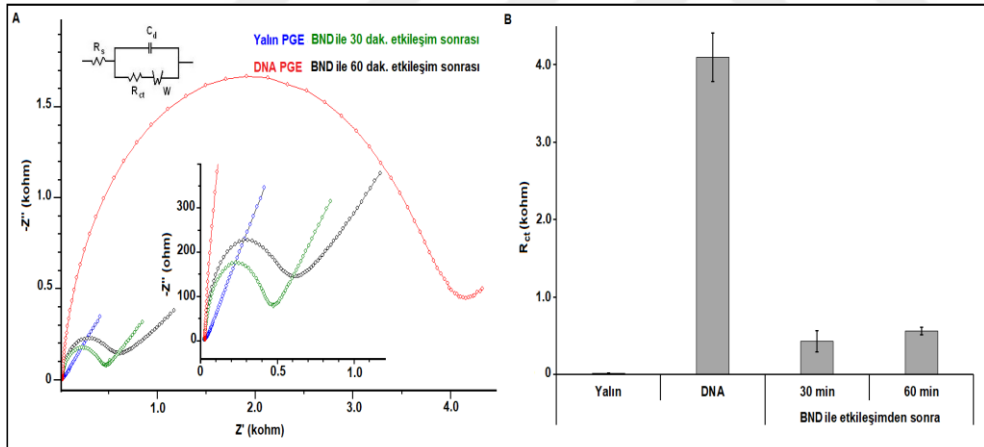
Şekil 4.14. Farklı sürelerde etkileşim sonucu ölçülen Guanin yükseltgenme sinyallerini gösteren voltamogram ve histogramlar. fsDNA derişimi: 80  $\mu\text{g}/\text{mL}$ , BND derişimi: 40  $\mu\text{g}/\text{mL}$ .

Etkileşimden önce ve sonra BND yükseltgenme sinyallerindeki farklanmanın en fazla olduğu etkileşim süresi 30 dakika olarak tespit edilmiştir.



#### 4.7.2. EIS ile

BND ile DNA arasında gerçekleşen etkileşim aynı zamanda EIS tekniği kullanılarak ta incelendi. Bu amaçla yalın PGE'nin, yüzeyine 80  $\mu\text{g/mL}$  fsDNA immobilize edilmiş PGE'lerin, 40  $\mu\text{g/mL}$  BND ile 30 dakika ve 60 dakika etkileşimi sonrası PGE'lerin yük transfer dirençleri ( $R_{ct}$ ) ölçüldü. Elde edilen sonuçlardan hazırlanmış olan Nyquist eğrisi ve histogramlar şekil 4.15'te görülmektedir. Yalın elektrodun yük transfer direnci ( $R_{ct}$ ) grafit yüzeyin iletkenliği nedeniyle çok düşük iken (13.3  $\Omega$ ) yüzeye immobilize edilen DNA molekülündeki negatif yüklü fosfat grupları nedeniyle artmaktadır (4095  $\Omega$ ). BND ile 30 dakika etkileşim sonrası  $R_{ct}$  değeri 426  $\Omega$ 'a, 60 dakika etkileşim sonrası ise 557  $\Omega$ 'a düşmektedir. Etkileşimden sonra  $R_{ct}$  değerlerindeki düşüş, DNA molekülüne interkale olan BND'nin elektron transferine katkı sağlaması şeklinde açıklanabilir.



Şekil 4.15. Yalın-PGE, DNA-PGE ve BND ile 30 dakika ve 60 dakika etkileştirilmiş DNA-PGE'lere ait A) Nyquist eğrisi B) ortalama  $R_{ct}$  değerlerinden çizilmiş histogramlar. DNA: 80  $\mu\text{g/mL}$  ve BND 40  $\mu\text{g/mL}$ . İç şekil  $R_s$ : çözelti direnci,  $C_d$ : elektrot/elektrolit/ara yüzündeki kapasitans,  $R_{ct}$ : elektrot/elektrolit/ara yüzündeki yük transfer direnci,  $W$ : elektrot yüzeyine kütle transferi nedeniyle Warburg empedansını göstermektedir.

Şekilden de görüldüğü gibi 30 dakika, etkileşimin daha yüksek oranda gerçekleştiği etkileşim süresidir. Bundan sonraki antioksidan varlığındaki etkileşim çalışmalarında etkileşim süresi 30 dakika olarak uygulanmıştır.

