ANKARA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Aspergillus versicolor'ın AĞIR METAL TAYİNİNDE BİYOSENSÖR MATERYALİ OLARAK KULLANIMININ ARAŞTIRILMASI

Seda Nur TOKUÇCU

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

ANKARA
2020

Her hakkı saklıdır

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

Aspergillus versicolor'ın AĞIR METAL TAYİNİNDE BİYOSENSÖR MATERYALİ OLARAK KULLANIMININ ARAŞTIRILMASI

Seda Nur TOKUÇCU

Ankara Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Gönül DÖNMEZ

Çevre kontrolünde ağır metallerin belirlenmesi genellikle spektroskopik, voltametrik veya kromatografik metotlar ile gerçekleştirilir, ancak bu metotların in-situ analizlerde veya düşük maliyetli araştırmalarda kullanılmaları zordur. Oysaki bu işlemler biyosensörler ile başarıyla sonuçlandırılabilir. Mikrobiyal biyosensörler ucuz, kullanımı kolaydır ve kısa cevap zamanları internet üzerinden ve saha incelemesi için onları uygun hale getirmektedir. Sulu çözeltilerden kadmiyumun duyarlı bir şekilde tayini için, *Aspergillus versicolor* ile modifiye edilmiş karbon pastası elektrotuna dayalı yeni bir voltametrik biyosensör geliştirilmiştir. Kadmiyum elektrot yüzeyinde açık devrede şartlandırılmıştır ve sonra Dönüşümlü Voltametri (CV) ve Diferansiyel Puls Sıyırma Voltametrisi (DPSV) tekniklerini içeren elektrokimyasal teknikler ile tayin edilmiştir. Bilindiği kadarıyla, karbon pastası elektrotu kullanılarak sulu çözeltilerde kadmiyum tayin edilebilmesi için ilk kez bir mikrobiyal sensör geliştirilmiştir. Sensörün elektrokimyasal cevabını optimize etmek amacıyla şartlandırma çözeltisinin pH ve iyonik aralığı, şartlandırma zamanı, depozisyon zamanı ve potansiyelinin etkisini içeren birçok deneysel parametre araştırılmıştır. Ardından kalibrasyon eğrisi elde edilmiş ve Cd(II) için tayin aralığı 0.0056-0.0224 mg/L olarak bulunmuştur.

Ocak 2020, 83 sayfa

Anahtar Kelimeler: Mikrobiyal biyosensör, karbon pastası elektrotu, kadmiyum, ağır metal tayini, *Aspergillus versicolor*, voltametri, çevre kontrolü

ABSTRACT

Master Thesis

INVESTIGATION OF *Aspergillus versicolor* USAGE AS BIOSENSOR MODIFYING AGENT IN HEAVY METAL DETERMINATION

Seda Nur TOKUÇCU

Ankara University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Biology

Supervisor: Prof. Dr. Gönül DÖNMEZ

Heavy metal determination in enviromental control is usually performed by spectroscopic, voltammetric or chromatographic methods, but these methods can hardly be used for in-situ analysis or low cost screening procedures. On the contrary, these tasks can be successfully accomplished by biosensors. Microbial biosensors are cheap and easy to operate and their short responsive time makes them suitable for online and field monitoring. For the sensitive determination of cadmium from aqueous solutions, a new voltammetric biosensor based on carbon paste electrode modified with *Aspergillus versicolor* has been developed. Cadmium was preconcentrated on electrode surface at open circuit and then detected with electrochemical techniques, including Cyclic Voltammetry (CV) and Differential Pulse Stripping Voltammetry (DPSV). According to our best knowledge, this is the first time that a microbial sensor has been identified with an ability to detect cadmium in aqueous solutions by using carbon paste electrode. A number of experimental parameters have been carried out to optimise the electrochemical response of the sensor, including effect of pH and ionic strength of preconcentration solution, preconcentration time, deposition time and potential. After calibration graph has been achieved and Cd(II) detection range was found between 0.0056-0.0224 mg/L.

January 2020, 83 pages

Keywords: Microbial biosensor, carbon paste electrode, cadmium, heavy metal determination, *Aspergillus versicolor*, voltammetry, environmental control

TEŞEKKÜR

Tez çalışmalarım sırasında ihtiyaç duymuş olduğum tüm laboratuvar imkanlarını sunan, desteğini hiç esirgemeyen, çalışmalarımı yönlendiren ve hoşgörüsüyle beni hep rahatlatan değerli hocam, tez danışmanım, Sayın Prof. Dr. Gönül DÖNMEZ'e (Ankara Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Anabilim Dalı), doktorası sırasında çalışmalarıma çok büyük yardımları bulunan ve yol gösteren değerli arkadaşım, hocam Doç. Dr. Meral YÜCE'ye (Sabancı Üniversitesi Nanoteknoloji Araştırma ve Uygulama Merkezi), beni hep yüreklendiren ve her zaman önerilerini aldığım canım arkadaşım Arş. Gör. Dr. Cansu Akbulut'a (Sakarya Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü), çalışmalarım sırasında aynı laboratuvarı paylaştığım ve içtenlikleriyle huzurlu bir çalışma ortamı yaratan değerli hocalarım Prof. Dr. Sevgi ERTUĞRUL KARATAY (Ankara Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Anabilim Dalı), Prof. Dr. Nur Koçberber KILIÇ (Ankara Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Anabilim Dalı), Dr. Öğr. Üyesi Tuba Artan ONAT (Niğde Ömer Halisdemir Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoteknoloji Anabilim Dalı) ve Doç. Dr. Nalan Oya San KESKİN'e (Ankara Hacı Bayram Veli Üniversitesi Polatlı Fen Edebiyat Fakültesi), sonsuz sabır gösteren, hiçbir fedakarlıktan kaçınmayan ve her zaman yanımda olduklarını hissettiğim annem Gülnur ARAS ve babam Zafer ARAS'a, her konuda desteğini ve fikrini aldığım eşim Hazım TOKUÇCU'ya ve son olarak beni hep motive eden tatlı bebeklerim Defne TOKUÇCU ve Çınar TOKUÇCU'ya sonsuz teşekkür ederim, iyi ki varsınız.

Seda Nur TOKUÇCU
Ankara, Ocak 2020

İÇİNDEKİLER

TEZ ONAY SAYFASI
ETİK……..i
ÖZET……ii
ABSTRACT.....iii
TEŞEKKÜR iv
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ……..….viii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....xi
ÇİZELGELER DİZİNİ.....xii
1. GİRİŞ 1
2. KAYNAK ÖZETLERİ 10
2.1 Biyosensör Konfigürasyonu 10
2.2 Çevre Uygulamaları 11
2.2.1 Toksisite 11
2.2.2 Endokrin etkili biyosensörler 12
2.2.3 Biyosidler.....12
2.2.4 Hormonlar.....14
2.2.5 Dioksinler 14
2.2.6 Fenoller.....15
2.2.7 Surfaktanlar.....15
2.2.8 Alkanlar, aromatik bileşikler ve polisiklik aromatik hidrokarbonlar 16
2.2.9 Antibiyotikler.....16
2.2.10 Toksinler 17
2.2.11 Mikroorganizmalar 18
2.2.12 Metaller 19
2.2.13 Nitrat 21
2.2.14 Biyokimyasal oksijen ihtiyacı 21
2.2.15 Biyoremediasyon 22
2.2.16 Biyosensörler ayrışma metotlarının detektörleri olarak 22
2.3 Ticari Biyosensörler 22
2.4 Gelişmesi Beklenen Alanlar.....24
2.4.1 Nanoteknoloji.....24

2.4.2 Multianalit belirlenmesi.....24
2.4.3 Minyatürleştirme.....25
2.4.4 Network sistemleri.....26
2.4.5 Validasyon.....26
2.4.6 Biyomühendislik.....27
2.5 Elektrokimya.....28
2.5.1 Elektrokimyasal hücreler.....30
2.5.2 Elektrokimyasal uygulamalarda kullanılan elektrotlar.....33
2.5.2.1 Referans elektrotları.....34
2.5.2.2 Karşıt/yardımcı elektrotlar.....38
2.5.2.3 Çalışma elektrotları.....38
2.5.3 Voltametri yöntemi.....41
2.5.3.1 Voltametride kullanılan uyarma sinyalleri.....44
2.5.3.2 Voltametrik sıyırma yöntemleri.....45
2.5.4 Elektrokimyasal yanıt üzerinde etkili olan faktörler.....47
2.5.4.1 Tarama hızı.....47
2.5.4.2 Destek elektrolit çözeltileri.....47
2.5.4.3 Çözelti pH'sı.....47
2.5.4.4 Destek elektrolit çözeltisi konsantrasyonunun önemi.....48
2.5.4.5 Şartlandırma süresi.....48
2.5.4.6 Depozisyon potansiyeli ve depozisyon süresi.....48
3. MATERYAL ve YÖNTEM.....49
3.1 Materyal.....49
3.1.1 Kullanılmış olan kimyasallar.....49
3.1.2 Kullanılan mikrobiyal materyal.....50
3.1.3 Kullanılan cihazlar ve teçhizatlar.....50
3.2 Yöntem.....52
3.2.1 Çalışmalar sırasında kullanılan destek elektrolit çözeltileri.....52
3.2.1.1 Tris hidroklorik asit (Tris-HCl) tampon çözeltisinin hazırlanması.....52
3.2.1.2 Asetik asit / sodyum asetat tampon çözeltisinin hazırlanması.....52
3.2.1.3 Sodyum nitrat çözeltisinin hazırlanması.....52
3.2.1.4 Fosfat tampon çözeltisi.....52

