

**T.C.**  
**GEBZE TEKNİK ÜNİVERSİTESİ**  
**LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ**

**İLETKEN POLİMER İÇEREN NANOKOMPOZİT TABANLI**  
**ELEKTROKİMYASAL İMMÜNOSENSÖR SİSTEMLERİNİN**  
**GELİŞTİRİLMESİ**

**BÜŞRA ELMATAŞ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**  
**KİMYA ANABİLİM DALI**

**DANIŞMAN : DOÇ. DR. AHMET ŞENOCAK**

**EKİM 2025**

**T.C.**  
**GEBZE TEKNİK ÜNİVERSİTESİ**  
**LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ**

**İLETKEN POLİMER İÇEREN NANOKOMPOZİT**  
**TABANLI ELEKTROKİMYASAL İMMÜNOSENSÖR**  
**SİSTEMLERİNİN GELİŞTİRİLMESİ**

**BÜŞRA ELMATAŞ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**  
**KİMYA ANABİLİM DALI**

**DANIŞMAN : DOÇ. DR. AHMET ŞENOCAK**

**EKİM 2025**

**T.R.**  
**GEBZE TECHNICAL UNIVERSITY**  
**GRADUATE SCHOOL**

**DEVELOPMENT OF ELECTROCHEMICAL  
IMMUNOSENSOR SYSTEMS BASED ON NANOCOMPOSITES  
CONTAINING CONDUCTIVE POLYMER**

**BÜŞRA ELMATAŞ**

**A THESIS OF MASTER OF SCIENCE  
DEPARTMENT OF CHEMISTRY**

**ADVISOR: ASSOC. PROF. DR. AHMET SENOCAK**

**OCTOBER 2025**



## YÜKSEK LİSANS JÜRİ ONAY FORMU

GTÜ Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun 21/10/2025 tarih ve 2025/61 sayılı kararıyla oluşturulan jüri tarafından 31/10/2025 tarihinde tez savunma sınavı yapılan Büşra Elmastaş'ın tez çalışması Kimya Anabilim Dalında YÜKSEK LİSANS tezi olarak kabul edilmiştir.

### JÜRİ

ÜYE

(TEZ DANIŞMANI) : Doç. Dr. Ahmet ŞENOCAK

ÜYE

: Prof. Dr. Bünyemin ÇOŞUT

ÜYE

: Doç. Dr. Süreyya Oğuz TÜMAY

### ONAY

Gebze Teknik Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Yönetim Kurulunun

...../...../..... tarih ve ...../..... sayılı kararı.

İMZA/MÜHÜR



*Aileme*

## ÖZET

Bu tez çalışmasında, bir kanser belirteci olan prostat kanser antijeni (PSA)'nin elektrokimyasal tayini için hibrid malzeme sentezlenerek elektrot yüzeyine modifikasyonu yapılmıştır. Yeni bir immünosensörü geliştirilmiş ve yapay insan kan serumunda uygulaması gerçekleştirilmiştir. Öncelikle, 8-(4-nitrofenoksi)piren-1,3,6-trisulfonik asit trisodyum tuzu (3), 8-(4-nitrofenoksi)piren-1,3,6-trisulfonil triklorür (4), N<sup>1</sup>, N<sup>3</sup>, N<sup>6</sup>-tris(4-(9H-karbazol-9-yl)fenil)-8-(4-nitrofenoksi)piren-1,3,6-trisulfonamid (6) ve N<sup>1</sup>, N<sup>3</sup>, N<sup>6</sup>-tris(4-(9H-karbazol-9-yl)fenil)-8-(4-aminofenoksi)piren-1,3,6-trisulfonamid (7) bileşikleri sentezlenmiştir. Bileşiklerden 2 tanesi literatürde bulunan yöntemlere göre sentezlenirken, 2 tanesi ise bu tez kapsamında literatüre kazandırılan orijinal bileşiklerdir.

Sentez sonrası, FT-IR, UV-Vis, <sup>13</sup>C-NMR ve <sup>1</sup>H-NMR gibi spektroskopik yöntemlerle karakterizasyonu gerçekleştirilen bileşiklerden N<sup>1</sup>, N<sup>3</sup>, N<sup>6</sup>-tris(4-(9H-karbazol-9-yl)fenil)-8-(4-aminofenoksi)piren-1,3,6-trisulfonamid (7) hizalanmış çok duvarlı karbon nanotüp (MWCNT) varlığında polimerleştirilerek (CP@MWCNT) hibrid malzeme sentezlenmiştir. Bu hibrid malzemenin karakterizasyonu, termal kararlılığı ve yüzey analizleri FT-IR, UV-Vis spektroskopisi, TGA, SEM ve TEM kullanılarak aydınlatılmıştır.

Anti-PSA, hibrid malzeme yüzeyine moleküler arası çapraz bağlanma yöntemiyle modifiye edilmiştir. Hazırlanan PSA immünosensörün immobilizasyon süresi, CP@MWCNT miktarı, antikör miktarı ve glutraldehit konsantrasyon optimizasyonu DPV ile yapılmıştır. Ayrıca, elektrokimyasal karakterizasyon çalışmaları CV ve EIS teknikleri kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Optimum şartlarda immünosensörün tekrarlanabilirliği, uzun süre stabilitesi ve seçicilik gibi parametreleri belirlenmiş ve kalibrasyon grafiği elde edilmiştir. Kan serumu kullanılarak gerçek örnekteki sensörün cevabı araştırıldı ve geri kazanımları hesaplandı. Hazırlanan CP@MWCNT tabanlı yeni immünosensörlerin validasyon çalışmaları ELISA kiti ile gerçekleştirilmiştir.

**Anahtar Kelimeler: Piranin, MWCNT, Hibrid malzeme, Elektrokimyasal PSA immünosensörü, Kanser biyobelirteci**

## ABSTRACT

In this thesis study, the modification of hybrid materials which synthesize for the electrochemical determination of prostate cancer antigen (PSA) that is a cancer biomarker performed through the surface of glass carbon electrodes. A new immunosensor was developed and its application was carried out by using commercial human blood serum. Firstly, 8-(4-nitrophenoxy)pyren-1,3,6-trisulfonic acid trisodium salt (3), 8-(4-nitrophenoxy)pyren-1,3,6-trisulfonyl trichloride (4),  $N^1, N^3, N^6$ -tris(4-(9H-carbazol-9-yl)phenyl)-8-(4-nitrophenoxy)pyren-1,3,6-trisulfonamide (6) and  $N^1, N^3, N^6$ -tris(4-(9H-carbazol-9-yl)phenyl)-8-(4-aminophenoxy)pyren-1,3,6-trisulfonamide (7) were synthesized for the synthesis of the hybrid material. Two of these compounds were synthesized according to the methods available in the literature, while the other two are original compounds introduced to the literature within the scope of this thesis.  $N^1, N^3, N^6$ -tris(4-(9H-carbazol-9-yl)phenyl)-8-(4-aminophenoxy)pyren-1,3,6-trisulfonamide (7) was polymerized in the presence of aligned multi-walled carbon nanotube (MWCNT) to synthesize the hybrid material (CP@MWCNT) and was characterized by spectroscopic methods such as FT-IR, UV-Vis,  $^{13}\text{C}$ -NMR and  $^1\text{H}$ -NMR. Characterization, thermal stabilities and surface analyzing of the hybrid materials were elucidated by using FT-IR, UV-Vis spectroscopy, TGA, SEM and TEM.

The intermolecular cross-linking method was used for the interaction of anti-PSA with hybrid material. Time of immobilization, amount of CP@MWCNT, amount of antibody and the concentration of glutaraldehyde of the prepared PSA immunosensor were optimized by using DPV. Additionally, electrochemical characterization studies were performed by using CV and EIS techniques. Parameters such as reproducibility, long-term stability and selectivity of immunosensor were determined under optimal conditions, and a calibration chart was obtained. Response of sensor in a real sample was investigated by using blood serum, and recoveries were calculated. Validation studies of newly prepared CP@MWCNT-based immunosensors were conducted using an ELISA kit.

**Keywords:** Pyranine, MWCNT, Hybrid material, Electrochemical PSA immunosensor, Cancer biomarker

## TEŞEKKÜR

Yüksek lisans sürecimde, çalışmalarım da hep yol gösteren, fikirleriyle bana öncülük eden, bir fikir sunduğumda dikkatle dinleyen, gerekli olan imkanları sağlayan ve her zaman destekleyen sayın danışmanım Doç. Dr. Ahmet ŞENOCAK'a teşekkürlerimi sunuyorum.

Ayrıca, çalışmalarım süresince yaşadıklarım sorunlarda aynı şekilde bana yardımcı olan, destekleyen ve yol gösteren laboratuvar arkadaşım Arş. Gör. Erdem SARI'ya teşekkürlerimi sunuyorum.



# İÇİNDEKİLER

|                                                                                                                                                  | <b>Sayfa</b> |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------|
| ÖZET                                                                                                                                             | vi           |
| ABSTRACT                                                                                                                                         | vii          |
| TEŞEKKÜR                                                                                                                                         | viii         |
| İÇİNDEKİLER                                                                                                                                      | ix           |
| SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ                                                                                                                   | xi           |
| ŞEKİLLER DİZİNİ                                                                                                                                  | xii          |
| TABLolar/ÇİZELGELER DİZİNİ                                                                                                                       | xiv          |
| <br>                                                                                                                                             |              |
| 1. GİRİŞ                                                                                                                                         | 1            |
| KURAMSAL TEMELLER                                                                                                                                | 4            |
| 2.1. Kanser                                                                                                                                      | 4            |
| 2.1.1. Prostat Kanseri                                                                                                                           | 5            |
| 2.1.2. Kanser Biyobelirteçleri                                                                                                                   | 7            |
| 2.1.3. PSA Biyobelirteci                                                                                                                         | 8            |
| 2.2. Biyosensörler                                                                                                                               | 9            |
| 2.2.1. Biyosensörlerin Avantajları, Özellikleri ve Kullanım Alanları                                                                             | 10           |
| 2.2.2. Biyosensörlerin Sınıflandırılması                                                                                                         | 11           |
| 2.2.3. Elektrokimyasal Biyosensörler                                                                                                             | 11           |
| 2.3. Voltametrik Yöntemler                                                                                                                       | 14           |
| 2.3.1. Voltametri Kullanılan Elektrotlar                                                                                                         | 15           |
| 2.3.2. Döngüsel Voltametri (CV)                                                                                                                  | 16           |
| 2.3.3. Elektrokimyasal Empedans Spektroskopisi                                                                                                   | 19           |
| 2.4. İmmünosensörler                                                                                                                             | 20           |
| 2.4.1. Antijen/Antikor Temelli Biyosensörlerde İmmobilizasyon Yöntemleri                                                                         | 21           |
| 2.4.1.1. Fiziksel Adsorpsiyon                                                                                                                    | 22           |
| 2.4.1.2. Moleküler Arası Çapraz Bağlanma                                                                                                         | 22           |
| 2.4.1.3. Kovalent Bağlanma                                                                                                                       | 22           |
| 2.4.1.4. Membran ve Polimer İçinde Hapsolme                                                                                                      | 23           |
| 2.5. Biyosensörlerin Yöntem Geçerlilik Testleri (Validasyon)                                                                                     | 22           |
| 2.6. Nanokarbonlar                                                                                                                               | 23           |
| 2.6.1. Karbon Nanotüp                                                                                                                            | 24           |
| 2.6.2. Karbon Nanotüplerin Modifikasyonu                                                                                                         | 25           |
| 2.7. İletken Polimerler                                                                                                                          | 26           |
| 2.7.1. Karbazol                                                                                                                                  | 27           |
| 2.8. Piranin                                                                                                                                     | 28           |
| 2. MATERYAL VE YÖNTEM TEMELLERİ                                                                                                                  | 29           |
| 3.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler ve Cihazlar                                                                                                    | 29           |
| 3.2. Kullanılan Elektrotların Temizlenmesi                                                                                                       | 30           |
| 3.3. Başlangıç Maddelerinin Sentezi                                                                                                              | 31           |
| 3.3.1. 8-(4-nitrofenoksi)piren-1,3,6-trisulfonik asit trisodyum tuzu (3) Sentezi                                                                 | 32           |
| 3.3.2. 8-(4-nitrofenoksi)piren-1,3,6-trisulfonil triklorür (4) Sentezi                                                                           | 33           |
| 3.3.3. N <sup>1</sup> , N <sup>3</sup> , N <sup>6</sup> -tris(4-(9H-karbazol-9-yl)fenil)-8-(4-nitrofenoksi)piren-1,3,6-trisulfonamid Sentezi (6) | 34           |

|                                                                                                                                                                             |    |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 3.3.4.N <sup>1</sup> , N <sup>3</sup> , N <sup>6</sup> -tris(4-(9H-karbazol-9-yl)fenil)-8-(4-aminofenoksi)<br>piren-1,3,6-trisulfonamid (7) Sentezi                         | 34 |
| 3.3.5 CP@MWCNT modifikasyonu                                                                                                                                                | 35 |
| 3.4.Kovalent Bağlanma Yöntemi ile PSA İmmünosensörünün Hazırlanması                                                                                                         | 36 |
| 3.4.1. CP@MWCNT/Kitosan malzemesinin hazırlanması                                                                                                                           | 36 |
| 3.4.2.Anti-PSA'nın immobilizasyonu                                                                                                                                          | 36 |
| 3.4.3.Anti-PSA/CP@MWCNT'nin PSA antijeni ile inkübasyonu                                                                                                                    | 37 |
| 3.4.4.Elektrokimyasal Ölçümler                                                                                                                                              | 37 |
| 3. ARAŞTIRMA BULGULARI                                                                                                                                                      | 38 |
| 4.1.Sentezlenen Bileşiklerin Yapılarının Aydınlatılması                                                                                                                     | 38 |
| 4.1.1. 8-(4-nitrofenoksi)piren-1,3,6-trisulfonik asit trisodyum tuzu (3)<br>Bileşiğinin Yapı Aydınlatılması                                                                 | 39 |
| 4.1.2.8-(4-nitrofenoksi)piren-1,3,6-trisulfonil triklorür (4) Bileşiğinin Yapı<br>Aydınlatılması                                                                            | 40 |
| 4.1.3.N <sup>1</sup> , N <sup>3</sup> , N <sup>6</sup> -tris(4-(9H-karbazol-9-yl)fenil)-8-(4 nitrofenoksi)<br>piren-1,3,6-trisulfonamid (6) Bileşiğinin Yapı Aydınlatılması | 41 |
| 4.1.4.N <sup>1</sup> , N <sup>3</sup> , N <sup>6</sup> -tris(4-(9H-karbazol-9-yl)fenil)-8-(4-aminofenoksi)<br>piren-1,3,6-trisulfonamid (7) Bileşiğinin Yapı Aydınlatması   | 43 |
| 4.2.Çok Duvarlı Karbon Nanotüp-Karbazol Piranin (CP) Hibrid<br>Malzemesinin Karakterizasyonu                                                                                | 48 |
| 4.3.GCE/CP@MWCNT/Chitosan Elektrodunun Elektrokimyasal<br>Karakterizasyonu                                                                                                  | 51 |
| 4.4.PSA İmmünosensörünün Elektrokimyasal Karakterizasyonu                                                                                                                   | 53 |
| 4.5.PSA İmmünosensörünün Optimum Parametrelerinin Belirlenmesi                                                                                                              | 56 |
| 4.6.PSA İmmünosensörünün analitiksel karakterizasyonu                                                                                                                       | 57 |
| 4.7.PSA İmmünosensörünün Tekrarlanabilirlik ve Kararlılığı                                                                                                                  | 58 |
| 4.8.Seçicilik Testi                                                                                                                                                         | 61 |
| 4.9.ELISA (Enzym-Linked Immunosorbent Assay) Testi                                                                                                                          | 64 |
| 4. SONUÇLAR VE YORUMLAR                                                                                                                                                     | 64 |
| KAYNAKLAR                                                                                                                                                                   | 69 |
| ÖZGEÇMİŞ                                                                                                                                                                    | 78 |
| EKLER                                                                                                                                                                       | 79 |

## SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

|                     |                                                |
|---------------------|------------------------------------------------|
| $\dot{I}_{pa}$      | : Anodik Pik Akımı, A                          |
| $E_{pa}$            | : Anodik Pik Potansiyeli, V                    |
| $n$                 | : Aktarılan Elektron sayısı                    |
| $\lambda_{max}$     | : Dalga Boyu                                   |
| $v_{max}$           | : Dalga Sayısı                                 |
| $m$                 | : Eğim                                         |
| $F$                 | : Faraday Sabiti, C/mole <sup>-</sup>          |
| $\Delta$            | : Isı                                          |
| $\dot{I}_{pk}$      | : Katodik Pik Akımı, A                         |
| $E_{pk}$            | : Katodik Pik Potansiyeli, V                   |
| $\delta$            | : Kimyasal Kayma Değeri (ppm)                  |
| $\mu A$             | : Mikroamper                                   |
| $mA$                | : Miliamper                                    |
| $mL$                | : Mililitre                                    |
| $M$                 | : Molarite                                     |
| $\epsilon$          | : Molar Absorplama Katsayısı                   |
| $nm$                | : Nanometre                                    |
| $E$                 | : Potansiyel                                   |
| $R$                 | : Rydberg Sabiti, m <sup>-1</sup>              |
| $k_0$               | : Standart Hız Sabiti                          |
| $E_{p/2}$           | : Yarı-Pik Potansiyeli, V                      |
| DWCNT               | : Çift Duvarlı Karbon Nanotüp                  |
| MWCNT               | : Çok Duvarlı Karbon Nanotüp                   |
| DPV                 | : Diferansiyel Puls Voltametrisi               |
| DMSO                | : Dimetilsülfoksit                             |
| CV                  | : Dönüşümlü Voltametri                         |
| DMSO-d <sub>6</sub> | : Dötero Dimetilsülfoksit                      |
| CDCl <sub>3</sub>   | : Dötero Kloroform                             |
| FT-IR               | : Fourier Transform Infrared                   |
| TEM                 | : Geçirimli Elektron Mikroskobu                |
| LOD                 | : Gözlenebilme Sınırı                          |
| TLC                 | : İnce Tabaka Kromatografisi                   |
| CNT                 | : Karbon Nanotüp                               |
| MALDI-MS            | : Matriks Destekli Lazer Desorpsiyon İyonlaşma |
| UV-Vis              | : Morötesi-Görünür Bölge                       |
| DMF                 | : N-N-dimetilformamid                          |
| NMR                 | : Nükleer Magnetik Rezonans                    |
| $E_{pk}$            | : Katodik Pik Potansiyeli, V                   |
| $E_{p/2}$           | : Yarı-Pik Potansiyeli, V                      |
| $k_0$               | : Standart Hız Sabiti                          |
| $F$                 | : Faraday Sabiti, C/mole <sup>-</sup>          |
| $R$                 | : Rydberg Sabiti, m <sup>-1</sup>              |

## ŞEKİLLER DİZİNİ

### Sayfa

|                                                                                                                                                    |    |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Şekil 2.1: Normal hücre ve kanser hücre çoğalma döngüsü (A), kansere sebep olan en önemli faktörler (B) ve kanserin 10 temel özelliği [8].         | 5  |
| Şekil 2.2: PSA'nın 3 boyutlu gösterimi.                                                                                                            | 8  |
| Şekil 2.3: Biyosensörlerin kısımları.                                                                                                              | 10 |
| Şekil 2.4: Biyosensörlerin sınıflandırılması.                                                                                                      | 11 |
| Şekil 2.5: Birincil, ikincil ve üçüncül nesil biyosensörler [53].                                                                                  | 14 |
| Şekil 2.6: Elektrokimyasal analizlerde kullanılan elektrotlar: GCE çalışma, platin tel karşıt ve Ag/AgCl referans elektrotları.                    | 15 |
| Şekil 2.7: Dönüşümlü voltametriye uygulanan potansiyelin a) akımla b) zamanla değişimi.                                                            | 17 |
| Şekil 2.8: Differansiyel puls voltametriye uygulanan potansiyelin a) akımla b) zamanla değişimi.                                                   | 19 |
| Şekil 2.9: Fullerenlerin başlıca izomerleri (C60- C84).                                                                                            | 24 |
| Şekil 2.10: Tek duvarlı (SWCNT), çift duvarlı (DWCNT) ve çok duvarlı (MWCNT) karbon nanotüplerin yapıları.                                         | 24 |
| Şekil 2.11: İletken polimerlerin yapıları.                                                                                                         | 26 |
| Şekil 2.12: Karbazol bileşiğinin kimyasal yapısı.                                                                                                  | 27 |
| Şekil 2.13: Piranin yapısı.                                                                                                                        | 28 |
| Şekil 3.1: Sentezi gerçekleştirilen bileşikler.                                                                                                    | 32 |
| Şekil 3.2: (3) numaralı bileşiğin sentezi.                                                                                                         | 32 |
| Şekil 3.3: (4) numaralı bileşiğin sentezi.                                                                                                         | 33 |
| Şekil 3.4: (6) numaralı bileşiğin sentezi.                                                                                                         | 34 |
| Şekil 3.5: (7) numaralı bileşiğin sentezi.                                                                                                         | 34 |
| Şekil 3.6: CP polimerinin MWCNT ile modifikasyonu.                                                                                                 | 35 |
| Şekil 4.1: 3 Numaralı bileşiğin kimyasal yapısı.                                                                                                   | 39 |
| Şekil 4.2: 3 numaralı bileşiğe ait FT-IR spektrumu.                                                                                                | 39 |
| Şekil 4.3: 4 Numaralı bileşiğin kimyasal yapısı.                                                                                                   | 40 |
| Şekil 4.4: 4 numaralı bileşiğe ait FT-IR spektrumu.                                                                                                | 40 |
| Şekil 4.5: 6 Numaralı bileşiğin kimyasal yapısı.                                                                                                   | 41 |
| Şekil 4.6: 6 numaralı bileşiğe ait FT-IR spektrumu.                                                                                                | 41 |
| Şekil 4.7: 6 numaralı bileşiğe ait kütle spektrumu.                                                                                                | 42 |
| Şekil 4.8: 6 numaralı bileşiğe ait <sup>1</sup> H-NMR spektrumu.                                                                                   | 42 |
| Şekil 4.9: 7 Numaralı bileşiğin kimyasal yapısı.                                                                                                   | 43 |
| Şekil 4.10: 7 numaralı bileşiğe ait kütle spektrumu.                                                                                               | 44 |
| Şekil 4.11: 7 numaralı bileşiğe ait <sup>1</sup> H-NMR spektrumu.                                                                                  | 44 |
| Şekil 4.12: 7 numaralı bileşiğe ait <sup>1</sup> H-NMR'ın D <sub>2</sub> O eklenmiş ve eklenmemiş halinin karşılaştırması.                         | 45 |
| Şekil 4.13: 7 numaralı bileşiğe ait <sup>13</sup> C-NMR spektrumu.                                                                                 | 45 |
| Şekil 4.14: 7 numaralı bileşiğe ait UV-Vis spektrumu.                                                                                              | 46 |
| Şekil 4.15: Sentezlenen bileşiklerin a) 3 numaralı b) 4 numaralı c) 6 numaralı d) 7 numaralı bileşiklerin FT-IR spektrumlarının karşılaştırılması. | 47 |
| Şekil 4.16: CP@MWCNT hibrid malzemesinin şematik gösterimi.                                                                                        | 48 |

|                                                                                                                                                                                                                                                                 |    |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Şekil 4.17:</b> CP@MWCNT hibrid malzemesinin (a) ve MWCNT (b) SEM, MWCNT (c ve d) ve CP@MWCNT (e ve f) TEM görüntüleri.                                                                                                                                      | 48 |
| <b>Şekil 4.18:</b> CP, CP@MWCNT ve MWCNT malzemelerinin termal analiz grafiği.                                                                                                                                                                                  | 49 |
| <b>Şekil 4.19:</b> CP ve CP@MWCNT hibrid malzemesine ait FT-IR karşılaştırması.                                                                                                                                                                                 | 50 |
| <b>Şekil 4.20:</b> CP ve CP@MWCNT hibrid malzemesinin UV-Vis spektrumu karşılaştırması.                                                                                                                                                                         | 51 |
| <b>Şekil 4.21:</b> GCE, GCE/CP@MWCNT, GCE/CP@MWCNT/Kitosan ve GCE/MWCNT elektrotlarının 2.5 mM $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{-3/-4}$ (1M KCl) çözeltisindeki elde edilen dönüşümlü voltagramları.                                                                  | 52 |
| <b>Şekil 4.22:</b> GCE, GCE/CP@MWCNT, GCE/CP@MWCNT/Kitosan ve GCE/MWCNT elektrotlarının 2.5 mM $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{-3/-4}$ (1M KCl) çözeltisindeki elde edilen elektrokimyasal empedans spektroskopisi ölçümleri.                                        | 53 |
| <b>Şekil 4.23:</b> GCE, GCE/CP@MWCNT, GCE/CP@MWCNT/Kitosan GCE/MWCNT, GCE/CP@MWCNT/Kitosan/anti-PSA/BSA/PSA elektrotlarının 2.5 mM $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{-3/-4}$ (1M KCl) çözeltisindeki elde edilen dönüşümlü voltagramları.                              | 54 |
| <b>Şekil 4.24:</b> GCE, GCE/CP@MWCNT, GCE/CP@MWCNT/Kitosan, GCE/MWCNT ve GCE/CP@MWCNT/Kitosan/anti-PSA/BSA/PSA elektrotlarının 2.5 mM $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{-3/-4}$ (1M KCl) çözeltisindeki elde edilen elektrokimyasal empedans spektroskopisi ölçümleri. | 55 |
| <b>Şekil 4.25:</b> a) CP@MWCNT miktarı b) % Gluteraldehit c) İnkübasyon süresi d) anti-PSA konsantrasyonunun optimize parametreleri.                                                                                                                            | 56 |
| <b>Şekil 4.26:</b> PSA'nın kalibrasyon grafiği.                                                                                                                                                                                                                 | 58 |
| <b>Şekil 4.27:</b> a) Ölçüm tekrarlarına bağlı pik akım değişimi, b) tekrar yıkamaların 100 pg/mL PSA ölçümünün tekrar edilebilirliğine etkisi.                                                                                                                 | 58 |
| <b>Şekil 4.28:</b> PSA immünosensörünün uzun vadeli stabilite grafiği.                                                                                                                                                                                          | 59 |
| <b>Şekil 4.29:</b> CP@MWCNT/Kitosan/anti-PSA/BSA/100pgPSA sisteminin HER-2, HE-4, CA-125, HSA, CRP, IL-6 ve karışımına karşı seçicilik testi                                                                                                                    | 61 |
| <b>Şekil 4.30:</b> a) ELİSA kit ölçümlerinde reaksiyon durdurulmadan önce b) reaksiyon durdurulduktan sonra gözlenen renkler                                                                                                                                    | 62 |
| <b>Şekil 4.31:</b> Artan PSA konsantrasyonuna bağlı olarak artan UV-Vis grafiği.                                                                                                                                                                                | 63 |

## TABLÖLAR DİZİNİ

|                                                                                                              | <b><u>Sayfa</u></b> |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------|
| <b>Tablo 2.1:</b> Prostat kanser evreleri, T (tümör), N (düğüm)ve M (metastaz).                              | 7                   |
| <b>Tablo 2.2:</b> İletken polimerlerin kullanım alanları.                                                    | 27                  |
| <b>Tablo 3.1:</b> Kimyasallar.                                                                               | 30                  |
| <b>Tablo 3.2:</b> Çalışmasında Kullanılan Cihazlar.                                                          | 30                  |
| <b>Tablo 3.3:</b> Farklı yüzdelik konsantrasyonlarda CP@MWCNT kompozit malzemesinin sentezi.                 | 36                  |
| <b>Tablo 3.4:</b> İmmünoşensörde kullanılan yöntemler ve parametreleri.                                      | 37                  |
| <b>Tablo 4.1:</b> PSA'nın tespitinde CP@MWCNT'nin diğer yöntemlerle performansının karşılaştırılması.        | 60                  |
| <b>Tablo 4.2:</b> Yapay kan serumu (insan kan serumu) örneklerinde PSA analizi ve ELİSA ile karşılaştırması. | 63                  |
| <b>Tablo 4.3:</b> CP@MWCNT sensörü ile ELISA yöntemi arasındaki istatistiksel karşılaştırması.               | 63                  |

# 1. GİRİŞ

Elektrokimya, bir kimyasal reaksiyon sırasında açığa çıkan elektriksel ve kimyasal enerji değişimleri arasında gerçekleşen değişimleri geniş kapsamlı inceleyen bir bilim dalıdır. Yaşam analizi, klinik testler, çevre koruma, gıda denetimi gibi birçok alanda uygulama alanına sahiptir. Elektroanalitik kimya ise kantitatif veya kalitatif analitik incelemeler yaparak yeni yöntem ve elektrotların gelişmesinde öncelik sağlar. Yakıt hücrelerinde elektrokataliz incelenmesi, pillerde interkalasyon araştırılması, nanomalzeme inceleme veya redoks-aktif olmayan moleküllerin analizi için yeni modifiye elektrotları gibi birçok uygulamada kullanılmaktadır [1]. Elektroanalitik kimyada bu uygulamalarının analizi için potansiyometrik, kondüktometrik, amperometrik gibi teknikler kullanılmaktadır. Bu teknikler kolay numune hazırlama, düşük maliyet, yüksek duyarlılık gibi olumlu özellikleri nedeniyle diğer spektrometrik veya kromatografik yöntemlere kıyasla ilgi alanı giderek artmaktadır.

Elektrokimyasal sensörler, kimyasal ve biyolojik değişiklikleri elektrokimyasal sinyallere dönüştürür. Elektrokimyasal biyosensör ise analit olan biyolojik bileşeni tanıyarak kimyasal değişiminin konsantrasyonla orantılı olarak elektrik sinyaline dönüştürülmesine dayanır. Taşınabilir, oldukça hassas, basit, hızlı, seçici ve özgün olmaları dolayısıyla sağlık, çevre, gıda, kalite kontrol ve endüstri gibi birçok alanda kullanımı mevcuttur [2].

Karbon nanotüplerin elektrokimyasal reaksiyonlarda elektron transferini destekleme yeteneği, yüksek elektronik iletkenliği, biyolojik tanıma olaylarında elektronik sinyal iletimini sağlarken farklı bileşik gruplarıyla modifiye edilmesi ara yüzeydeki etkisini arttırarak elektrokimyasal sensörlerde kullanımını arttırmış ve bu yönde ileri çalışmalar sürdürülmüştür [3]. Karbon nanotüpler özel bir yan duvar eğriliğine ve yüksek hidrofobik bir yüzeye sahiptir. Üst üste binen silindirlerin sayısına bağlı olarak tek (SWCNT), çift (DWCNT), ve çok (MWCNT) duvarlı karbon nanotüp olarak adlandırılırlar. Kimyasal sensörler, elektronikler, model sağlık uygulamaları ve enerji depolama gibi uygulamaları bulunmaktadır. CNT modifikasyonlu elektrotların kullanımında artışın nedeni karbon nanotüp üzerinde organik bileşiklerin daha güçlü adsorpsiyonu ve sıyırma tepkilerinin daha az aşırı potansiyele doğru kaymasıdır [3].