## 4.8. BND'nin Antioksidan Varlığında DNA ile Etkileşiminin İncelenmesi

### 4.8.1. Kafeik Asit Varlığında

İlaç-DNA etkileşiminin kafeik asit varlığında incelenmesi, yüzeyine 80 µg/mL fsDNA immobilize edilmiş elektrotların kafeik asit içeren ve içermeyen 40 µg/mL BND çözeltisine daldırılmasıyla gerçekleştirilmiştir. 30 dak. etkileşim sonunda elektrotlar önceki bölümlerde anlatıldığı gibi yıkanmış ve voltametrik ölçüm gerçekleştirilmiştir. Elde edilen sonuçlar çizelge 1'de, voltamogramlar ise şekil 4.16-A'da görülmektedir.

İlaç ile DNA arasındaki etkileşimi göstermenin bir diğer yolu %S değerlerinin hesaplanmasıdır. Söz konusu değer Bagni ve arkadaşları tarafından tanımlanan aşağıdaki denkleme göre hesaplanır (Bagni vd. 2006).

$$\%S = S_s/S_b \times 100$$

Bu denklemde  $S_b$ , etkileşimden önceki,  $S_s$  ise etkileşimden sonraki Guanin yükseltgenme sinyali, %S ilacın toksisite derecesini göstermektedir. Buna göre  $S > \%85$  ise ilaç toksik değil,  $S$  değeri 50-85 arasında ise orta derecede toksik,  $S < \%50$  ise toksik olarak ifade edilemektedir. Yukarıdaki denkleme göre hesaplanmış %S değerleri aşağıdaki çizelgede gösterilmektedir.

Çizelge 2. Kafeik asit yokluğunda ve varlığında 30 dakikalık etkileşimden önce ve sonra ölçülen guanin yükseltgenme sinyalleri ve %S değerleri

Guanin yükseltgenme sinyali (µA)		Guanin sinyalindeki % azalma	S %
Etkileşimden önce	BND ile 30 dak. etkileşimden sonra		
6.17	<i>Kafeik asit yokluğunda</i> 2.50 <i>RSD %=2.9 n=3</i>	59	41
<i>RSD %=9.3 n=5</i>	<i>Kafeik asit varlığında</i> 3.28 <i>RSD %= 9.9 n=5</i>	47	53

Kafeik asit yokluğunda %S değeri 41 olarak bulunmuştur. Bu değer BND'nin yukarıdaki tanıma göre toksik olduğunu göstermektedir. Ancak bu değer, ortamda kafeik asit olduğunda, kafeik asit ile BND arasındaki yarışmalı reaksiyon nedeniyle %53'e çıkmaktadır. Bu durumda BND orta dereceli toksik olarak ifade edilmelidir. BND'nin toksik iken, kafeik asit varlığında orta dereceli toksik olmasının nedeni BND'nin DNA ile etkileşiminin kafeik asitin varlığı nedeniyle azalmasıdır. Kafeik asidin varlığının BND-DNA etkileşimi üzerine etkisi olduğu elde edilen bu sonuçlara dayanılarak söylenebilir. %S değerleri açısından karşılaştırıldığında %S değerinin yükseldiği, Kafeik asidin varlığının, toksik olan BND'yi, ilacın DNA ile etkileşimi engellenmesi nedeniyle 'orta dereceli toksik' sınıfına soktuğu görülmektedir.

#### 4.8.2. Kumarik Asit Varlığında

İlaç-DNA etkileşiminin kumarik asit varlığında incelenmesi, yüzeyine 80 µg/mL fsDNA immobilize edilmiş elektrotların 40 mg/L Kumarik asit içeren 40 µg/mL BND çözeltisine daldırılmasıyla gerçekleştirilmiştir. 30 dak. etkileşim sonunda elektrotlar önceki bölümlerde anlatıldığı gibi yıkanmış ve voltametrik ölçüm gerçekleştirilmiştir. Elde edilen sonuçlar çizelge 3'te, voltamogramlar ise şekil 4.16-B'de görülmektedir.

Çizelge 3. Kumarik asit yokluğunda ve varlığında 30 dakikalık etkileşimden önce ve sonra ölçülen guanin yükseltgenme sinyalleri ve %S değerleri

Guanin yükseltgenme sinyali (µA)		Guanin sinyalindeki % azalma	S %
Etkileşimden önce	BND ile 30 dak. etkileşimden sonra		
6.17 RSD %=9.3 n=5	<i>Kumarik asit yokluğunda</i>	2.50 RSD %=2.9 n=3	59
	<i>Kumarik asit varlığında</i>	2.37 RSD %= 7.3 n=5	62

Kumarik asit varlığında gerçekleştirilen etkileşim çalışmasında elde edilen Guanin sinyalindeki % azalma Kumarik asit yokken elde edilen azalma ile hemen hemen

eşittir. Bu durumda Kumarik asidin BND-DNA etkileşimi üzerine herhangi bir etkisi olmadığı söylenebilir (guanin sinyalindeki % değişim 5.1) Kumarik asidin varlığı, %S değerine göre değerlendirildiğinde de ilacın toksisite tanımında herhangi bir fark oluşturmamıştır. İlaç Kumarik asit varlığında da “toksik” olarak ifade edilmektedir.