3.2.1.5 HCl çözeltisinin hazırlanması 53
3.2.2 Ağır metal solüsyonunun hazırlanması 53
3.2.3 Mikrobiyal materyalin hazırlık aşaması 53
3.2.3.1 Melaslı besiyeri hazırlanması 53
3.2.4 Karbon pastasının hazırlanması 54
3.2.5 Çalışma elektrodunun hazırlanması 54
3.2.6 Analiz yöntemleri 55
3.2.6.1 Dönüşümlü voltametri yönteminin kullanılması ile yapılan deneyler 55
3.2.6.2 Sıyırma voltametrisi yönteminin kullanılması ile yapılan deneyler 56
3.2.7 Elektrokimyasal yanıt üzerinde etkisi araştırılan faktörler 56
3.2.7.1 Destek elektrolit çözeltileri 56
3.2.7.2 Destek elektrolit çözeltisinin pH'sı 56
3.2.7.3 Destek elektrolit çözeltisinin konsantrasyonu 57
3.2.7.4 Depozisyon potansiyeli 57
3.2.7.5 Şartlandırma süresi 57
3.2.7.6 Depozisyon süresinin etkisi 58
3.2.8 Kalibrasyon doğrusunun elde edilmesi 58
4. ARAŞTIRMA BULGULARI 59
4.1 *Aspergillus versicolor* Kullanımıyla Geliştirilen Mikrobiyal Biyosensöre ait Araştırma Bulguları……...…….....……...59
4.1.1 CPE ile Cd(II) bulunduran şartlandırma ortamında CV çalışmalarının yürütülmesi…….....……..…..……59
4.1.2 Şartlandırma çözeltisi pH'sının elektrokimyasal cevap üzerindeki etkisi 61
4.1.3 Destek elektrolit çözeltisi konsantrasyonunun elektrokimyasal yanıt üzerindeki etkisi..……....……61
4.1.4 Depozisyon potansiyelinin elektrokimyasal yanıt üzerindeki etkisi 62
4.1.5 Farklı şartlandırma sürelerinin elektrokimyasal yanıt üzerindeki etkisi 63
4.1.6 Depozisyon süresinin elektrokimyasal yanıt üzerindeki etkisi 64
4.1.7 Kalibrasyon doğrusunun elde edilmesi 65
5. TARTIŞMA ve SONUÇ 67
KAYNAKLAR…… ……..71
ÖZGEÇMİŞ……...…83

SİMGELER DİZİNİ

Ag	Gümüş
AgCl	Gümüş klorür
Au	Altın
Cd	Kadmiyum
$Cd(NO_3)_2$	Kadmiyum Nitrat
CH_3COOH	Asetik Asit
CH_3COONa	Sodyum Asetat
Cl	Klor
Cr	Krom
Cu	Bakır
$CuSO_4$	Bakır Sülfat
Dc	Doğru Akım
$E_{1/2}$	Yarı Dalga Potansiyeli
HCl	Hidroklorik Asit
Hg	Civa
Hg_2Cl_2	Civa Klorür
HgO	Civa Oksit
Hg_2SO_4	Civa Sülfat
HNO_3	Nitrik Asit
H_2SO_4	Sülfürik Asit
$İ_f$	Faradayik Akım
$İ_C$	Kapasitif Akım
$İ_d$	Difüzyon Akımı
Ir	İridyum
KCl	Potasyum Klorür
KH_2PO_4	Potasyum Dihidrojen Fosfat
K_2HPO_4	Dipotasyum Hidrojen Fosfat
KOH	Potasyum Hidroksit
LSPR	Lokalize Yüzey Plazman Rezonans
mM	Milimolar
nM	Nanomolar
µM	Mikromolar
$NaNO_3$	Sodyum Nitrat
NaOH	Sodyum Hidroksit
NH_4Cl	Amonyum Klorür
NHE	Normal Hidrojen Elektrodu
$(NH_4)_2SO_4$	Amonyum Sülfat
Ni	Nikel
NO_3^-	Nitrat
N_2O	Nitrus Oksit
Pb	Kurşun
Pt	Platin
Sn	Kalay
Tris-HCl	Tris-Hidroklorik Asit
Zn	Çinko

Kısaltmalar

A.B.D.	Amerika Birleşik Devletleri
AChE	Asetil Kolinesteraz
AIDH	Aldehid Dehidrojenaz
AOAC	Association of Official Analytical Chemists
AP	Alkalin Fosfataz
ATSDR	Toksik Maddeler ve Hastalık Kayıt Ajansı
AuNPs	Altın Nanopartikülleri
BOD	Biyolojik Oksijen İhtiyacı
CCD	Yük Bağlamalı Düzen
CFU	Koloni Oluşturan Birim
CPE	Karbon Pasta Elektrodu
CV	Dönüşümlü Voltametri
CS	Kitosan
DC	Doğrusal Akım
DNA	Deoksiribo Nükleik Asit
DPV	Diferansiyel Puls Voltametrisi
DTV	Doğrusal Taramalı Voltametri
E. Coli	Escherichia coli
EDC	Endokrin Bozucu Kimyasal
EPA	Çevre Koruma Ajansı
ER	Östrojen Reseptör
Fabs	Antijen Bağlama Fragmentleri
GCE	Cam Karbon Elektrodu
GC/MS	Gaz Kromatografisi / Kütle Spektroskopisi
HPLC/MS	Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi / Kütle Spektroskopisi
HRP	Yaban Turbu Peroksidaz
IARC	Uluslararası Kanser Araştırmaları Ajansı
IDF	Şiddet-Süre-Frekans
ISFET	İyon Duyarlı Alan Etkili Transistör
ISO	Uluslararası Standartlar Teşkilatı
KDV	Kare Dalga Voltametrisi
LC/MS	Sıvı Kromatografi/Kütle Spektroskopisi
LOD	Tespit Limiti
LOQ	Ölçüm Limiti
MT	Metalotionin
OP	Organofosfat
OPH	Organofosfor hidrolaz
PAP	Prostatik Asit Fosfataz
PCB	Poliklorlu Bifenil
PCR	Polimeraz Zincir Reaksiyonu
PSII	Fotosistem II
PVC	Poli Vinil Klorür
RIANA	River Analyzer
ROS	Reaktif Oksijen Türleri
scFV	Tek Zincir Değişken Fragmanları
SDS	Sodyum Dodesil Sülfat
SHE	Standart Hidrojen Elektrodu

SPR	Yüzey Plazmon Rezonans
SWV	Kare Dalga Voltametrisi
TCDD	Tetra Kloro Dibenzo- p-Dioxin
WHO	Dünya Sağlık Örgütü

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1 Biyosensörün genel şematik gösterimi 8

Şekil 1.2 Biyosensör cihazı 9

Şekil 2.1 Vibrio fischeri (Anonymous 2006) 11

Şekil 2.2 BIACORE 3000 (Anonymous 2019) 17

Şekil 2.3 Optik multianalit dönüştürücü 25

Şekil 2.4 Triazinin belirlenmesinde immünosensör ve LC/MS (Sıvı Kromatografi/Kütle Spektroskopisi) ile elde edilen sonuçlar arasındaki korelasyon (Mallat vd. 2001) 26

Şekil 2.5 Elektrokimyasal hücrenin basit gösterimi 30

Şekil 2.6 (a) Bir Ag/AgCl elektrodun şematik görünümü, (b) laboratuvarda hazırlanabilen Ag/AgCl elektrodu (Beşergil 2019) 37

Şekil 2.7 (a) Tipik bir Ag/AgCl referans elektrotu, ve (b) bir cam indikatör ile bir Ag/AgCl referans elektrottan meydana gelen kombinasyon prob (Beşergil 2019) 37

Şekil 2.8 Cam elektrot şeması 40

Şekil 2.9 Karbon pastası elektrodunun şematik gösterimi 41

Şekil 4.1 Modifiye edilmemiş karbon pastası elektrodunun dönüşümlü voltamogramı 60

Şekil 4.2 Modifiye edilmiş karbon pastası elektrodunun dönüşümlü voltamogramı 60

Şekil 4.3 Şartlandırma çözeltisine ait pH değerinin elektrokimyasal yanıt üzerindeki etkisi (Cd(II) konsantrasyonu: 1.0×10−5 M, şartlandırma çözeltisi: 0.05 M fosfat tamponu, şartlandırma süresi: 10 dk, tarama hızı: 20 mV/s, metot: DPSV) 61

Şekil 4.4 Destek elektrolit çözeltisi konsantrasyonunun elektrokimyasal cevap üzerine etkisi (Cd(II) konsantrasyonu: 1.0×10−5 M, fosfat tamponu pH: 6.0, şartlandırma süresi: 10 dk, tarama hızı: 20 mV/s, metot: DPSV) 62

Şekil 4.5 Farklı depozisyon potansiyellerinde alınan elektrokimyasal yanıtlar 63

Şekil 4.6 Şartlandırma süresinin elektrokimyasal yanıt üzerindeki etkisi 64

Şekil 4.7 Depozisyon süresinin elektrokimyasal yanıt üzerindeki etkisi 65

Şekil 4.8 Optimum şartlarda elde edilmiş kalibrasyon doğrusu 65

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 1.1 Endüstriyel faaliyetler sonucu doğaya bırakılan ağır metaller (Rether 2002) 1

Çizelge 2.1 Global biyosensör pazarı (Socorro-Leranoz vd. 2019)..... 23

Çizelge 3.1 Deneyler sırasında kullanılmış olan kimyasal maddeler ve hangi amaçla kullanıldıkları…….....…….....…49

Çizelge 3.2 Çalışmada kullanılan mikroorganizmanın bilimsel sınıflandırılması 50

Çizelge 3.3 Kullanılan cihaz/teçhizatlar ve kullanım amaçları..... 50

1. GİRİŞ

Son yıllarda farklı tipteki biyosensörlerin çevre araştırmalarından hastalıkların teşhisine kadar pek çok farklı uygulama alanlarında kullanımları artmıştır. Biyosensörler pek çok alanda hızlı, pratik, ekonomik ve güvenilir araçlardır (Chouteau vd. 2004, Lei vd. 2006, Chinalia vd. 2008).