Bu özellikleri sağlaması sebebi ile hibrid malzemeler hazırlanmasında öncü olmuştur. Hibrid malzeme olarak genellikle polimerler, metal nanopartiküller, siklodekstrinler, mikropartiküller kullanılır. Genellikle polimerler bir elektrik yüküne ve delokalize elektronlara sahip olmaması nedeniyle iletkenlik göstermez fakat bir organik molekülde konjuge çift bağ sayesinde delokalizasyona neden olmasıyla birlikte iletken polimerler yönünde birçok sentez gerçekleştirilmiştir. Bunlara poliasetilen, polianilin, polikarbazol, polipirrol gibi iletken polimerler örnek verilebilir. Hibrid malzeme için iletken polimer ve karbon nanotüpün kompozit edilmesi elektrokimyasal ve mekanik özelliklerde artışa neden olmuştur.

İmmüno sensörler, reseptör olarak kullanılan antijen ve antikor arasındaki immünokimyasal reaksiyonları inceleyerek farklı analit konsantrasyonlarını ve miktarlarını belirler. Bu sensörün ölçümü elektrokimyasal, manyetik, termometrik ve optik gibi dönüştürücüler ile sinyale çevrilir. Doğrudan, dolaylı ve sandviç metotları kullanılarak immünokimyasal reaksiyonun tespiti yapılır. Doğrudan analizde belirli bir antikor hedef alınırken, dolaylı analizde ise bir adım eklenerek tespit sinyali arttırılmış olur. Sandviç metotta ise hedef analitin farklı kısımlarına bağlı bulunan iki antikor bulunur ve bu antikorlar analiti sıkıştırarak bir yapı oluşturur.

Bu tez çalışmasında hibrid malzeme eldesi için polimerize olabilecek karbazol ve antikor immobilizasyon derecesini artıracak amin grupları olan yeni piranin molekülü (Karbazol-piranin, CP) sentezlenmiş ve FT-IR, MALDI-TOF, <sup>1</sup>H-NMR ve <sup>13</sup>C-NMR, UV-Vis spektroskopisi gibi tekniklerle karakterize edilmiştir. Elde edilen karbazol-piranin monomeri FeCl<sub>3</sub> katalizörü varlığında MWCNT ortamında oksidatif polimerizasyon reaksiyonu ile yeni hibrid malzeme (CP@MWCNT) sentezlenmiştir. CP@MWCNT hibrid malzemesinin karakterizasyonu, termal kararlılıkları ve yüzey analizleri FT-IR, UV-Vis spektroskopisi, TGA, SEM ve TEM kullanılarak aydınlatılmıştır. Bir kanser belirteci olan prostat kanser antijeni (PSA)'nin elektrokimyasal tayini için sentezlenen CP@MWCNT hibrid malzeme camısı karbon elektrot yüzeyine modifiye edilmiştir. Anti-PSA'nın hibrid malzeme ile etkileşimi için gluteraldehit çapraz bağlama ajanı kullanılmış ve yüzeye kovalent olarak tutturulmuştur. PSA'ya seçici immüno sensörün optimum parametreler belirlenmiş ve elektrokimyasal karakterizasyon çalışmaları, tekrarlanabilirlik, uzun süre stabilitesi, seçicilik ve gerçek örnek analizleri CV, DPV ve empedans spektroskopisi kullanılarak analiz edilmiştir. Böylece yeni karbazol-piranin monomeri ve CP@MWCNT hibrid

malzemesinin yanı sıra farklı bir bakış açısıyla hassas ve seçici elektrokimyasal PSA immünosensörü literatüre kazandırılmıştır.

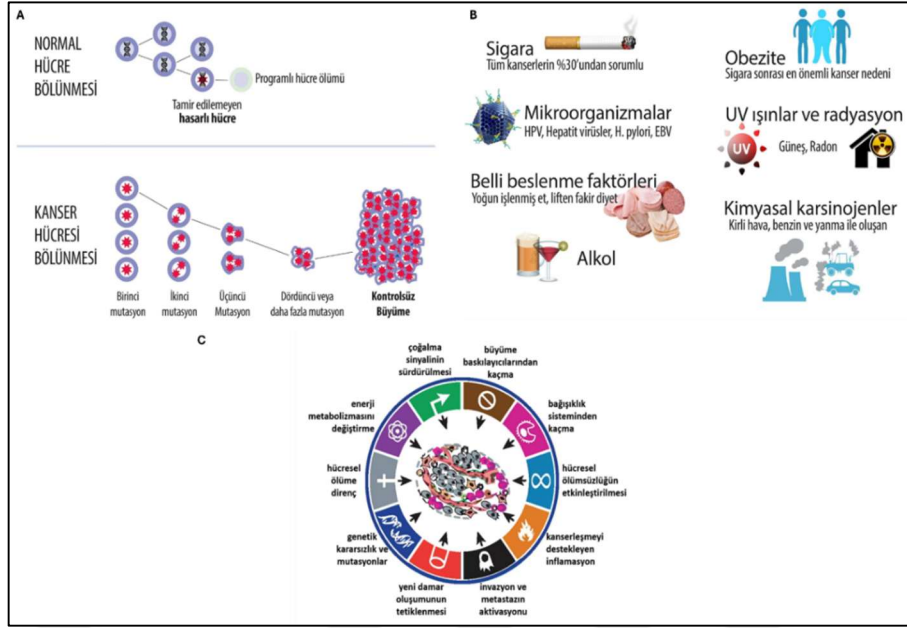


## 2. KURAMSAL TEMELLER

### 2.1. Kanser

Kanser, vücudun çeşitli bölgelerindeki dokulara yayılma ve istila etme potansiyeli olan anormal hücre büyümesini içeren bir hastalık grubudur ve 100'den fazla farklı hastalığı bünyesinde barındırır [4]. Kanserler, küresel hastalık oranının önemli bir bölümünü oluşturur. En son küresel verilere göre, 2022 yılında dünyada yaklaşık 20 milyon yeni kanser vakası tespit edilirken, yaklaşık 10 milyon kişinin ölümüne sebep olduğu belirtilmiştir. 2050 yılına kadar ise bu sayısının 35 milyona ulaşması beklenmektedir [5]. Virüsler, bakteriler, radyasyon, yeme alışkanlıkları ve kimyasallar gibi birçok genetik, fiziki ve çevresel faktör kanser geliştirme riskini arttırır. Bunlara örnek olarak; X-ışınları, radyoaktif maddelerden yayılan radyasyon, anilin tipi boyalar, sigara, serbest radikaller, hava kirliliği, gıda katkı maddeleri, çeşitli ilaçlar, parfümlerde kullanılan bazı kimyasallar verilebilir. Çevresel faktörler havada, toprakta, suda ve yiyeceklerde bulunurken, aynı zamanda alkol, obezite, tütün tüketimi ve diyabet gibi etkenler de görülmektedir [6]. Genetik faktörler açısından tümör baskılayıcı genler ve DNA onarımında rol oynayan genler dahil olmak üzere birden fazla mutasyonlar tek bir gen yerine kanser oluşumuna sebebiyet verir. Bu genler, doku homeostazını ve hücre büyümesini düzenleyen üç ana biyolojik yolla kansere neden olur. Bu biyolojik yollar; hücre büyümesi, apoptoz ve farklılaşma olarak adlandırılır.

Şekil 2.1'de özetlendiği gibi, kök hücre rezervi, doku onarımını ve işlevsel homeostaziyi desteklemek için telafi edici kapasitenin sınırına ulaşır ve burada organizmanın bir bütün olarak ölümü, kritik bir organa veya işlevsiz dokunun kritik kütleline ulaştığında gerçekleşir. Farklı bir kök hücre yolu ise ekzojen ve endojen zararlı faktörlerin etkisi altında patolojik yeniden farklılaşmaya, ölümsüzleşmeye ve tümör hücrelerinin bir klonunun oluşumuna yol açar [7].



**Şekil 2.1:** Normal hücre ve kanser hücre çoğalma döngüsü (A), kansere sebep olan en önemli faktörler (B) ve kanserin 10 temel özelliği [8].

Genetik faktörlerden dolayı meme, cilt, prostat, böbrek, akciğer, kalın bağırsak, kemik iliği, gırtlak, tiroid, rahim ağzı, göz, pankreas, yumurtalık kanserleri meydana gelmektedir. Kanser hücrelerine göre normal hücrelerde büyüme ve farklılaşma regülasyonundaki farkın ne olduğu yönündeki çalışmalar, antikanser terapilerine gelişmesine, kanserin moleküler mekanizmaların daha iyi anlaşılmasına yol açmıştır. Böylece, kanserin erken tanınması, doğru tanı konması ve daha etkili tedavi yöntemlerine olanak sağlayacaktır.

### 2.1.1. Prostat Kanseri

Prostat kanseri, erkeklerde en sık görülen ikinci kanser türüdür ve kansere bağlı ölümlere sebep olan beşinci sırada yer alır [9]. Erkek prostat dokusunun dış kabuğunda ortaya çıkan tümörlerdir. Bulundukları bölgede kalan ve başka organlara yayılmayan tümörler, iyi huylu tümör olarak adlandırılır [10]. Kötü huylu tümörler ise komşu organlara yayılma özelliği gösterir ve bu tümör prostat kanseri olarak adlandırılır. Mukus hücrelerinin hızla çoğalması ile tümörün organ dışına yayılmasına “adenokarsinom” denir. Bu hücreler, prostat kanserlerinin %95’inden fazlasını oluşturur [11].

Küresel verilere göre prostat kanserine bağlı ölüm oranları Afrika-Amerika kökenli erkeklerde en büyük riskin olduğu görülmektedir [12]. Avustralya ve Kanada’da %80,

Danimarka, Polonya ve Cezayir’de ise %40 olarak belirtilmiştir. Prostat kanserin risk faktörlerine bakıldığında ileri yaş oranı görülmüştür. Kanser %75’i, 65 üstü erkeklerde teşhis edilmiş, 40 yaşından küçük erkek hastalarda ise nadiren rastlanmıştır. İkinci bir faktör ise ırk veya etnik kökene bağdaştırma yapılmıştır fakat bunun sebebinin kesin olamamakla birlikte sosyoekonomik, çevresel veya diyet gibi faktörlere bağlı olduğu ileri sürülmektedir. Aile öyküsü ise üçüncü bir faktördür. Prostat kanseri olan birinci derece akrabası olan erkeklerde prostat kanseri riski iki kat artar. Akraba 60 yaşından küçük bir yaşta teşhis edilmişse veya birden fazla birinci derece akrabaya teşhis konulmuşsa risk daha da artar [13].

Prostat kanseri olan erkeklerin büyük bir çoğunluğunda kanser yavaş büyür, genelde semptom görülmez fakat sertleşme bozukluğu, bölgede rahatsızlık hissi, idrarda kan görülmesi, idrar akışında kuvvet azalması, kemik ağrıları (metastatik hastalıkta) ve idrar yapma güçlüğü gibi bazı belirtileri bilinmektedir. Bazı erkeklerde ise kanser ilerler ve bu durum hastalığın tahmini veya iyileşme durumu hakkında öngörünün kesinleşmesini zorlaştırır. Bu nedenle, asemptomik erkeklerde erken teşhis ve tedavi birçok hastaya büyük fayda sağlamaktır.

Prostat kanseri teşhisi için görüntüleme yöntemleri olarak MR, kemik sintigrafisi, Galyum 68 PSMA PET (Prostat Spesifik Membran Antijeni Pozitron Emisyon Tomografisi) tarama veya transrektal ultrason (TRUS) gibi yöntemler uygulanabilir [11]. Bunun yanı sıra biyopsi testi olarak dijital rektal muayene (DRE), kan testi olarak PSA (Prostat özgü antijen) ve idrara dayalı testler yapılarak hastalığın teşhisi yapılmaya çalışılmıştır [14].

Prostat kanseri evreleri tespit edilirken TNM evreleme sistemi kullanılır. T (tümör), tümörün boyutunu, yerini ve dokuda ne kadar derine indiğini tanımlar. N (düğüm), kanser hücrelerinin yakındaki lenf düğümlerine mi yoksa lenf düğümlerini bağlayan kanallara mı yayıldığını gösterir. M (metastaz), kanser hücrelerinin uzak organlara veya dokulara yayılıp yayılmadığını ifade eder. Aşağıdaki tablo 2.1’de evreleme sistemleri ve buna bağlı değişimler gözlenmiştir. Gleason skoru, prostat kanserinde kanser hücrelerinin normal hücrelerden farklılaşma derecesini değerlendiren skorlamadır [15].

**Tablo 2.1:** Prostat kanser evreleri, T (tümör), N (düğüm)ve M (metastaz).

| Prostat Kanser Evreleri |          |          |    |             |          |
|-------------------------|----------|----------|----|-------------|----------|
| Evreler                 | T        | N        | M  | PSA (ng/ml) | Gleason  |
| I                       | T1a-c    | N0       | MO | <10         | ≤6       |
|                         | T2a      | N0       | MO | <10         | ≤6       |
| IIa                     | T1a-c    | N0       | MO | PSA <20     | 7        |
|                         | T1a-c    | N0       | MO | PSA ≥10<20  | ≤6       |
|                         | T2a      | N0       | MO | PSA ≥10<20  | ≤6       |
|                         | T2a      | N0       | MO | PSA <20     | 7        |
|                         | T2b      | N0       | MO | PSA <20     | ≤7       |
| IIb                     | T2c      | N0       | MO | Herhangi    | Herhangi |
|                         | T1-2     | N0       | MO | PSA ≥20     | Herhangi |
|                         | T1-2     | N0       | MO | Herhangi    | ≥8       |
| III                     | T3a-b    | N0       | MO | Herhangi    | Herhangi |
| IV                      | T4       | N0       | MO | Herhangi    | Herhangi |
|                         | Herhangi | N1       | MO | Herhangi    | Herhangi |
|                         | Herhangi | Herhangi | M1 | Herhangi    | Herhangi |

### 2.1.2. Kanser Biyobelirteçleri

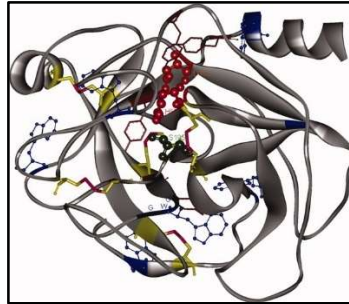
Biyobelirteçler, kanda, vücut sıvılarında veya dokularda bulunan, normal veya anormal biyolojik bir sürecin veya hastalıkların varlığını işaret eden herhangi bir biyolojik belirteç anlamına gelir [16]. Kanser biyobelirteçleri, hastalık riskini tahmin etme, gizli birincil kanserleri tarama, iyi huylu bulguları kötü huylu bulgulardan veya kötü huylu bir tümörü diğerlerinden ayırma, kanser teşhisi konmuş hastalar için prognoz belirleme veya hastalığın durumunu izleme dâhil olmak üzere birden fazla klinik ortamda hasta değerlendirilmesi için kullanılır. Yüksek seçicilik, özgüllük, doğruluk veya tekrarlanabilirlik gibi özelliklere sahip olmaları da değerlendirme açısından kolaylık sağlamaktadır. Bu stratejileri tüm nüfusa toptan uygulamak yerine sadece yüksek risk gruplarına uygulamak daha etkilidir. Belirteçler; tam kan, serum ve plazma gibi dolaşımda; dışkı, idrar ve balgam türevlerle salgı olarak tespit edilebilirler. Biyobelirteçlerin birçok çeşidi bulunur. Bunlara, bir enzim veya reseptör gibi çeşitleri bulunan proteinler; mikroRNA ve kodlanmayan RNA gibi nükleik asitler ve peptitlerdir. Bugüne kadar 20'den fazla onaylı kanser biyobelirteci tanımlanmış ve hasta teşhisinde klinik olarak kullanılmıştır. Bunlara örnek olarak; metastatik kolorektal (CEA), prostat (PSA), yumurtalık (CA125, HE4), meme (CA27.29) ve pankreas (CA19-9) kanseri verilebilir [17].

Biyobelirteçlerin kullanımları tedavi önerilerinin ve takip taramasının optimizasyonunu sağlayacak, hasta için kişileştirilmiş bir tedaviye ve bunun sonucunda oluşan hasta toksisitelerini azaltmaya ve kaynakları daha etkili bir şekilde kullanarak maliyetleri düşürmeye yol açacaktır. Fakat biyolojik sıvılardaki konsantrasyonları, klinik biyobelirteç olarak nitelendirilmeleri için hastalığa veya hastaya yanıt olarak değişmesi gerekmektedir [18].

Şu anda kullanımda olan 2000 biyobelirteç olmasına rağmen, bunların yalnızca %6'sı klinik uygulamada belirli hastalıkları tespit etmek için kullanılmaktadır. Bunların başlıca sebeplerinden biri belirteçlerin düşük tekrarlanabilirliğe sahip olmalarıdır [19].

### 2.1.3. PSA Biyobelirteci

Prostat özgül antijen tek zincirden oluşan, glikoprotein yapısında bir moleküldür. Doku kallikrein ailesinin bir üyesi olan PSA, serin proteaz (proteinlerdeki peptit bağlarını parçalayan enzim) aktivitesine sahiptir (Şekil 2.2) ve yapısında 237 aminoasit bulunan PSA'nın molekül ağırlığı 34 kDA'dır. PSA günümüzde en sık kullanılan tümör belirtecidir. Prostat kanserine erken tanı koymak için tümör belirteci arayışı 1960'lı yıllarda başlamıştır. 1986'da Amerika Bileşik Devletleri Gıda ve İlaç Dairesi (FDA) tarafından onaylanmış ve 1990 yılından itibaren üroloji pratiğinde uygulamaya girmiştir. Richard J. Ablin 1970'li yıllarda normal, benign (kansersiz olmayan) ve malign (kansersiz) dokusunun antijenik yapısı ile ilgili araştırmalar yürütmüştür. Bu çalışmalar sonucunda prostat dokusunda özgül iki antijen saptamışlardır. Bunlardan birisinin prostatik asit fosfataz olduğunu, diğerinin ise daha detaylı bir şekilde karakterize edilmesi gerektiğini bildirmişlerdir. Prostatik asit fosfatazdan farklı antijeni tanımlarken “prostat özgül antijen” tanımı kullanılmıştır [20].



Şekil 2.2: PSA'nın 3 boyutlu gösterimi.

Flocks ve arkadaşları, 1960 senesinde, prostat dokusuna karşı üretilmiş olan antikörlerin dokuya ve türe özgü olduğunu bildirmişlerdir. Prostat dokularının antijenik yapılarının benzer olduklarını ve kanserli dokuya özel bir antijenin ortaya konamadığı vurgulamıştır [21]. PSA, kansere özgü olmayıp prostat organına özgü bir protein olduğu için her bir PSA yüksekliği kanser olduğu anlamına gelmemektedir. Bu nedenle; yaşa özgü PSA, PSA artış hızı, serbest/total PSA oranı, hacimce özgün PSA ve PSA dansitesi gibi kavramlar kullanılarak gereksiz biyopsilerden kaçınılmaya çalışılmıştır [22]. Papsidero ve arkadaşları, 1980 yıllarında, prostat dokusundaki PSA'ya karşı üretilmiş antikoru kullanarak, metastatik prostat kanserli hastaların serumlarındaki PSA'yı izole etmeyi başarmıştır. Prostat dokusundaki PSA'nın molekül ağırlığı 34 kDa iken, serumda ise 96 kDa olarak ölçülmüştür. Aradaki bu fark, PSA'nın serumda bağlandığı proteinler ile açıklanmıştır [23].

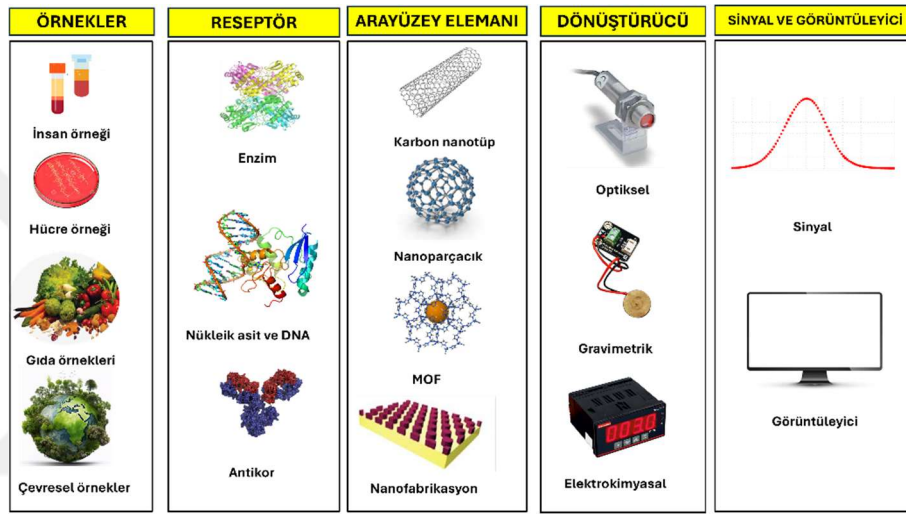
PSA sadece kanser tanısı koymada kullanılan bir belirteç olmayıp aynı zamanda kanser nedeniyle tedavi gören (cerrahi, hormonaterapi, kemoterapi) hastaların takibinde ve izlem yapılan hastalarda da kullanılmaktadır [24]. Sağlıklı bireyler PSA değeri 4 ng/ml'dir ve 4-10 ng/ml değerleri, sınır değeri olarak kabul edilmektedir. 10 ng/ml üzerindeki PSA değerine sahip hastalar, kanser hastası olarak görülmektedir ve buna uygun olarak biyopsi işlemi uygulanmaktadır [25]. PSA'nın serum içerisindeki konsantrasyonundan yararlanılarak ve uygun parametrelerin incelenmesi sayesinde hastalığın tanısı, tedavisi, evrelemesi ve izlenmesi için kullanılabileceği sonucuna varılmıştır [26].

## 2.2. Biyosensörler

IUPAC'a göre biyosensör, biyomolekülün katmanının dönüştürücüyle yakın temas halinde olduğu ve elektrik sinyalleri üreten biyo-analitik bir cihazdır [27]. Biyomolekülleri bir dönüştürücü içinde veya dönüştürücüyle yakın temas halinde birleştirilerek tek bir analite denk bir elektrik sinyali üretir. Analit ve biyomolekül arasındaki kimyasal reaksiyonun gerçekleştiği sensörün platformu, bir dönüştürücünün yüzeyidir. Bu dönüştürücü, kimyasal enerjiyi elektrik sinyaline dönüştürür ve elektronik devre sinyalini işleyerek kullanılabilir bir forma getirir [28].

Sensörler; alıcı, dönüştürücü ve okuma sistemleri olarak üç bölümden oluşur. Biyosensör ise analit, biyoreseptör, dönüştürücü, elektriksel ara yüzeyler ve ekran parçalarından meydana gelmektedir [29]. Biyoreseptörler; enzim, hücreler, antikörler,

nükleik asitler ve DNA gibi hedef molekülün yakalandığı bir biyolojik bağlanma bölgesidir. Ara yüzey elemanı; nanomalzemeler, geniş bir elektroaktif alana sahiptir. Analit-reseptör arasında yüksek biyo-uyumluluk sağlayarak nanotaşıyıcı olarak kullanılır ve analiz yanıtını arttıırırlar. Dönüştürücü ise optiksel, elektronik, gravimetrik ve elektrokimyasal olarak sınıflandırılır. Bir kimyasal veya hedefin varlığında bağlantı kurarak algılama ve tanıma olayını bir sinyale dönüştüren cihazdır. Elektriksel arayüzeyler olarak ise nanoparçacıklar, nanotüpler ve elektrotlar örnek verilebilir [30].



Şekil 2.3: Biyosensörlerin kısımları.

### 2.2.1. Biyosensörlerin Avantajları, Özellikleri ve Kullanım Alanları

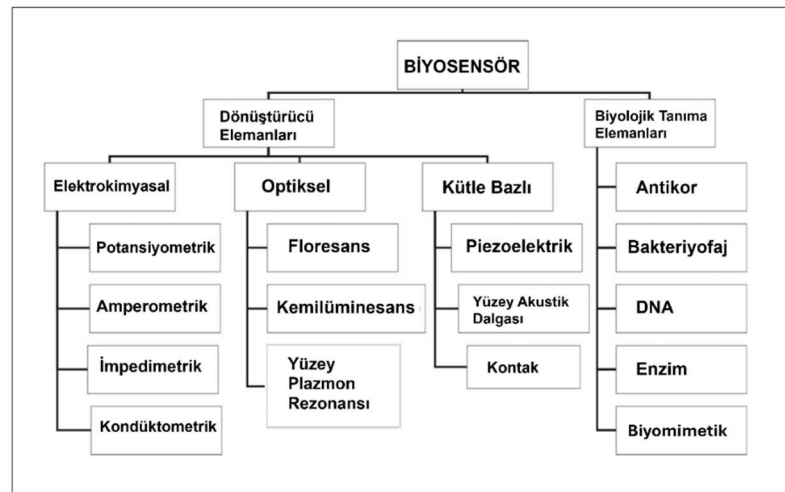
Biyosensörler, güvenilir, pratik ve kısa süreli sonuçlar sağlarlar ve tekrar kullanılabilir oldukları için uzun vadeli dirler. Düşük maliyet, nano-yapı, hızlı ve kolay kullanım gibi özellikleri vardır. Bunun yanı sıra, büyük bir hassasiyet sağlaması sayesinde bio-element ve analit arasındaki seçicilik biyosensörün istenilen alanda hazırlanıp kullanılması açısından avantaj sağlar fakat biyofabrikasyon gerektirir.

Sağlık, ilaç, gıda, kalite kontrol, endüstriyel, hayvancılık, çevre kirliliği, atık kontrolü ve askeri alanlarda, minerallerdeki toksik gaz tayini, biyomedikal ve tarım gibi birçok alanlarda kullanımları bulunmaktadır [31]. Sağlık ve mikrobiyal alanlarda hastalık tanımlama, önleme, rehabilitasyon, hastaların sağlık gözetimi gibi etmenlerde rol alır. Ayrıca birçok kanserin teşhisinde ve tedavisinde büyük bir önem arz eder [32]. Bakteri, patojen ve virüs mikroorganizmalarını tespit etmek içinde kullanılabilir [33]. Endüstriyel alanda yüksek boyutta bakteri ve ökaryot bakteri kültürü kullanılarak

endüstriyel fermentasyon üreten malzemeler üretilebilir. Çevresel suların gözlemi, yeraltı sularındaki artan kirliliklerin veya fosfat ve nitrat gibi anyonik kirliliklerin tayini yapılabilir. Askeri ve savunma alanında ise kimyasal ve biyolojik yapıların ve silahların tespiti gibi çalışmalar bulunmaktadır. Balık, et ve kümes hayvanlardaki patojenik organizmalara bakılarak yiyecek endüstrisinde yarar sağlar [34].

### 2.2.2. Biosensörlerin Sınıflandırılması

Bir biosensörün biyolojik tanıma elemanı, hedef analitler ile özgün bir şekilde etkileşime girerek sensörlerin seçiciliğini gösterir. Bu elemanlar iki ana sınıfa ayrılır: biyokatalizörler (enzimler, mikroorganizmalar ve doku materyalleri) ve biyoligantlar (antikorlar, nükleik asitler ve lektinler). Biosensörler, dönüştürücü eleman ve biyotanıma elemanı olarak ikiye ayrılır [35]. Dönüştürücü elemanı; biyoluminesas, kütle bazlı biosensörler, elektrokimyasal biosensörler, optiksel biosensörler ve termal biosensörler olarak birbirinden ayrılır. Kütle bazlı biosensörler: manyetoelektrik, piezoelektrik (kuvars kristal mikroterazi, yüksek akustik dalgası) sensörlerdir. Elektrokimyasal biosensörler: potansiyometrik sensörler, amperometrik sensörler, impedimetrik sensörler ve kondüktometrik sensörleridir. Optik biosensörler: yüzey plazmon rezonansı, raman ve FT-IR, fiber optiklerdir [36].



Şekil 2.4: Biosensörlerin sınıflandırılması.

### 2.2.3. Elektrokimyasal Biosensörler

Elektrokimyasal biosensörler, 1962’de Leland C. Clark tarafından immobilize glikoliz oksidazlı ilk enzim elektrodu ilkesini ortaya atması ve buna “biosensör” adını

vermesiyle tanınmıştır ve yıllardır hem temel hem de uygulama olarak araştırma konusu olmuştur. Genel terime bakılırsa, seçili nicel veya yarı nicel analitik veriler için biyolojik tanıma elemanı kullanan bir reseptör-transdüser cihazı olarak adlandırılır [37]. Elektrokimyasal biyosensörler taşınabilir, oldukça hassas, basit, kısa tepkili, seçici, ucuz ve özgün olmaları dolayısıyla geniş bir uygulama yelpazesine sahiptir [38]. Biyolojik bileşen analiti tanır ve kimyasal değişimin konsantrasyonuna orantılı olarak elektrik sinyallerine dönüştürülmesiyle meydana gelir. Burada aslında elektrokimyasal biyosensörlerin temellerinden biri olan indirgenme-yükseltgenme yani redoks tepkimesi gerçekleştirilmiştir [39]. Redoks tepkimesinde, bir taraf elektron kazanıp indirgenirken, diğer taraf elektron kaybederek yükseltgenmiştir. Reaksiyon hücresindeki gerçekleşen durumları birbirine bağlayarak elektron akışından yararlanırlar ve böylece çözeltideki yükü dengelemek için çözelti/elektrot arayüzü boyunca bir yük transferi gözlemlenir ve elektron akışını ve difüzyonunu düzenlemek için hücre boyunca harici bir potansiyelin uygulanması yapılır [40]. Analitin varlığını veya konsantrasyonunu gözlemlemek için birçok farklı dış voltaj kullanılır. Bunlar; amperometrik, potansiyometrik, impedimetrik ve kondüktometrik [41].

#### **2.2.3.1. Potansiyometrik Biyosensörler**

İyon seçici elektrotlara (ISE) ve iyon duyarlı alan etkili transistörler (ISFET) kullanılarak elektrot sistemlerinin potansiyel ölçülmesine dayanır [42]. Sabit bir elektrik akımı uygulandığında, analit konsantrasyonuna göre çalışma ve referans elektrotları arasındaki potansiyel farkından yararlanır [43]. Burada redoks tepkimesi gerçekleşerek iyonun varlığı izlenir. Elektrottan geçen akım sıfıra eşittir veya sıfıra yakındır. İyon analizi ve pH değişimini ölçebilirler. Potansiyometrik biyosensörlerin en büyük avantajı, uygun elektrot kullanıldığında gösterdikleri duyarlılık ve seçiciliktir. Genellikle uygun maliyetlidir, tekrarlanabilir ve yeniden üretilebilirler. Ayrıca, tepki süresini, doğrusal aralığı ve tespit sınırını da potansiyometrik biyosensör kullanılarak bulunabilir [44].

#### **2.2.3.2. Kondüktometrik Biyosensörler**

Hücre içi gerçekleşen reaksiyonlarda iyon ve elektron üretiminde çözeltinin değişen iletkenliği ve direncini ölçer ve kalibrasi yapılır. Kondüktometrik biyosensörün avantajı, referans elektrot kullanılmaması, düşük voltajda çalışması ve ışığa duyarlıdır

olmasıdır [45, 46]. Hava nemini ve belirli gazların konsantrasyonunu belirlemek için kullanılır [47].