#### 4.8.3. Kuersetin Varlığında

İlaç-DNA etkileşiminin kuersetin varlığında incelenmesi, yüzeyine 80 µg/mL fsDNA immobilize edilmiş elektrotların ilaç ile aynı derişimde (40 µg/mL) kuersetin içeren 40 mg/L BND çözeltisine daldırılmasıyla gerçekleştirilmiştir. 30 dak. etkileşim sonunda elektrotlar önceki bölümlerde anlatıldığı gibi yıkanmış ve voltametrik ölçüm gerçekleştirilmiştir. Elde edilen sonuçlar çizelge 4’te, voltamogramlar ise şekil 4.16-C’de görülmektedir.

Çizelge 4. Kuersetin yokluğunda ve varlığında 30 dakikalık etkileşimden önce ve sonra ölçülen guanin yükseltgenme sinyalleri ve %S değerleri

Guanin yükseltgenme sinyali (µA)		Guanin sinyalindeki % azalma	S %
Etkileşimden önce	BND ile 30 dak. etkileşimden sonra		
6.17 RSD %=9.3 n=5	<i>Kuersetin yokluğunda</i> 2.50 RSD %=2.9 n=3	59	41
	<i>Kuersetin varlığında</i> 6.14 RSD %= 5.2 n=5	0.5	99

Çizelge 4’teki veriler incelendiğinde Kuersetin varlığının BND-DNA etkileşimini engellediği açıkça görülebilmektedir. G oksidasyon sinyalindeki % azalma, Kuersetin varlığında sadece % 0.5’tir. Bu durumda kuersetin varlığında ilaç ile DNA arasında herhangi bir etkileşimin gerçekleşmediği söylenebilir. %S değeri

açısından incelendiğinde ise 30 dakika etkileşim sonunda hesaplanan %S'nin 99 olması, ilacın “toksik değil” olarak ifade edilmesine sebep olmaktadır.