Yoğunluğu 5 g/cm^3'ten fazla olan metaller ağır metaller olarak tanımlanmaktadır ve bu gruba kadmiyum, çinko, kurşun, civa, nikel, demir, bakır ve kobalt olmak üzere 60'ı aşkın metal girmektedir. Bu metaller çoğunlukla silikat, oksit, sülfür ve karbonat formunda stabil bileşikler şeklinde veya silikatlar içerisinde bulunmaktadır.

Endüstriyel faaliyetler sonucu oluşan atıklar ve asit yağmurları toprağı ve bileşiminde bulunan ağır metalleri çözmekte ve bunun sonucunda çözünmüş olan ağır metallerin doğada göl, nehir ve de yer altı sularına ulaşması ile birlikte ağır metaller su kaynaklarına ulaşmaktadır. Kontrolsüz sanayileşme ve yeteri kadar çevresel önlem alınamaması sebebiyle sulardaki ağır metal konsantrasyonları sürekli artmaktadır. Endüstriyel faaliyetler sonucu doğaya bırakılan ağır metaller çizelge 1.1'de gösterilmektedir.

Çizelge 1.1 Endüstriyel faaliyetler sonucu doğaya bırakılan ağır metaller (Rether 2002)

Endüstri	**Cd**	**Cr**	**Cu**	**Hg**	**Pb**	**Ni**	**Sn**	**Zn**
Kağıt endüstrisi	-	+	+	+	+	+	-	-
Petrokimya	+	+	-	+	+	-	+	+
Klor-alkali üretimi	+	+	-	+	+	-	+	+
Gübre sanayi	+	+	+	+	+	+	-	+
Demir-çelik sanayi	+	+	+	+	+	+	+	+
Enerji üretimi (termik)	+	+	+	+	+	+	+	+

Eser miktardaki ağır metallerin belirlenmesi canlı organizmalardaki toksik etkileri nedeniyle önemlidir (Deng vd. 2007). Çevre kontrolünde ağır metallerin belirlenmesi

genellikle spektroskopik, voltametrik veya kromatografik metotlar ile gerçekleştirilir. Bu metotlar düşük konsantrasyondaki elementleri tespit edebilir ancak in-situ analizlerde veya düşük maliyetli araştırmalarda kullanılmaları zordur. Oysaki bu işlemler biyosensörler ile başarıyla sonuçlandırılabilir (Malitesta ve Guascito 2005). Geleneksel toksisite testleri ve klasik analitik metotlara alternatif olarak kantitatif analizler için biyosensörler kullanılabilir. Biyosensörler düşük maliyetli, küçük, taşınabilir cihazlar olarak rutin tekniklerle aynı duyarlılık ve doğruluğu sağlayarak hızlı ve yerinde metal iyon konsantrasyonu ölçümüne olanak sağlarlar.

Mikroorganizmalar geniş bir aralıktaki kimyasal maddeleri biyosorpsiyon kapasiteleri yoluyla adsorbe veya akümüle edebilirler. Sucul ortamlarda ağır metallerin giderilmesinde kullanılırlar (Aksu ve Dönmez 2006). Bakteri, alg, maya ve mantar gibi canlı mikroorganizmaların biyoremediasyonda kullanımlarına ilaveten çevre gibi pek çok alanda bazı parametrelerin belirlenmesi için biyosensörlerin yapımında da kullanılmaktadırlar (Rodriguez-Mozaz vd. 2004, Liu vd. 2008).

Biyosensör yapımı için bugüne kadar enzim, hücre, bitki ve hayvan dokusu gibi farklı biyolojik materyallerden yararlanılmıştır. Yüksek spesifik aktiviteleri ve duyarlılıkları gibi avantajlı özelliklerine rağmen biyosensör yapımında kullanılan enzimlerin çoğu kararsız ve spesifik maddelerin rutin analizi için pahalı biyolojik materyallerdir (Akyılmaz ve Dinçkaya 2005). Diğer taraftan tüm bir hücrenin kullanıldığı mikrobiyal sensörler (whole-cell) kolay ve pahalı olmayan sistemlerdir ve bu tür sensörlerde enzimler hücre içinde kendi doğal çevrelerinde bulundukları için daha kararlıdırlar (Reshetilov 1997). Bunlara ilaveten mikrobiyal sensörlerin çalıştırılması kolaydır ve yanıt süreleri nispeten kısa olduğu için saha incelemesi için daha elverişlidirler (D'Souza 2001, Lei vd. 2006).

Sensörlerin hazırlanmasında modifiye edici ajan olarak biyomasların kullanımı ilgi çekmektedir. Maya biyoması sulu çözeltilerden Ag, Au, Cd, Cu, Cr, Ni, ve Zn'nin giderilmesinde biyosorbent olarak kullanılmıştır. Mayaların çoğu metal iyonlarını geniş aralıkta adsorbe edebilir veya sadece bir metal iyonu bakımından spesifik olabilirler (Dönmez ve Aksu 1999, Dönmez ve Aksu 2001, Wang ve Chen 2009). Farklı karbon

kaynaklarında hızlı gelişmelerinden dolayı biyosensör yapımında mayaların kullanılmasının bazı avantajları vardır. Mayalar birçok tehlikeli maddeye karşı geniş fizikokimyasal tolerans gösterir (Dönmez ve Aksu 1999, Akyılmaz ve Dinçkaya 2005).

İdeal olarak bir biyosensörün yüksek seçicilik, kullanım ömrünün uzun olması, kalibrasyon gereksinmesi, tekrarlanabilirlik, stabilite, yüksek duyarlılık, tayin sınırının yeteri kadar düşük olması, ölçüm aralığının geniş olması, hızlı bir şekilde cevap vermesi, hızla geriye dönme zamanı, basitlik ve ucuzluk, minyatürleştirilebilme ve sterilize edilebilirlik gibi özelliklere sahip olması gerekmektedir.

Elektrokimyasal olarak bir tepkimenin oluşabilmesinde üç ana bileşen rol oynamaktadır. İncelenmekte olan maddeyi bulunduran bir çözelti, bu maddenin kimyasal olarak dönüşüme uğraması için kullanılan elektrot sistemi (genellikle üçlü elektrot sistemi) ve son olarak bu elektrotların birbirine bağlanmasını sağlayan bir çevirim sistemi (transducer) gerekmektedir. Bu tür sistemlerde destek elektrolit çözeltisi olarak elektriksel iletkenliğin sağlanması amacıyla tampon çözeltiler kullanılmaktadır. Bu tür çalışmalarda kullanılan en temel yöntemler Doğrusal akım (DC), Diferansiyel Puls (DPV), Dönüşümlü voltametri (CV) ve Kare dalga voltametrisi (SWV)'dir.

Bir üçlü elektrot sistemi yüzeyinde analizlenecek maddenin yükseltgendiği veya indirgendiği çalışma elektrotu, potansiyelin çalışma sırasında sabit kalmasını sağlayan referans elektrot ve platinden yapılmış bir tel veya civa havuzu formunda olup elektriğin destek elektrolit çözeltisi içerisinden çalışma elektrotuna doğru aktarımına yardımcı olan karşıt elektrottur. Çalışma elektrotu ile karşıt elektrot bir çift oluşturmaktadır ve karşıt elektrot ölçülen potansiyelin büyüklüğünün belirlenmesinde rol oynamamaktadır. Düşük maliyetli üretimi ve yenilenebilir ara yüzeyi gibi önemli avantajları nedeniyle CPE (karbon pastası elektrotları) 1958'den beri elektro analitik uygulamalar için yaygın olarak kullanılmaktadır (Adams 1958).

Pek çok kirleticinin çevreye salınımı endüstrileşmenin sonucu olarak artmaktadır. Bu kirleticiler içinde ağır metaller parçalanamamaları nedeniyle en önemlileridir. Kurşun

ve kadmiyum iyonları en toksik olanları arasındadır. Buna rağmen pigment üretimi, antrikorozyon kaplama gibi endüstride yaygın olarak kullanılırlar (Stoppler vd. 1991).

Kurşun, toprak, su ve hava aracılığıyla, solunum ile ve besinlere karışarak biyolojik sistemlere girmekte ve son derece toksik olan bir ağır metaldir.