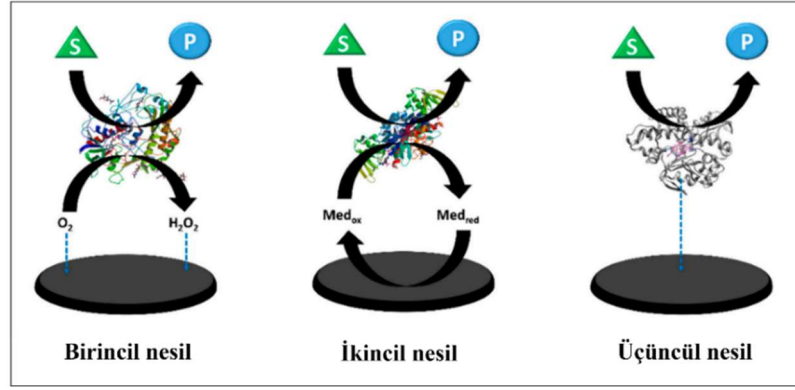
### 2.2.3.3. Amperometrik Biyosensörler

Amperometri, elektrokimyasal biyosensör alanında en yaygın kullanılan ölçüm tekniklerinden biridir [45]. İlk amperometrik sensörler; Clark tarafından geliştirilen çözünmüş oksijen analizi tayininde ve Contiand Maget tarafından önerilen ve hidrojen tayininde kullanılan elektrotlardır [48]. Belirli bir analitin miktarına göre sistemden akım geçmesi için elektrot sistemine sabit bir voltaj uygulanır. Bu işlem sırasında elektrot yüzeyinde redoks tepkimesi meydana gelir ve analitin konsantrasyonuyla orantılı olarak bir elektrik akımı üretir [49]. Amperometrik biyosensörlerin çalışma elektrotları genellikle soy metaldir veya biyotanıma bileşeniyle kaplanmış bir tür baskı katmanıdır. Potansiyometrik biyosensörler gibi reaksiyon süreleri, enerji aralıkları ve hassasiyetleri bulunur. Bu cihazlar sadece akım ölçümlerine bağlıdır. Amperometrik biyosensörler, elektrokimyasal evrimine dayanarak üç çeşide ayrılır:

Birinci nesil biyosensörler, substrat ve ürün konsantrasyonunun analiz edildiği Clark modeline dayanmaktadır. Analit enzimle reaksiyona girerek ürün oluşumuna neden olur [50].

İkinci nesil biyosensörlerde elektronun elektrot tabanına transferini sağlamak için redoks medyatörleri denilen redoks çiftleri ve selektron taşıyıcıları içeren dönüştürücüler kullanılır. Bu medyatörler, birinci nesil biyosensörlerden kaynaklanan yüksek potansiyel dezavantajını ortadan kaldırmak üzere yararlanılır. Potasyum ferrisiyanür, ferrosen, hidrokinon ve tetratriyafulvalen, ferrosen karboksilik asit, promazin, dimetilamino metilferrosen, metilin bl.e, 1,4-benzokinon, 4,4'-dihidroksibifenil gibi bileşikler medyatör olarak örnek verilebilir [51].

Üçüncü nesil biyosensörler, elektron taşıma redoks araçlarını kullanmayan biyosensörlerdir. Bu biyosensörlerin temel prensibi, enzim redoks merkezi ve elektrot arasındaki doğrudan elektron taşımalarını sağlamaktır çünkü ikinci nesil biyosensörlerde baz alınan medyatörlerin kullanımı oldukça karmaşık ve kompleks reaksiyonları içerir. Aşağıda ise anlatılan biyosensörlerin şematik gösterimi verilmiştir [52].



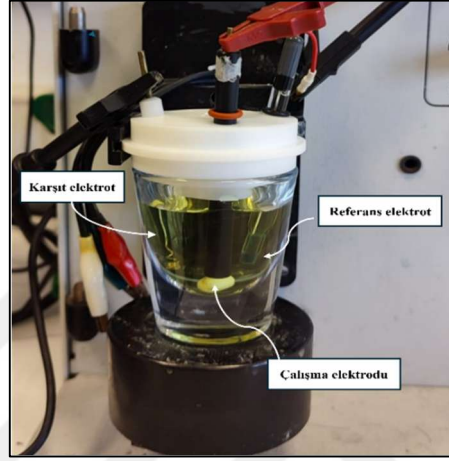
Şekil 2.5: Birincil, ikincil ve üçüncül nesil biyosensörler [53].

### 2.3. Voltametrik Yöntemler

Voltametri, 1920’lerde Jaroslav Heyrovsky tarafından keşfedilmiş, 1940 yılında ise katı bir çalışma elektrodun akımının ölçüldüğü deneyleri anlamlandırmak üzere ortaya çıkmıştır [54]. Analitin çalışma elektrodu yüzeyiyle elektrokimyasal olarak rekasiyona girmesiyle değişen potansiyeli ve ortaya çıkan akımı ölçmeye yarayan bir elektroanalitik kimya tekniğine dayanır [55]. Değiştirilen potansiyele göre ortaya çıkan akımı ölçen ve bu sinyallere göre analit hakkında bilgiler veren bir elektroanalitik yöntemdir. Çalışma ve referans elektrotları arasındaki potansiyel zamanla değişir ve bu elektrotlar arasında gerçekleşen reaksiyon sonucunda oluşan akım ölçülür. İyi hassasiyeti, minimal gürültüsü ve uygulanabilirliği yönünden immünosensörler için yaygın olarak kullanılır. Akım ve gerilim grafiklerinin çalışma ve referans elektrot olmak üzere ikili ya da çalışma, referans veya yardımcı elektrot olmak üzere üç elektrotlu sistemlerle çalışılır [44]. Cam, kuvars ve teflon gibi küvetler genelde tercih edilir. Destek elektrolit, seçilen çözücüde oldukça çözünür olmalı, inertlik göstermeli ve saflaştırabilir olmalıdır. Çözeltinin iletkenliği çözünmüş tuzun konsantrasyonlarına bağlıdır. Yük dengesini sağlamak için mevcut elektrolit olmadan çözelti yük transferine dirençli olacaktır. Bu durumda, çözelti iletkenliğini artıran büyük destekleyici elektrolit konsantrasyonları gerekmektedir. Böylece elektrotlarda elektron transferleri meydana geldikçe, destekleyici elektrolit yükü dengelemek ve elektrik devresini tamamlamak için göç edecektir.

### 2.3.1. Voltametrizde Kullanılan Elektrotlar

Voltametrik reaksiyonların gerçekleşmesi ve gözlenmesi için bir hücre sistemi, bilgisayar ve elektrokimyasal analiz cihazı gereklidir. Redoks tepkimesi hücre içerisinde yerleştirilen üç elektrot ile gerçekleşir. Bu elektrotlar sırasıyla çalışma, referans ve karşıt elektrot olarak adlandırılır. Bunun yanı sıra hücre içinde tepkimeye göre çözelti de bulunur.



**Şekil 2.6:** Elektrokimyasal analizlerde kullanılan elektrotlar: GCE çalışma, platin tel karşıt ve Ag/AgCl referans elektrotları.

Referans elektrodu, iyi tanımlanmış bir denge potansiyeline sahiptir. Bir elektrokimyasal hücrede diğer elektrotların potansiyelinin ölçülebileceği bir referans noktası olarak kullanılır. Referans elektrodun doğru elektrokimyasal ölçüm yapmasındaki en büyük etken, ölçülen çözeltinin özelliklerinden bağımsız sabit bir potansiyele ölçüm yapabilmesidir. Hücrede kullanılan elektrottan bağımsız birkaç yaygın olarak kullanılan elektrot düzeneği vardır. Sulu ortamda kullanılanlara örnek olarak doymuş kalomel elektrot (SCE), standart hidrojen elektrot (SHE) ve Ag/AgCl elektrotları bulunur [56].

Karşıt elektrotların amacı elektrik devresini tamamlamaktır. Buna göre, karşıt elektrot analitin indirgenmesi meydana gelebilecek şekilde çalışma elektroduna bir potansiyel uygular ve akım akmaya başlar. Bu çalışma ve karşıt elektrot arasında elektron akışı olarak kaydedilir. Fakat, iki elektrotta meydana gelen kinetiğin birbirini kesmemesi adına karşıt elektrodunun yüzey alanı daha büyüktür. Bu elektrota örnek olarak platin tel veya disk verilebilir. Bazı karbon tabanlı karşıt elektrotlarda bulunur [57].

Çalışma elektrodu, istenilen elektrokimyasal olayı gerçekleştirir. Çalışma elektrodunun en önemli yönü, seçilen potansiyel aralığında redoks inert malzemeden oluşmasıdır. Türü, farklı potansiyelleri sağlamak veya ilgili türlerin yüzey adsorpsiyonunu değiştirmek için deneyden deneye farklı tipte kullanılabilir.

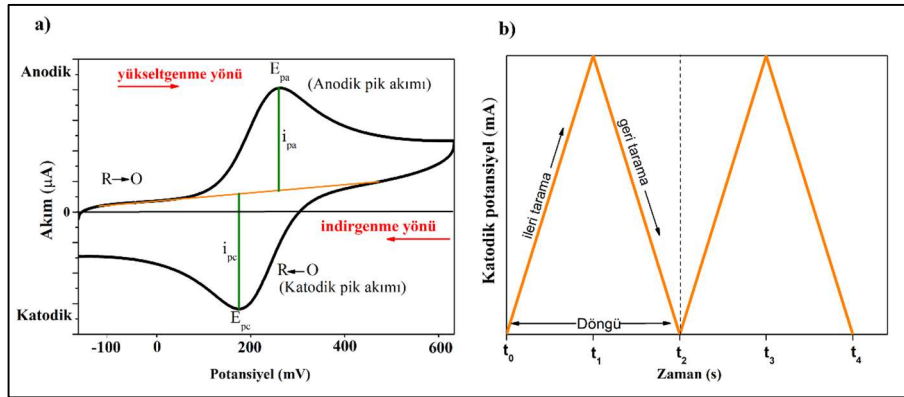
Karbon elektrotlar geniş bir potansiyel aralığında çalışma yapılmasına imkân sağlaması ve maliyetlerinin çok az olmasından dolayı elektrokimyasal analizlerde sıkça kullanılmaktadırlar. Hidrojen, hidroksil ve karboksil gibi fonksiyonel gruplar ile karbon yüzeyinde bağ oluşturabilirler. Karbon elektrotların camsı karbon elektrot (GCE), perde baskılı karbon elektrotlar (SPCE), kalem grafit elektrotlar (PGE) ve metal elektrotlar gibi birçok çeşitleri bulunur [58]. Karbon pastası elektrodu (CPE), tabaka şeklinde zayıf  $\pi$  bağları ile birbirine bağlanmış ve aralarında hızlı elektron alışverişi gerçekleşen elektrotlardır. Grafit tozunda bulunan karbon molekülleri düzlemsel ve aromatik halkalar halinde dizilmişlerdir. GCE ise çok iyi mekanik ve elektriksel özelliklere sahip olması, geniş bir potansiyel aralığı olması, kimyasal tepkimelere girmemesi ve tekrarlanabilir yüzeyler sağlaması nedeniyle sıkça kullanılmaktadır. Perde baskılı karbon elektrotlar, tek kullanımlıktır, basitlerdir ve düşük maliyetlidirler. Kullanım kolaylığı yanı sıra kimyasal modifikasyon gerekmektedir [59].

Yükseltgenme ve indirgenme pik değerinin farklı konumlarına dayalı olarak çoklu tespit yapılabilir. Ayrıca, voltametrik sensörlerde, sinyal pikten tespit edilir ve hedef analitin miktarı oluşan tepe yüksekliğinin bir oranı olarak ölçülebilir. Akıma karşı potansiyel, taranan voltaj aralığı boyunca çizilir ve her tekrarlanan tarama için bir dizi örtüşen döngüsel iz üretilir. Bu işlem sonucunda çizilen grafiğe ise voltammogram denir [57]. Uygulanan potansiyelin işlevine göre en önemli voltametrik teknikler ise CV (döngüsel voltametri), SWV (kare dalga voltametrisi), DPV (Diferansiyel puls voltametrisi)'dir.

### 2.3.2. Döngüsel Voltametri (CV)

Döngüsel voltametri (CV), moleküler türlerin indirgenme ve yükseltgenme süreçlerini araştırmak ve elektrot karakterizasyonlarını incelemek için yaygın olarak kullanılan güçlü ve popüler bir elektrokimyasal tekniktir [60]. Ölçümler referans elektrotun potansiyelini belirli bir hız potansiyeli ile ileri ve geri yönlerde tarar. Bu süreçte

Çalışma elektrodu tarafından oluşturulan akım  $I$ 'nın uygulanan potansiyel  $E$ 'ye karşı voltamogram alınarak ölçüm gerçekleşir [57].



**Şekil 2.7:** Dönüşümlü voltametrde uygulanan potansiyelin a) akımla b) zamanla değişimi.

Başlangıç potansiyeli ( $E_1$ )'den anahtarlama potansiyeli ( $E_2$ )'ye negatif olarak taramaya “katodik tarama” denir. Eğer bu tarama yönü ters yöne doğru gerçekleşir ise başlangıç potansiyeli pozitif olarak değişir ve buna “anodik tarama” denir. Anodik ve katodik pik potansiyelleri arasındaki fark, tepe-tepe ayrımı ( $\Delta E_p$ ) olarak adlandırılır ve 25 °C’de ( $2.22RT/F$ ) ise 57 mV’dir. Oluşan pikin ileri taramasında ise yarı maksimumdaki genişlik 59 mV’dir. Bu değer elektrokimyasal olarak redoks tepkimesinin geri dönüşümlü olduğunu gösterir. Pik akımı Randles-Sevcik eşitliği ile ifade edilir ve transfer edilen elektron sayısı bu eşitlikten hesaplanır [57].

$$i_p = 0.446nFAC^\circ \left( \frac{nFvD\alpha}{RT} \right)^{\frac{1}{2}} \quad (2.1)$$

$i_p$ : Pik akımı (amper)

$C$ : Konsantrasyon ( $\text{mol}/\text{cm}^3$ )

$A$ : Yüzey alanı ( $\text{cm}^2$ )

$D$ : Difüzyon katsayısı ( $\text{cm}^2/\text{s}$ )

$n$ : Aktarılan elektron sayısı (mol)

$v$ : Tarama hızı ( $\text{V}/\text{s}$ )

Kimyasal geri dönüşümlülük, elektrot ile analit arasındaki elektron transfer kinetiğini ifade eder. Eğer elektron transferinde geri dönüşümlülük var ise Nernst dengesi

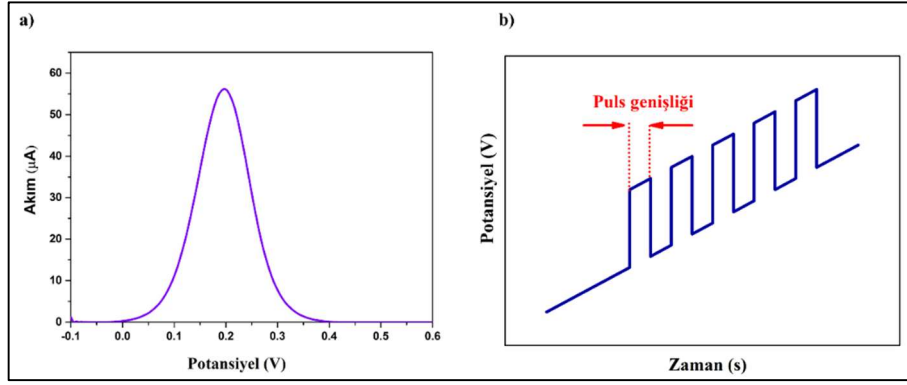
kurulur fakat bu dönüşüm geri dönüşümlü değil ise elektron transfer reaksiyonları yavaş gerçekleşir ve indirgenme reaksiyonlarını gözlemlemek için daha negatif potansiyeller gerekir. Elektron transferlerinin hızlı olduğu ve Nernst denklemlerinin işlendiği bu geri dönüşümlü elektrokimyasal süreçlere “Nernst” denir [61].

$$E = E^0 + \frac{RT}{nF} \ln \frac{(Ox)}{(Red)} = E^0 + 2.3026 \frac{RT}{nF} \log_{10} \frac{(Ox)}{(Red)} \quad (2.2)$$

Bu eşitlikte E; elektrokimyasal hücrenin potansiyelini,  $E^0$ ; standart potansiyeli, (Ox); sistemdeki oksitlenmiş, (Red); sistemdeki indirgenmiş, F; Faraday sabitini, R; gaz sabitini, T ise sıcaklığı ifade etmektedir.

Deneyin tarama hızı, uygulanan potansiyelin tarama sürecini de etkiler. Eğer tarama hızı hızlı ise difüzyon tabakasının boyutunda azalmaya yol açar ve yüksek akımlar gözlenir. Elektron aktarımı adsorpsiyon kontrollü ve difüzyon kontrollü olmak üzere iki farklı sistem üzerinden meydana gelmektedir. Bunu belirlemek için analitin sabit konsantrasyonunda farklı tarama hızlarında ölçümler alınır. Tarama hızı- pik akımı grafiği, tarama hızının karekökünün-pik akımı grafiği ve tarama hızının logaritması-pik akımının logaritması grafikleri kullanılarak elektron aktarımının hangi sistem üzerinden gerçekleştiği kararlaştırılır [57].

Diferansiyel puls voltametri, birçok bileşiğin bireysel veya eş zamanlı analizi için yaygın bir tekniktir. Yüksek hassasiyet ve seçiciliğe sahip analitleri ölçmede yararlıdır (20,1).  $10^{-7}$ - $10^{-8}$  M'e kadar olan elektroaktif bileşikler ölçülebilirliği nedeniyle oldukça kullanılır [62]. 10-100 mV gibi düşük potansiyel darbeleri rampa potansiyeline uygulanır, 17 ms gibi kısa darbeler ise merdiven dalga formu desenine uygulanır. Her darbe arasında taban potansiyeli kademeli olarak arttırılır. Ayrıca, darbeden önce ve sonrası akım gecikmeden ölçülür ve bu ölçümler arasındaki fark alınır [63].



**Şekil 2.8:** Differansiyel puls voltametriye uygulanan potansiyelin **a)** akımla **b)** zamanla değişimi.

### 2.3.3. Elektrokimyasal Empedans Spektroskopisi

Elektrokimyasal Empedans Spektroskopisi (EIS), bir elektrokimyasal sistemin empedansını frekans alanında analiz etmek için kullanılan bir tekniktir. Düşük sinyal analizi kullanması ve potansiyostat kullanarak 1 mHz'den düşük 1 MHz'den yüksek geniş frekans aralıklarında sinyal ölçümleri yapması, diğer elektrokimyasal tekniklere kıyasla birçok fayda sağlar [64]. Empedans spektroskopisi, korozyon kinetiği, çeşitli yüzey reaksiyonları, elektrokimyasal biriktirme ve birçok farklı malzemelerin sentezi gibi çok çeşitli arayüz olaylarını incelemek için kullanılmıştır [65]. Bu teknik, elektrot performansının yanı sıra biyolojik kirlenme, hücre yapışması, çoğalma ve apoptoz gibi çeşitli hücre süreçlerinin gerçek zamanlı ve hasar olmayan ölçümleri de yapar. Ayrıca, elektrot sistemine bir AC sinyalinin uygulanmasını ve farklı frekanslarda empedans spektrumunu hesaplamak için karşılık gelen akım ve voltaj tepkisinin ölçülmesini içerir [66].

Bir dizi frekansta alternatif sinüzoidal voltajlar uygulanarak ortaya çıkan bu akımlar, karmaşık bir empedansın frekans fonksiyonu hesaplamasını sağlar. Sönümlenme veya sinüs dalgasının faz kayması gibi tepki özellikleri, elektrot ve elektrolit/çevre arayüzeyinde meydana gelen farklı fiziksel süreçleri temsil eder. Empedans, aşağıdaki eşitlikte gösterildiği gibi voltaj (E) ve akım (I) arasındaki ilişkidir ve frekansın karmaşık bir fonksiyonu olarak ifade edilir [67].

$$Z = \frac{E}{I} \quad (2.3)$$

Bir elektrokimyasal sistemin empedansının özellikleri genellikle Bode grafiği veya Nyquist grafiği kullanılarak görselleştirilir. Bode grafiği elektrokimyasal için daha az kullanılırken Nyquist grafiği daha yaygındır ve grafiğin şekli aynı zamanda sistemin genel özelliklerine de vurgu yapar. Bu grafik,  $Z(\omega)$ 'nin sanal bileşeninin gerçek bileşenine karşı bir saçılma grafiğidir [68].

Tek bir elektrot üzerindeki etkileri izole etmek amacıyla genellikle üçlü elektrot sistemi uygulanır [65]. Bu sistemde, referans elektrottan akım geçmezken çalışma ve karşıt elektrot arasından geçer. Referans elektrot sadece potansiyeli ölçmek için kullanılır [69].

## 2.4. İmmünosensörler

İmmünosensörler, analit antijeninin antikör içeren bir transdüser yüzey tarafından immünokimyasal reaksiyon sonucu tanınmasına dayanan bir sensör çeşididir. 1959 yılında, ilk kez Yalow ve Bergson'nun bu etkileşimden yararlanarak insan endojen plazma insülini kullanması, birçok sayıda immünosensör geliştirilmesinde olanak sağlamıştır [70, 71]. Aynı zamanda, farklı analit konsantrasyonlarını ve miktarlarını belirleme de olanak sağlar. İmmünokimyasal reaksiyonun tespiti doğrudan, dolaylı veya sandviç metotları ile bulunabilir. Doğrudan analiz, belirli bir antikoru doğrudan hedef analite bağlar. Dolaylı analizde ise fazladan bir adım eklenerek tespit sinyali arttırılmaya çalışılır. Burada, birincil ve ikincil antikörler birbirini tanır ve ikincil antikör daha hassas bir şekilde sinyal gösterir. Sandviç metodunda ise hedef analitin farklı kısımlarına bağlı bulunan iki antikör bulunur ve bu antikörler analiti sıkıştırarak bir yapı oluşturur [72]. Bu yapı sayesinde sinyale hassasiyet ve tanıma olarak özgüllük sağlanmış olur [73]. Elektrokimyasal, manyetik, termometrik ve optik gibi dönüştürücüler kullanılarak bağışıklık tepkisi bir analitik sinyale dönüştürülür. Dönüştürücünün türüne bağlı olarak, kanser biyobelirteçinin tespiti yapılırken elektrokemilüminesans, yüzey plazmon rezonansı ve mikroakışkan gibi birçok immünosensör geliştirilmiştir [74].

### **2.4.1. Antijen/Antikor Temelli Biyosensörlerde İmmobilizasyon Yöntemleri**

Biyosensörün geliştirilmesi, biyosensör elemanının dönüştürücünün arayüzeyi ile immobilizasyonunu gerektirir. İmmobilizasyonun istendiği gibi gerçekleştirilmesi için düzgün, hızlı ve uzun ömürlü olması, immobilize edilmiş biyomolekülün dönüştürücüden süzülmemesi ve algılama sırasında özgüllüğünü koruması gerekir. İmmobilizasyon, biyomolekülün stabilizasyonunu ve dönüştürücü ile arasındaki mesafeyi korumaya alır. Birçok çeşit immobilizasyon etkileşimleri bulunur. Bunlar; fiziksel adsorpsiyon, moleküller arası çapraz bağlanma, bir yüzeye kovalent bağlanma, bir membran sistemi veya polimer içinde hapsolmadır [75].

#### **2.4.1.1. Fiziksel Adsorpsiyon**

Biyomalzemeyi sensörün yüzeyine bağlamak için Van der Waals, hidrofobik kuvvetler, hidrojen bağlar ve iyonik kuvvetlerin kombinasyonu ile oluşur. Selüloz, kolodyon, silika jel, cam, hidroksiapatit ve kolajen gibi birçok substratın enzimlerini iyi bir şekilde adsorbe eder. Adsorpsiyon gerçekleşirken biyolojik bileşende herhangi bir değişiklik gerekmez. Matris yenilenebilmesi ve aktiviteleri maksimum yüzeyde kalabilmesi gibi yararları mevcuttur. Basittir ve düşük maliyetli olarak hazırlanabilir. Fiziksel adsorpsiyonun birçok yararı olmasına rağmen bağlanma pH'ı, sıcaklıktaki değişikliklerde hassas olması gibi birçok dezavantajı da bulunmaktadır [33].

#### **2.4.1.2. Moleküler Arası Çapraz Bağlanma**

Glutaraldehit, hakzametilen diizosiyanat, 1,5-difluoro-2,4-dinitrobenzen ve bisdiazobenzidinden-2,20-disülfonik asit gibi iki işlevli veya çok işlevli reaktifler kullanılarak biyomoleküllerin moleküler arası çapraz bağlanmasıdır [76]. Bu reaktifler biyomolekülleri katı desteklere bağlayabilir. Bu immobilize şeklinde biyokomponentin biyolojik aktivitesinin azalma olasılığı daha düşüktür ve güçlü bağlanma kuvveti gösterir. Yüksek hazırlama maliyeti, yüksek işletme sorunu ve toksik kimyasallarla işlemesi olumsuz yönlerindendir.

#### **2.4.1.3. Kovalent Bağlanma**

Enzimdeki katalitik aktivitesi için gerekli olmayan fonksiyonel grup, sensör yüzeyine biyolojik malzemelerin bağlanabileceği şekilde işlenir. Bu bağlanmada, güçlü

bağlanma kuvveti bulunurken, biyolojik aktivite kaybı olmaz ve olumsuz koşullardan daha az etkilenir fakat yüksek hazırlama maliyeti içerir. Hazırlanması zor ve matrisi yenilenemez. Kovalent bağlanma için kullanılan fonksiyonel gruplara örnek olarak proteinlerin amino asit yan zincirlerinde bulunan amino, karboksilik asit, imidazol, tiyol, fenolik, sülfidril ve hidroksil gibi nükleofilik gruplar verilebilir [77].

#### **2.4.1.4. Membran veya Polimer içinde Hapsolma**

Yarı geçirgen bir membran analiti ve biyoelementi ayırarak sensör biyoelemente bağlanır. Biyomoleküller içeren bir çözeltide polimerik bir jel olarak hazırlanırsa, biyomoleküller jel matrisi içerisinde hapsolur. Hapsolma sürecinde doğrudan kimyasal modifikasyon bulunmaz ve seçicidir. Zayıf bağlanma kuvveti, biyolojik aktivitedeki kaybı dezavantaja neden olur. Küçük analit tespiti için uygulanabilir. Poliakrilamid, nişasta, naylon ve siliastik jel, biyomoleküllerin hapsolması için kullanılabilir malzemelerdir [78].

### **2.5. Biyosensörlerin Yöntem Geçerlilik Testleri (Validasyon)**

Validasyon, geliştirilmiş yöntemin kalitatif veya kantitatif analizlerinin doğruluğunu ölçmek için uygulanması gereken testlere denir [79]. Yöntem geçerlilik testleri, sensörün davranışını ve özelliklerini belirleme amacına hizmet eder. Bu testler için kullanılan parametreler ise şunlardır [80]:

**Duyarlılık:** Biyosensörde analitin varlığını tespit etmek için gereken en düşük tespit edilebilir miktarı belirler. Duyarlılıkta tespit aralığı ng/mL-fg/mL'dir [81].

**Seçicilik:** Çeşitli madde ve safsızlıklar içeren numunede hedef analiti tespit edebilmesidir. Düşük seçiciliğe sahip olan biyosensörler, hedef analit bulunmayabilir ve farklı bir numuneye algı gösterebilir. Seçiciliğe örnek olarak antikor-antijen etkileşimi ve enzimler verilebilir.

**Kararlılık:** Biyoreseptörün bozulması, dıştan veya içten gelen etkenler sonucu biyoreseptör ile analit arasındaki etkileşimle gerçekleşen olumsuz değişimlere karşı gösterilen direnç analiz edilir. Bozulmadan kaynaklanan kesintiler biyosensörlerde sıcaklık, nem veya diğer çevre koşullarındaki değişikliklerden dolayı ortaya çıkar. Ölçüm sırasında çıkış sinyali değişir ve biyosensörün doğruluğunu etkiler [82].

**Tekrarlanabilirlik:** Bir biyosensörde tekrarlanan deneylerin sürekli aynı sonucu verme yetisi ölçülür. Bu sayede sensörün hassasiyeti ve doğruluğu da anlaşılmış olur. Bu aşamada aynı koşullar altında aynı bileşime sahip belirli sayıda biyosensör hazırlanarak standart grafikler oluşturulur [83].

**Gözlenebilirlik Sınırı:** Ölçülebilir bir sinyal tepkisi elde edebilen en düşük hedef konsantrasyonunu tespit etmek için kullanılır. Özellikle hedef analitlerin çok düşük konsantrasyonlarında kullanılacaksa tespit sınırının da bu yönde düşük olması gerekir.

**Tepki Süresi:** Bir sensör tepki süresi, biyoreseptörün türü, dönüştürücü ve hedef analit gibi birçok çeşitli faktörlere bağlıdır. Hedef analitin biyosensördeki reseptörle ne kadar hızlı etkileşime girerek sinyal veya tepki ürettiğini belirler. Bu süre bazen milisaniye olarak gözükürken bazen de bu tepki dakikalar arasında değişiklik gösterebilir.

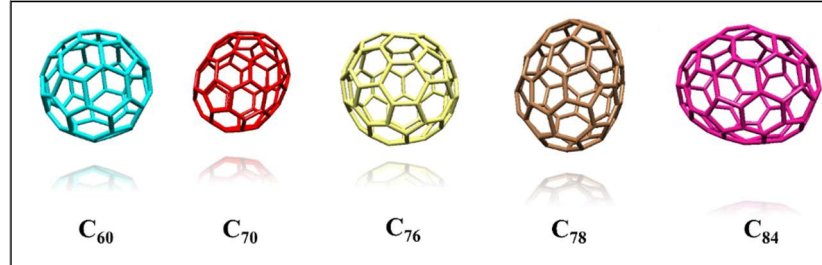
**Doğrusal aralık:** Bir biyosensörün doğrusallığı, biyosensörün çözünürlüğü ve test edilen analit konsantrasyonu aralığı ile ilgilidir. Biyosensör çözünürlüğü, biyosensör tepkisinde değişikliğe neden olmak için gerekli olan bir analit konsantrasyonundaki en düşük değişikliktir. Analit tespiti hariç ortamdaki analit konsantrasyonunda ölçülebilmesi için çözünürlüğün iyi olması gerekir.

## 2.6. Nanokarbonlar

1985'te Kroto tarafından fullerenin varlığının ortaya çıkarılması ile nanokarbonlara ilgi başlamıştır [84]. Ijima tarafından nanotüplerin keşfi bu ilgiyi daha da arttırmış ve birçok çeşitte nanomalzemenin varlığı bulunmuştur [85]. Çeşitliliğin çok olması nanokarbon üzerinde elektronik, manyetik, fotonik ve mekanik gibi özellikler kazandırmıştır. Bu yönleri sayesinde kataliz, sensör, biyomedikal ve enerjiyi temel alan yakıt hücreleri, güneş pilleri gibi araştırma alanlarda nanomalzemeler kullanılmıştır. Nanokarbonlar bağlanma yapılarına bakıldığında,  $sp^2$  karbon ve  $sp^3$  karbon hibritleşmesine göre sınıflandırılabilirler. Bu sınıflandırma da sıfır-boyutlu (0D) fulleren ve karbon noktaları, bir-boyutlu (1D) karbon nanotüpler ve iki-boyutlu (2D) grafen yapıları  $sp^2$  karbon grubunda yer alırken, nano-elmaslar ise  $sp^3$  karbon nanomalzeme grubunda yer alır [86].