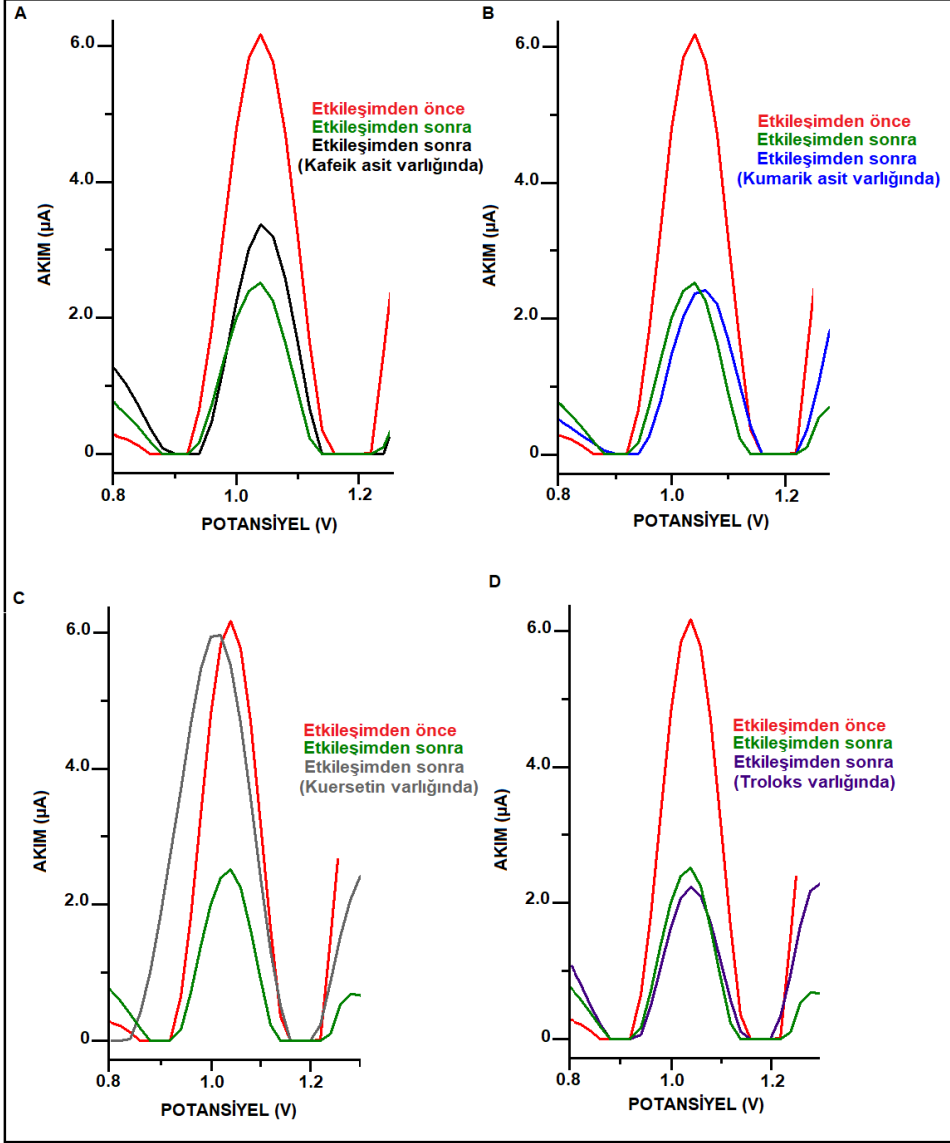
#### 4.8.4. Troloks Varlığında

İlaç-DNA etkileşiminin troloks varlığında incelenmesi, önceki çalışmalarda olduğu gibi yüzeyine 80 µg/mL fsDNA immobilize edilmiş elektrotların troloks içeren ve içermeyen 40 µg/mL BND çözeltisine daldırılmasıyla gerçekleştirilmiştir. 30 dak. etkileşim sonunda elektrotlar önceki bölümlerde anlatıldığı gibi yıkanmış ve voltametrik ölçüm gerçekleştirilmiştir. Elde edilen sonuçlar çizelge 5'te, voltamogramlar ise şekil 4.16-D'de görülmektedir.

Çizelge 5: Troloks yokluğunda ve varlığında 30 dakikalık etkileşimden önce ve sonra ölçülen guanin yükseltgenme sinyalleri ve %S değerleri

Guanin yükseltgenme sinyali (µA)		Guanin sinyalindeki % azalma	S %	
Etkileşimden önce	BND ile 30 dak. etkileşimden sonra			
6.17 RSD %=9.3 n=5	<i>Troloks yokluğunda</i>	2.50 RSD %=2.9 n=3	59	41
	<i>Troloks varlığında</i>	2.29 RSD %= 7.3 n=3	63	37

Çizelge 5'teki veriler incelendiğinde, Kumarik Asit varlığında gerçekleştirilen etkileşim çalışmasının sonuçları ile benzerlik gösterdiği görülmektedir. Troloks varlığında elde edilen sonuçlar, Troloks yokluğunda elde edilen sonuçlarla hemen hemen aynıdır. Troloks varlığında ve yokluğunda ölçülen G oksidasyon sinyalleri arasındaki fark sadece % 6.8'dir. Bu durumda Troloks'un, BND-DNA etkileşimi üzerine dikkate değer bir etkisi olmadığı söylenebilir. Troloks varlığında gerçekleştirilen etkileşim sonucu hesaplanan %S değeri, troloks yokluğunda gerçekleştirilen etkileşim sonucu elde edilen %S değeri ile neredeyse aynıdır.



Şekil 4.16. Etkileşimden önce, BND ile etkileşimden sonra ve A) Kafeik asit B) Kumarik asit C) Kuersetin D) Troloks varlığında etkileşimden sonra Guanin yükseltgenme sinyallerini gösteren voltamogramlar.

## 5. SONUÇ

İlaç-DNA etkileşimi üzerine yapılan çalışmalar, özellikle anti kanser ilaç geliştirme çalışmaları için büyük önem taşımaktadır. Son zamanlarda elektrokimyasal sensörlerle ilaç-DNA etkileşim çalışmaları giderek yaygınlık kazanmıştır. Hızlı, ucuz, tekrarlanabilir sonuçlar veren, tek kullanımlık elektrotların ileride hasta başına yapılacak analizlere büyük katkı sağlayacağı düşünülmektedir.

Antioksidanların radikal süpürücü etkisiyle oksidatif stres kaynaklı karsinogenezi azalttığı bilinmektedir. Bu nedenle kemoterapi gören hastaların tedavi süresince antioksidan ağırlıklı gıda takviyeleri almalarının doğru bir uygulama olup olmadığı konusunda her zaman sorular bulunmaktadır. Bu durum, kullanılan antioksidan içeriği yüksek gıda takviyelerinin tedavi, protokolüne nasıl bir etkide bulunacağını bilinmemesinden kaynaklanmaktadır.