WHO (Dünya Sağlık Örgütü) kaynaklarına göre kadmiyum, çevresel ve mesleki endişeye neden olan bir ağır metaldir. Yer kabuğunda geniş bir yayılım göstermektedir ve ortalama konsantrasyonu yaklaşık 0.1 mg/kg'dır. Çevredeki yüksek seviyedeki kadmiyum bileşikleri kaya tortullarında birikmiştir ve deniz fosfatları yaklaşık 15 mg kadmiyum/kg içermektedir (Anonymous 1987).

Kadmiyum sıklıkla çeşitli endüstriyel işlemlerde kullanılmaktadır. Kadmiyumun ana endüstriyel uygulamaları alaşım, pigment ve pil üretimidir (Wilson 1988).

EPA (Çevre Koruma Ajansı) verilerine göre son yıllarda kadmiyumun pillerde kullanımı artış göstermesine rağmen çevresel endişeler nedeniyle gelişmiş ülkelerde ticari kullanımı düşmüştür. Örneğin Amerika Birleşik Devletleri'nde günlük kadmiyum alımı yaklaşık 0.4 µg/kg/gün olmakla birlikte bu miktar EPA'nın oral referans dozunun yarısından daha azdır (Anonymous 2006).

Bu düşüş kaplama işlerindeki zorunlu artık limitlerinin tanıtımı ve son zamanlarda bazı ülkelerdeki kadmiyum tüketiminin genel sınırlamalarının tanıtımı ile bağlantılıdır.

IARC (Uluslararası Kanser Araştırmaları Ajansı) verilerine göre, kadmiyuma maruz kalmanın temel yolları solunum, sigara içimi ve yiyeceklerdir. Deri emilimi ise nadirdir. Metal endüstrisinde çalışanların, kontamine gıdalarla beslenenlerin, sigara içenlerin ve kadmiyum ile kontamine olmuş iş yerlerinde çalışanların kadmiyuma maruz kalmaları mümkündür. Kadmiyuma maruz kalmada sigara kullanımının katkısı çok büyüktür (Anonymous 1993, Paschal vd. 2000).

ATSDR (Toksik Maddeler ve Hastalık Kayıt Ajansı) kaynaklarına göre; madencilik, döküm, pil, pigment, stabilizatör ve alaşım üretimi yapan iş yerleri kadmiyumun yayılmasına neden olan diğer kaynaklardır (Anonymous 2008).

Kadmiyum ayrıca yapraklı sebzeler, patates, tahıl ve tohum, ciğer ve böbrek, kabuklular ve yumuşakçalar gibi bazı gıdalarda iz miktarda bulunmaktadır (Satarug vd. 2003).

Tüm bunlara ek olarak gıda maddeleri kadmiyum bakımından zengindir ve insan vücudunda kadmiyum konsantrasyonunu önemli ölçüde artırabilir. Ciğer, mantarlar, kabuklu deniz hayvanları, midye, kakao tozu, kurutulmuş deniz yosunu örnek olarak verilebilir. En önemli dağılım yolu dolaşım sistemi iken kan damarları kadmiyum toksisitesinin ana akım organları olarak düşünülebilir. Kadmiyum partiküllerine kronik solunum maruziyeti genellikle akciğer fonksiyonlarındaki değişiklikler ve ciğerlerde hava kalması ile tutarlı göğüs radyografi ile ilişkilidir (Davison vd. 1988).

Hava ile gelen kadmiyum partiküllerine maruz kalan iş yerleri koklama fonksiyonlarında azalmaya neden olmaktadır (Mascagni vd. 2003).

Çeşitli epidemiyolojik çalışmalar kronik düşük seviyedeki kadmiyuma maruz kalmanın kemiklerdeki mineral yoğunluğunu azalttığını ve osteoporoz ile ilişkili olduğunu göstermektedir (Akesson vd. 2006, Gallagher vd. 2008, Schutte vd. 2008).

Kadmiyum maruziyeti genellikle kan ve idrardaki kadmiyum seviyesinin ölçümü ile belirlenmektedir. Kandaki kadmiyum, sigara gibi son maruziyeti yansıtmaktadır. İdrardaki kadmiyum (genelikle kadmiyum/kreatin oranı hesaplanarak dilisyon için düzeltilir), kadmiyum birikiminin veya böbreklerdeki yükün işaretidir (Jarup vd. 1998, Wittman ve Hu 2002).

Kronik maruziyetin ve vücut yükünün bir işareti olarak A.B.D. (Amerika Birleşik Devletleri) nüfusunun neredeyse %2.3'ünün idrar kadmiyum seviyesi (>2µg/g kreatinin) yükselmiştir (Becker vd. 2002).

Kan ve idrar kadmiyum seviyesi sigara içenlerde yüksek, daha önceden sigara içenlerde orta ve sigara içmeyenlerde düşük seviyededir (Becker vd. 2002, Mannino vd. 2004).

Endüstriyel uygulamalarda kadmiyum kullanımının devam etmesi nedeniyle kadmiyuma olan maruziyet ve çevresel kontaminasyon geçen yüzyıl boyunca önemli ölçüde artmıştır (Elinder ve Jarup 1996).

Kadmiyum solunduğunda veya yenildiğinde şiddetli bir şekilde akciğer ve mide-bağırsakları tahriş etmektedir. Akut yenildikten sonra 15 ile 30 dakika içerisinde genellikle karın ağrısı, yanma hissi, mide bulantısı, kusma, salya akıtma, kas ağrısı, baş dönmesi, şok, bilinç kaybı ve kasılma gibi semptomlar görülmektedir (Baselt ve Cravey 1995).

Akut kadmiyum alımı aynı zamanda zehirlenme yoluna bağlı olarak mide-bağırsak sisteminde aşınma, akciğer hastalığı, karaciğer veya böbrek hasarı ve komaya neden olabilir (Baselt ve Cravey 1995, Baselt 2000).

Kadmiyuma olan kronik maruziyet norepinefrin, serotonin ve asetilkolin seviyeleri üzerinde depresif etkiye sahiptir (Singhal vd. 1976).

Kemirgen çalışmaları göstermiştir ki kadmiyumun kronik solunması akciğer adenokarsinomlarına neden olmaktadır (Waalkes vd. 1995, Waalkes vd. 1996).

Ayrıca sistemik veya direk maruziyet sonrası adenokarsinomları içeren prostatik proliferatif lezyonlara neden olabilmektedir (Waalkes ve Rehm 1992).

Kadmiyum toksisitesinin mekanizması tam olarak anlaşılamamasına rağmen, öncelikle DNA (Deoksiribo Nükleik Asit) tek zincirine hasar veren ve nükleik asit ile protein sentezini bozan ROS (Reaktif Oksijen Türleri) jenerasyonu yoluyla hücrelere zarar verdiği düşünülmektedir (Mitra 1984, Bagchi 1995).

In vitro çalışmalar kadmiyumun 0.1-10 mM konsantrasyonlarında sitotoksik etkilere ve serbest radikallere bağlı DNA hasarına neden olduğunu göstermektedir (Tsuzuki vd. 1994, Mukherjee vd. 2002).

In vivo çalışmalar kadmiyumun fare modellerinde vücut ağırlığının 1 mg/kg konsantrasyonunda erkek üremesini azalttığını göstermektedir (Rossman vd. 1992)

Düşük konsantrasyonlarda (1-100 μM) kadmiyum proteinlere bağlanır ve DNA onarımını azaltır, protein degradasyonunu aktive eder, c-*fos*, c-*jun* ve c-*myc* gibi proto-onkogenler ve sitokinleri düzenler, metalotiyoneinler, hem oksijenazlar, glutatyon transferazlar, ısı-şok proteinleri, akut-faz reaktanları ve DNA polimeraz β gibi çeşitli genlerin ekspresyonuna neden olur (Durnam ve Palmiter 1981, Landolph 1994, Abshire vd. 1996, Hwua ve Yang 1998).

Kadmiyum maruziyetinin akciğer, prostat, böbrek, karaciğer, hematopoetik sistem ve mide kanserlerinin gelişmesi ile bağlantılı olduğu gösterilmiştir (Anonymous 1993, Waalkes vd. 1995, Waalkes vd. 1996).

Arsenik, kadmiyum, krom ve nikel gibi karsinojenik metaller, çift bazlı mutasyon, delesyon veya DNA üzerine oksijen radikallerinin saldırısı ile DNA hasarına neden olmaktadır (Landolph 1994).

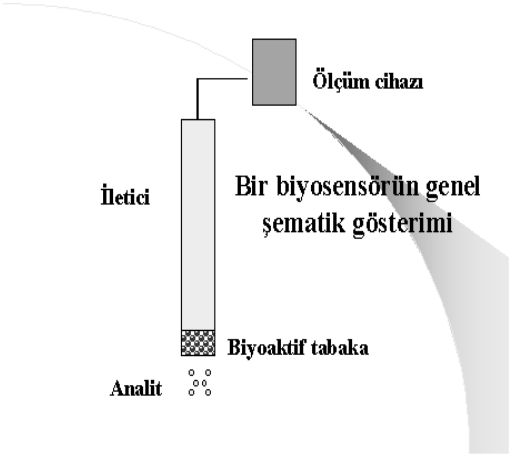
Endüstriyel faaliyetler sonucu oluşan atıklar ile kadmiyum su ve toprağa geçerek çevre kirliliğine sebep olmaktadır. Kadmiyum, su ve toprakta birikerek öncelikle sudaki mikroorganizmalara geçmekte, buradan da besinler aracılığıyla hayvanlara ve insanlara geçerek zararlı etkilerini göstermektedir. Gıdalar ile yüksek düzeyde kadmiyum alınmasın ani zehirlenmelere yol açtığı bilinmektedir. İçilen sularda 16 mg/L seviyesinde kadmiyum bulunması sonucu bulantı, kusma ve abdominal ağrı gibi semptomlar görülmüştür. 1965 yılında İngiltere'de pil yapımında çalışan işçilerde prostat karsinomlarının yaygın olarak görülmesi üzerine yapılan araştırmalar sonucunda kadmiyumun karsinojenik etkiye sahip olduğu belirlenmiştir.