Fulleren, 1985'te buckyball'ların keşfiyle dikkat çekmiş, 1990 yılında Krätschmer ve Huffman tarafından yapılan bir çalışmada  $C_{60}$  gözlenmiştir. Elmas ve grafit gibi

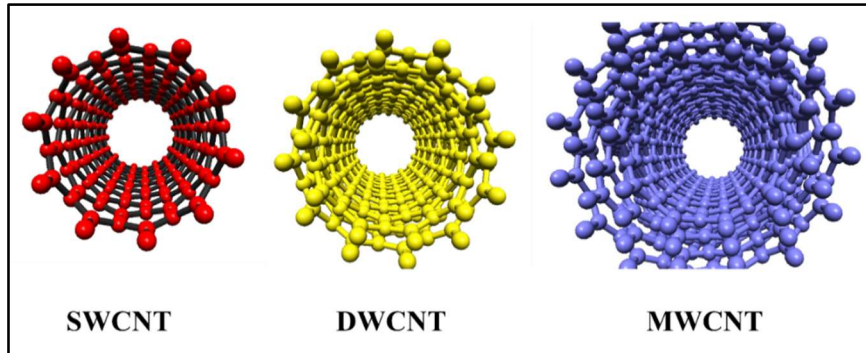
karbonun allotroplarından olan fulleren, 20 hekzagonal ve 12 pentagonal halkalardan oluşur ve içerdiği karbon sayısına göre  $C_{70}$ ,  $C_{76}$ ,  $C_{78}$ ,  $C_{84}$  olarak sınıflandırılmaktadır [87].



Şekil 2.9: Fullerenlerin başlıca izomerleri ( $C_{60}$ -  $C_{84}$ ).

### 2.6.1. Karbon Nanotüp

Fullerene ailesine ait olan karbon nanotüp, 200 nm'ye kadar uzanan bir çapa ve 1000 ve daha yüksek en-boy oranına sahip boru veya silindirik şekilde bulunurlar. Silindirik molekülleri  $sp^2$  hibritleşmiş karbon atomlarının altıgen düzenlenmesini içerir. CNT'ler, sarılma sayısına göre, tek (SWCNT), çift (DWCNT) ve çok (MWCNT) duvarlı karbon nanotüp olarak adlandırılırlar [88].



Şekil 2.10: Tek duvarlı (SWCNT), çift duvarlı (DWCNT) ve çok duvarlı (MWCNT) karbon nanotüplerin yapıları.

MWCNT'ler iki veya daha fazla silindirik grafit levha kabuklarından oluşur iken, SWCNT ise tek grafit levha kabuklarından oluşmaktadır. SWCNT'ler diğer karbon nanotüpe göre daha yavaş elektron transfer hızına sahiptir. Metalik veya yarı iletken davranışları gösterirken, MWCNT ise metalik ve sıfır band genişliğinde davranış

gösterir. Çekme dayanımları (tensile strength) sırasıyla 11-63 GPa ve 13-52GPa'dır [89].

Karbon nanotüplerin 1991 yılında Ijima tarafından DWCNT ve MWCNT'lerin kristal yapılarını açıklaması ve 1993 yılında SWCNT sentezinin gerçekleşmesi elektronik, optoelektronik, yarı iletkenler, mekanik ve kimyasal alanda birçok alanda araştırmanın başlamasına öncü olmuştur. Kimyasal sensörler, alan emisyon malzemeleri, elektronikler, modern sağlık uygulamaları ve enerji depolama alanları uygulamaları örnek olarak gösterilebilir [90].

### 2.6.2. Karbon Nanotüplerin Modifikasyonu

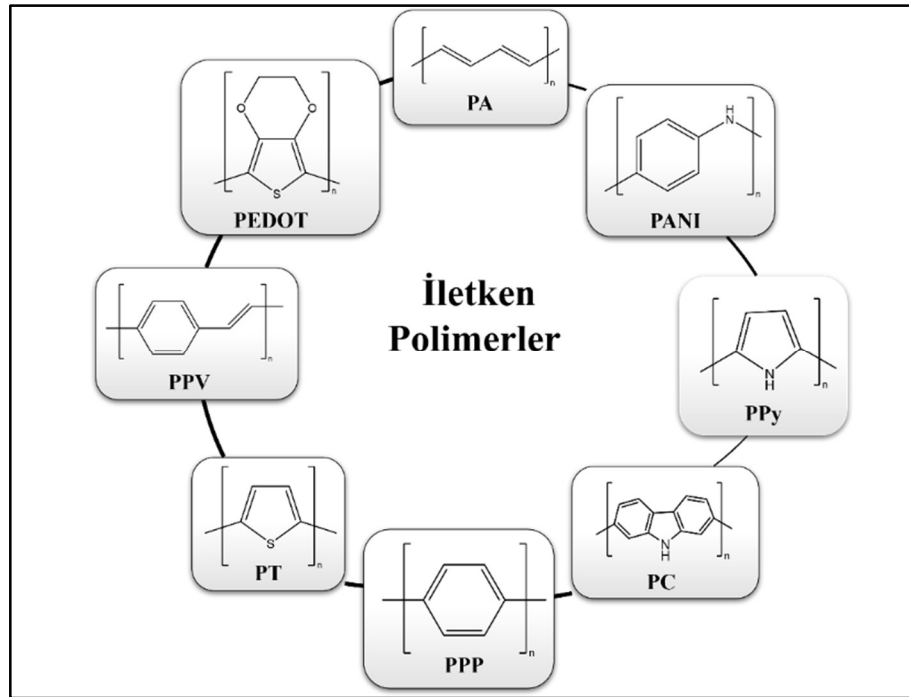
Karbon nanotüplerde Van der Waals kuvveti nedeniyle kümeleşme görülmektedir. Bunun yanı sıra, bir polimer matrisinde dağılmaları ve hizalanmaları zordur. Bu nedenle, karbon nanotüplerin fonksiyonelleştirilmesi gerçekleştirerek agresyon önlenir, polimer matrisinde daha iyi dağılma ve hizalanma sağlanarak güçlü arayüzey etkileşimi elde edilir. Nanotüpün fonksiyonelleştirilmesi kovalent veya kovalent olmayan fonksiyonelleşme ile gerçekleştirilir [91]. Nanotüplerin kovalent olmayan fonksiyonelleştirme de yüzey aktif maddeler, biyomakromoleküller ve polimerler ile sarmayı içerir [92]. Bu yöntemde, karbon nanotüplerin çözünürlüğünün ve işlenebilirliğinin arttığı belirtilmiştir. Kovalent fonksiyonelleştirme de en çok kullanılan yöntemler; Huisgen halka katılmaları (Click) serbest radikallerin  $sp^2$  karbon atomlarına eklenmesi ve in-situ polimerizasyonudur. Karbon nanotüpler,  $sp^2$  hibritlenmiş C atomlarının  $\pi$ -orbitalleri nedeniyle düz grafen tabakalı olanlara göre daha çok reaktivite gösterir ve kovalent bağlanma eğilimleri daha yüksektir. Bu durumda,  $sp^2$  karbon atomlarının  $sp^3$  karbon atomlarına dönüştürülmesiyle CNT'lerin simetrisi bozulur ve kovalent fonksiyonelleştirme gerçekleşir [93].

Bu tez kapsamında gerçekleştirilen MWCNT ve polimer modifikasyonu, in-situ polimerizasyonuna dayanmaktadır. Bu yöntemde, MWCNT'ler monomer içinde dispersiyon haline getirilir ve ardından  $FeCl_3$  gibi oksitleyiciler kullanılarak polimerizasyon gerçekleştirilir. Bu yöntem, çözünmeyen veya termal olarak kararsız polimerlerle kompozitlerin hazırlanmasında faydalıdır. Ayrıca iletken polimerler, polimerizasyon yoluyla CNT yüzeylerine bağlandığında işlenebilirliği, elektriksel, manyetik ve optik özelliklerinde gelişme gözlenir [94].

## 2.7. İletken Polimerler

Polimerler genel bir elektrik yüküne ve delokalize elektronlara sahip olmaması nedeniyle iletkenlik göstermez fakat 1997 yılında Hideki Shirakawa'nın poliasetilen sentezinde gözlenen elektriksel iletkenlik ile başlayan araştırmalar, J. Heeger ve G. Macdiarmid'in polisulfid nitrit ile çalışmaları iletken polimerler üzerinde birçok alanda öncü olmuşlardır [95]. Bir organik molekülde konjuge çift bağlarının bulunması elektrik iletkenliğinde temel gerekliliktir. Polimer yapısında bulunan  $\pi$  bağlarının delokalizasyonundan konjuge çift bağlar sorumludur ve delokalizasyon artışı sağlandığında HOMO ve LUMO arasındaki enerji boşluğu azaltarak iletkenlikte artışa neden olur [96]. Örneğin; yalıtkan bir polimerde band aralığı 10 eV ve iletkenlik  $10^{-7} - 10^{-12} \text{ Sm}^{-1}$  aralığında iken, dolakalizasyon sayesinde aralık 3-6 eV'ye kadar düşerek iletkenlik  $10^{-2} - 10^{-5} \text{ Sm}^{-1}$  olduğu gözlemlenmektedir.

İletken polimerlere örnek olarak poliasetilen (PA), polianilin (PANI), polipirol (PPy), poliparafenilen (PPP), politiofen (PT), polifenilen vinilen (PPV), poli(3,4-etilendioksitiofen) (PEDOT) ve polikarbazol (PC) verilebilir [97]. Şekil 2.11'de iletken polimerlerin yapıları gösterilmektedir.



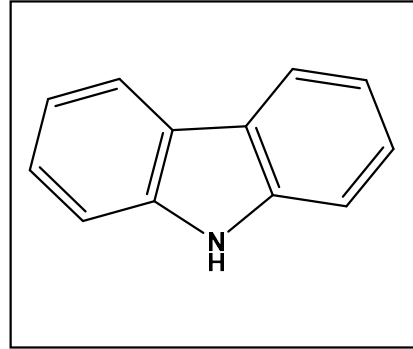
Şekil 2.11: İletken polimerlerin yapıları.

İletken polimerlerin modifikasyonu, elektrik ve mekanik özelliklerin geliştirilmesinde büyük önem taşır. Biyomedikal, sensör, güneş hücresi üretimi, piller, kapasitörler, süper iletkenler gibi alanlarda kullanılmıştır [98]. Kullanım alanlarına göre ayrıntılar Tablo 2.2’de verilmiştir.

**Tablo 2.2:** İletken polimerlerin kullanım alanları.

| Polimer                             | Kullanım Alanları                                                                                                                  |
|-------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>Poliasetilen</b>                 | Elektrik iletkenleri, yarı iletken cihazlar, şarj edilen piller, güneş pilleri, pil elektrotları                                   |
| <b>Polianilin</b>                   | Antistatik kaplamalar, korozyon koruması, elektrokromik cam, süper kapasitörler, esnek elektrotlar, ışık yayan cihazlar, sensörler |
| <b>Polipirol</b>                    | Sensörler, mikrodalga kalkanı, piller, süper kapasitörler, korozyon koruması                                                       |
| <b>Poliparafenilen</b>              | Işık yayan cihazlar                                                                                                                |
| <b>Politiofen</b>                   | Süper kapasitörler, antistatik kaplama, görüntüleme malzemeleri, bellek cihazları, piller, güneş pilleri                           |
| <b>Polifenilen vinilen</b>          | LED, transistörler, fotovoltaik hücre                                                                                              |
| <b>Poli(3,4-etilendioksitiofen)</b> | Elektrokimyasal sensörler                                                                                                          |
| <b>Polikarbazol</b>                 | OLED, fotovoltaik hücre, süperkapasitörler                                                                                         |

### 2.7.1. Karbazol



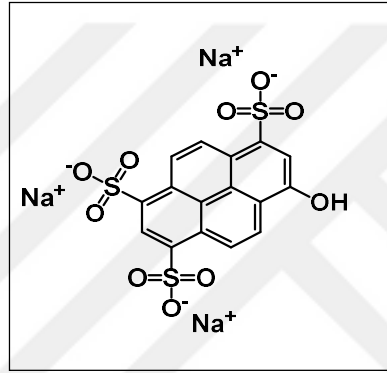
**Şekil 2.12:** Karbazol bileşiğinin kimyasal yapısı.

Karbazol bazlı polimer ve oligomerik bileşikler, fonksiyonelleştirmedeki elektriksel, elektrokimyasal, optik özellikleri ve kararlılıkları nedeniyle uzun süredir kullanılmaktadır [99]. Karbazoller, N-pozisyonunda kolayca fonksiyonlanabilir ve başka bir heterosiklik yapı ile kovalent bağ yaparak polimerizasyon veya coupling gösterebilirler [104]. Oluşturdukları farklı pozisyonunda polimerler sayesinde çok renkli

elektrokromizm, daha düşük bant aralığı,  $\pi$ - $\pi$  moleküler arası etkileşimler sayesinde iyi termoelektrik aralık gibi özellikler gösterirler [100]. Ayrıca, önceden belirtilen optik özellikleri optoelektronik ekipmanlarda elektroaktif bir katman olarak işlev görmesini sağlar [101]

Karbazollerin fotovoltaiik hücre, süperkapasitörler, korozyon inhibisyonu, biyosensör, elektrokromizm, OLED'ler ve biyolojik görüntüleme alanlarında uygulamaları bulunmaktadır [102], [103].

## 2.8. Piranin



Şekil 2.13: Piranin yapısı.

8-Hidroksipiren-1,3,6-trisulfonat (piranin, Şekil 2.13) elektron zengini, fotostabil, kimyasal olarak kararlı ve floresans bir moleküldür. Anyonik ve suda yüksek oranda çözünen bir piren türüdür. Elektron verici olarak görev yapabilmesi yanı sıra asit çözeltileri veya buharla daha fazla protonlanabilmesi pH sensörü olarak kullanılmasına olanak sağlar [104].  $\pi$ - $\pi$  elektron istifleme etkileşimleri, Coulombic çekimler ve yük transfer çekimleri dahil olmak üzere çeşitli moleküler arası etkileşimler bulunur. Bu etkileşimler sonucunda floresan yoğunluklar ve ultraviyole görünür (UV-vis) absorpsiyonları gibi kimyasal ve fiziksel özellikler değişebilir [105]. Bu özellikler göz önüne alındığında piranin genellikle pH ve floresansa bağlı problemler geliştirilmesinde ve biyolojik veya çevresel türevlerin analizinde sensör olarak kullanılmaktadır [106].

### 3. MATERİYAL VE YÖNTEM TEMELLERİ

#### 3.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler ve Cihazlar

Bu tez kapsamında kimyasal maddeler, sensör özelliklerinin incelenmesi için kullanılan yarışmacı türler Tablo 3.1’de verilmiştir ve saflaştırma işlemi yapılmadan kullanılmıştır. Sentezi gerçekleşen bileşikler kolon kromatografisi tekniği (Merck Silica Gel 60 partikül büyüklüğü: 0.040-0.063 mm, 230-400 mesh ASTM) kullanılarak saflaştırılmıştır. Reaksiyon sonucunda elde edilen ürünlerin oluşup oluşmadığı ince tabaka kromatografi yöntemiyle (Merck Silica Gel 60 Kiesel gel F254 TLC Aluminum Sheets 20x20 cm) izlenmiştir.

Deneylerde 2.5 mM  $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{-3/4}$  (1M KCl) çözeltisi haftalık olarak hazırlandı. Farklı konsantrasyonlarda incelenen prostat spesifik antijeni için 25 µg/ml’den 1 µg/ml’ye stok çözelti seyreltilmiştir. Hazırlanan bu çözeltiler; 100 ng/ml, 10 ng/ml, 1 ng/ml, 100 pg/ml, 10 pg/ml ve 1 pg/ml olarak tekrar seyreltilerek hazırlanmıştır. Bileşiklerin sentezinde, ayırma ve saflaştırma işlemlerinde ve elektrokimyasal özelliklerinin incelenmesinde kullanılan cihazlar Tablo 3.2’de verilmiştir.

Elektrokimyasal ölçümleri için CH Instruments (ABD) CHI440B model potansiyostat, çalışma, karşıt ve referans elektrot olarak modifiye edilmiş bir CKE, platin tel ve doymuş kalomelden (SCE) oluşan standart bir üç elektrotlu hücre ile oda sıcaklığında çalışılmıştır.

**Tablo 3.1:** Kimyasallar.

| <b>Kimyasallar</b>             | <b>Markası</b>   | <b>Kimyasallar</b>       | <b>Markası</b>                   |
|--------------------------------|------------------|--------------------------|----------------------------------|
| Piranin                        | Thermoscientific | Dikolorometan            | Isolab                           |
| Potasyum karbonat              | Fisher Chemical  | Dimetilformamid          | Merck                            |
| 1-fluoro-4-nitrobenzen         | Fluorochem       | Metanol                  | Merck                            |
| Tiyonil klorür                 | Merck            | %10-20 Pd/C              | Degussa                          |
| Karbazol                       | Sigma-Aldrich    | Kloroform                | Lab-Scan<br>Analyses<br>Sciences |
| Hidrazin monohidrat            | Sigma-Aldrich    | Anti-PSA                 | Elabsien<br>ce                   |
| Multi-Walled karbon<br>nanotüp | Tuball           | Prostat spesifik antijen | Sigma-<br>Aldrich                |
| Demir(III) klorür              | Sigma-Aldrich    | Bovin serum albümin      | AGC<br>Science                   |
| Pridin                         | Sigma-Aldrich    | Gluteraldehit            | Merck                            |
| İzopropil alkol                | Isolab           | Dimetil sülfoksit        | Isolab                           |

**Tablo 3.2:** Çalışmasında Kullanılan Cihazlar.

| <b>Adı</b>                             | <b>Modeli</b>                        | <b>Bulunduğu Yer</b>         |
|----------------------------------------|--------------------------------------|------------------------------|
| FT-IR Spektrofotometresi               | Perkin Elmer 100                     | Gebze Teknik<br>Üniversitesi |
| NMR Spektrometresi                     | Varian 500 MHz                       | Gebze Teknik<br>Üniversitesi |
| Kütle Spektrometresi                   | Bruker Microflex LT MALDI-<br>TOF MS | Gebze Teknik<br>Üniversitesi |
| UV-Visible Spektrofotometresi          | Schimidzu 2001 UVPc                  | Gebze Teknik<br>Üniversitesi |
| Taramalı Elektron Mikroskobu<br>(SEM)  | FEI-Nova                             | Gebze Teknik<br>Üniversitesi |
| Geçirimli Elektron Mikroskobu<br>(TEM) | Hitachi HT-7700                      | Atatürk Üniversitesi         |
| Elektrokimyasal Analiz Cihazı          | CHI440B                              | Gebze Teknik<br>Üniversitesi |

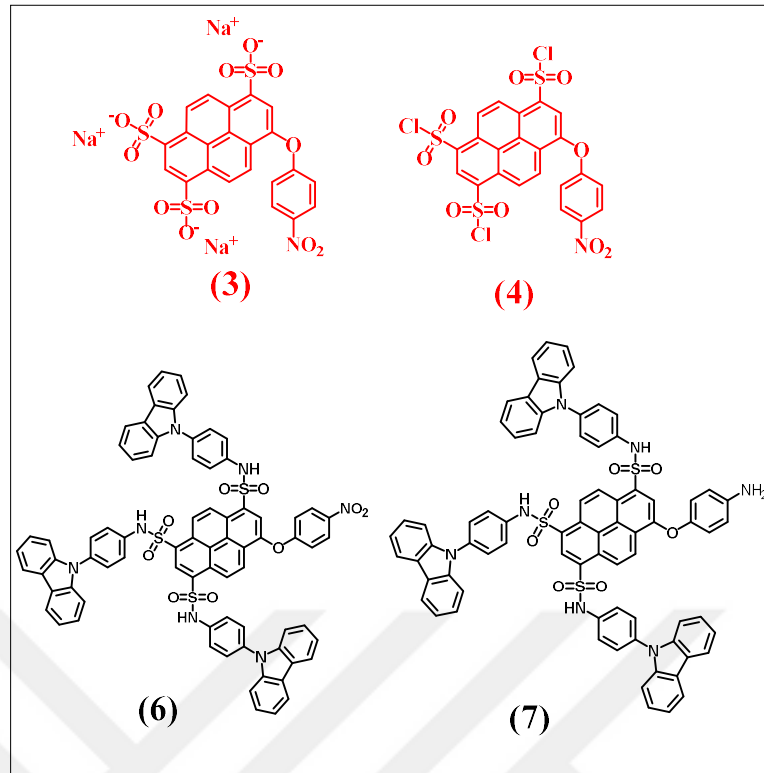
### 3.2. Kullanılan Elektrotların Temizlenmesi

Elektrokimyasal reaksiyon çalışma elektrotun yüzeyinde gerçekleştiğinden dolayı elektrot yüzeyinin temiz olması gerekir. Sık sık ölçüm alımlarında analitin elektrot yüzeyine adsorpsiyonu sonucu iyi bir temizlik yapılmadıkça diğer ölçümlerde pik potansiyelinde kayma, pik akımında azalma veya artma gibi olumsuz ölçümler

gözlenir. Gözlenen etkenleri gidermek için elektrot temizliğinde birçok çeşit mevcuttur. Deneylerde kullanılan camı elektrot 0.05, 0.3 ve 1.0 mikron alümina tozları ile parlatma pedi üzerine sekiz rakamı çizilerek temizleme işlemi yapılır. Parlatmanın dengesizliği ve yüzeyin eğimli olmaması istendiği için dairesel yönde temizleme tercih edilmemiştir. Temizliği kontrol etmek için 2.5 mM ferrisiyanür çözeltisi içerisinde CV ölçümleri alınmıştır. Bu yöntemin yanı sıra 0.1 M sülfürik asit içerisinde CV ölçümleri alınarak tekrar temizliğin doğruluğu yapılabilir.

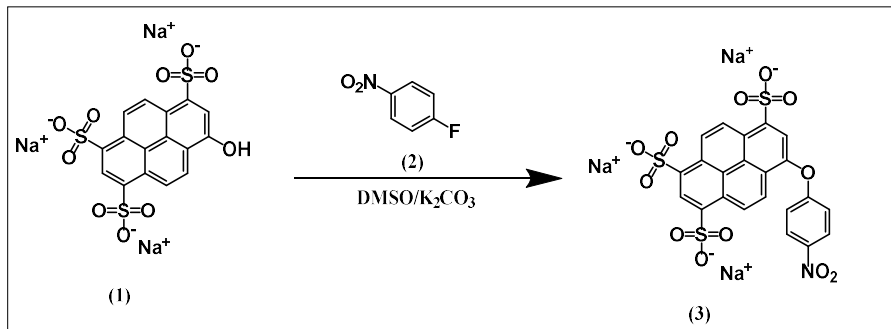
### **3.3. Başlangıç Maddelerinin Sentezi**

Bu tez çalışmasında üç ana adımdan oluşmaktadır. İlk adımda, dört farklı organik bileşik sentezlenmiş ve yapıları aydınlatılmıştır. Maddelerin sentezi literatürdeki yöntemlere göre sentezlenmiş ve 2 tanesi yeni moleküldür. Bu bileşiklerin kimyasal yapıları Şekil 3.1’de verilmiştir. İkinci aşamada, (7) numaralı monomer çok duvarlı karbon nanotüp içeren çözeltide in situ polimerizasyonu yapılmış ve elde edilen CP@MWCNT hibrid malzemesinin yapısal karakterizasyonu spektroskopik, mikroskopik ve termal yöntemlerle yapılmıştır. Son aşamada ise CP@MWCNT hibrid malzeme camı karbon elektrot yüzeyine damlat-kurut yöntemi ile modifiye edilmiş ve PSA antijenine karşı sensör özellikleri incelenmiştir.



Şekil 3.1: Sentezi gerçekleştirilen bileşikler.

### 3.3.1. 8-(4-nitrofenoksi)piren-1,3,6-trisulfonik asit trisodyum tuzu (3) Sentezi

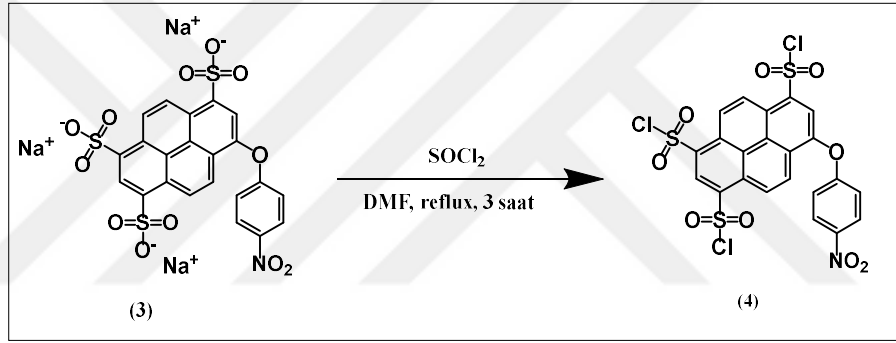


Şekil 3.2: (3) numaralı bileşiğin sentezi.

500 mg (0.953 mmol) 8-hidroksipiren-1,3,6-trisulfonik asit trisodyum tuzu (**1**, **piranin**) 5.83 ml saf su içerisinde çözündü. Çözünen (**1**) numaralı bileşik 75 ml izopropil alkol içerisinde damla damla ilave edilerek çöktürüldü. Elde edilen süspansiyon 30 dakikalık karışmaya bırakıldı ve süre sonunda santrifüjlenerek saflaştırıldı. Elde edilen saf piranin, (**3**) numaralı bileşiğin sentezinde kullanılmak üzere vakum etüvünde kurutuldu. Piranin bileşiği 8 ml DMSO içerisinde çözündü ve

üzerine 158.11 mg (1.14 mmol)  $K_2CO_3$  ilave edildi. Reaksiyon karışımı argon atmosferinde oda sıcaklığında 30 dakika karıştırıldı. Süre sonunda karışıma (134.38 mg, 0.953 mmol) 1-fluoro-4-nitrobenzen (**2**)  $80^\circ C$ 'de 16 saat boyunca karıştırıldı. Süre sonunda oda sıcaklığına soğutulan reaksiyon karışımı soğuk izopropil alkol içerisinde damla damla ilave edilerek çöktürüldü. Elde edilen süspansiyon 30 dakika boyunca karıştırılmaya bırakıldı ve santrifüjlendi. Ham ürün DCM, aseton, hekzan ve etil asetat ile tek tek yıkanarak saflaştırıldı. Erişilen verim %81 (500 mg) olarak hesaplandı. FT-IR:  $\nu$  ( $cm^{-1}$ ), 3113 (Aromatik C-H), 1609 (C=C), 1345-1511 ( $NO_2$ ), 1195 (S=O), 1045 ( $SO_3$ ).

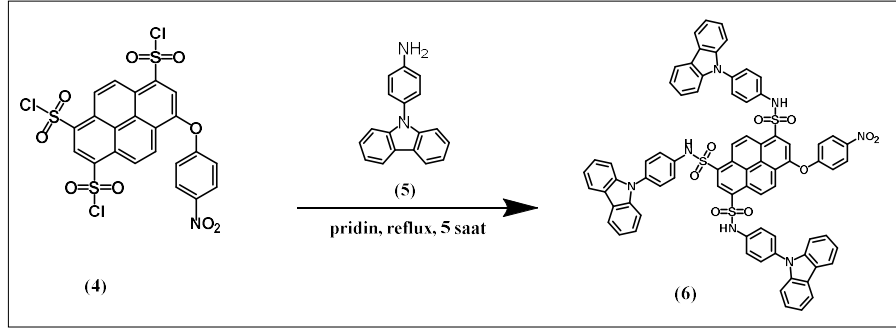
### 3.3.2. 8-(4-nitrofenoksi)piren-1,3,6-trisulfonyl triklorür (**4**) Sentezi



Şekil 3.3: (**4**) numaralı bileşiğin sentezi.

500 mg (0.77 mmol) nitro piranin bileşiği (**3**), 50 ml tanyonil klorür içerisinde süspanse edildi. Karışıma 500  $\mu l$  DMF eklendikten sonra 3 saat reflux edildi. Reaksiyon karışımı buzun içerisine atıldı, gözlenen sarı katı filtre edildi. Daha sonra DCM ile ekstrakte edildikten sonra çözücü uzaklaştırıldı ve istenilen 8-(4-nitrofenoksi)piren-1,3,6-trisulfonyl triklorür (**4**) elde edildi. Erişilen verim %72 (350 mg) olarak hesaplandı. FT-IR:  $\nu$  ( $cm^{-1}$ ), 1617 (C=C), 1344-1523 ( $NO_2$ ), 1166 (S=O) [107].

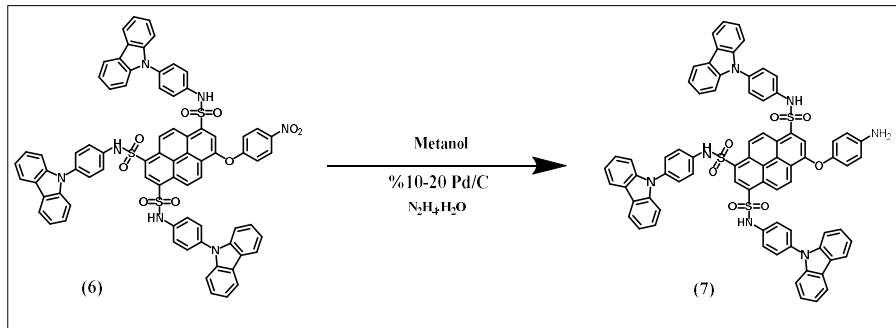
### 3.3.3. N<sup>1</sup>, N<sup>3</sup>, N<sup>6</sup>-tris(4-(9H-karbazol-9-yl)fenil)-8-(4-nitrofenoksi)piren-1,3,6-trisulfonamid (6) Sentezi



Şekil 3.4: (6) numaralı bileşiğin sentezi.

350 mg (0.55 mmol) bileşik 4 DCM içerisinde çözündü. Ayrı bir beherde DCM içerisinde çözünen (712.07 mg, 2.76 mmol) karbazolamine (5) damla damla 4 numaralı bileşiğin bulunduğu reaksiyon balonuna eklendi. Reaksiyon karışımına 50 µl piridin eklendi ve oda sıcaklığında karıştırıldıktan sonra geri soğutucu yardımıyla ısıtıldı. DCM ile ekstraksiyon yapıldı ve 6 numaralı bileşiği ayırmak için DCM/%2 Metanol/%1 TEA yürütücüsü kullanılarak kolon kromatografisi yapıldı. Bu işlem sonucunda turuncu katı elde edilmiştir. Erişilen verim %97 (700 mg) olarak hesaplandı. FT-IR:  $\nu$  (cm<sup>-1</sup>), 2850 (Aromatik C-H), 1595 (C=C), 1316-1478 (NO<sub>2</sub>), 1151 (S=O), 760 (N-H out-of-plane). C<sub>76</sub>H<sub>49</sub>N<sub>7</sub>O<sub>9</sub>S<sub>3</sub>, MS(MALDI-TOF) (m/z): 1300.034 [M<sup>+</sup>].