Söz konusu tez çalışması, kan kanserinin farklı türlerinde kullanılan bir antikanser ilaç olan Bendamustin'in elektrokimyasal ve ilaç-DNA etkileşim özelliklerinin belirlenmesi, ilacın antioksidan varlığında ve yokluğunda toksisite derecesinin hesaplanması amacıyla yapılmış çalışmaları içermektedir. Literatürde Bendamustin'in elektrokimyasal özelliklerinin incelendiği bir çalışmaya dahi rastlanmamıştır. Bu çalışma, söz konusu ilacın elektrokimyasal ve toksisite özelliklerinin belirlendiği, ilaç-DNA etkileşiminin hem antioksidan madde varlığında hem de yokluğunda incelendiği literatürdeki ilk çalışmadır.

Çalışmada Bendamustin-DNA etkileşimi antioksidan yokluğunda ve dört farklı antioksidan madde varlığında tek kullanımlık kalem grafit elektrot kullanılarak incelenmiştir. Çalışmadaki antioksidanlar, doğal ve sentetik antioksidan sınıftan seçilmiştir. Kafeik asit ve Kumarik asit Fenolik asit grubundan, Kuersetin Flavonoid sınıftan doğal antioksidanlar, troloks ise sentetik bir antioksidandır.

Antioksidan madde yokluğunda gerçekleştirilen etkileşim çalışmaları incelendiğinde Bendamustin'in DNA ile etkileşimi sonucu guanin sinyalinde % 60'a yakın bir düşüş gerçekleştiği, bu durumda da BND'nin toksik bir ilaç olarak ifade edilmesi gerektiği açıktır.

Seçilen antioksidanların varlığında elde edilen sonuçlara bakılacak olursa, Kafeik Asit varlığında gerçekleştirilen etkileşim çalışmalarında, G oksidasyon sinyalindeki

düşüşte % 20 azalma meydana geldiği görülmektedir. Kafeik asidin DNA'nın minor oluklarına yerleştiği bilinmektedir (Sarwar vd., 2017). Literatürde Kafeik asidin, DNA'nın minor oluklarına yerleşmesi nedeniyle ilacın DNA'ya bağlanmasını engellediği ile ilgili grubumuzun çalışmaları bulunmaktadır (Muti ve Muti, 2018, Öndeş ve Muti 2020). Bendamustin ilacının DNA ile Kafeik asit varlığında gerçekleştirilen etkileşimi ile ilgili elde edilen veriler, grubumuzun yukarıda bahsedilen farklı ilaçlar ile yapılan çalışmalardan elde edilen sonuçlar ile uyumluluk göstermektedir.

Kumarik asit ve Troloks varlığının BND-DNA etkileşimi üzerine bir etkisi olmadığı, Kuersetin'in ise BND-DNA etkileşimini kesin bir şekilde engellediği söylenebilir.



## KAYNAKLAR

- Bagni, G., Osella, D., Sturchio, E., Mascini, M. 2006. Deoxyribonucleic acid (DNA) biosensors for environmental risk assessment and drug studies. **Anal. Chim. Acta**, 573: 81-89.
- Barek, J., Cvacka, J., Muck, A., Quaiserova, V., 2001. Electrochemical methods for monitoring of environmental carcinogens. **Fresenius J. Anal. Chem.**, 369: 556-562.
- Bard, A. J. and Faulkner, L. R. 2001. *Electrochemical Methods: Fundamentals and Application* 2<sup>nd</sup> ed. **John Wiley and Sons, Inc.** , New York, 19-20.
- Bonanni, A. ve Valle, M., 2010, Use of nanomaterials for impedimetric DNA sensors: A review, **Analytica Chimica Acta**, 678: 7-17.
- Brabec, V., Koudelka, J. 1980. Oxidation of deoxyribonucleic acid at carbon electrodes. The effect of the quality of the deoxyribonucleic acid sample. **Bioelectrochem. Bioenerg.**, 7: 793–805.
- Brabec, V. 1983. Conformational changes in DNA induced by its adsorption at negatively charged surfaces–The effects of base composition in DNA and the chemical nature of the adsorbent. **Bioelectrochem. Bioenerg.**, 11: 245–255.
- Brett, A. M., Oliveira, Macedo, T. R. A., Raimundo, D., Marques, M. H., Serrano, S. H. P. 1998. Voltammetric behaviour of mitoxantrone at a DNA–biosensor. **Biosensors and Bioelectronics**. 13: 861–867.
- Bruzaca, E. E. S., Lopes, I. C., Silva, E. H. C., Carvalho, P. A. V., Tanaka, A. A. 2017. Electrochemical oxidation of the antitumor antibiotic mitomycin C and in situ evaluation of its interaction with DNA using a DNA–electrochemical biosensor. **Microchemical Journal**, 133:81–89.
- Cai, X., Rivas, G., Farias, P.A.M.; Shiraiishi, H., Wang, J., Fojta, M., Palecek, E. 1996. Trace measurements of plasmid DNAs by adsorptive stripping potentiometry at carbon paste electrodes. **Bioelectrochem. Bioenerg.**, 40: 41–47.