Maden, metalurji ve kimya sanayii gibi kuruluşlar her yıl büyük miktarda ağır metal içeren atık su üretirler. Atık suların bir kısmı işlem görmeden deşarj edilirler ve sucul çevrenin kirliliğine sebep olurlar. Ağır metaller biyolojik olarak ayrışamadığından çoğunlukla sucul hayvanlar ve bitkiler tarafından sindirilirler ve sonra besin zinciri yoluyla insan vücuduna girerler. Vücutta bazı organlarda birikirler ve kronik zehirlenmeye neden olarak vücut sağlığını ciddi şekilde tehlikeye sokarlar. Bütün dünyayı sarsan "Minamata hastalığı" ve "Itai itai hastalığı" sırasıyla civa ve kadmiyum içeren atık suların neden olduğu hastalıklardır (Kaji 2012).

Tesis dışı analizlerde örnekler test edilmek için laboratuvara gönderilmek zorundadır. Sıvı veya gaz kromatografi, katı faz ekstraksiyon, atomik absorbsiyon spektroskopi, elektrokimyasal vb. yöntemler düşük tayin limitlerinde yüksek duyarlılık sağlamalarına rağmen pahalı, zaman alıcı ve yüksek eğitimli personele ihtiyaç duymaktadır (Tothill 2001).

Tesis içi analizler için hızlı, güvenilir ve düşük maliyetle yüksek duyarlılık sağlayan analitik aletler olarak biyosensörler geliştirilmiştir (Parellada vd. 1998).

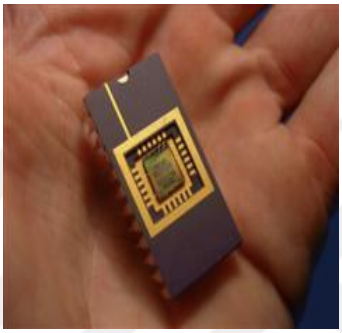
Bir biyosensörün genel şematik gösterimi şekil 1.1'de yer aldığı gibidir.



Şekil 1.1 Biyosensörün genel şematik gösterimi

Biyosensörler bir biyolojik materyal ile bir fizikokimyasal dönüştürücüyü içeren analitik araçlar olarak tanımlanırlar (Gonzalez-Martinez vd. 1999).

Biyosensörler; çevre ve biyoproses kontrolü, gıda, tarım, ordu kalite kontrolü ve medikal uygulamalar için geliştirilmiştir. Ticari olarak kullanılan biyosensörlerin çoğu klinik ve farmasötik alanlarda uygulanmaktadır. Ticari olarak kullanılmakta olan biyosensör cihazı örneğine şekil 1.2'de yer verilmiştir.



Şekil 1.2 Biyosensör cihazı

Gerçekleştirilen bu tez çalışması kapsamında, *Aspergillus versicolor* ilk kez kadmiyum tayininde biyosensör materyali olarak kullanılmıştır. Kadmiyumun hangi potansiyelde nasıl davrandığı ile ilgili kantitatif analizlerden önce bilgi vermesi açısından dönüşümlü voltametri tekniği kullanılmıştır. Ardından kalibrasyon doğrusunun elde edilebilmesi için optimum deney koşullarını sağlamak amacıyla sıyırma voltametrisi tekniği ile kantitatif analizler (destek elektrolit çözeltisi pH'sı, destek elektrolit çözeltisi konsantrasyonu, depozisyon potansiyeli, şartlandırma süresi ve depozisyon süresi) yapılmıştır.

Bu tez çalışması ile çevre kirliliğinin kontrolü için kadmiyum ve diğer ağır metallerin tayinine yönelik *Aspergillus versicolor* biyomateryali ile modifiye edilen biyosensörün ticari olarak tasarlanabilmesine yönelik çalışmalara katkı sağlanabileceği düşünülmektedir.

2. KAYNAK ÖZETLERİ

2.1 Biyosensör Konfigürasyonu

Dönüştürücü elemente dayalı olarak biyosensörler; elektrokimyasal, termal, piezoelektrik ve optik sensörler olarak sınıflandırılmaktadır. Amperometrik ve potansiyometrik olanları içeren elektrokimyasal sensörler literatürde en iyi tanımlananlardır.

Biyolojik olarak tanıma prensibine göre biyosensöler; immünokimyasal, enzimatik, nanenzimatik reseptör, hücre ve DNA biyosensörleri olarak sınıflandırılırlar. Hücrelerin kullanıldığı biyosensörlerde BOD (Biyolojik Oksijen İhtiyacı) belirlenebilir.

DNA biyosensörlerinde kirleticilerin teşhisinde iki strateji uygulanır:

1) İnfeksiyöz mikroorganizmalardan nükleik asit sekanslarının hibridasyon tespiti
2) İmmobilize DNA katmanı ile ilaçlar ve mutajenik kirleticiler gibi küçük kirleticilerin etkileşmesinin gözlemlenmesi (Wang vd. 1997)

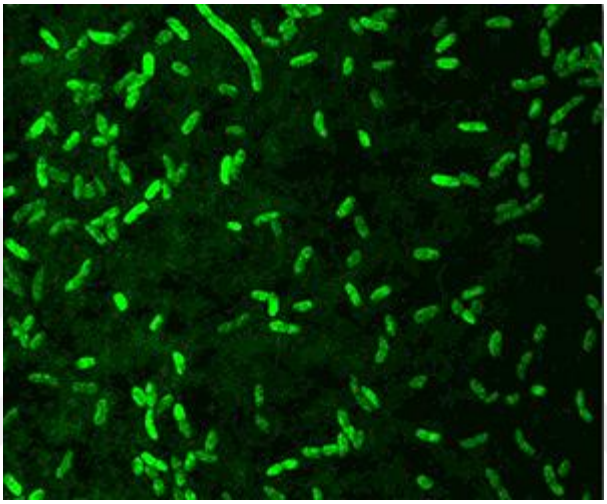
Biyosensör yapımında anahtar basamak biyolojik elementin dönüştürücü yüzeyinde immobilizasyonudur.

İmmobilizasyon; katı yüzeyde fiziksel adsorbsiyon, moleküller arasında çapraz bağlanma, yüzeye kovalent bağlanma, elektropolimerizasyon, jel içinde tutuklama vb. metotlar ile sağlanabilir (Collings ve Caruso 1997).

2.2 Çevre Uygulamaları

2.2.1 Toksisite

Microtox ve Tox Alert sistemleri çevre örneklerinden toksisite ölçmek için mikroskop görüntüsüne **şekil 2.1**'de yer verilen luminisent bakteri (*Vibrio fischeri*) kullanımına dayanır.



Şekil 2.1 *Vibrio fischeri* (Anonymous 2006)

Bakteriyel biyolüminesens'in hücre metabolizmasının ölçümünde uygun olduğu kanıtlanmıştır. Akuatik örneklerde toksik kimyasalların varlığını ölçmek için güvenilir bir sensördür.

Cellsense gibi bazı metotlar amperiyometrik biyosensörlerle ilişkilidir. Hızlı ekotoksisite analizleri için E. Coli (*Escherichia coli*) bakteri hücreleri içermektedir. Çözünür bir elektron aracısı olan ferrisiyanin kullanır.

Akım bakteriyel solunum aktivitesinin ölçümüdür ve kirleticiler tarafından oluşan bozukluk akımın büyüklüğündeki değişim olarak tespit edilir.

Cellsense atık sudaki 3,5-diklorofenol ve diğer fenollerin toksisitesini araştırmak (Evans vd. 1998), naniyonik surfaktanların ve benzen sülfonat bileşiklerinin belirlenmesi (Farre vd. 2001), atık su arıtma çalışmalarının analizi, atık su ve lağım suyunun toksisite testi için (Farre ve Barcelo 2003) uygulanmıştır.

2.2.2 Endokrin etkili biyosensörler

Birçok çevre kontaminantının endojen hormon sistemine olumsuz etkilerinin olması endişe uyandırmaktadır. Bunlar aynı zamanda EDC'ler (Endokrin Bozucu Kimyasallar) olarak adlandırılır.

Steroid hormonlar spesifik interselüler reseptörlere bağlandıktan sonra memeli hücrelerinde farklı etkilere sahip olurlar.

Çoğu endokrin sistemi bozucunun agonist veya antagonist olarak östrojen reseptöre (ER) bağlandığına inanılmaktadır. Böylece kimyasalların ER'ye bağlanma yeteneği bunların olası çevre toksisitesinin araştırılması için önemli bir faktördür.