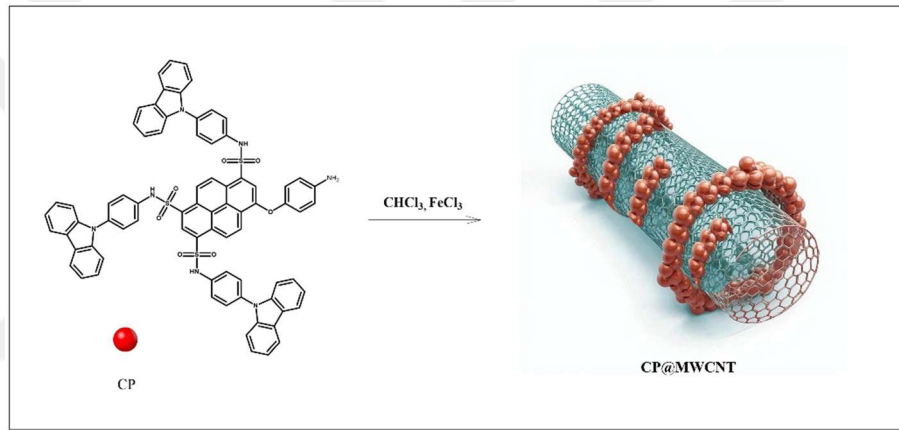
### 3.3.4. N<sup>1</sup>, N<sup>3</sup>, N<sup>6</sup>-tris(4-(9H-karbazol-9-yl)fenil)-8-(4-aminofenoksi)piren-1,3,6-trisulfonamid (7) Sentezi



Şekil 3.5: (7) numaralı bileşiğin sentezi.

650 mg (0.49 mmol) **6** numaralı bileşik 72 ml kuru metanol içerisinde çözündü ve argon atmosferinde kaynama sıcaklığında karıştırıldı. 650 mg %10-20 Pd/C ilave edilerek 10 dakika karıştırıldı ve ardından 1.3 ml hidrazin monohidrat ilave edilerek argon atmosferinde kaynama sıcaklığında 6 saat boyunca tekrar karıştırıldı. TLC ile reaksiyon kontrol edildikten sonra ortamdaki %10-20 Pd/C ayırmak için filtre kağıdından süzüldü ve DCM ile yıkama yapıp çözücü döner buharlaştırıcı yardımıyla uzaklaştırıldı. Elde edilen madde DCM ile ekstraksiyon yapıldı ve turuncu saf ürün **7** elde edildi. FT-IR:  $\nu$  ( $\text{cm}^{-1}$ ), 1634 (C=C), 3040-3268 (N-H), 1216 (S=O).  $\text{C}_{76}\text{H}_{49}\text{N}_7\text{O}_7\text{S}_3$ , MS(MALDI-TOF) ( $m/z$ ): 1270.102 [ $\text{M}^+$ ].

### 3.3.5 CP@MWCNT modifikasyonu



**Şekil 3.6:** CP polimerinin MWCNT ile modifikasyonu.

Ayrı ayrı konsantrasyonlarda istenilen reaksiyonu hazırlamak için aşağıdaki tabloda gösterilen miktarlardaki her bir nanotüpe 10 ml kuru kloroform eklendi ve 30 dakika ultrasonik banyoda sonikasyon işlemi yapıldı. Süre sonunda oda sıcaklığında 20 dakika daha karıştırıldı. Farklı miktarlarda alınan **7** numaralı bileşik reaksiyonun üzerine eklendi. Ayrıca, her bir çözeltiye 1000  $\mu\text{l}$   $\text{FeCl}_3$  eklendi. 12 saat oda sıcaklığında karıştırıldıktan sonra 2 saat ısıtılarak tekrar karıştırıldı ve santrifüj ile çöken malzeme ayrıldı. Reaksiyona girmeyen  $\text{FeCl}_3$ 'ü gidermek için DCM ile birkaç kez yıkama yapılarak tekrar santrifüj edildi. Hazırlanan tüm hibrit malzemelerden en yüksek sensör cevabı ve pik akım değerinden dolayı ve ileriki tüm elektrokimyasal analizler, %20 CP@MWCNT'nin hibrid malzeme üzerinden yapılmıştır. Yüzey morfolojisi incelendiği zaman MWCNT yüzeyinde CP'nin topaklanmaya sebep

olduğu SEM görüntülerinde net bir şekilde gözlenmiştir. Ayrıca, TEM görüntülerinde ise malzemenin yüzeyinde aglomerasyon oluşmuştur.

**Tablo 3.3:** Farklı yüzdelik konsantrasyonlarda CP@MWCNT kompozit malzemesinin sentezi.

| CP@MWCNT          | %5      | %10     | %20     | %40     | %50     |
|-------------------|---------|---------|---------|---------|---------|
| MWCNT             | 1 mg    | 2 mg    | 4 mg    | 8 mg    | 10 mg   |
| CP                | 19 mg   | 18 mg   | 16 mg   | 12 mg   | 10 mg   |
| FeCl <sub>3</sub> | 1000 µL | 1000 µL | 1000 µL | 1000 µL | 1000 µL |
| Kloroform         | 10 mL   | 10 mL   | 10 mL   | 10 mL   | 10 L    |

### 3.4. Kovalent Bağlanma Yöntemi ile PSA İmmünosensörünün Hazırlanması

#### 3.4.1. CP@MWCNT/Kitosan malzemesinin hazırlanması

1 mg/mL CP@MWCNT içeren solüsyon %1 Kitosan-%1 asetik asit çözeltisi ve %75 DMF/%25 saf su içerisinde hazırlanmıştır. 10 dakika ultrasonikte homojen dağılım olması için sonikasyon yapılmıştır. Dispers olan malzemeden 7 µL camı karbon elektroda damlatılmış ve sonraki aşama için oda sıcaklığında kurutulmaya bırakılmıştır.

#### 3.4.2. Anti-PSA'nın immobilizasyonu

Öncelikle, çapraz bağlama yöntemi gerçekleştirmek için 2.5 µL %1 gluteraldehit, 50 µL olarak hazırlanan 4 ng/mL anti-PSA üzerine eklenmiştir. Anti-PSA içeren çözelti CP@MWCNT ile modifiye edilmiş her bir elektroda 7 µL damlatılmış ve kovalent immobilizasyonun gerçekleşmesi için oda sıcaklığında kurutmaya bırakılmıştır. Anti-PSA/CP@MWCNT ile modifiye edilmiş GCE yüzeyine saf su içerisinde hazırlanmış olan %1 BSA çözeltisinden 4 µL damlatılmış ve 30 dakika oda sıcaklığında bekletilmiştir. DPV ölçümü alındıktan sonra elektrotlara yıkama ve kurutma işlemleri yapılmıştır.

### 3.4.3. Anti-PSA/CP@MWCNT'nin PSA antijeni ile inkübasyonu

Saf su içerisinde farklı konsantrasyonlarda hazırlanan PSA çözeltisinden 5 µL damlatılmış ve elektrotlar oda sıcaklığında sabit nem ortamında 30 dk bekletilmiştir. DPV ölçümleri alındıktan sonra yıkama ve kurutma işlemi uygulanmıştır.

### 3.4.4. Elektrokimyasal Ölçümler

Elektrokimyasal ölçümler için elektrotlar, 13 mL 2.5 mM K<sub>3</sub>[Fe(CN)<sub>6</sub>]/ K<sub>4</sub>[Fe(CN)<sub>6</sub>] (1M KCl) çözeltisinde daldırılarak ölçülmüştür. Elektrokimyasal ölçüm parametreleri Tablo 3.4'de verilmiştir.

**Tablo 3.4:** İmmüno-sensörde kullanılan yöntemler ve parametreleri.

| Metot                                         | Parametreler                                                                                                                                        |
|-----------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| CV (Dönüşümlü Voltametri)                     | Tarama Hızı: 50 mV.s <sup>-1</sup>                                                                                                                  |
| DPV (Differansiyel Puls Voltametri)           | Puls potansiyeli (E <sub>puls</sub> ): 60 mV, Puls zamanı (t <sub>puls</sub> ): 0.2 s, basamak potansiyeli (E <sub>step</sub> ): 5 mV, <sup>1</sup> |
| EIS (Elektrokimyasal Empedans Spektroskopisi) | Frekans aralığı: 0.1-10000 Hz                                                                                                                       |

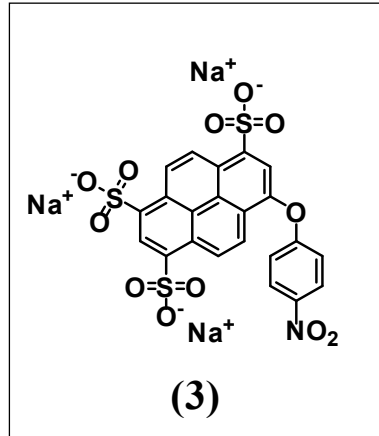
## 4. ARAŞTIRMA BULGULARI

Bu kısımda tez kapsamında sentezlenen bileşiklerin ve CP@MWCNT hibrid malzemesinin yapılarının aydınlatılması, yüzey morfolojileri ve termal özelliklerinden elde edilen bulgulara yer verilmiştir. Bunun yanı sıra, immünoşansörlerin elektrokimyasal ölçümlerinin aydınlatılması ve validasyonları yer almaktadır.

### 4.1. Sentezlenen Bileşiklerin Yapılarının Aydınlatılması

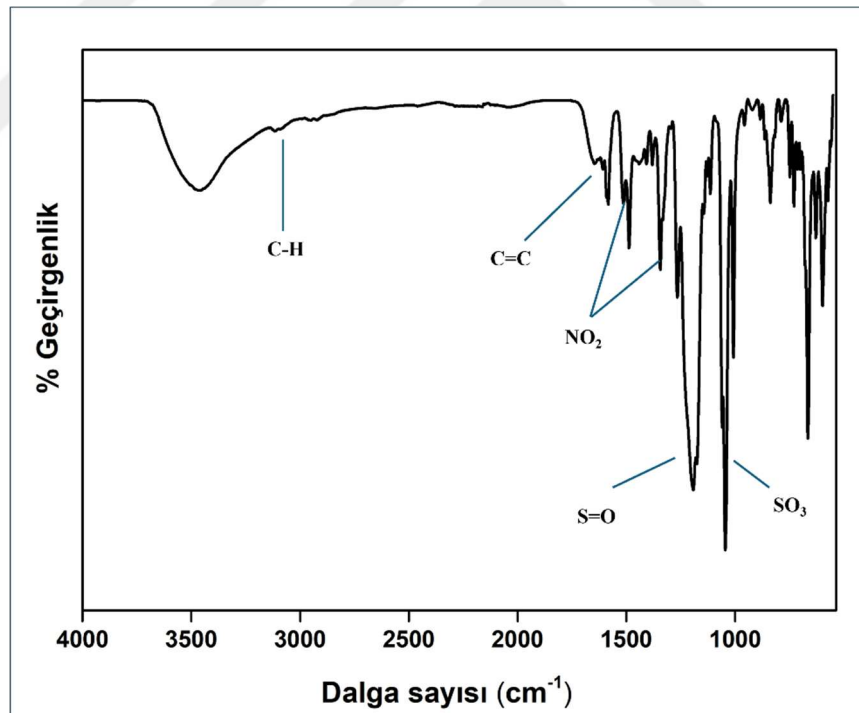
Bu tez kapsamında, 8-(4-nitrofenoksi)piren-1,3,6-trisulfonik asit trisodyum tuzu (**3**), 8-(4-nitrofenoksi)piren-1,3,6-trisulfonil triklorür (**4**), N<sup>1</sup>, N<sup>3</sup>, N<sup>6</sup>-tris(4-(9H-karbazol-9-yl)fenil)-8-(4-nitrofenoksi)piren-1,3,6-trisulfonamid (**6**) ve N<sup>1</sup>, N<sup>3</sup>, N<sup>6</sup>-tris(4-(9H-karbazol-9-yl)fenil)-8-(4-aminofenoksi)piren-1,3,6-trisulfonamid (**7**) sentezlenmiştir. Sentezi gerçekleştirilen bileşiklerin yapıları FT-IR, kütle, <sup>1</sup>H-NMR, <sup>13</sup>C-NMR UV-Vis spektroskopik yöntemler ve elektrokimyasal ölçümlerden faydalanarak aydınlatılmıştır. Karbon nanotüp içeren çözeltiye bileşik **7** eklenerek CP@MWCNT yeni hibrid malzeme elde edilmiş ve FTIR, UV-Vis spektroskopileri ile kimyasal yapıları, SEM ve TEM ile yüzey analizleri yapılmış, TGA ile termal analiz gerçekleştirilmiştir.

#### 4.1.1. 8-(4-nitrofenoksi)piren-1,3,6-trisulfonik asit trisodyum tuzu (3) Bileşiğinin Yapı Aydınlatılması



Şekil 4.1: 3 Numaralı bileşiğin kimyasal yapısı.

3 numaralı bileşiğe FT-IR spektrometresinden elde edilen verilen değerlendirilmesi aşağıda verilmiştir.

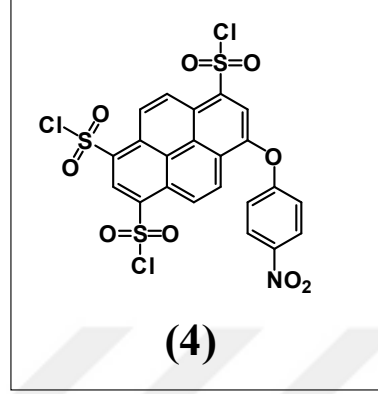


Şekil 4.2: 3 numaralı bileşiğe ait FT-IR spektrumu.

3 numaralı bileşiğe ait FT-IR spektrumu incelendiği zaman 3113 cm<sup>-1</sup> de aromatik C-H gerilmesi, 1609' de aromatik (C=C) pikleri, 1345 cm<sup>-1</sup> ve 1511 cm<sup>-1</sup> de (NO<sub>2</sub>) gerilim pikleri, 1195 cm<sup>-1</sup>' de (S=O) ve 1045 cm<sup>-1</sup>' de (SO<sub>3</sub>) gruplarına ait gerilimler

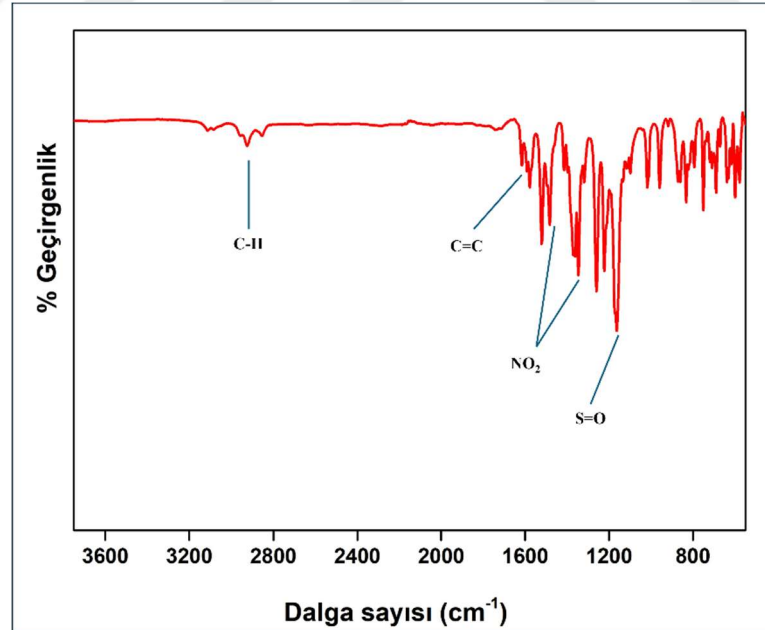
görülmekte ve yapıyı desteklemektedir.  $3500\text{ cm}^{-1}$ 'lerde gözlenen pikin  $\text{SO}_3$  ile havanın etkileşerek  $\text{SO}_3\text{H}$  oluşturmamasından dolayı olduğu anlaşılmıştır.

#### 4.1.2. 8-(4-nitrofenoksi)piren-1,3,6-trisulfonil triklorür (4) Bileşiğinin Yapı Aydınlatılması



Şekil 4.3: 4 Numaralı bileşiğin kimyasal yapısı.

4 numaralı bileşiğe FT-IR spektrometresinden elde edilen verilen değerlendirilmesi aşağıda verilmiştir.

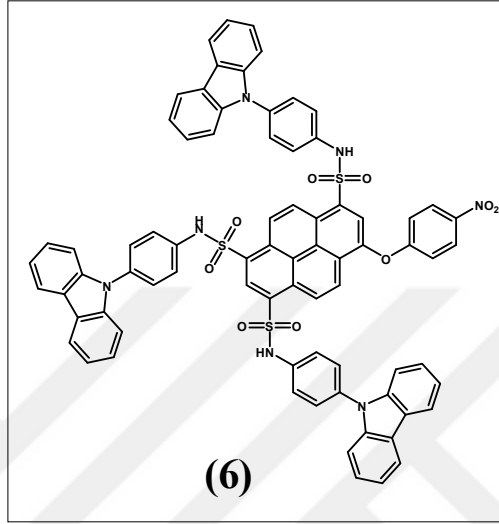


Şekil 4.4: 4 numaralı bileşiğe ait FT-IR spektrumu.

FT-IR:  $\nu$  ( $\text{cm}^{-1}$ ),  $1617\text{ cm}^{-1}$  ( $\text{C}=\text{C}$ ),  $1344\text{--}1523\text{ cm}^{-1}$ 'de nitro ( $\text{NO}_2$ ) grubuna ait iki farklı pik gözlenmiştir. Klorlama sonucu önceki yapıda gözlenen ( $\text{SO}_3$ ) pikleri

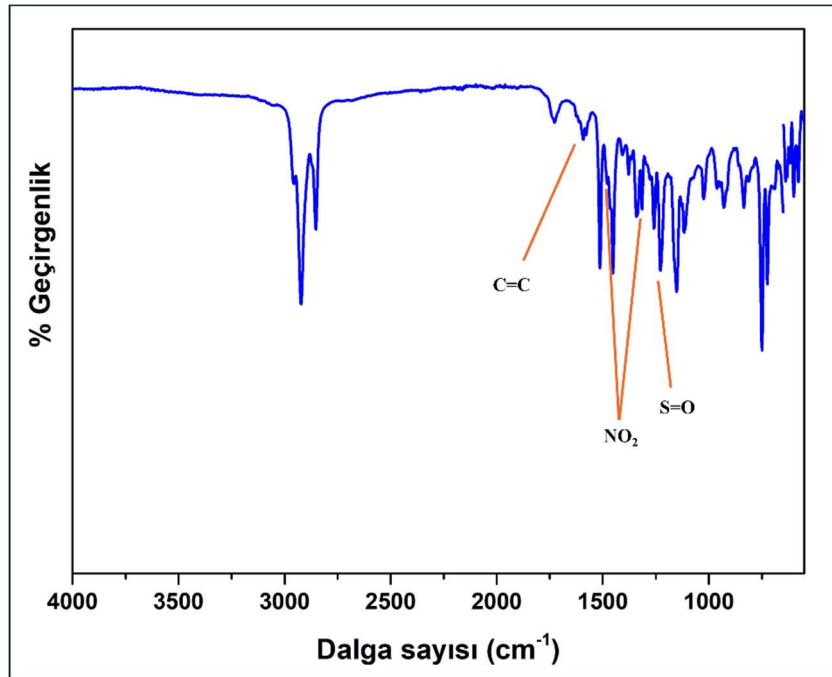
kaybolmuş ve (S=O) grubuna ait pikler 1166 cm<sup>-1</sup>'ye doğru kaymıştır. Bu piklere bakılarak yapıyı desteklediği görülmektedir.

#### 4.1.3. N<sup>1</sup>, N<sup>3</sup>, N<sup>6</sup>-tris(4-(9H-karbazol-9-yl)fenil)-8-(4 nitrofenoksi)piren-1,3,6-trisulfonamid (6) Bileşiğinin Yapı Aydınlatılması



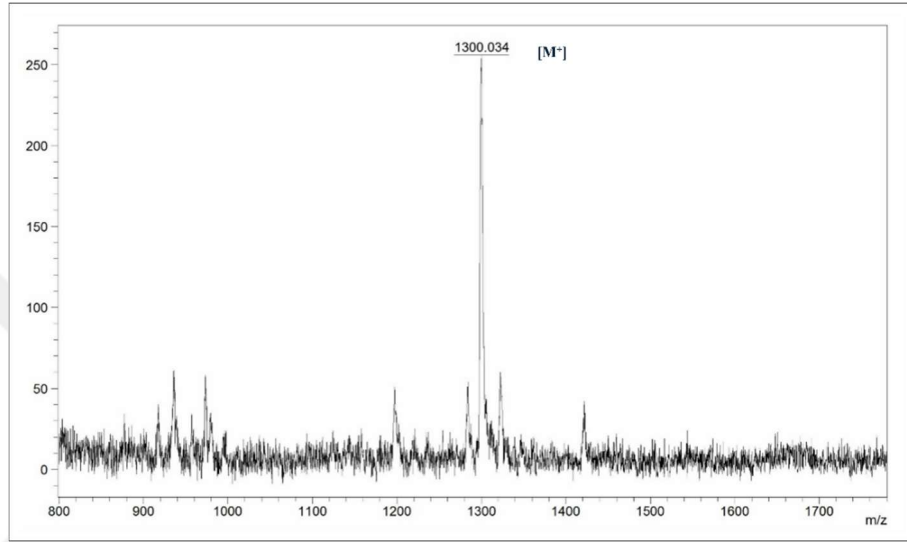
Şekil 4.5: 6 Numaralı bileşiğin kimyasal yapısı.

6 numaralı bileşiğe FT-IR, kütle ve <sup>1</sup>H-NMR spektrometrelerinden elde edilen verilen değerlendirilmesi aşağıda verilmiştir.



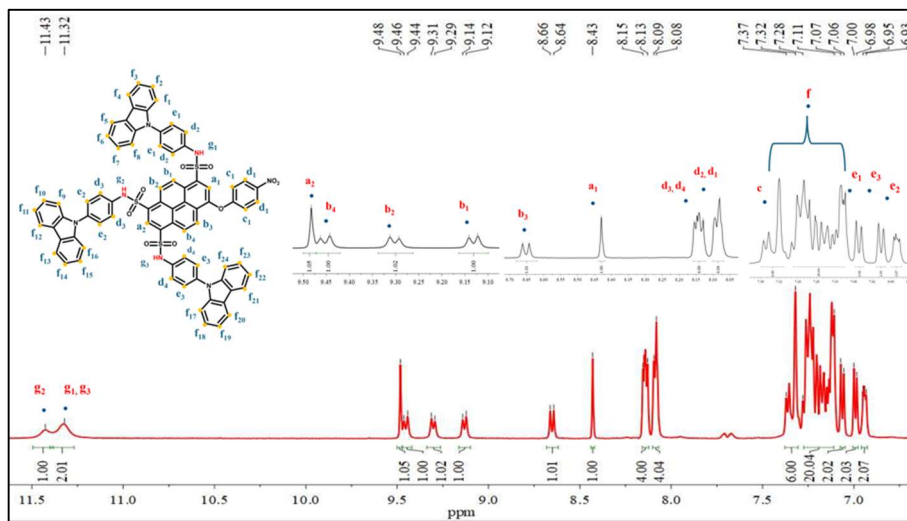
Şekil 4.6: 6 numaralı bileşiğe ait FT-IR spektrumu.

FT-IR:  $\nu$  ( $\text{cm}^{-1}$ ), 2850  $\text{cm}^{-1}$ 'de gözlenen üçlü pik kolon kromatografisinde yürütücü olarak kullanılan trietilaminden kaynaklanmaktadır. 1595  $\text{cm}^{-1}$ 'de aromatik ( $\text{C}=\text{C}$ ) pikleri, 1316-1478  $\text{cm}^{-1}$ 'de nitro ( $\text{NO}_2$ ) ve 1151  $\text{cm}^{-1}$  gözlenen pik ise ( $\text{S}=\text{O}$ ) fonksiyonel grubuna aittir. 760  $\text{cm}^{-1}$ 'de karbazol-amin ile bağlanması sonucu kaynaklanan (düzlem dışı N-H) pikleri görülmekte ve yapıyı desteklemektedir.



Şekil 4.7: 6 numaralı bileşiğe ait kütle spektrumu.

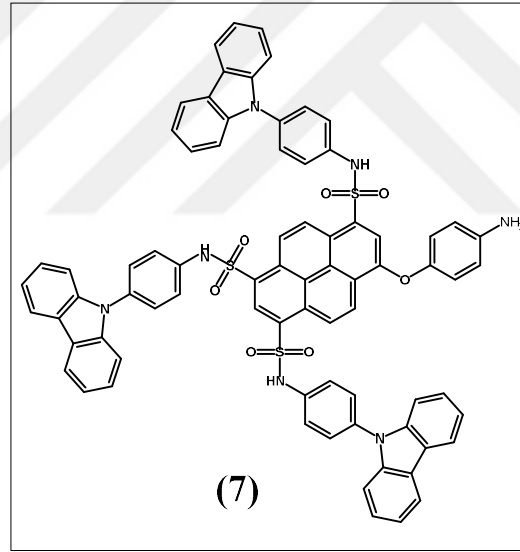
Kütle Spektrumu (MALDI-TOF) ( $m/z$ ): 1300.034 gözlenen  $[\text{M}^+]$  moleküler iyon piki beklenen (1300.45 g/mol) yapıyı desteklemektedir.



Şekil 4.8: 6 numaralı bileşiğe ait  $^1\text{H}$ -NMR spektrumu.

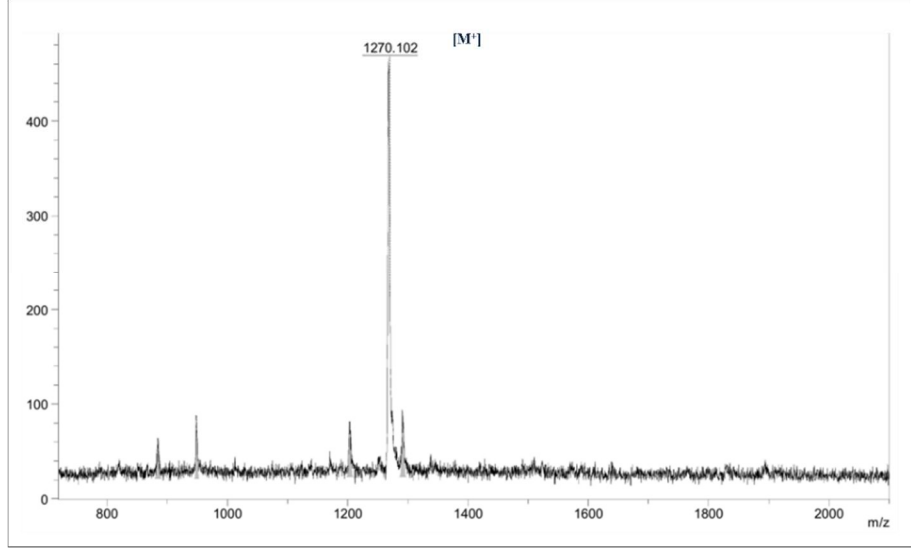
$^1\text{H}$ -NMR (500 MHz)  $\delta$ (ppm), DMSO: 9.48 ppm ve 8.43 ppm’de gözlenen singlet toplam 2H piranin içerisindeki piklerdir. 9.5, 9.30, 9.13 ve 8.65 ppm’lerde gözlenen 4H ikili piranine ait pikler gözlenmiştir. 8.08 ve 8.15 ppm’lerde gözlenen 8H ise nitro ve sulfon amine bağlı karbonun yanındaki piklere aittir. 7.4 ppm ve 7.3 ppm gözlenen 2H ise nitro grubuna ait benzen halkasındaki oksijene bağlı karbonunun komşusuna aittir. 7.11-7.32 ppm aralıklarında ise 24H pikleri karbazolden gelmektedir. 6.85, 7.0 ve 7.05 ppm’lerde gözlenen ikili toplamda 6H ise karbazole bağlı benzene aittir. 11.32 ve 11.43 ppm bölgelerinde yer alan 3H ise karbazol ve sulfon amite bağlı olan amin gruplarından kaynaklanmaktadır.  $^1\text{H}$ -NMR’dan elde edilen bu bulgular 6 numaralı yapıyı desteklemektedir.

#### 4.1.4. $\text{N}^1$ , $\text{N}^3$ , $\text{N}^6$ -tris(4-(9H-karbazol-9-yl)fenil)-8-(4-aminofenoksi)piren-1,3,6-trisulfonamid (7) Bileşiğinin Yapı Aydınlatması



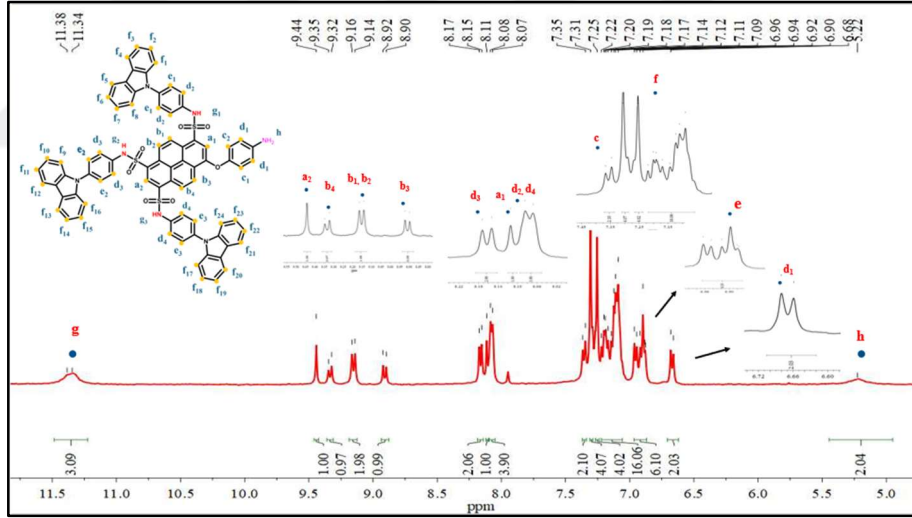
Şekil 4.9: 7 Numaralı bileşiğin kimyasal yapısı.

7 numaralı bileşiğe ait FT-IR, kütle, UV-Vis,  $^1\text{H}$ -NMR ve  $^{13}\text{C}$ -NMR spektrumlarından elde edilen verilen değerlendirilmesi aşağıda verilmiştir. Ayrıca elde edilen hibrid malzemenin SEM, TEM ve TGA ölçümleri karşılaştırmalı olarak ileri bölümlerde verilmiştir.



**Şekil 4.10:** 7 numaralı bileşiğe ait kütle spektrumu.

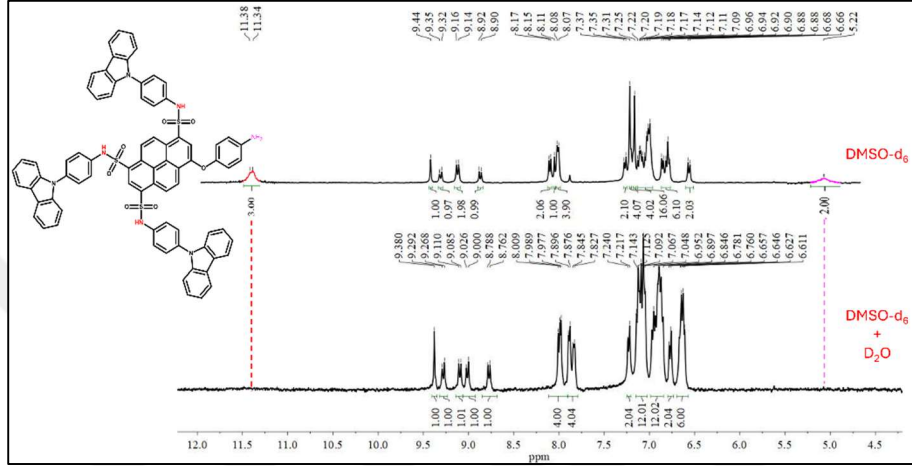
Kütle Spektrumu (MALDI-TOF) (m/z): 1270.102 gözlenen  $[M^+]$  moleküler iyon piki beklenen (1270.47 g/mol) yapıyı desteklemektedir.