- Carvalho, P. A. V., Lopes, I. C., Silva, E. C. H., Bruzaca, E. E. S., Alves, H. J., Lima, M. I. S., Tanaka, A. A., 2019. Electrochemical behaviour of anticancer drug lomustine and in situ evaluation of its interaction with DNA. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis** 176: 112786
- Chaubey, A. and Malhotra, B.D. 2002. Mediated biosensors. **Biosensors & Bioelectronics**, 17: 441-456.
- Cin, I., 2007, "Elektrokimyasal Genosensör ile DNA Dizi Tayini", Yüksek Lisans Tezi, Ege Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İzmir
- Del Pozo, M.V., Alonso, C., Pariente, F., Lorenzo, E. 2005. Electrochemical DNA sensing using osmium complexes as hybridization indicators. **Biosens. Bioelectron.**, 20: 1549- 1558.
- Diculescu, V.C., Brett, A.M.O. 2016. In situ electrochemical evaluation of dsDNA interaction with the anticancer drug danusertib nitrogen radical product using the DNA electrochemical biosensor, **Bioelectrochemistry**, 107: 50–57.
- Duran, T., 2009, "2-Aminopiridin'in Camsı Karbon Elektrot Yüzeyinde Temas Açısı Ölçüm Tekniğiyle Özelliklerinin İncelenmesi", Yüksek Lisans Tezi, Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Konya, 2-3, 17-21, 32.
- Drummond, T.G., Hill, M.G., Barton, J.K. 2003. Electrochemical DNA sensors. **Nature Biotechnology**, 10 (21): 1192-1199.
- Ekşin, E., Muti, M., Erdem, A. 2013. Chitosan/Ionic Liquid Composite Electrode for Electrochemical Monitoring of the Surface-Confined Interaction Between Mitomycin C and DNA, **Electroanalysis**, 25 (10): 2321 – 2329.
- Erdem, A., Muti M., Papakonstantinou, P., Canavar, P., Karadeniz, H., Congur, G., Sharma, S. 2012. Graphene oxide integrated sensor for electrochemical monitoring of mitomycin C–DNA interaction, **Analyst**, 137: 2129-2135.
- Fifield, F.W., Kealey, D., 2000. Principle and Practice of Analytical Chemistry 3rd Edition. UK: Blackwell science.

- Hall, E.A.H. 1990. Biosensors, Ch.1: Biosensors in context , Open University Press, İngiltere.
- Hart, J.P. 1997. Recent developments in the design and application of screen printed electrochemical sensors for biomedical, environmental and industrial analyses. **TrAC**, 16: 89-103.
- Henden, E., Gökçel, H.İ., Ertaş, F.N., 2001. Eser Analiz Yaz Okulu, Ege Üniversitesi Fen Fakültesi Kimya Bölümü Analitik Kimya Anabilim Dalı, pp.151-160, İzmir.
- Herne, T.M., Tarlov, M.J. 1997. Characterization of DNA probes immobilized on gold surfaces. **J. Am. Chem. Soc.**, 119: 8916-8920.
- Ilkhani, H., Hughes, T., Li, J., Zhong, C. J., Hepel, M. 2016. Nanostructured SERS-electrochemical biosensors for testing of anticancer drug interactions with DNA, **Biosens. Bioelectron.** 80: 257–264.
- Izutsu, K. 2002. Electrochemistry in nonaqueous solutions. **Wiley-VCH Verlag GmbH**, pp.206-214, Weinheim.
- Jamshed, S ve Cheson, B. D. 2009. Role of bendamustine in the treatment of chronic lymphocytic leukemia, **OncoTargets and Therapy**, 2: 43–49.
- Kadayıfcılar, K. P. 2003. Çeşitli Bulaşıcı ve Kalıtsal Hastalıklara Neden Olan Gen Dizilerini İçeren PCR Ürünü Örnekler Kullanarak Elektrokimyasal DNA Biyosensörleriyle Bu Hastalıkların Saptanması. Ege Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, İzmir.
- Kalcher, K. 1990. Chemically modified carbon paste electrodes in voltammetric analysis. **Electroanalysis**, 2: 419-433.
- Karadeniz, H., Gulmez, B., Sahinci, F., Erdem, A., Kaya, G.I., Unver, N., Kivcak, B., Ozsoz, M. 2003. Disposable electrochemical biosensor for the detection of the interaction between DNA and Lycorine based on guanine and adenine signals. **J. Pharm. Biomed. Anal.**, 33:295-296.