2.2.3 Biyosidler

Tarımda kullanılan pestisidler doğal sularda da bulunmalarına neden olmaktadır. Bundan dolayı her pestisid için 0.1 µg/L ve toplam pestisid için de 0.5 µg/L limit konulmuştur.

HPLC/MS (Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi / Kütle Spektroskopisi) ve GC/MS (Gaz Kromatografisi / Kütle Spektroskopisi) pestisidleri belirlemek için kullanılan analitik metotlardır. Ancak maliyeti daha düşük olan ve tesis içi analizlerde hızlı sonuç alınan sensörler geliştirilmiştir.

Organofosfor ve karbamat pestisidlerin tayini için asetil kolinesteraz (AChE) ve kolin oksidaz inhibisyonuna dayanan biyosensörler geliştirilmiştir (Andres ve Narayanaswamy 1997, Andreou ve Clonis 2002).

Organofosfor hidrolaz (OPH), paraokson ve paratiyon gibi OP (Organofosfat) pestisidleri ve sarin ve soman gibi kimyasal savaş ajanlarını hidroliz etme yeteneğindedir. OP pestisidlerin hidrolizi ile p-nitrofenol oluşur, bu elektroaktif ve kromoforik bir üründür. Böylece OPH, p-nitrofenol absorbansını ölçmek için optik dönüştürücü ile veya bu ürünün oksidasyon veya redüksiyon akımının incelenmesi için amperometrik dönüştürücü ile bir araya gelebilir (Mulchandani 2001).

Ayrıca siyanit (Smith ve Rechnitz 1993), dietilditiyokarbamat (McArdle ve Persaud 1993) ve hidrazinler gibi çeşitli pestisitlerin tirozinaz enzimini inhibe etme kabiliyeti araştırılmıştır.

Ditiyokarbamat fungisitler aldehid dehidrojenaz (AIDH) enzimini inhibe etme yetenekleri ile ölçülmüştür.

Fotosentez inhibisyonu belirli kirleticilerin toksik etkilerini hızlı bir şekilde gösteren indikatördür. Bu özelliğin avantajı ile herbisitlerin teşhisi için Fotosistem II (PSII)'ye dayalı biyosensörler geliştirilmiştir. Herbisitlerin %30'u fenilüre, triazin ve fenolik herbisitleri içerir, PSII quinon bağlanma yerini bloke ederek fotosentetik elektron akışını inhibe eder ve böylece klorofil floresansı modifiye eder (Vedrine vd. 2003).

Ayrıca immünolojik deneylere bağlı biyosensörler geliştirilmektedir. Wilmer (Wilmer 1997) amperometrik immünosensör ile suda 2,4-diklorofenoksiasetik asiti belirlemiştir. Bu immünosensörde alkalin fosfataz (AP) enzimi PAPP'nin PAP'ye dönüşümünü katalizlemektedir (0.1 μg/L limitinde).

Mallat vd. (1999, 2001) doğal sulardaki atrazin, simazin, izoproturon, 2-4-D, alaklor ve paraquat gibi pestisitlerin belirlenmesinde "River Analyzer" (RIANA) immünosensör

uygulamıştır. Çalışmalar matriks etkisinin çapraz-reaktant maddelerin varlığından dolayı olan girişimin değerlendirilmesi ve sensörün validasyonu üzerine odaklanmıştır.

Aynı zamanda SPR (Yüzey Plazmon Rezonans) prensibine göre diğer bir immünosensör triazin pestisitlerin ölçülmesinde kullanılmıştır (Mouvet vd. 1997) (teşhis limiti simazin için 0.2 µg/L'dir). Yüzey ve yer altı su örneklerinde yürütülen analizler kromatografik sonuçlarla paralellik göstermiştir.

2.2.4 Hormonlar

Estradiyol, estron, etinilestradiyol gibi hormonların çok düşük konsantrasyonlarda (ng/L) suda bulunmasına rağmen bunların geniş çapta kullanımı ve ng/L ve pg/L konsantrasyonlarında balıkları etkilemelerinden dolayı bilim adamları sucul ortamlarda bulunmalarının olası tehlikeleri üzerinde uyarılarda bulunmaktadırlar (Purdom vd. 1994, Hansen vd. 1998).

Avrupa Birliği "Hayvanlarda ölüm sonrası androjen rezidülerinin hızlı tespiti için tek ve çoklu analit afinite sensörlerin geliştirilmesi" proje kapsamında bir grup araştırmacı testosteron gibi androjenlerin hızlı tespiti için tek ve çoklu analit afinite sensörler ve reseptöre dayalı sensörler geliştirmiştir (Boenke 2002).

2.2.5 Dioksinler

Bazı pestisitlerin, PVC (Poli Vinil Klorür) plastiklerin üretimi, atık yakımı dioksinleri oluşturmaktadır.

PCB (Poliklorlu Bifenil)'nin tespiti için Shimomura (2001) tarafından geliştirilen SPR biyosensör aynı zamanda dioksin 2,3,7,8-TCDD (Tetra Kloro Dibenzo- p-Dioxin) için de uygulanmıştır.

Benzer olarak dioksin benzeri kimyasalların (poly-halogenated dioksinler, furanlar ve bifeniller) tespiti için diğer bir biyosensör Pasini (2002) tarafından rekombinant fare hepatoma hücre hattına dayalı olarak tasarlanmıştır.

2.2.6 Fenoller

Parellada çevre örneklerindeki fenol indeksinin belirlenmesi için amperometrik bir biyosensör geliştirmiştir, tirozinaz ile grafit elektrodu üzerinde higrogel içinde immobilize etmiştir.

Klorofenoller aynı zamanda, HRP (Yaban Turbu Peroksidaz) ile katalizlenen, luminolün kemiluminesans reaksiyonu güçlendirmek için fenollerin yerini tutma kabiliyetinden faydalanarak akış-enjeksiyon kemiluminesens fiber optik biyosensör ile tespit edilmektedir (Degiuli ve Blum 2000).

2.2.7 Surfaktanlar

Deterjan ürünleri "aktif" bileşik olarak surfaktanları kullanırlar. Anyonik surfaktanlar geniş çapta kullanılırken katyonik surfaktanlar toplamda %5 civarında kullanılırlar (Badia ve Diaz Garcia 1998).

Anyonik Surfaktanların tespiti için amperometrik biyosensör, biyolojik element olarak *Pseudomonas rathonis T* ile yapılmıştır. Oksijen tüketimi hücre metabolizmasının ve böylece örneğin surfaktan içeriğinin indikatörü olarak rol oynar (Reshetilov vd. 1997).

Taranova (2002) bakteriyel *Pseudomonas* ve *Achromobacter*'e dayalı biyosensörlerin duyarlılığı, seçiciliği ve anyonik surfaktanları degrede etme yeteneği üzerine çalışmıştır. Bakteri tarafından surfaktanların degradasyonu çözünmüş oksijen azalmasına ve oksijen elektrod akımında değişime neden olmuştur. Mikrobiyal biyosensör, surfaktanları yüksek seçicilik, duyarlılık ve yenilenebilirlik ile birlikte tespit edebilme yeteneğindeydi. SDS (Sodyum Dodesil Sülfat) için en düşük limit yaklaşık 0.25 µg/L idi.

2.2.8 Alkanlar, aromatik bileşikler ve polisiklik aromatik hidrokarbonlar

Toprak ve suların petrol ürünleri ile kontaminasyonu önemli bir çevre sorunudur. Petrol ürünlerinin suda çözünen aromatik bileşenleri (benzen, toluen, etilbenzen ve ksilen) içme sularının kalitesi için endişe vericidir.

Yeşil floresan proteine dayalı Pseudomonas Fluorescens biyosensörü, sulu çözeltilerdeki benzen, toluen, etilbenzen gibi bileşikleri ölçmek için tasarlanmıştır. Bu biyosensör, toluen – benzen transkripsiyonel aktivatör taşıyan plazmide dayalıdır (Stiner ve Halverson 2002).

Diğer bir mikrobiyal biyosensör (*E. coli* ile promoter lusiferaz luxAB geni kullanılarak) luminesens ile suda çözünerek alkanların belirlenmesi için geliştirilmiştir (Sticher vd. 1997).

2.2.9 Antibiyotikler

Tedavi amaçlı, balık çiftliklerinde veya hayvancılıkta katkı maddesi olarak kullanılan antibiyotiklerin artışı zararlı bakterilerin genetik seleksiyonuna neden olmaktadır (Coille vd. 2002). Antibiyotik dirençliliği, bundan etkilenen et ve süt ürünleriyle beslenen insanlara transfer olabildiği için antibiyotiklerin geniş çapta verilmesi gıda güvenliği sorununun doğmasına neden olmuştur (Setford vd. 1999).

Ticari bir biyosensör olan BIACORE 3000 (Şekil 2.2) iki sulfonamid (antibiyotiklerin bir grubu) (sulfa-methazine ve furosemide) arasında çapraz reaktivitenin çalışması için kullanılmıştır (Ahmad vd. 2002).



Şekil 2.2 BIACORE 3000 (Anonymous 2019)

Sulfamethazine, hayvan idrarında Akkoyun (2000) tarafından optik immunosensor ile belirlenmiştir.