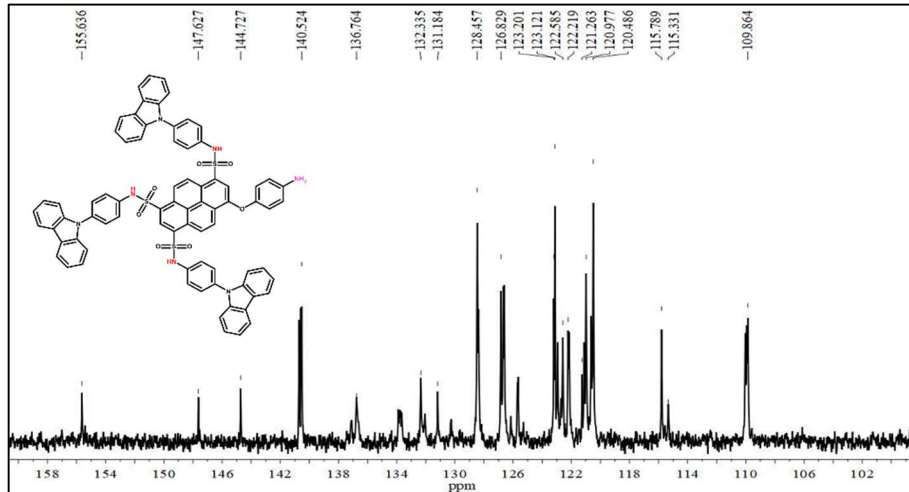
**Şekil 4.11:** 7 numaralı bileşiğe ait  $^1\text{H}$ -NMR spektrumu.

$^1\text{H}$ -NMR (500 MHz)  $\delta$ (ppm), DMSO: 9.44 ppm ve 8.11 ppm'de gözlenen singlet toplam 2H piranin içerisindeki piklerdir. 9.35, 9.16, 8.92 ve 8.17 ppm'lerde gözlenen 4H ikili piranine ait pikler gözlenmiştir. 8.08 ppm 4H, 8.17 ppm 2H ve 6.68 ppm'de gözlenen 2H ise nitro ve sulfon amitine bağlı karbonun yanındaki piklere aittir. 7.35 ppm'de yer alan pik 2H ise nitro grubuna ait benzen halkasındaki oksijene bağlı karbonunun komşusuna aittir. 7.3-7.09 ppm aralıklarında gözlenen 24 H pikleri ise karbazolden gelmektedir. 6.9 ppm bölgesinde yer alan 6H piki karbazole bağlı olan

benzenden gelen piklerdir. 11.32 ve 11.43 ppm bölgelerinde yer alan 3H ise karbazol ve sulfon amite bağlı olan amin gruplarından kaynaklanmaktadır. 5.22 ppm’de gözlenen 2H amin pikleri gözlenmiştir. Şekil 4.12’de D<sub>2</sub>O’nin eklenerek amin piklerinin varlığına bakılmıştır. Şekil 4.12’ye bakıldığında önceden amin pikleri olarak belirtilen 5.22, 11.32 ve 11.43 ppm’lerdeki piklerin kaybolduğu gözlenmiştir ve yapının başarılı bir şekilde indirgendiği anlaşılmıştır.



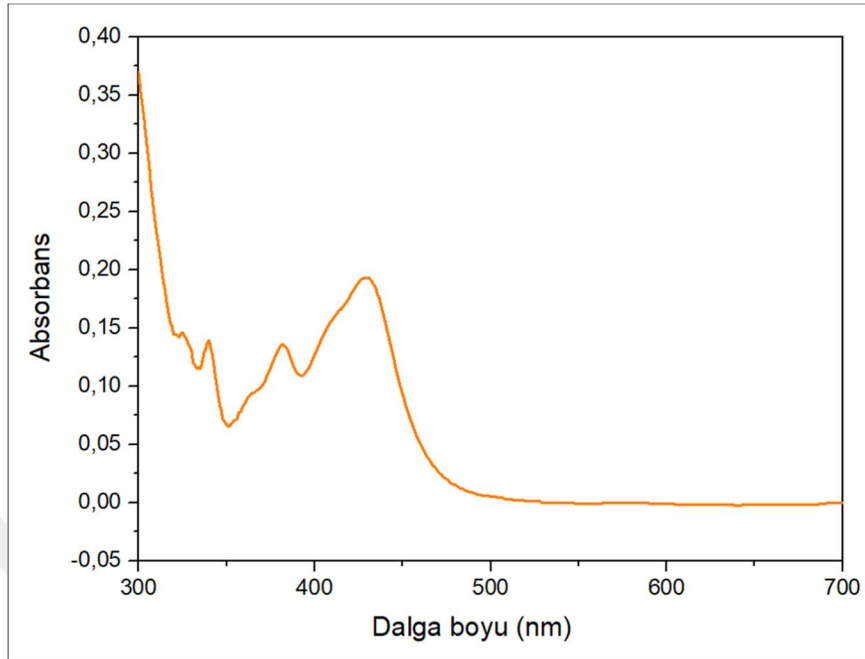
Şekil 4.12: 7 numaralı bileşiğe ait <sup>1</sup>H-NMR’ın D<sub>2</sub>O eklenmiş ve eklenmemiş halinin karşılaştırması.



Şekil 4.13: 7 numaralı bileşiğe ait <sup>13</sup>C-NMR spektrumu.

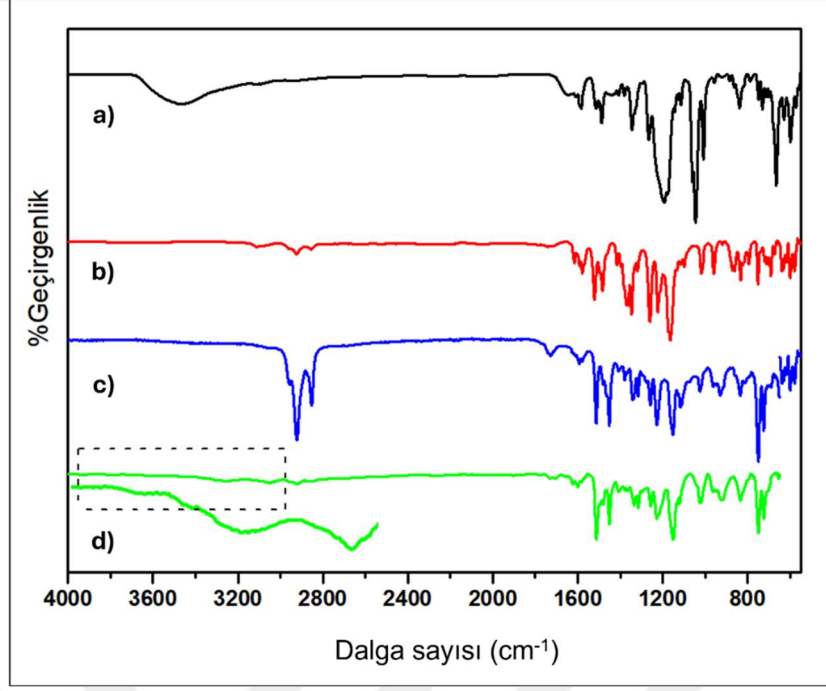
<sup>13</sup>C-NMR (125 MHz) δ(ppm), DMSO: 120-128 ppm bölgesinde yer alan C piklerinin piranin, karbazol ve amin benzene bağlı olan karbon bağları olduğu anlaşılmıştır. 139.2 ppm piki karbazolde yer alan azota bağlı karbon pikleridir. 147 ppm ve 156.2 ppm’de gözlenen pikler piranin ve amin-benzende bulunan karbonların oksijene bağlı

olduğu bölgede yer aldığı gözlenmektedir. Yapıdaki toplam 20 karbon sayısı ve piklerdeki toplam karbon sayısı ile uyuşmakta ve yapıyı desteklemektedir.



**Şekil 4.14:** 7 numaralı bileşiğe ait UV-Vis spektrumu.

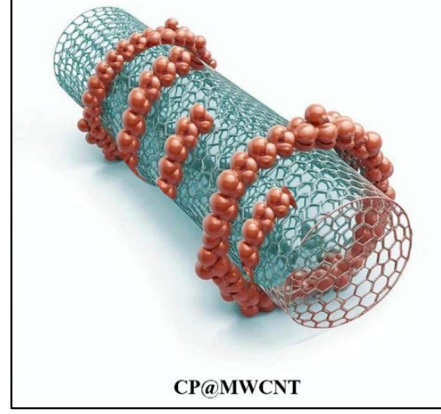
UV-Vis Spektrumu  $\lambda_{\max}$  (nm): 7 numaralı bileşiğinin dikolorometan çözücüsü kullanılarak  $1 \times 10^{-5} \text{M}$  konsantrasyonunda hazırlanan çözeltisinin UV-Vis spektrumunda Şekil 4.14'te gözlenen dalga boyu değeri 325.6-338,8 nm'de bileşikte yer alan karbazol grubunun absorbansları gözlenmiştir [108]. 382-431.2 nm'de yer alan maksimum absorbans bantları ise piranine bağlı absorbans bantları olduğu gözlemlenmektedir [109].



**Şekil 4.15:** Sentezlenen bileşiklerin **a)** 3 numaralı **b)** 4 numaralı **c)** 6 numaralı **d)** 7 numaralı bileşiklerin FT-IR spektrumlarının karşılaştırılması.

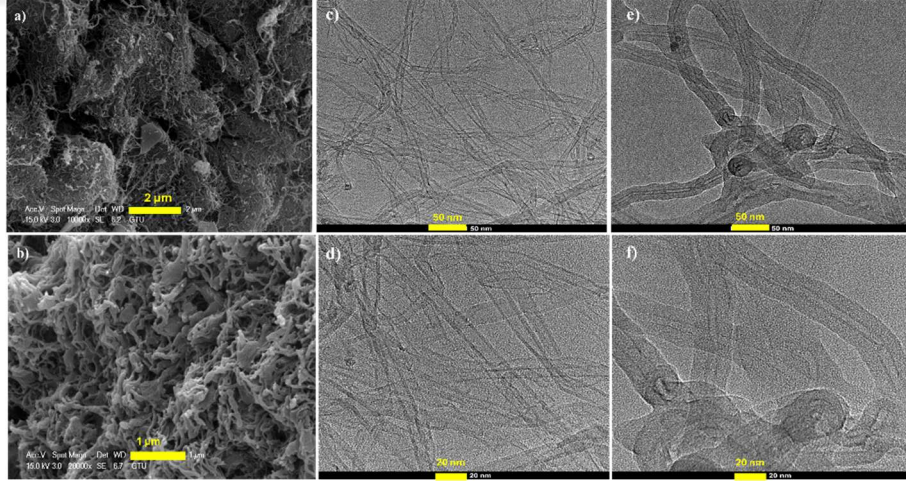
FTIR spektrum da istenilen malzeme ile sentezleme aşamalarına bakıldığında, sırasıyla  $3113\text{ cm}^{-1}$ , piranine bağlı aromatik C-H pikleri gözlenirken, Şekil 4.15a'da gözlenen  $2960\text{ cm}^{-1}$  ve  $2850\text{ cm}^{-1}$  piklerin kolon kromatografisi işleminde kullanılan TEA yürütücüsünden kaynaklanan piklerdir.  $1620\text{ cm}^{-1}$  piki ise C=C grubunu göstermektedir. İlk malzeme de  $1053\text{ cm}^{-1}$ ' de  $\text{SO}_3$  piki gözlenirken, nükleofilik yer değiştirme ile klorların bağlanması sonucu bu pikler kaybolmuştur.  $1195\text{ cm}^{-1}$ ,  $1166\text{ cm}^{-1}$  ve  $1159\text{ cm}^{-1}$  pikleri S=O'ya ait piklerdir. Piranin karbazol ile fonksiyonlaştırılması sonucu  $760\text{ cm}^{-1}$  bölgesinde düzlem dışı C-H pikleri görülmüştür. İlk sentezde nitrolama yapılan bölgeye indirgeme tepkimesi sonucu  $3040\text{--}3268$  arası N-H pikleri gözlenmiştir. Şekilde de görüldüğü gibi  $\text{NH}_2$  piklerinin N-H pikini ötelemesi söz konusudur.  $3500\text{ cm}^{-1}$  üzerinde gözlenen geniş pik  $\text{SO}_3$ 'ün hava ile etkileşimi sonucu  $\text{SO}_3\text{H}$  oluşmasından kaynaklanmaktadır.

## 4.2. Çok Duvarlı Karbon Nanotüp-Karbazol Piranin (CP) Hibrid Malzemesinin Karakterizasyonu



**Şekil 4.16:** CP@MWCNT hibrid malzemesinin şematik gösterimi.

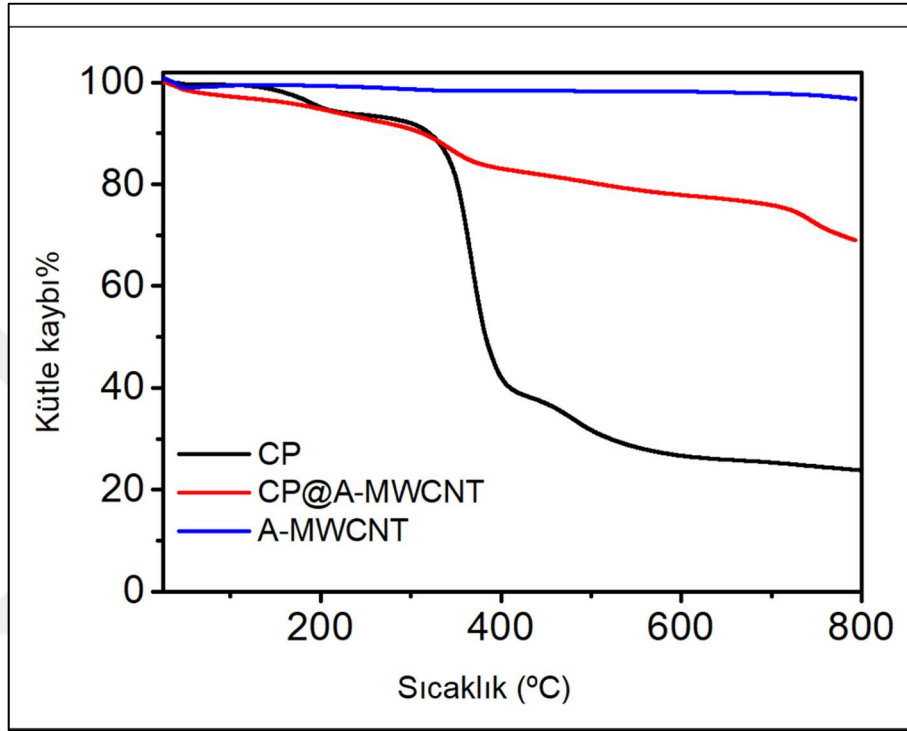
Çok duvarlı karbon nanotüp-karbazol piranin (CP@MWCNT) hibrid malzemesinin karakterizasyonu aşağıda verilmiştir. Bu karakterizasyonlar FT-IR, UV-Vis, termal analiz yöntemleri ve yüzey analizleri SEM ve TEM kullanılarak yapılmıştır.



**Şekil 4.17:** CP@MWCNT hibrid malzemesinin (a) ve MWCNT (b) SEM, MWCNT (c ve d) ve CP@MWCNT (e ve f) TEM görüntüleri.

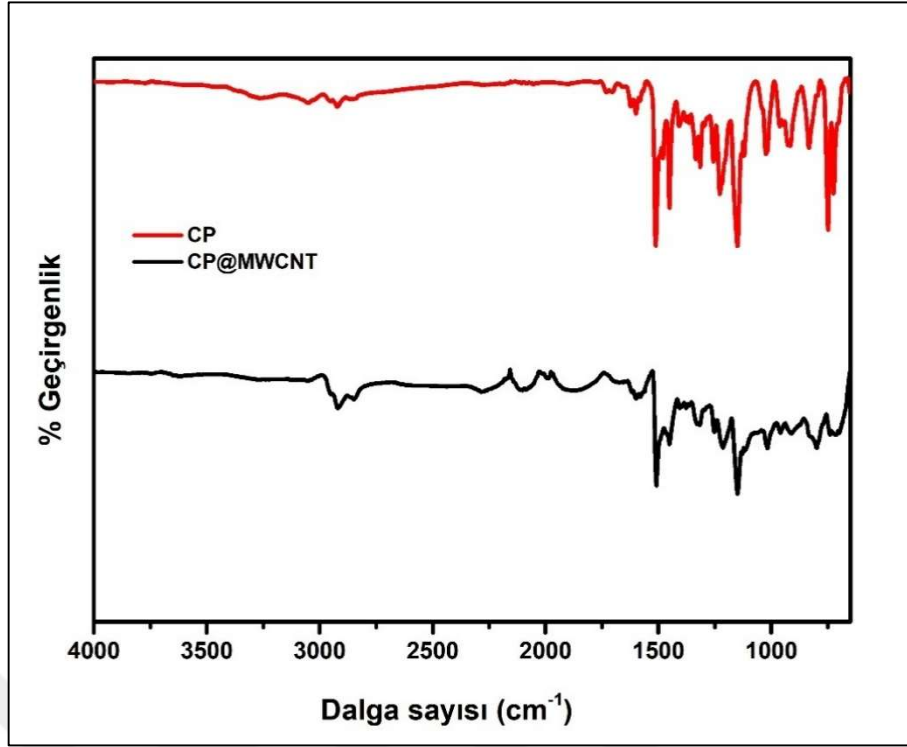
MWCNT ve CP@MWCNT hibrid malzemesinin yüzey morfolojisi SEM ve TEM yöntemleri ile incelendi. Şekil 4.17a ve b’de görüldüğü gibi CP@MWCNT hibridinin SEM görüntüleri, analitleri algılamaya yönelik olarak yararlı olabilecek üç boyutlu gözenekli yapılar oluşturmuştur. Çapraz bağlı CP polimerinin yüzeyde topaklanmaya

sebebi olduğu anlaşılmaktadır. Ayrıca MWCNT (Şekil 4.17c-d) TEM görüntüleri CP@MWCNT (Şekil 4.17e-f) ile verilmiştir. Saf MWCNT'ler daha düzgün bir morfolojiye sahip iken CP@MWCNT hibrid malzemenin yüzeyinde çapraz bağlı polimerlerin aglomerasyon ile varlığı gözükmemektedir ve çeşitli sensör uygulamalarında kullanılabilir olduğunu göstermektedir.



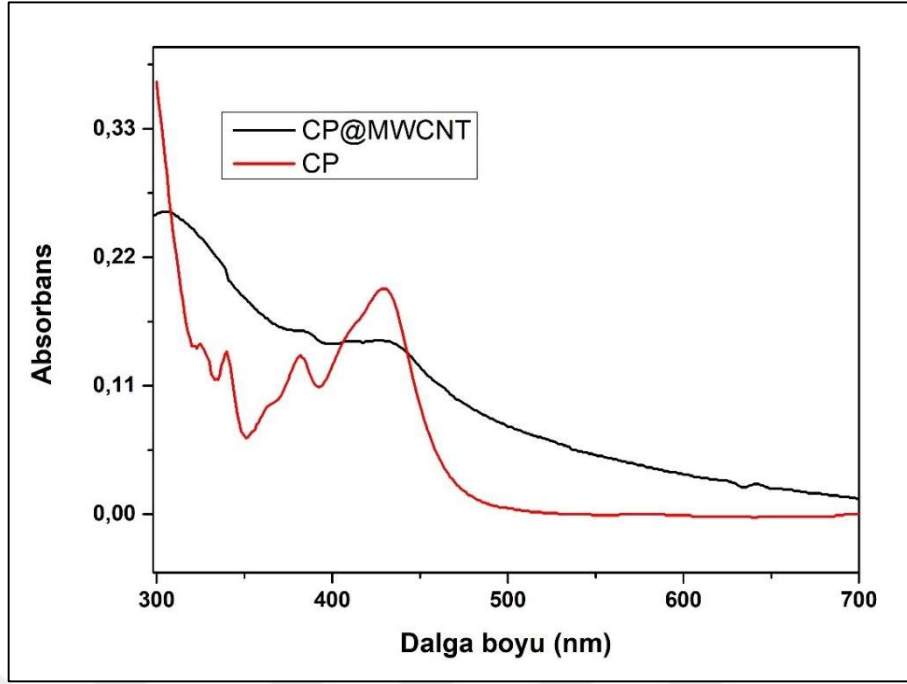
**Şekil 4.18:** CP, CP@MWCNT ve MWCNT malzemelerinin termal analiz grafiği.

Elde edilen CP@MWCNT materyalinin termal kararlılığını belirlemek ve karbon nanotüp yüzeyindeki karbon atomlarına karşılık gelen kimyasal olarak bağlı CP moleküllerinin miktarlarını belirlemek için termal analiz yapılmıştır. CP, CP@MWCNT ve MWCNT malzemeleri için 800 °C'de kütleyi kayıpları sırasıyla %76.17, 31.07 ve 3.11 olarak bulunmuştur. Bu analiz sonucunda, MWCNT yüzeyine bağlanan CP için hibridten (31.07) toplam CP miktarı çıkarılmış (3.11) ve bulunan değer (27.96), CP@MWCNT hibridinin kütleyi kaybına (76.17) bölünmüştür. Bağlanan CP yüzdesi %36.70 ve hibrid malzemede kalan MWCNT miktarı ise %63.30 olarak bulunmuştur. Sonuç olarak hibrid malzeme miktarı ise  $((63.30 \times 1270.47) / (36.70 \times 12))$  ifadesinden yaklaşık 183 karbon için bir CP molekülü bağlandığı hesaplanmıştır (Şekil 4.18).



**Şekil 4.19:** CP ve CP@MWCNT hibrid malzemesine ait FT-IR karşılaştırması.

FT-IR spektrum sonuçlarına dayanılarak CP ve CP@MWCNT karşılaştırılması yapıldığında, Nanotüpün  $\pi$  sisteminin tahrip olmasıyla genellikle  $900\text{-}1200\text{ cm}^{-1}$  bölgesinde aromatik sistemlerden kaynaklanan pikler gözlenir [110].  $739$  ve  $941\text{ cm}^{-1}$ 'deki piklerde gözlenen C-H bükülmelerine ait titreşimler bilgiyi doğrulamıştır. CP@MWCNT piklerinde bakıldığında, CP ile piklerinin hemen hemen aynı olduğu fakat monomerlerin MWCNT üzerine adsorpsiyonu ve polimer zincirinin hareket kısıtlamasından dolayı piklerde kayma ve yoğunlukta değişimler gözlenmiştir.



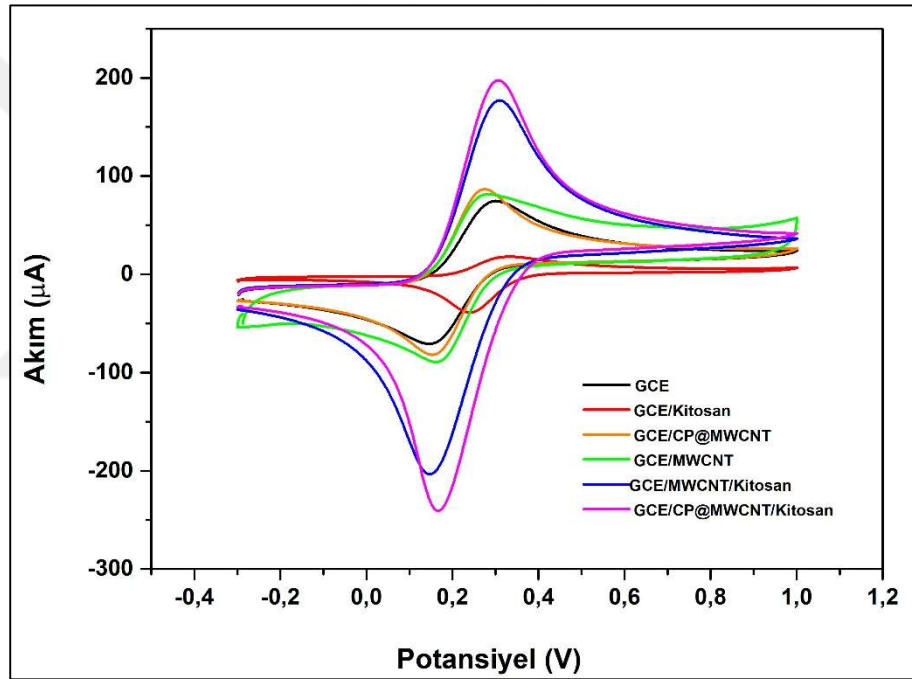
**Şekil 4.20:** CP ve CP@MWCNT hibrid malzemesinin UV-Vis spektrumu karşılaştırması.

CP ve CP@MWCNT'nin UV-Vis spektrum karşılaştırması şekil 4.20'de verilmiştir. CP bileşiğinde 325.6-338.8 nm dalga boylarında gözlenen karbazol absorbansları, CP@MWCNT malzemesinde 312-338nm aralıklarında absorbans vermiştir. 382-431 nm'de gözlenen piranin spektrumları ise hibrid malzeme de 381-426 nm dalga boylarında gözlenmiştir. CP bileşiğine kıyasla CP@MWCNT'de gözlenen absorbans artışının CP bileşiğinin nanotüp üzerine kaplanarak yüzeyi kapatmasından kaynaklandığı anlaşılmıştır.

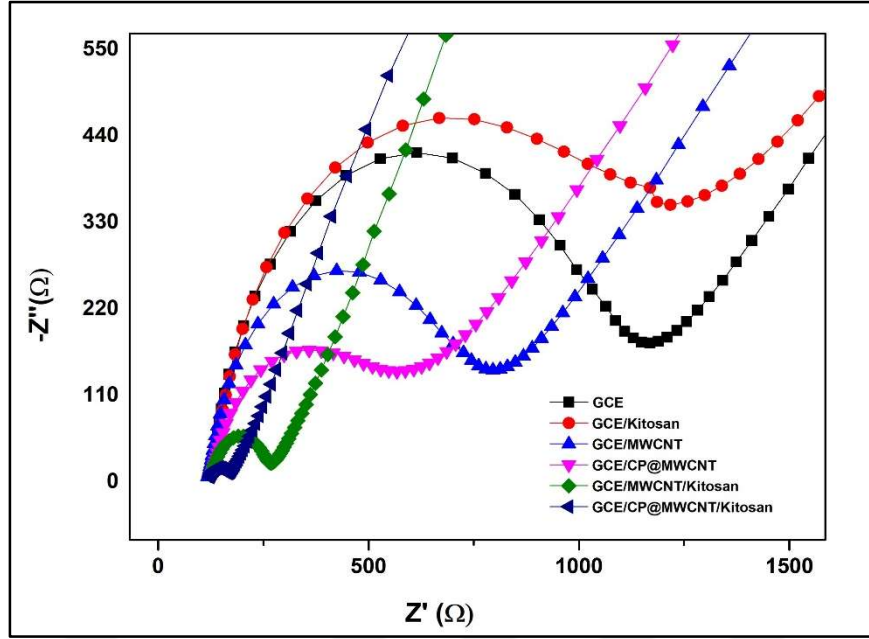
#### 4.3. GCE/CP@MWCNT/Kitosan Elektroduunun Elektrokimyasal Karakterizasyonu

GCE, GCE/CP@MWCNT, GCE/CP@MWCNT/Kitosan elektrotlarının elektrokimyasal karakterizasyonu için 2.5 mM  $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$  (1M KCl) çözeltisinde CV, DPV ve EIS ölçümleri elektrotların algılama özelliklerini karakterizasyonu ve değerlendirmesini anlamak için alınmıştır. Şekil 4.21'de, GCE, GCE/CP@MWCNT, GCE/CP@MWCNT/Kitosan elektrotlarının sırasıyla dönüşümlü voltagramları ve elektrokimyasal empedans spektrumları verilmiştir. CV sonuçlarına göre; GCE üzerine kitosan eklendiğinde en düşük artış gözlenirken, hibrid malzemenin elektrot

formülasyonunda modifiye edilmesiyle anodik ve katodik pik akımlarının arttığı ve pik potansiyellerinin arasındaki farkın daraldığı anlaşılmıştır. Hibrid malzeme ve kitosan birleşiminin voltagramı alındığında, redoks tepkimesinin daha kolay gerçekleşmesinden dolayı ve birbirleri arasındaki sinerjik etkilerden kaynaklı en yüksek pik akımları gözlenmiştir [111]. EIS spektrumları, elektron transferi ile değişen frekansları ve buna göre biçimlenen elektron transfer direncini gösterir [112]. Aşağıdaki şekil 4.22'deki sonuçlara bakıldığında, camı elektrodun modifiye edilmesiyle GCE, CP@MWCNT ve CP@MWCNT/Kitosan'da iletkenlik artar iken düşük elektron transfer direnci gösterdiği gözlenmiştir. Kitosanın ise düşük iletkenlik vermesiyle bu direncin daha yüksek olduğu görülmüştür.



**Şekil 4.21:** GCE, GCE/CP@MWCNT, GCE/CP@MWCNT/Kitosan ve GCE/MWCNT elektrotlarının 2.5 mM  $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$  (1M KCl) çözeltisindeki elde edilen dönüşümlü voltagramları.

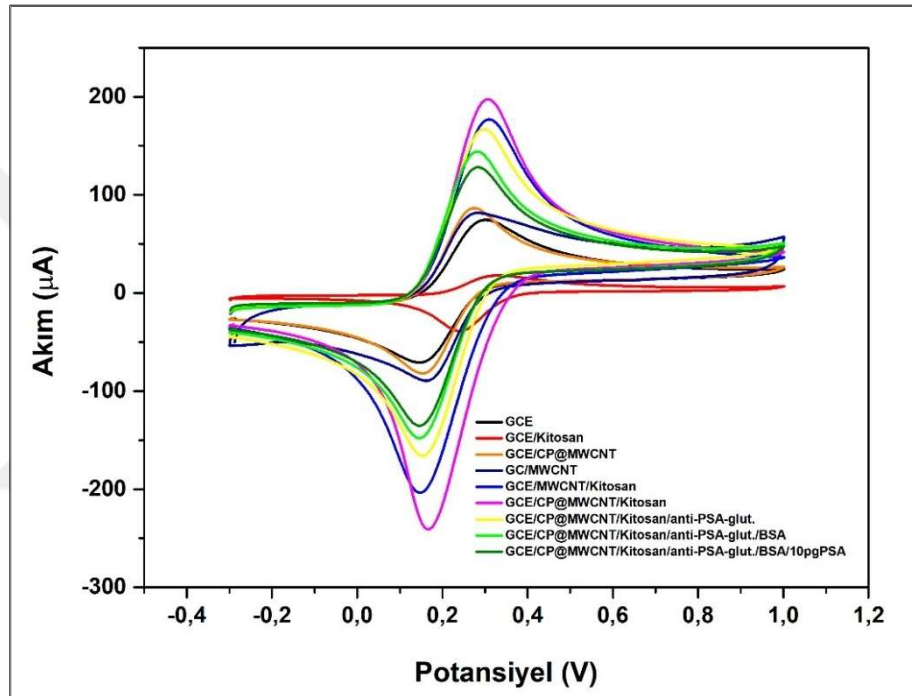


**Şekil 4.22:** GCE, GCE/CP@MWCNT, GCE/CP@MWCNT/Kitosan ve GCE/MWCNT elektrotlarının 2.5 mM  $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4}$  (1M KCl) çözeltisindeki elde edilen elektrokimyasal empedans spektroskopisi ölçümleri.