- Karadeniz, H., Eksin, E., Erdem, A. 2019. Electrochemical detection of anticancer drug lumazine and DNA interaction by using carbon nanotube modified electrodes. **J Res Pharm.** 23(4): 682-688.
- Klug, W.S., Cumming, M.R. 2007. Concepts of Genetics (Çeviri Editörü: Cihan Öner, Genetik Kavramlar) Palme yayınevi, Ankara.
- Kulikova T., Porfireva, A., Evtugyn, G., Hianik, T. 2019. Electrochemical DNA Sensors with Layered Polyaniline—DNA Coating for Detection of Specific DNA Interactions. **Sensors**, 19: 469
- Lucarelli, F., Palchetti, I., Marazza, G., Mascini, M. 2002. Electrochemical DNA biosensor as a screening tool for the detection of toxicants in water and wastewater samples. **Talanta**, 56: 949–957.
- Millan, K.M., Mikkelsen, S.R. 1993. Sequence-selective biosensor for DNA Based on electroactive hybridization indicators, **Anal. Chem.**, 65: 2317-2323.
- Molinier-Jumel, C., Malfoy, B., Reynaud, J.A., Aubel-Sadron, G. 1978. Electrochemical study of DNA-Anthracyclines interaction. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, 84 (2): 441–449
- Muti, M., Kuralay, F., Erdem, A., Abacı, S., Yumak, T. ve Sinag, A. 2010. Tin oxide nanoparticles-polymer modified single use sensors for elektrochemical monitoring of label-free DNA hybridization. **Talanta**, 82: 1680-1686
- Muti, M., Sharma, S., Erdem, A. and Papakonstantinou, P. 2011. Electrochemical monitoring of nucleic acid hybridization by single-use graphene oxide-based sensor. **Electroanalysis**, 23: 272-279
- Muti, M., ve Muti, M. 2018. Electrochemical monitoring of the interaction between anticancer drug and DNA in the presence of antioxidant, **Talanta**, 178: 1033–1039.
- Öndeş, B., Muti, M. 2020. Electrochemical Determination of the Effect of Caffeic

- Acid onto the Interaction between Idarubicin and DNA by Single-use Disposable Electrodes. **Electroanalysis**, 32, 1288 – 1296.
- Özsoz, M., Erdem, A., Kara, P., Kerman, K., Özkan, D. 2002. Electrochemical biosensor for the detection of interaction between arsenic trioxide and DNA based on guanine signal. **Electroanalysis**, 15 (7): 613–619.
- Palecek, E. 1996. From polarography of DNA to microanalysis with nucleic acid modified electrodes. **Electroanalysis**, 8 (1): 7-14.
- Prudenziati, M. 1994. Handbook of Sensors and Actuators 1; Volume-1: Thick film sensors. **Elsevier Science B.V**, Oxford, UK.
- Ribeiro, J. A., Pereira, C. M., Silva, F. 2015. Electrochemistry of the Interaction between Bioactive Drugs Daunorubicin and Dopamine and DNA at a Water/Oil Interface. **Electrochimica Acta**, 180: 687–694.
- Saljooqi, A., Shampur, T., Mostafavi, A. 2017. Ag-4-ATP-MWCNT electrode modified with dsDNA as label-free electrochemical sensor for the detection of daunorubicin anticancer drug. **Bioelectrochemistry**, 118:161–167.
- Shervedani, R. K., Mirhosseini, H., Foroushani, M. S., Torabi, M., Rahsepar, F. R., Barough, L. N. 2018. Immobilization of methotrexate anticancer drug onto the graphene surface and interaction with calf thymus DNA and 4T1 cancer cells. **Bioelectrochemistry**, 119: 1–9.
- Skoog, D. A., Holler, F. J., Nieman, T. A. Çeviri editörleri; Kılıç, E., Köseoğlu, F., Yılmaz, H. 1998. Enstrumantal Analiz İlkeleri, Bilim Yayıncılık, 5. Baskı, 940, Ankara.
- Stradiotto, N.R., Yamanaka, H., Zanoni, M.V.B. 2003. Electrochemical sensors: A powerful tool in analytical chemistry. **J. Braz. Chem. Soc.**, 14: 159-173.
- Şahinçi, F. 2005. İlaç-DNA Etkileşmesinin Elektrokimyasal Algılanmasına Dayalı Tasarımlar. Ege Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, İzmir.
- Thayer, A.M. 1999. Deciphering Diseases, Chemical and Engineering News, Ed. By M. Jacobs, American Chemical Society, North Caroline, USA.