Hansen ve Sorensen (2000), üç biyosensörün geliştirilmesinde tetrasiklin indüklenebilir promoter ile kombine Vibrio fischeri, E. coli, ve Aequorea victoria'dan üç farklı reporter gen sistemleri sunmuşlardır. Bunlar sırasıyla galaktosidaz, ışık veya yeşil floresan protein üreterek düşük tetrasiklin seviyesini yanıtlar.

Gıda inceleme alanında, farklı biyosensörler her ikisi de sütte bulunan penisilin G (Setford vd. 1999) veya tetrasiklinleri (Hansen ve Sorensen 2000) belirleyebilmektedir.

2.2.10 Toksinler

Toksinler membran fonksiyonu, iyon transportu, transmitter salınımı, DNA ve protein sentezini içeren farklı biyokimyasal prosesleri etkileyen heterojen bir gruptur.

Çevre ve klinik örneklerdeki toksinlerin tespiti için reseptör sensörler kullanılmaktadır (Subrahmanyam vd. 2002).

Promoter ile reporter genlerin indüksiyonu, çevrede kirletici varlığın ilk indikatörü olarak biyosensör üretimi için kullanışlı olabilir. Hücreler toksik maddelere maruz bırakıldığında, burada redüksiyon (negatif sinyal) veya aktivasyon (pozitif) olabilir (reporter-protein üretiminde) (Ramanathan vd. 1997).

Gıda ve çevre kontrolünde, bakteriyel toksinler ve mikotoksinler için çok sayıda spesifik sensör geliştirilmektedir (Tran Minh ve Pandey 1992, Guilbault 1993, Carter 1994, Palleschi 1997, Delehanty ve Ligler 2002). Böylece mısırda aflatoksin B analizi için optik sensör geliştirilmiştir (Boiarski 1996).

Clostridium botulinum toxin A'nın tespiti için hızlı ve duyarlı immünosensör geliştirilmiştir. Toksin rodaminle işaretli olarak bir dakika içerisinde en düşük 5 ng/mL konsantrasyonunda tespit edilmiştir. Reaksiyon oldukça spesifiktir ve tetanus toksinine karşı yanıt gözlenmemiştir (Ogert vd. 1992).

2.2.11 Mikroorganizmalar

Salmonella, "total fekal koliformlar" ve "total fekal streptococci" gibi indikatör bakteriler su ve atık sulardaki olası patojen varlığı ve fekal kontaminasyon riskinin belirlenmesinde kullanılmaktadır (Toze 1999).

Campylobacter, *Aeromonas* ve *Yersinia genera* (Pianetti vd. 1998) gibi diğer patojenik mikroorganizmalar ve bakteriyofajlar su kaynaklarının viral kontaminasyon işareti için daha uygun olduklarından dolayı suyun mikrobiyal niteliği için indikatörler olarak çeşitli gruplar tarafından öne sürülmüştür (Contreras-Coll vd. 2002).

Mikroorganizmalar için geleneksel analitik metotlar koloni oluşturan birim (CFU) sayımına dayalıdır ve seçici kültür, biyokimyasal ve serolojik karakterizasyon gerekir (Ercole vd. 2002). Çoğu durumlarda, zenginleştirme basamağına ihtiyaç duyarlar. Bu metotlar duyarlı ve seçicidir. Ancak iyi sonuç alınması için haftalar gerekir.

Nükleik asitlerin proliferasyonu ve immün bazlı tespit teknolojileri patojen bakteri ve virüslerin duyarlı ve spesifik olarak tespit edilmesini sağlayan sistemlerdir.

DNA tespiti, immünolojik tespitlerden daha spesifik olabilir ve bu sensitivite PCR (Polimeraz Zincir Reaksiyonu) metotları ile kombine olarak gelişebilir.

Diğer yandan immünolojik tespit, DNA tespitinden daha güçlü ve hızlıdır. Ayrıca sadece kontamine edici organizmaları değil bunların biyotoksinlerini de tespit edebilir (Iqbal vd. 2000).

Koubova (2001) altın sensör yüzeyinde immobilize edilen antikorlara dayalı SPR sensör kullanarak *Salmonella enteriditis* ve *Listeria monocytogenes'in* tespitini açıklamıştır. Salmonella ve Listeria, sensör ile 10^6 hücre/ml konsantrasyonlarında tespit edilmiştir.

Hasebe (1997) atık sudaki *E.coli*'nin tespiti için amperometrik tirozinaza dayalı biyosensörü tanımlamıştır. Tespit, mikrobiyolojik olarak salisilik asitten üretilen polifenolik bileşiklerin tirozinaz ile katalizlenen oksidasyonuna dayalıydı ve bunu takiben sinyal amplifikasyonu zenginleştirme basamağından sonra sensör 10^3-10^4 hücre/ml tespit yeteneğine sahipti.

2.2.12 Metaller

Cu, Cd, Hg ve Zn gibi ağır metallerin yüksek toksisiteleri, çevredeki artışları ve özellikle denizlerdeki canlılarda biyoakümülasyonları nedeniyle belirlenmeleri çok önemlidir (Krawczynski vel Krawczyk 2000). Metaller genellikle güçlü asitlerle parçalandıktan sonra belirlenirler. İyon kromatografi gibi analitik teknikler metallerin biyolojik sistemlere tehlikeli olan ve tehlikeli olmayan fraksiyonları arasında ayırım yapamaz (Rasmussen vd. 2000). Hücrelerin kullanıldığı sensörlerin avantajı metal iyonlarının sadece tehlikeli fraksiyonları ile reaksiyona girmesidir.

Toksik metallerin gözlenmesi için bakteriyel hücrelere dayalı biyosensörler geliştirilmiştir.

Durrieu ve Tran – Minh (2002) ağır metallerin belirlenmesi için *Chlorella vulgaris* mikroalginin dış membranında bulunan AP'nin inhibisyonuna dayalı bir biyosensör tanımlamışlardır. Mikroalg hücreleri optik fiberin uç kısmının önüne yerleştirilen hareketli membranda immobilize edilmiştir.

Krawczynski vel Krawczyk (2000) potansiyometrik biyosensör oluşumunda pH, elektrod yüzeyinde PVC tabakasında immobilize edilen üreaz enzimi (üre hidrolizini katalizleyen) üzerinde civa ve diğer ağır metal iyonlarının inhibisyon etkisini çalışmıştır.

Diğer bir üreaza dayalı optik sensör uygulaması (civanın düşük seviyelerde gözlenmesi için) Yerian vd. (1988) tarafından belirtilmiştir. İyon duyarlı alan etkili transistor (ISFET)'in yüzeyinde Nafion filmde immobilize edilen üreaz Volotovsky vd. (1997) tarafından ağır metal ölçümü için kullanılmıştır. Negatif yüklü polimer içinde enzim immobilizasyonu, polimetrik matriksde katyon akümülasyonu nedeniyle metallerin inhibisyon etkisindeki artışa neden olduğu görülmüştür. Spesifik eklentiler ve seçici yıkma tekniklerinin kombinasyonu üreaza dayalı biyosensörü sadece civaya duyarlı yapmıştır.

Spesifik bir metalin belirlenmesi için rekombinant bakteriyel sensörler kullanılmıştır. Promotorların reporter genlerle birleşmesini uyaran spesifik biyosensörler (lusiferaz gibi biyoluminisens proteinleri için kod) kimyasal analiz metodlarından ve nanspesifik toksisite biyosensörlerden daha duyarlıdır (Petanen ve Romantschuk 2002). Işık yayılması fotometreler, illuminometreler ve charge-coupled aletlerle tespit edilebilir (Ramanathan vd. 1997).

Rekombinant luminesent bakteriyel sensörler Ivask (2002) tarafından topraktaki kadmiyum, çinko, civa ve kromun tehlikeli olabilecek düzeylerde belirlenmesi için kullanılmıştır. Bu çalışmada, iki bakteriyel rekombinant ağır metal sensörü iki farklı reseptör-reporter sistemine dayalı olarak yapılmıştır.

Birincisi Zn^{2+}, Cd^{2+} ve Hg^{2+} ile, diğeri ise Cr(VI) ve Cr(III) ile uyarılmıştır. Bu bakteriyel sensörler bir ağır metale spesifik olarak kullanılamamıştır, bazı hedef olmayan metallere de yanıt vermiştir.

Bir diğer örnek, *E.coli*'de mer-lux gen füzyonu ile topraktaki civanın belirlenmesi içindir. Mer-promotorü Hg(II) biyosensör bakterisinin sitoplazmasında bulunduğunda aktive olur, MerR'ye bağlanır, bu lux geninin transkripsiyonu ile sonuçlanır ve ardından ışık yayılır (Rasmussen vd. 2000).

2.2.13 Nitrat

Musluk suyundaki NO_3^- (Nitrat)'ün belirlenmesi için immobilize denitrifikasyon bakterisi içeren biyosensör uygulanmıştır. Reaksiyon hücresinde NO_3^-'ün redüksiyonu yolu ile N_2O (Nitrus Oksit) oluşmuştur ve N_2O mikroelektrod ile belirlenmiştir (biyosensörün algılayıcı elementi) (Larsen vd. 1997).

2.2.14 Biyokimyasal oksijen ihtiyacı

Biyokimyasal oksijen ihtiyacı (BOD veya BOD_5) 5 gün, 20 °C'de organik atıkları etkisiz hale getirmek için gereken Oksijen olarak tanımlanır. Suda biyolojik olarak parçalanabilir organik maddenin miktarını göstermek için kullanılan bir parametredir (Abdelghani 2001). Biosensörlerle BOD'nin hızlı tespiti sağlanabilir.