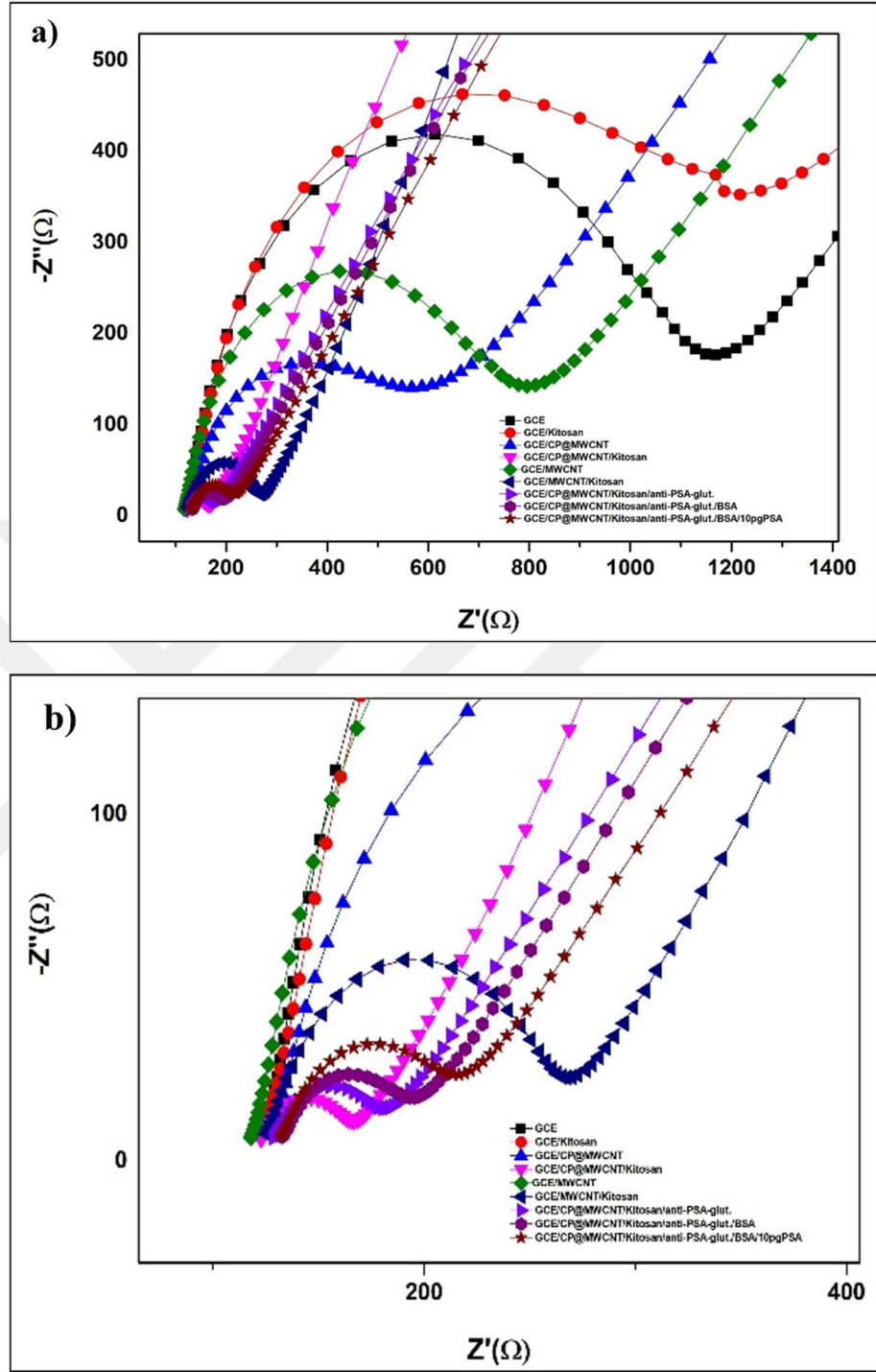
#### 4.4. PSA İmmünosensörünün Elektrokimyasal Karakterizasyonu

PSA immünosensörlerinin elektrokimyasal karakterizasyonları, optimum çalışma parametrelerinde hazırlanan PSA immünosensörleri ile yapılmıştır. GCE/CP@MWCNT/Chitosan/anti-PSA/BSA/PSA immünosensörlerinin elektrokimyasal karakterizasyonu için 10 pg/mL PSA konsantrasyonunda 2.5 mM  $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4}$  (1M KCl) çözeltisinde CV ve EIS ölçümleri alınmıştır. PSA immünosensörlerinin hazırlanma basamaklarına ait CV ve EIS değerleri sırasıyla Şekil 4.23’da verilmiştir. İmmünosensörlerin analitik performansı antikor-antijen bağlanmasının yüksek özgüllüğüdür [113]. Bu hassasiyet tespiti, iletken yüzey ile immünokimyasal bileşimin uyumu iledir. CV sonuçlarına bakıldığında, önceden de söylendiği gibi CP@MWCNT/Kitosan’ın en yüksek anodik ve katodik pik artışında sahip olmasıyla en yüksek iletkenlik vermiştir. Elektroda hibrid malzeme harici anti-PSA/gluteraldehit eklendiğinde ise bu pikin azaldığı görülmüştür çünkü gluteraldehit çapraz bağlayıcı reaktifliği özelliği sayesinde kovalent olarak bağlanmış ve antikor moleküllerini sıkıca adsorbe ederek immobilizasyonu sağlamıştır. Üzerine BSA eklendiğinde ise pik potansiyelleri arasındaki farkın arttığı, pikin ise daha da azaldığı

gözlenmiştir. Bunun nedeni ise BSA'nın antikor ve antijen arasında bloke görevi görmesiyle yüzeyi kapatmasıdır. 10 pg PSA eklendiğinde ise antikor-antijen immobilizasyonun sağlanması sonucu anodik ve katodik pik akımlarının daha da azaldığı gözlenmiştir. Şekil 4.24'deki EIS sonuçlarına bakıldığında ise hibrid malzemeye anti-PSA/gluteraldehit eklediğinde iletkenliğin azalması nedeniyle direnç değerinde artışın olduğu gözlenmiştir. Bu artış, BSA ve ardından 10 pg PSA eklenmesiyle daha da arttığı gözlenmiştir. CV ve EIS sonuçlarının ön izlenmesi yapılarak sensörün immobilizasyonun başarılı bir şekilde gerçekleştiği anlaşılmıştır.

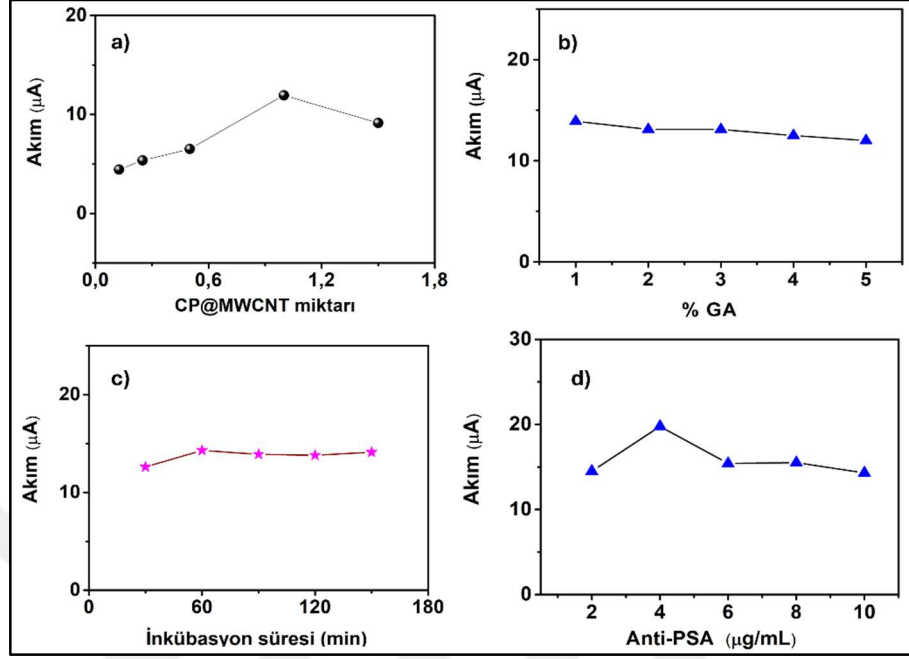


**Şekil 4.23:** GCE, GCE/CP@MWCNT, GCE/CP@MWCNT/Kitosan GCE/MWCNT, GCE/CP@MWCNT/Kitosan/anti-PSA/BSA/PSA elektrotlarının 2.5 mM  $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$  (1M KCl) çözeltisindeki elde edilen dönüşümlü voltagramları.



**Şekil 4.24:** GCE, GCE/CP@MWCNT, GCE/CP@MWCNT/Kitosan, GCE/MWCNT ve GCE/CP@MWCNT/Kitosan/anti-PSA/BSA/PSA elektrotlarının 2.5 mM  $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{-3/4}$  (1M KCl) çözeltisindeki elde edilen elektrokimyasal empedans spektroskopisi ölçümleri.

#### 4.5. PSA İmmünoSENSÖRÜNÜN Optimum Parametrelerinin Belirlenmesi



**Şekil 4.25:** a) CP@MWCNT miktarı b) % Gluteraldehit c) İnkübasyon süresi d) anti-PSA konsantrasyonunun optimize parametreleri.

Uygun bir elektrokimyasal immünoSENSÖR için yüksek bir iletkenlik, antikor-antijen immobilizasyonunda immünokimyasal reaksiyon gerçekleşmesi ve en iyi elektrot analitik performansın eldesi için CP@MWCNT miktarı, anti-PSA konsantrasyonu, %gluteraldehit ve inkübasyon süresi gibi belli parametrelerin belirlenmesi gerekir. Öncelikle, CP@MWCNT konsantrasyonunun optimizasyonu 0.125, 0.250, 0.50, 1.00, 1.50 mg/mL olmak üzere 5 farklı konsantrasyonda hazırlanmıştır. Her biri elektrotların yüzeylerine damlatılarak 45 dk boyunca oda sıcaklığında veya 37°C’de kuruması için beklemeye bırakılmıştır. Farklı konsantrasyonlarda hazırlanan CP@MWCNT analizi için 2.5 mM  $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{-3/4}$  (1.0 M KCl) çözeltisinde DPV alınmıştır. Şekil 4.25a’da açıkça görülebileceği gibi 0.125-1.00 mg/mL artış gözlenmiş iken 1.00-1.50 mg/mL arası azalma gözlenmiştir. Düşük konsantrasyonlarda, malzeme elektrot yüzeyinde yeterli yüzey alanı veya iletkenlik artışı sağlamamıştır ve bunun sonucunda 1.00 mg/mL CP@MWCNT optimum konsantrasyon olarak belirlenmiştir. 1.00 mg/mL üzerindeki konsantrasyonlarda ise malzeme yüzeyi tamamen kaplayarak difüzyon verimliliğini düşürmüştür. Aynı

zamanda, elektron transfer hızını ve oranını düşürerek tepe akım değerlerinde önemli düşüşe neden olmuştur.

Çapraz bağlayıcı ajan olarak kullanılan gluteraldehitin optimum konsantrasyonunu belirlemek için %1-%5 aralıklarında 5 farklı gluteraldehit çözeltisi hazırlanmıştır. Hazırlanan aldehitin analizi için 2.5 mM  $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{-3/4}$  (1M KCl) çözeltisinde DPV alınmıştır. Şekil 4.25b’de görülebileceği gibi, %1.0 GA çapraz bağlanması sonucu en yüksek pik akım değeri gözlemlenirken %2.0-%5.0 arasında önemli bir fark gözlenmemiştir. Bu sonucu baz alarak, %1’lik gluteraldehit uygun optimum değer olarak seçilmiştir.

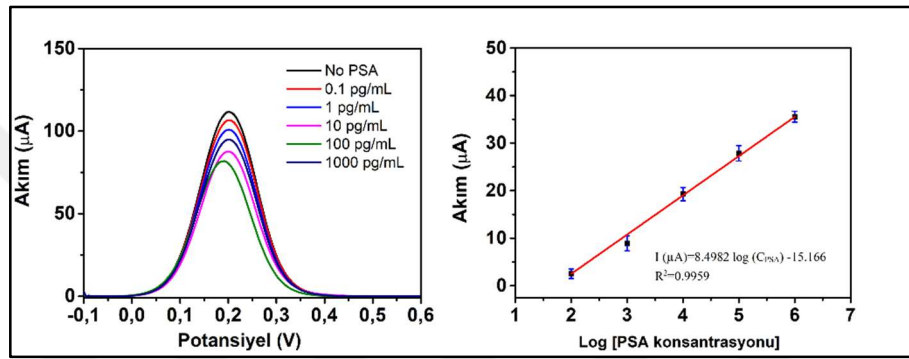
PSA inkübasyon süresinin optimize edilmesindeki amaç, PSA’nın hangi inkübasyon süresinde en verimli şekilde yüzeye tutunabileceğini tespit etmektedir. Elektrotların her birinin yüzeyine 4 ng/mL PSA çözeltisi damlatılarak 30, 60, 90, 120 ve 150 dk süresince beklemeye bırakılmıştır. Bu süreler sonucunda, analiz için 2.5 mM  $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{-3/4}$  (1M KCl) çözeltisinde DPV alınmıştır (Şekil 4.25c). Pik akım değerinde en yüksek artış 60 dakika da gözlemlendiği için uygun parametre olarak seçilmiştir. İmmobilizasyon süresinin arttırılırken elektrotun tepe akım değerlerini değiştirmedeği gözlenmiştir.

Anti-PSA konsantrasyonunun optimizasyonu için 2, 4, 6, 8, 10 ng/mL olmak üzere 5 farklı anti-PSA hazırlanmıştır. Her biri elektrotların yüzeylerine damlatılarak 45 dk boyunca oda sıcaklığında immobilize edilmesi için kurutulmaya bırakılmıştır. Farklı konsantrasyonlarda hazırlanan anti-PSA analizi için 2.5 mM  $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{-3/4}$  çözeltisinde DPV ölçümleri alınmıştır. Şekil 4.25d’de açıkça görülebileceği gibi, 2-4 ng/mL arası artış gözlenirken, yüksek konsantrasyonlarda azalma gözlenmiştir. Bu sonuca bakılarak, 4 ng/mL optimum immobilizasyon konsantrasyonu olarak seçilmiştir.

#### 4.6. PSA İmmünosensörünün Analitiksel Performansı

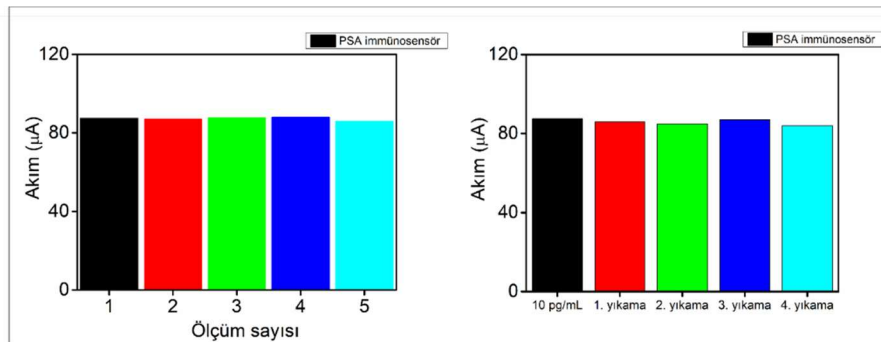
Şekil 4.26 ‘de uygun optimize parametreleri kullanılarak 0.1 pg/mL-10 ng/mL arası PSA antijenleri inkübe edilerek analitik performansına bakılmıştır. PSA’nın elektrot yüzeyine bağlanmasıyla antijen-antikor kompleksi oluşarak elektrolit çözeltisi ile elektrot yüzeyi arasındaki iyon transferi engellemiştir. Bu sebeple, PSA

konsantrasyonundaki artış DPV akımında düşüşe neden olmuştur. Bunun sonucunda kalibrasyon eğrisi çizildiğinde regresyon denklemi  $I (\mu A) = 8.4982 \log (C_{PSA}) - 15.166$  ve korelasyon katsayısı  $R^2 = 0.9959$  olarak bulunmuş ve PSA konsantrasyonu ile akım arasındaki doğrusal ilişkinin yüksek düzeyde olduğu anlaşılmıştır. Gözlenebilme sınırı (LOD) değeri  $3.3 \sigma/S$  eşitliğinden ve tayin sınırı (LOQ) değerleri ise  $10 \sigma/S$  eşitliğinden hesaplanarak  $0.12 \text{ pg/mL}$  ve  $0.36 \text{ pg/mL}$  olarak hesaplanmıştır. Bu sonuçlardan anti-PSA antikorlarının elektrot yüzeyinde başarılı bir şekilde immobilize edildiğini ve PSA'yı konsantrasyona bağlı bir şekilde konjuge etme yeteneklerini gösterdiği anlaşılmıştır.



Şekil 4.26: PSA'nın kalibrasyon grafiği.

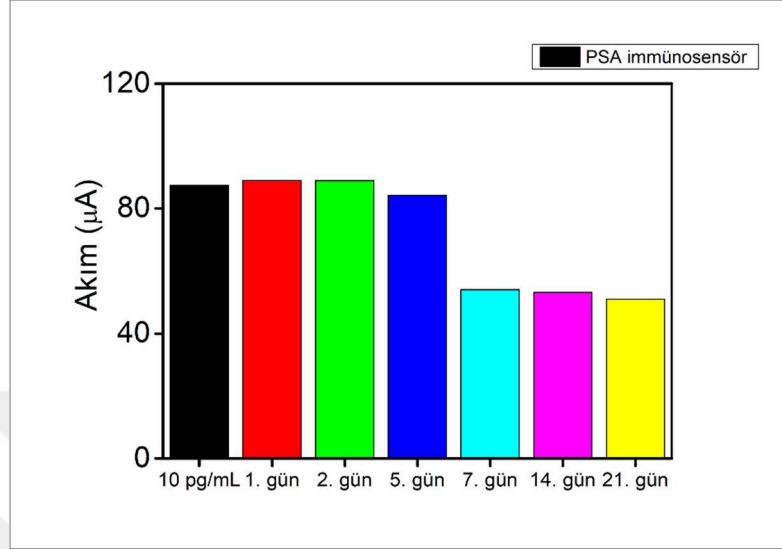
#### 4.7. PSA İmmünosensörünün Tekrarlanabilirlik ve Kararlılığı



Şekil 4.27: a) Ölçüm tekrarlarına bağlı pik akım değişimi, b) tekrar yıkamaların 100 pg/mL PSA ölçümünün tekrar edilebilirliğine etkisi.

PSA immünosensörünün tekrarlanabilirlik çalışmaları,  $2.5 \text{ mM } [\text{Fe}(\text{CN})_6]^{-3/4}$  ( $1 \text{ M KCl}$ ) çözeltisinde içerisinde  $100 \text{ pg}$  PSA inkübe edilerek gerçekleştirilmiştir. Şekil 4.27a'da artarda beş farklı ölçüm alınmıştır ve şekil 4.27b'de her ölçüm sonrası yıkama

yapılmış ve tekrardan ölçüm alınmıştır. Bu işlemler sonucunda, elektrotların bağıl sapmaları %0.93 olarak hesaplanırken, yıkama sonra bu bağıl standart sapma %1.67 olarak hesaplanmıştır.



**Şekil 4.28:** PSA immünosensörünün uzun vadeli stabilite grafiği.

PSA immünosensörünün kararlılığını belirlemek için 10 pg/mL PSA inkübe edilerek hazırlanan immünosensörlerde ilk DPV ölçüm 25°C’de 2.5 mM  $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{-3/4}$  (1M KCl) çözeltisinde içerisinde gerçekleştirilmiştir. Ardından bu immünosensörler 4°C sıcaklığında muhafaza edilerek 1., 2., 5., 7., 14. ve 21. gün DPV ölçümleri alınmıştır. Her ölçüm sonrası elektrotlara yıkama işlemi uygulanmıştır. Bu ölçümler sonucunda, PSA immünosensörünün pik akım değerinin yüzde bağıl değişimi hesaplanmıştır. Tekrarlanabilirlik ve kararlılık grafiklerine bakıldığında, tez kapsamında geliştirilen GCE/CP@MWCNT/Kitosan immünosensörünün PSA’ya karşı yüksek tekrar kullanılabilirlik ve kararlılığa sahip olduğu gözlenmiştir.

Bu çalışmada PSA için geliştirilen prosedür ile diğer metotlar arasındaki karşılaştırma Tablo 4.1’de yer verilmiştir. Sonuçlara bakıldığında, bu çalışmanın karşılaştırılabilir tespit sınırı değerine sahip olduğu gözlenmiştir. Wang ve arkadaşları, çöktürme ve kalsinasyon işlemi ile ZIF-67’den türetilen  $\text{Co}_3\text{O}_4/\text{CNT}$  sentezlemiş ve AuNP elektrokimyasal olarak fonksiyonlu yüzeye biriktirmiştir. LOD değeri 0.23 pg/mL olarak belirlemişlerdir [114]. Shamsazar ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada ise  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  ve MWCNT’lerden oluşan nanokompozit malzeme elde etmiş ve sandviç yöntemiyle modifikasyonu yapılmıştır. Bu metot sonucu, tespit sınırı 0.39 pg/mL olarak

bulmuşlardır [115]. Öncelikle, serigrafi karbon elektrot modifikasyonu ile poli(3,4-etilendioksitiyofen) ve PEDOT@PB nanokompoziti redoks probu görevi görmesi için kullanan Saraban ve arkadaşları, platin nanopartikül ile rGO@Cu(BDC-NH<sub>2</sub>) nanokompozit kullanarak PSA üzerine modifikasyon yapmışlardır ve bunun sonucunda 0.00078 pg/mL gibi düşük bir tespit sınırı bulmuşlardır [116]. Bütün çalışmalar detaylıca incelendiğinde, bazı çalışmaların tespit limiti ve çalışma aralığının daha iyi olmasına rağmen, bazı çalışmalarda ise tam tersi olduğu anlaşılmıştır. Tabloya bakıldığında, değerli metaller ve nanoparçacıkların kullanılması hassasiyetin daha geniş aralıklarda olmasını sağlamıştır. Birçok çalışmada kullanılan altın nanopartikülün tespit limitinde gözlenen değişkenliğin bağlı olduğu materyale göre değiştiği anlaşılmıştır. Buna ek olarak, bu çalışmada yer alan metotta sentezlenen pıranin-karbazol ve CP@MWCNT hibrid malzemenin iyi iletkenlik verdiği, doğa dostu ve düşük maliyet gibi olumlu özelliklere sahip olduğu belirlenmiştir.

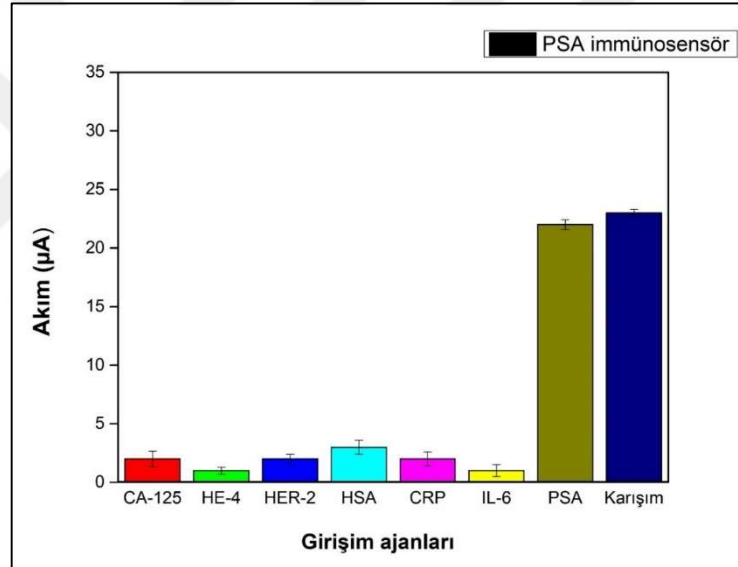
**Tablo 4.1:** PSA'nın tespitinde CP@MWCNT'nin diğer yöntemlerle performansının karşılaştırılması.

| Metot                                                   | Doğrusal aralık<br>(ng/mL) | LOD<br>(pg/mL) | Referans |
|---------------------------------------------------------|----------------------------|----------------|----------|
| AuNPs@Co <sub>3</sub> O <sub>4</sub> /CNTs/GCE          | 0.0005-200                 | 0.23           | [114]    |
| MWCNT/Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub>                    | 0.025-100                  | 0.39           | [115]    |
| d-Ti <sub>3</sub> C <sub>2</sub> TxMXene@AuNPs          | 0.001-0.00001              | 333.33         | [112]    |
| Ab/PPtNPs/rGO@Cu(BDC-NH <sub>2</sub> )MOF/PEDOT@PB/SPCE | 0.000001-0.1               | 0.00078        | [116]    |
| Anti-PSA/PTH/CPE                                        | 0.50-15.0 ve 15.0-100      | 0.093          | [117]    |
| AuNPs/CHI/CPE                                           | 1-18                       | 10             | [118]    |
| PdNP@PANI-C60/GCE                                       | 0.00016-38                 | 0.0000195      | [119]    |
| CNSs/Thi@AuNPs/GCE                                      | 0.0001-100                 | 0.025          | [120]    |
| Au/CAS-MWCNTs-Nafyon/GCE                                | 0.01-0.5 ve 0.5-3.0        | 7.0            | [121]    |
| Au-Ag NCs/AuNPs/PGE                                     | 0.0001-10000               | 0.03           | [122]    |
| CP@MWCNT/CHI/GCE                                        | 0.0001-1                   | 0.12           |          |

\*AuNPs: Altın nanopartikül, Co<sub>3</sub>O<sub>4</sub>: Kobalt oksit, Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>: ferroferrik oksit, ATP: p-aminothiophenol, d-Ti<sub>3</sub>C<sub>2</sub>TxMXene: iki boyutlu katmanlı materyal, PB: Prussian mavisi, MOF: metal organik framework, PtNP: Platinyum nanoparçacıklar, PTH: poli(tiyonin), CNS: karbon nanoküreler, HRP: horseradish peroxidaz, Au-Ag NCs: altın ve gümüş nanokümleri, PGE: kalem grafit elektrodu

#### 4.8. Seçicilik Testi

Seçicilik testi için 100 pg/mL konsantrasyonuna denk CA 125, HE4, HSA, CRP, HER2, IL-6 kanser antijen çeşitlerini içeren çözelti hazırlanıp elektrot yüzeyine inkübe edilerek elektrokimyasal ölçümler yapılmıştır. BSA basamağına kadar tüm elektrotlarda aynı optimum parametreleri sağlanmıştır. Hazırlanan GCE/CP@MWCNT/Kitosan modifiyeli elektrotlara sadece 100 pg/mL PSA içeren ve karışım ayrı ayrı damlatılarak 2.5 mM  $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{-3/4}$  (1M KCl) çözeltisinde DPV ölçümleri alınmıştır. Yapılan ölçümler sonucunda akıma karşı çözeltilerin grafiği çizilmiştir. Şekil 4.29'da bulunan grafiğe göre, antijen karışımının girişiminin çok az olduğu gözlenmiştir. Bu sonuçlardan yola çıkarak PSA immünosensörünün seçiciliğinin yüksek olduğu gözlenmiştir.

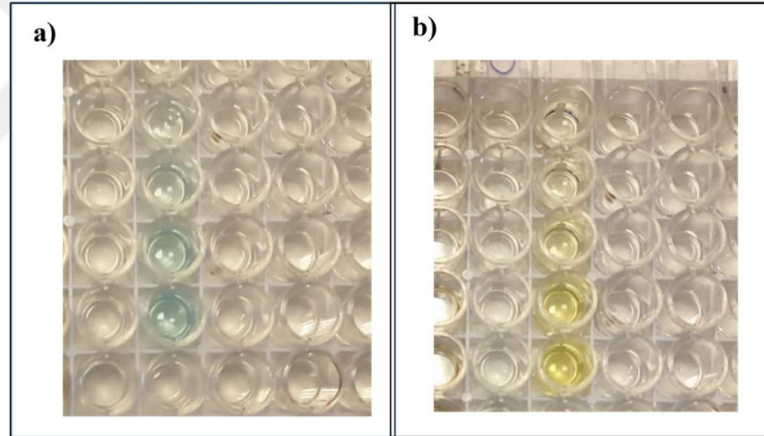


Şekil 4.29: CP@MWCNT/Kitosan/anti-PSA/BSA/100pgPSA sisteminin HER-2, HE-4, CA-125, HSA, CRP, IL-6 ve karışımına karşı seçicilik testi

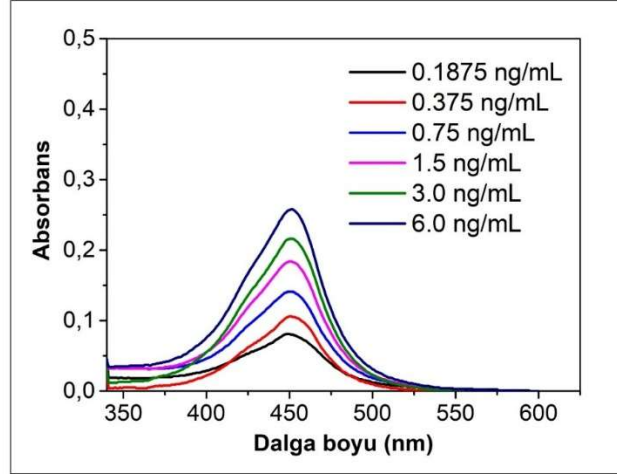
#### 4.9. ELISA (Enzym-Linked Immunosorbent Assay) Testi

ELISA testi, antijen-antikor ilişkisini antikorlara bağlanmış bir enzimin aktivitesini izlemekle araştırma temeline dayanır. Bu yöntemde özgül antikor veya antijen kullanılarak istenilen biyomalzemenin miktarı ölçülebilir. Bu ölçümler UV-Vis kullanılarak yapılmaktadır. Önerilen immünosensörün uygulanabilirliği, gerçek örnekler taşıyan bu yöntem ile doğrulanmıştır. Bu yöntemde, ticari kan serumuna eklenen PSA kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Reaksiyon sonucunda konsantrasyon

farkından dolayı farklı şiddette renk değişimi gözlenmiştir ve bu yukarıdaki şekil 4.24'te açıkça görülmektedir. UV-Vis ölçümler alınıp karşılaştırma yapıldığında hazırlanan konsantrasyon artışına uygun absorbans artışı şekil 4.30'da görülmüştür. Tablo 4.2'de ise geliştirilen metot ile referans metot karşılaştırılmış ve geri kazanım yüzdeleri %106.6, %105 ve % 101.4 olarak hesaplanmıştır. Geliştirilen CP@MWCNT sensörünün doğruluğu, referans ELISA metodu ile istatistiksel olarak karşılaştırılmış ve iki yöntem arasındaki fark Tablo 4.3'te Welch t- testi ile değerlendirilmiştir. 500 ve 1000 pg/mL konsantrasyonlarında elde edilen p-değerleri sırasıyla 0.454 ve 0.133 olup her iki durumda da  $p > 0.05$  olarak bulunmuştur. Bu bulgular, CP@MWCNT hibrid malzeme temelli immünosensör sisteminin PSA tespiti için uygun bir tercih olduğunu gösterdi. Oluşturulan PSA sensörünün hassasiyeti ve spesifik ölçümler açısından iyi ve hızlı cevap konusunda kullanılabilirliğin klinik alanda uygulama olarak ele almasında yarar sağlar.