- Thevenot, D.R., Toth, K., Durst, R.A., Wilson G.S. 1999. Electrochemical biosensors: recommended definitions and classification. **Pure Appl. Chem.**, 71: 2333-2348.
- Tomschik, M., Jelen, F., Havran, L., Trnkova, L., Nielsen, P.E., Palecek, E. 1999. Reduction and oxidation of peptide nucleic acid and DNA at mercury and carbon electrodes. **J. Electroanal. Chem.**, 476: 71-80.
- Tural, H., Gökçel, H. İ., Ertuş, F. N. 2006. Enstrumantal Analiz I Elektroanalitik Yöntemler. Ege Üniversitesi Yayınları Fen Fakültesi Yayın No: 186, 2. Baskı, 336, İzmir.
- Türe, M., 2008. FenilefrinHidroklörür'ün Elektrokimyasal Özelliklerinin İncelenmesi ve Ticari İlaç Formlarından Miktarının Belirlenmesi. Çanakkale On Sekiz Mart Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 99s, Çanakkale.
- Urbaniczky, C., Lundstrom, K. 1984. Voltammetric studies on carbon paste electrodes-the influence of paste composition on electrode capacity and kinetics. **J. Electroanal. Chem.**, 176: 169-182.
- Unal, D. N., Eksin, E., Erdem, A. 2017. Carbon Nanotubes Modified Graphite Electrodes for Monitoring of Biointeraction Between 6-Thioguanine and DNA. **Electroanalysis**, 29: 2292–2299.
- Wang, J., Ozsoz, M., Cai, X., Rivas, G., Shiraishi, H., Grant, D.H., Chicarro, M., Fernandes, J.R., Palecek, E. 1998a. Interaction of antitumor drug daunomycin with DNA in solution and at the surface. **Bioelectrochem. and Bioenerg.**, 45: 33-40.
- Wang, J., Rivas, G., Fernandes, J.R., Paz, J.L.L., Jiang, M., Waymire, R. 1998b. Indicator- free electrochemical DNA hybridization biosensor. **Anal. Chim. Acta**, 375: 197-203.
- Wang, J., 2000. Analytical Electrochemistry. Second Edition. John Wiley & Sons., Inc., New York, USA.

- Wang, J., Kawde, A.N., Sahlin, E. 2000. Renewable pencil electrodes for highly sensitive stripping potentiometric measurements of DNA and RNA. **Analyst**, 125: 5-7.
- Wang, J., Kawde, A.N. 2001. Pencil-based renewable biosensor for label-free electrochemical detection of DNA hybridization. **Anal. Chim. Acta**, 431: 219-224.
- Wang, L.R., Wang, R.X., Yang, L.Z., Lu, G.H. 2005. Study of the interaction of CTZAMB- Cu(II) with DNA and determination of DNA. **J. Electroanal. Chem.**, 585: 214-219.
- Yıldız, A., Genç, Ö. 1993. Enstrumantal Analiz. Hacettepe Yayınları, A-64, s. 289-384, Ankara
- Yıldız A, Genç Ö, Bektaş S. 1997. Enstrümental Analiz Yöntemleri, Hacettepe Üniversitesi Yayınları A-64, 17: 331-372. Ankara

## **ÖZGEÇMİŞ**

### **KİŞİSEL BİLGİLER**

Adı Soyadı : Aylin EROL

Doğum Yeri Ve Tarihi : İZMİR, 01.01.1977

### **EĞİTİM DURUMU**

Lisans Öğrenimi : Celal Bayar Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Kimya Bölümü, 1995-1999

Yüksek Lisans Öğrenimi : Adnan Menderes Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Anabilim Dalı, Analitik Kimya Programı, 2017-2020

Yabancı Diller : İngilizce

### **BİLİMSEL FAALİYETLERİ**

A) Electrochemistry Conference – 2019/ September 30-October 02, İstanbul

### **İLETİŞİM**

E-Posta Adresi : aylero109@gmail.com

Tarih : 07/07/2020