**Şekil 4.30:** a) ELİSA kit ölçümlerinde reaksiyon durdurulmadan önce b) reaksiyon durdurulduktan sonra gözlenen renkler



**Şekil 4.31:** Artan PSA konsantrasyonuna bağlı olarak artan UV-Vis grafiği.

**Tablo 4.2:** Yapay kan serumu (insan kan serumu) örneklerinde PSA analizi ve ELİSA ile karşılaştırması.

| Örnek | Eklenen<br>(pgmL <sup>-1</sup> ) | CP@MWCNT                         |                  |      | Referans metot (ELISA)           |                  |      |
|-------|----------------------------------|----------------------------------|------------------|------|----------------------------------|------------------|------|
|       |                                  | Bulunan<br>(pgmL <sup>-1</sup> ) | %Geri<br>kazanım | %RSD | Bulunan<br>(pgmL <sup>-1</sup> ) | %Geri<br>kazanım | %RSD |
| 1     | 100                              | 106.6                            | 106.6            | 1.18 | BDL                              | -                | -    |
| 2     | 500                              | 525.1                            | 105              | 1.00 | 512.3                            | 102.5            | 1.8  |
| 3     | 1000                             | 1014                             | 101.4            | 0.98 | 1038.1                           | 103.8            | 6.9  |

\*BDL: tespit limiti altı

**Tablo 4.3:** CP@MWCNT sensörü ile ELISA yöntemi arasındaki istatistiksel karşılaştırması.

| Eklenen<br>(pgmL <sup>-1</sup> ) | CP@MWCNT<br>(Mean ± SD) | ELISA (Mean<br>± SD) | t-değeri | p-değeri | Sonuç<br>(p>0.05) |
|----------------------------------|-------------------------|----------------------|----------|----------|-------------------|
| 500                              | 525.1 ± 5.251           | 512.3 ± 9.221        | 0.904    | 0.454    | Fark<br>yok       |
| 1000                             | 1014 ± 9.937            | 1038.1 ± 71.629      | -2.417   | 0.133    | Fark<br>yok       |

## 5. SONUÇLAR VE YORUMLAR

Prostat kanseri erkeklerde en sık görülen ikinci kanser türü olmakla birlikte ölüm sebepleri sırasında beşinci sırada yer alır. Birçok ülkede yüksek oranda prostat kanseri vakalarına rastlanmıştır ve bu vakalar genellikle 65 yaş üstü hastalarda görülmektedir. Prostat kanseri nedenlerinde ırk, çevresel faktör veya genetik faktör gibi etkenler gösterilmiştir. Birçok hastada kanser kendini hemen göstermediği için erken teşhis ve tedavinin daha sağlıklı ilerlemesi açısından semptom göstermeyen hastalarda testler yapılması daha uygun bulunmuştur. Hastalığın teşhisi için MR, biyopsi ve transrektal ultrason gibi birçok yöntem kullanılmaktadır fakat bu yöntemlerin teşhisinin uzun zaman alması, karmaşık ve pahalı olması gibi etmenlerden dolayı kısa vadeli, ucuz ve hassasiyeti yüksek olan elektrokimyasal immünosensörlere ilgi artmıştır ve bu konuda farklı farklı çalışmalar yürütülmektedir. Bu tez çalışmasında prostat kanseri erken evre teşhisi için piranin bileşiği kullanılarak yeni nitro-piranin karbazol ve amin-piranin karbazol bileşikler sentezlenmiştir. Bileşiklerin karakterizasyonları FT-IR, kütle, <sup>1</sup>H-NMR, <sup>13</sup>C-NMR, UV-Vis ile gerçekleştirilmiştir. Sentezlenen amin-piranin karbazol 7 bileşiği MWCNT ortamında in-situ polimerleştirilerek yeni hibrid malzeme elde edilmiş ve analizleri FTIR, UV-Vis, TGA, SEM ve TEM ile yapısal karakterizasyonları gerçekleştirilmiştir.

Hibrid bileşik olan CP@MWCNT, GCE elektrot yüzeyine damlat-kurut yöntemi ile modifiye edilmiştir ve PSA antijenine karşı sensör özellikleri araştırılmıştır. Bu çalışmalar aşamasında, CP@MWCNT'nin, gluteraldehitin ve anti-PSA'nın uygun konsantrasyonlarına bakılmış, immobilize süresi de dahil optimize çalışmalarında kullanılmıştır. Bunun sonucunda, 1.0 mg/mL CP@MWCNT, %1 gluteraldehit, 4 ng/mL PSA ve 60 dk immobilize süresi olarak bu parametreler seçilmiştir. Bu optimum değerlerine karşılık analitik karakterizasyonunu ölçmek için her bir elektroda sırasıyla 0.1 pg/mL-1000 pg/mL aralıklarında PSA immobilizasyonu yapılmış ve DPV ölçümleri sonucunda kalibrasyon çizilmiştir. Buna karşılık, LOD ve LOQ aralıkları 0.12 pg/mL ve 0.36 pg/mL olarak bulunmuştur. Farklı literatürdeki veriler ile karşılaştırıldığında, sensörün iletkenliğinin iyi ve hassasiyetin yüksek olduğu anlaşılmıştır.

Geliştirilen sensörün elektrokimyasal karakterizasyonu için her bir modifikasyon basamağı aynı elektroda sırasıyla 2.5 mM  $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{-3/4}$  (1M KCl) çözeltisi içerisinde CV ve EIS ölçümleri ile araştırılmıştır. Her basamaktaki bu doğrusal değişim immobilizasyonun gerçekleştiğini ve sensörün başarılı bir şekilde çalıştığını gözlemlenmiştir.

Artarda beş farklı ölçüm alınarak PSA immünosensörünün tekrarlanabilirliği test edilmiş ve her ölçüm sonrası yıkama yapılarak tekrar ölçüm alınmıştır. Alınan DPV ölçümlerine göre, bağıl sapmaları %0.93 ve %1.67 olarak hesaplanmıştır. Uzun vadeli kararlılık ölçümleri kapsamında 2.5 mM  $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{-3/4}$  (1M KCl) çözeltisi içerisinde gerçekleştirilmiştir. 21. güne kadar ise diğer ölçümler alınmak üzere 4 °C sıcaklığında muhafaza edilmiştir. Ölçümler sonucu ilk beş gün immünosensörün iyi tekrarlanabilirliğe ve kararlılığa sahip olduğu anlaşılmıştır.

100 pg/mL CA125, HE4, CRP, HER2, IL6 ve karışım gibi farklı türde antijenler hazırlanmış ve seçicilik çalışmaları yapılmıştır. Yapılan DPV ölçümlerinde karışım sensör ile yanıt verirken, diğer antijenlerin girişimlerinin çok fazla olduğu gözlenmiştir. Böylelikle sensörün iyi bir seçiciliğe sahip olduğu belirlenmiştir. Kan serumu ile gerçek örnek testlerine prostat kanseri tanısında PSA kantifikasyonu için en yaygın kullanılan yöntem olan ticari ELİSA kiti ile elde edilen değerler benzerlik göstermiştir.

GCE/CP@MWCNT/Kitosan/anti-PSA/BSA/PSA immünosensörünün PSA tayininde yüksek iletkenlik, iyi tekrarlanabilirlik ve kararlılık, yüksek hassasiyet ve seçicilik göstermektedir. Hızlı cevap vermesi ve kolay uygulanabilir olması ileri klinik çalışmalarda ve araştırmalarda PSA tayinin için avantaj sağlamaktadır.

## KAYNAKLAR

- [1] Zhu, X., Shi, L., "Chapter 9 - Electrochemistry, in Nano-Inspired Biosensors for Protein Assay with Clinical Applications", *Elsevier*, **2019**, 209-236.
- [2] Zhu, R., "Advances in electrochemistry of intrinsic conductive metal-organic frameworks and their composites: Mechanisms, synthesis and applications", *Nano Energy*, **2024**, 122, 109333.
- [3] Agüí, L., P., Yáñez-Sedeño, Pingarrón, J.M., "Role of carbon nanotubes in electroanalytical chemistry: A review", *Analytica Chimica Acta*, **2008**, 622(1), 11-47.
- [4] Kaleli, S., Deveci, A., Eskiler, G.G., "Which environment makes cancer?" in International Symposium on Environment and Morality", *Oncology Research and Reviews*, **2016**.
- [5] Iqbal, A.B., "Explainable AI-driven prediction of APE1 inhibitors: enhancing cancer therapy with machine learning models and feature importance analysis", *Mol Divers*, **2025**.
- [6] Anisimov, V.N., Sikora, E., Pawelec, G., "Relationships between cancer and aging: a multilevel approach", *Biogerontology*, **2009**, 10(4), 323-38.
- [7] Yokuş, B., Çakır, D.Ü., "Kanser Biyokimyası", *Dicle Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, **2012**, (1), 7-18.
- [8] Özdoğan, M., [www.drozdogan.com/kanser-nedir-neden-ve-nasil-olusur-ozetle-tum-surec](http://www.drozdogan.com/kanser-nedir-neden-ve-nasil-olusur-ozetle-tum-surec), **2024**.
- [9] Pezaro, C., Woo, H.H., Davis, I.D., "Prostate cancer: measuring PSA", *Intern Med J*, **2014**, 44(5), 433-40.
- [10] Sundaresan, V.M., "Prostate-specific antigen screening for prostate cancer: Diagnostic performance, clinical thresholds, and strategies for refinement", *Urol Oncol*, **2025**, 43(1), 41-48.
- [11] Ilic, D., et al., "Screening for prostate cancer", *Cochrane Database Syst Rev*, **2013**, (1), Cd004720.
- [12] Schafer, "Recent Patterns and Trends in Global Prostate Cancer Incidence and Mortality: An Update", *Eur Urol*, **2025**, 87(3), 302-313.
- [13] Dunn, M.W. Kazer M.W., "Prostate cancer overview", *Semin Oncol Nurs*, **2011**, 27(4), 241-50.
- [14] Lin, J.-T., "Empowering early detection of prostate cancer: a point-of-care biosensing perspective", *Microchemical Journal*, **2025**, 215, 114538.

- [15] Shirzad, M., "Revolutionizing prostate cancer therapy: Artificial intelligence - Based nanocarriers for precision diagnosis and treatment", *Crit Rev Oncol Hematol*, **2025**, 208, 104653.
- [16] Passaro, A., "Cancer biomarkers: Emerging trends and clinical implications for personalized treatment", *Cell*, **2024**, 187(7), 1617-1635.
- [17] Henry, N.L., Hayes, D.F., "Cancer biomarkers", *Molecular Oncology*, **2012**, 6(2), 140-146.
- [18] Büyüktiryaki, S., "Sensitive and selective detection of cancer biomarkers with molecularly imprinted biosensors", *Talanta Open*, **2025**, 11, 100444.
- [19] Hussein, A., "Emerging biomarkers in cancer detection and prognosis: A comprehensive review", *International Journal of Immunology Sciences*, **2025**, 7, 01-12.
- [20] Çetinkaya, M., "Kombine Açık Radikal Prostatektomi: Fonksiyonel ve Onkolojik Değerlendirmesi", *Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi Tıp Dergisi*, **2015**, 2(2), 67-77.
- [21] Rao, A.R., Motiwala, H.G., Karim, O.M.A., "The discovery of prostate-specific antigen", *BJU International*, **2008**, 101(1), 5-10.
- [22] Lilja, H., Ulmert, D., Vickers, A.J., "Prostate-specific antigen and prostate cancer: prediction, detection and monitoring", *Nature Reviews Cancer*, **2008**, 8(4), 268-278.
- [23] Papsidero, L.D., "A prostate antigen in sera of prostatic cancer patients", *Cancer Res*, **1980**, 40(7), 2428-32.
- [24] Duffy, M.J., "Biomarkers for prostate cancer: prostate-specific antigen and beyond", *Clin Chem Lab Med.*, **2020**, 58(3), 326-339.
- [25] Yang, Y., "Construction and electrochemical performances of AuNPs functionalized bimetallic ZnCo-MOF derivatives and reduced graphene hybrid structure for highly sensitive prostate specific antigen detection", *Microchemical Journal*, **2025**, 208, 112589.
- [26] Thompson, I.M. Ankerst D.P., "Prostate-specific antigen in the early detection of prostate cancer", *Cmaj*, **2007**, 176(13), 1853-8.
- [27] Baldini, F., Minunni, M., "New developments in biosensors", *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, **2019**, 411(29), 7605-7606.
- [28] Naresh, V., Lee, N., "A Review on Biosensors and Recent Development of Nanostructured Materials-Enabled Biosensors", *Sensors*, **2021**, 21(4).
- [29] Ashour, A.A., et al., "Nanomaterial-based biosensors for cancer diagnosis: trends and innovations", *Microchimica Acta*, **2025**, 192(7), 404.

- [30] Peña-Bahamonde, J., "Recent advances in graphene-based biosensor technology with applications in life sciences", *Journal of Nanobiotechnology*, **2018**, 16, 75.
- [31] Aafria, S., Sharma, M., "Next-generation electrochemical biosensors for acrylamide: Progress, challenges, and opportunities", *Analytical Biochemistry*, **2025**, 700, 115798.
- [32] Bahadır, E.B., Sezgintürk, M.K., "Applications of commercial biosensors in clinical, food, environmental, and bioterror/bio warfare analyses", *Anal Biochem*, **2015**, 478, 107-20.
- [33] Mehrotra, P., "Biosensors and their applications - A review", *J Oral Biol Craniofac Res*, **2016**, 6(2), 153-9.
- [34] Meshram, B., "Biosensor and its Application in Food and Dairy Industry: A Review", *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, **2018**, 7, 3305-3324.
- [35] Şen, F., "Biosensors: Applications, and Future Advantages", *Journal of Scientific Reports-A*, **2023**, (052), 457-481.
- [36] Tothill, I.E., "Biosensors for cancer markers diagnosis", *Semin Cell Dev Biol*, **2009**, 20(1), 55-62.
- [37] Pohanka, M., Skládal, P., "Electrochemical Biosensors-Principles and Applications", *Journal of Applied Biomedicine*, **2008**, 6.
- [38] Silva, R.M., "Carbon black-based electrochemical biosensors: An update on strategies and applications", *Current Opinion in Electrochemistry*, **2025**, 53, 101734.
- [39] Liu, C., "Electrochemical approaches for breast cancer biomarkers: A voltammetric study of electrode potential scanning", *Cell Reports Physical Science*, **2025**, 6(5), 102569.
- [40] Qazi, R.A., "Recent advancement for enhanced e. Coli detection in electrochemical biosensors", *Microchemical Journal*, **2024**, **196**, 109673.
- [41] Vilasó-Cadre, J.E., "Recent advances in electrochemical sensors applied to samples of industrial interest", *Microchemical Journal*, **2025**, 210, 112931.
- [42] Isildak, Ö., Özbek, O., "Application of Potentiometric Sensors in Real Samples", *Crit Rev Anal Chem*, **2021**, 51(3), 218-231.
- [43] Mostafa, I.M., "Potentiometric sensors for the determination of pharmaceutical drugs", *Anal Sci*, **2022**, 38(1), 23-37.
- [44] Yang, T., "In Vivo Electrochemical Biosensing Technologies for Neurochemicals: Recent Advances in Electrochemical Sensors and Devices", *ACS Sens*, **2025**, 10(1), 100-121.

- [45] Hayat, A., Catanante, G., Marty, J.L., "Current Trends in Nanomaterial-Based Amperometric Biosensors", *Sensors (Basel)*, **2014**, 14(12), 23439-23461.
- [46] Marchenko, S., "A novel conductometric biosensor based on hybrid organic/inorganic recognition element for determination of L-arginine", *Bioelectrochemistry*, **2025**, 165, 108977.
- [47] Dzyadevych, S., Jaffrezic-Renault, N., "Conductometric biosensors, in Biological Identification", *Woodhead Publishing*, **2014**, 153-193.
- [48] Amine, A., Mohammadi, H., "Amperometry", *Ref. Modul. Chem. Mol. Sci. Chem.*, **2020**.
- [49] Dzyadevych, S.V., et al., "Amperometric enzyme biosensors: Past, present and future", *IRBM*, **2008**, 29(2), 171-180.
- [50] Bhardwaj, T., "Review on Biosensor Technologies", *International Journal of Advanced Research in Engineering and Technology*, **2015**, 6, 36-62.
- [51] Alaejos, M.S., García Montelongo, F.C., "Application of Amperometric Biosensors to the Determination of Vitamins and  $\alpha$ -Amino Acids", *Chemical Reviews*, **2004**, 104(7), 3239-3266.
- [52] Dodevska, T., Lazarova, Y., Shterev, I., "Amperometric Biosensors for Glucose and Lactate with Applications in Food Analysis: A Brief Review", *Acta Chimica Slovenica*, **2019**, 66, 762-776.
- [53] Nguyen, H.H., "Immobilized enzymes in biosensor applications", *Materials*, **2019**, 12(1), 121.
- [54] Chillawar, R.R., Tadi, K.K., Motghare, R.V., "Voltammetric techniques at chemically modified electrodes", *Journal of Analytical Chemistry*, **2015**, 70(4), 399-418.
- [55] Monzó, J., "Fundamentals, achievements and challenges in the electrochemical sensing of pathogens", *Analyst*, **2015**, 140(21), 7116-7128.
- [56] Kimmel, D.W., "Electrochemical sensors and biosensors", *Anal Chem*, **2012**, 84(2), 685-707.
- [57] Elgrishi, N., "A Practical Beginner's Guide to Cyclic Voltammetry", *Journal of Chemical Education*, **2018**, 95(2), 197-206.
- [58] Abo El-Maali, N., "Voltammetric analysis of drugs", *Bioelectrochemistry*, **2004**, 64(1), 99-107.
- [59] Ağın, F., "Guaifenesinin Poli(Nil Mavisi) ile Modifiye Edilmiş Camı Karbon Elektrot ile Voltammetrik Analizi ve Farmasötik Dozaj Formundan Tayini", *Karadeniz Chemical Science and Technology*, **2018**, (2), 27-31.

- [60] Suliborska, K., "Determination of Antioxidant Activity of Vitamin C by Voltammetric Methods", *Proceedings*, **2019**, 11, 23.
- [61] Sandford, C., "A synthetic chemist's guide to electroanalytical tools for studying reaction mechanisms", *Chemical Science*, **2019**, 10(26), 6404-6422.
- [62] Scholz, F., "Voltammetric techniques of analysis: the essentials", *ChemTexts*, **2015**, 1(4), 17.
- [63] Mahalakshmi, D., "Graphene nanomaterial-based electrochemical biosensors for salivary biomarker detection: A translational approach to oral cancer diagnostics", *Nano TransMed*, **2025**, 4, 100073.
- [64] Magar, H.S., Hassan, R.Y.A., Mulchandani, A., "Electrochemical Impedance Spectroscopy (EIS): Principles, Construction, and Biosensing Applications", *Sensors (Basel)*, **2021**, 21(19).
- [65] Lazanas, A.C., Prodromidis, M.I., "Electrochemical Impedance Spectroscopy—A Tutorial", *ACS Measurement Science Au*, **2023**, 3(3), 162-193.
- [66] Fernández-Sánchez, C., McNeil, C., Rawson, K., "Electrochemical impedance spectroscopy studies of polymer degradation: Application to biosensor development", *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, **2005**, 24, 37-48.
- [67] Hazelgrove, B., "Electrochemical impedance spectroscopy in vivo for neurotechnology and bioelectronics", *Nature Reviews Electrical Engineering*, **2025**, 2(2), 110-124.
- [68] Praween, N., Thej, P.G.K., Basu, P.K., "Electrochemical Impedance-Based Detection of Pancreatic Cancer Biomarker Glypican1 and Mucin1 Using Electric Field-Lysed Extracellular Vesicles for Analysis: A Proof of Concept", *IEEE Sensors Journal*, **2025**, 25(7), 10566-10574.
- [69] O'Sullivan, K.P., "In vivo and in vitro electrochemical impedance spectroscopy of acute and chronic intracranial electrodes", *Data (Basel)*, **2024**, 9(6).
- [70] Yalow, R.S. Berson, S.A., "Immunological specificity of human insulin: application to immunoassay of insulin", *J Clin Invest*, **1961**, 40(12), 2190-8.
- [71] Pollap, A., Kochana, J., "Electrochemical Immunosensors for Antibiotic Detection", *Biosensors (Basel)*, **2019**, 9(2).
- [72] Diaconu, I., "Electrochemical immunosensors in breast and ovarian cancer", *Clin Chim Acta*, **2013**, 425, 128-38.
- [73] Zhang, Z., "Nanomaterials-based Electrochemical Immunosensors", *Micromachines (Basel)*, **2019**, 10(6).
- [74] Hasan, M.R., "Recent development in electrochemical biosensors for cancer biomarkers detection", *Biosensors and Bioelectronics: X*, **2021**, 8, 100075.

- [75] Teles, F.R.R., Fonseca, L.P., "Applications of polymers for biomolecule immobilization in electrochemical biosensors", *Materials Science and Engineering: C*, **2008**, 28(8), 1530-1543.
- [76] Botewad, S.N., "Urea biosensors: A comprehensive review", *Biotechnol Appl Biochem*, **2023**, 70(2), 485-501.
- [77] Kim, J., Jeong, J., Ko, S.H., "Electrochemical biosensors for point-of-care testing", *Bio-Design and Manufacturing*, **2024**, 7.
- [78] Maghraby, Y.R., "Enzyme Immobilization Technologies and Industrial Applications", *ACS Omega*, **2023**, 8(6), 5184-5196.
- [79] Rambla-Alegre, M., Esteve-Romero, J., Carda-Broch, S., "Is it really necessary to validate an analytical method or not? That is the question", *J Chromatogr A*, **2012**, 1232, 101-9.
- [80] Korde, V., "Review: Perovskite Nanostructures Materials Versatile Platform for Advance Biosensor Applications", *Sensors and Actuators Reports*, **2024**, 7, 100201.
- [81] Velusamy, K., "Biosensor for heavy metals detection in wastewater: A review", *Food Chem Toxicol*, **2022**, 168, 113307.
- [82] Malik, S., "Nanomaterials-based biosensor and their applications: A review", *Heliyon*, **2023**, 9(9), e19929.
- [83] Goumas, G., "Biosensors, Artificial Intelligence Biosensors, False Results and Novel Future Perspectives", *Diagnostics (Basel)*, **2025**, 15(8).
- [84] Kroto, H., Allaf, A.W., Balm, S., "Buckminsterfullerene", *Chem. Rev.*, **1985**, 91, 1213.
- [85] Iijima, S., "Helical microtubules of graphitic carbon", *Nature*, **1991**, 354(6348), 56-58.
- [86] Liu, Z., Liang, X. J., "Nano-carbons as theranostics", *Theranostics*, **2012**, 2(3), 235-7.
- [87] Dresselhaus, M.S., Dresselhaus, G., Eklund, P.C., "Fullerenes", *Journal of Materials Research*, **1993**, 8(8), 2054-2097.
- [88] Madikere Raghunatha Reddy, A.K., "Review on Advancements in Carbon Nanotubes: Synthesis, Purification, and Multifaceted Applications", *Batteries*, **2025**, 11.
- [89] Khan, A., Alamry, K., "Surface Modified Carbon Nanotubes: An Introduction", *ACS Publications*, **2022**, 1-25.

- [90] Nitodas, S., Shah, R., Das, M., "Research Advancements in the Mechanical Performance and Functional Properties of Nanocomposites Reinforced with Surface-Modified Carbon Nanotubes: A Review", *Applied Sciences*, **2025**, 15.
- [91] Meng, L., Fu, C., Lu, Q., "Advanced technology for functionalization of carbon nanotubes", *Progress in Natural Science*, **2009**, 19.
- [92] Murjani, B.O., "Carbon nanotubes in biomedical applications: current status, promises, and challenges". *Carbon Lett (Korean Carbon Soc)*, **2022**, 32(5), 1207-1226.
- [93] Tilmaciu, C.M., Morris, M.C., "Carbon nanotube biosensors", *Front Chem*, **2015**, 3, 59.
- [94] Sahoo, N.G., "Polymer nanocomposites based on functionalized carbon nanotubes", *Progress in Polymer Science*, **2010**, 35(7), 837-867.
- [95] Rasmussen, S.C., "Conjugated and Conducting Organic Polymers: The First 150 Years", *ChemPlusChem*, **2020**, 85(7), 1412-1429.
- [96] Mikaeeli Kangarshahi, B., "Electroconductive polymer-based biosensors for early cancer detection via liquid biopsy: Advances, challenges, and future prospects", *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, **2025**, 183, 118062.
- [97] Nezakati, T., "Conductive Polymers: Opportunities and Challenges in Biomedical Applications", *Chem Rev*, **2018**, 118(14), 6766-6843.
- [98] Shahid, M.A., "Advances in Conductive Polymer-Based Flexible Electronics for Multifunctional Applications", *Journal of Composites Science*, **2025**, 9.
- [99] Wex, B. Kaafarani, B., "Perspective on Carbazole-Based Compounds as Organic Emitters and Hosts in TADF Applications", *J. Mater. Chem. C*, **2017**, 5.
- [100] Hou, P., "Poly(carbazole-co-1,4-dimethoxybenzene): Synthesis, Electrochemiluminescence Performance, and Application in Detection of Fe(3)", *Polymers (Basel)*, **2022**, 14(15).
- [101] Głuszyńska, A., "Biological potential of carbazole derivatives", *Eur J Med Chem*, **2015**, 94, 405-26.
- [102] Nagappan, T., "Biological activity of carbazole alkaloids and essential oil of *Murraya koenigii* against antibiotic resistant microbes and cancer cell lines", *Molecules*, **2011**, 16(11), 9651-64.
- [103] Xu, Z., "Mini-review on the novel synthesis and potential applications of carbazole and its derivatives", *Des Monomers Polym*, **2023**, 26(1), 90-105.
- [104] Nandi, R. Amdursky, N., "The Dual Use of the Pyranine (HPTS) Fluorescent Probe: A Ground-State pH Indicator and an Excited-State Proton Transfer Probe", *Acc Chem Res*, **2022**, 55(18), 2728-2739.

- [105] Lee, L.-R., "Structurally Defined Amphiphilic AAO Membranes Using UV-Assisted Thiol–Yne Chemistry: Applications in Anti-Counterfeiting and Electronics", *ACS Applied Materials & Interfaces*, **2024**, 16(36), 48073-48084.
- [106] Wong, F.H.C., Fradin, C., "Simultaneous pH and Temperature Measurements Using Pyranine as a Molecular Probe", *Journal of Fluorescence*, **2011**, 21(1), 299-312.
- [107] Nayana, V., Kandasubramanian, B., "Polycarbazole and its derivatives: progress, synthesis, and applications", *Journal of Polymer Research*, **2020**, 27, 285.
- [108] Liu, S., "Monocomponent Photoinitiators based on Benzophenone-Carbazole Structure for LED Photoinitiating Systems and Application on 3D Printing", *Polymers*, **2020**, 12.
- [109] Zhang, Z., "A Ratiometric Fluorescence Nano pH Biosensor for Live-Cell Imaging Using Cerasome", *Biosensors (Basel)*, **2025**, 15(2).
- [110] Zenkel, C., Albuérne, J., Boschetti de Fierro, A., Emmeler, T., Helbig, J., Abetz, V., "New Strategies for the Chemical Characterization of Multi-Walled Carbon Nanotubes and their Derivatives", *Microchimica Acta*, **2012**, (1-2), 41-48.
- [111] Vural, B., "A disposable and ultrasensitive immunosensor for the detection of HE4 in human serum samples", *Chemical Papers*, **2024**, 78, 1-12.
- [112] Medetalibeyoglu, H., "A novel and ultrasensitive sandwich-type electrochemical immunosensor based on delaminated MXene@AuNPs as signal amplification for prostate specific antigen (PSA) detection and immunosensor validation", *Talanta*, **2020**, 220, 121403.
- [113] Suginta, W., Khunkaewla, P., Schulte, A., "Electrochemical biosensor applications of polysaccharides chitin and chitosan", *Chem Rev*, **2013**, 113(7), 5458-79.
- [114] Wang, W., "A label-free electrochemical immunosensor utilizing Au-functionalized MOF-derived Co<sub>3</sub>O<sub>4</sub>/CNTs polyhedral nanocomposites for ultrasensitive detection of prostate-specific antigen", *Surfaces and Interfaces*, **2025**, 60, 106047.
- [115] Shamsazar, A., "A novel and highly sensitive sandwich-type immunosensor for prostate-specific antigen detection based on MWCNTs-Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> nanocomposite", *Sensors and Actuators B: Chemical*, **2021**, 346, 130459.
- [116] Saraban, M., "A novel PPtNPs/rGO@Cu(BDC-NH(2)) MOF/PEDOT@PB/SPCE platform for ultra-sensitive label-free electrochemical immunosensor for prostate-specific antigen", *Talanta*, **2025**, 297(Pt A), 128669.

- [117] Shamspur, T., "An Electrochemical Immunosensor Based on Poly(Thionine)-Modified Carbon Paste Electrode for the Determination of Prostate Specific Antigen", *IEEE Sensors Journal*, **2018**, 1-1.
- [118] Suresh, L., "Development of an electrochemical immunosensor based on gold nanoparticles incorporated chitosan biopolymer nanocomposite film for the detection of prostate cancer using PSA as biomarker", *Enzyme Microb Technol*, **2018**, 112, 43-51.
- [119] Suresh, L., Bondili, J.S., Brahman, P.K., "Fabrication of Immunosensor Based on Polyaniline, Fullerene-C60 and Palladium Nanoparticles Nanocomposite: An Electrochemical Detection Tool for Prostate Cancer", *Electroanalysis*, **2020**, 32(7), 1439-1448.
- [120] Li, L., "Electrochemical Immunosensor for Detection of Prostate Specific Antigen Based on CNSs/Thi@AuNPs Nanocomposites as Sensing Platform", *International Journal of Electrochemical Science*, **2022**, 17(8), 22086.
- [121] Assari, P., "An electrochemical immunosensor for the prostate specific antigen based on the use of reduced graphene oxide decorated with gold nanoparticles", *Microchimica Acta*, **2019**, 186.
- [122] Sadeghi, M., Ehzari, H., Ghasemi, Y., "Ultrahighly sensitive sandwich-type electrochemical immunosensor for selective detection of prostate specific antigen based on functionalized bimetallic Au-Ag nanoclusters as label for signal amplification", *Microchemical Journal*, **2024**, 208, 112455.

## ÖZGEÇMİŞ

İlk ve orta öğretimini İstanbul'da tamamladı. 2018-2019 eğitim-öğretim yılında BAİBÜ Fen Edebiyat Fakültesi Kimya lisans eğitimine başladı. 2023 yılında “Kimyager” unvanı alarak mezun oldu. 2024 yılında Gebze Teknik Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı Fizikokimya bilim dalında yüksek lisansa başladı.



## TEZ METNİNDEN TÜRETİLEN YAYINLAR/SUNUMLAR

- [1] Elmastaş, B., ŞENOCAK, A., “İletken Polimer İçeren Nanokompozit Tabanlı Elektrokimyasal İmmünoşensör Sistemlerinin Geliştirilmesi”, 9. *GTÜ Lisansüstü Araştırmalar Sempozyumu*, Kocaeli, Türkiye, 26-27 Mayıs.