Bu sensörlerin genel özelliği, gözenekli selüloz membran ve gaz geçirgen membran arasında sıkıştırılmış, biyolojik tanıma elementi olarak organik substratı biyooksidize edebilen mikrobiyal filmden oluşmasıdır. Yanıt çoğunlukla çözünmüş oksijen konsantrasyonunda değişim veya ışık yayılmasıdır (Liu ve Mattiasson 2002). BOD sensörlerin çoğu bakteriyel solunum hızını ölçmeye dayalıdır. Genellikle Clark tiptir (Clark tarafından 1956'da geliştirilen çözünmüş oksijen ölçümü için amperometrik bir sensör) (Liu ve Mattiasson 2002).

2.2.15 Biyoremediasyon

Kompleks organik molekülleri basit inorganik bileşenlere dönüştürmek için mikrobiyal kapasitenin bir uygulamasıdır.

Gıda bulunması, metal iyonları, pH, çözünmüş oksijen ve sıcaklık gibi parametreler bakteri gelişimini etkiler. Bu parametreleri izleyen biyosensörler biyoremediasyon proseslerinin kontrolüne yardım edecektir.

Farklı moleküler biyosensörler Purohit tarafından gözden geçirilmiştir (Purohit 2003). Bu biyosensörler lusiferaz ekspresyon sistemini kullanırlar. Moleküler biyosensördeki biyolojik bileşen rekombinant plazmiddir. Spesifik bir promotora sahiptir.

2.2.16 Biyosensörler ayrışma metotlarının detektörleri olarak

Bazı karışımlar kromatografi ile ayrılmak için fazla karmaşıktır. Biyosensörlerde ise bazı bileşiklerin tespitinde seçicilik yoktur. Bu iki metodun kombinasyonu, bu metotların tek başlarına kullanıldıklarında tespit edemediği molekülleri tanıyabilir (Fishman vd. 1998).

Fishman (1998) kimyasal ayrışma ile canlı sistemlerin, tüm hücrelerin, membran reseptörlerinin ve enzimlerin kullanıldığı biyosensörlerin kombinasyonu ile ilgili örnekler sunmuştur.

2.3 Ticari Biyosensörler

Tıbbi uygulamalar için satışların %90'ı glukoz tespit eden biyosensörlerden gelmektedir (Alocilja ve Radke 2003).

Ancak gıda, tarım, ordu, veterinerlik ve çevre gibi alanlarda hala potansiyel pazar belirlenmektedir.

BIACORE 3000 biyosensörü SPR prensibine dayalıdır, biyomoleküler interaksiyonları inceler. Metodun avantajı reaksiyona giren maddelerin işaretlenmesine gerek olmamasıdır.

Diğer SPR ticari biyosensörleri Windsor Scientific, Ltd tarafından sağlanmıştır (IBIS sistemi) ve Nippon Laser and Electronics Labs CELLIA sensörü piyasaya çıkarmıştır. CELLIA sistemi hücre veya makromoleküller için yapılandırılabilir.

REMEDIOS (hücreye dayalı biyosensör) kontamine toprak tanısı için uygulanabilir. Biyosensör organizmasının metabolik aktivitesini etkileyen toksisite seviyesini teşhis eder. Normal koşullar altında, biyosensör görünür ışık yayar. Işık üretimi, metabolik aktivite ile doğru orantılıdır. Eğer örnek (su, toprak, sediment) toksisiteye sahipse, biyoluminesens toksisite seviyesiyle doğru orantılı olarak azalacaktır.

Günümüzde satışların %64'ünü evde bakım ve hasta başı testleri olmak üzere klinik teşhis ve tıbbi aletler oluşturmaktadır (Socorro-Leranoz vd. 2019) (Çizelge 2.1).

Çizelge 2.1 Global biyosensör pazarı (Socorro-Leranoz vd. 2019)

Sektör	**%**
Klinik teşhis	53
Tıbbi aletler	11
Endüstriyel proses kontrol	11
Veterinerlik / Tarım	8
Savunma	6
Çevre	5
Araştırma	3
Robotik	2
Diğerleri	1

2.4 Gelişmesi Beklenen Alanlar

2.4.1 Nanoteknoloji

Nanoteknoloji; fizik, kimya, biyoloji, mühendislik ve mikroelektronikte yeni ortaya çıkan teknikleri nano düzeyde kullanma yeteneğindedir. Doğadan esinlenerek moleküler kendiliğinden bir araya gelme nanoyapıların sentezi için önerilmiştir. Proteinler, lipitler ve nükleik asitler gibi biyomateryaller kendiliğinden bir araya gelebilir (Wink vd. 1997, Tiefenauer ve Ros 2002).

Nanoyapılar amperometrik immünosensörlerin geliştirilmesinde uygulanabilir.

Metal nanopartikülleri büyüklük ve kompozisyon olarak farklıdır, farklı SPR'lerine uygun olarak farklı dalga boylarında ışık yayarlar (Taton vd. 2001).

Lazarides, altın kolloidal nanopartikül agregatları geliştirmiştir (DNA'nın kısa parçaları ile bağlanmıştır). Bu materyaller DNA hibridizasyonundan sonra kırmızıdan maviye renk değişimi göstermektedir. Bu renk değişimi altın nanopartiküller arasında elektromanyetik temas nedeniyle olmaktadır.

Lundstrom biyosensör olarak balık ve kurbağa derisinde bulunan, pigment içeren hücrelerin kullanımını önermiştir. Hücre membran reseptörleri, G protein bağlı reseptörleri, pigment partiküllerinin agregasyonunu kontrol ederler, bu ölçüm için kolaydır. Bu doğal nanosistem, çeşitli biyokimyasal modifikasyonlar yoluyla yeni biyoanalitik sistemler için umut vericidir.

2.4.2 Multianalit belirlenmesi

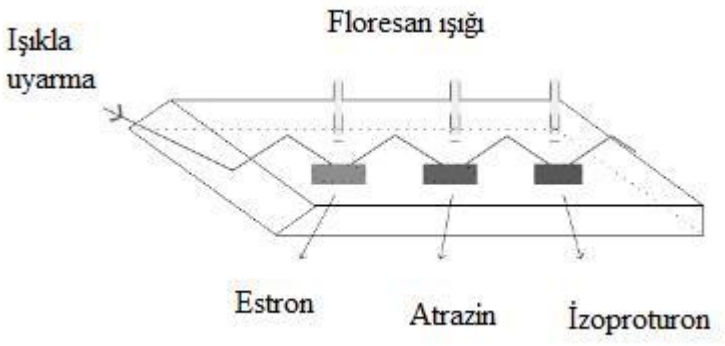
Klinik tanıda çoklu örneklerin eş zamanlı belirlenmesi büyük bir sorundur (Ramanathan ve Danielsson 2001).

Yeni farmasötiklerin araştırılmasında, yüksek verimlilikli tarama sistemlerinde direk teşhis için çok kanallı biyosensörler gerekmektedir.

Çok kanallı biyosensörlere örnek olarak Berger tarafından önerilen BIAcore sisteminin kullanıldığı, dört ayrı immünoreaksiyonun eş zamanlı incelenmesi için bir aletin uygulanabilirliğini göstermektedir.

Düzlemsel array immünosensör, detektör olarak CCD (Yük Bağlamalı Düzen) ve ışık kaynağı olarak diyot lazer ile donatılmıştır, çoklu bileşiklerin belirlenmesi (örneğin tek bir örnek analizindeki virüs, toksinler ve bakteriyel sporlar) veya çoklu örneklerdeki tek bir analitin eş zamanlı belirlenmesi için uygulanmaktadır (Wadkins vd. 1998, Rowe-Taitt vd. 2000).

Barzen (2002) ve Rodriguez – Mozaz, aynı örnekteki farklı analitlerin eş zamanlı belirlenmesi için RIANA (Toplam İç Yansıma Floresans)'ya dayalı multianalit immünosensörün uygulanmasını tanıtmıştır (Şekil 2.3).



Şekil 2.3 Optik multianalit dönüştürücü

2.4.3 Minyatürleştirme

Düşük örnek hacmi, daha az reaktif tüketimi, daha az atık oluşumu ve örnek verimliliğini artırma imkanı nedeniyle analitik sistemlerin minyatürleşmesi yönünde bir eğilim vardır (Sequeira vd. 2002). Minyatürleştirmenin faydalarından dolayı sensörler

ve biyosensörler maliyeti düşük, kimyasal örneklerin hızlı ve güvenilir ölçümü için kolaylıkla kullanılabilen taşınabilir analitik aletler olabilir.

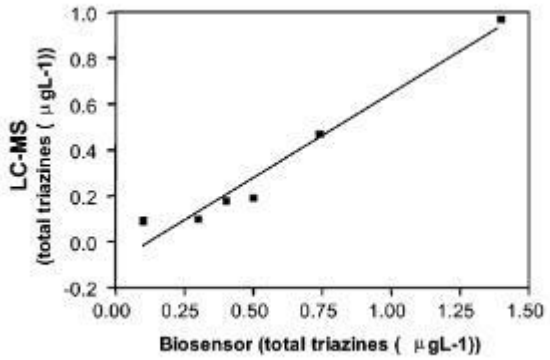
Minyatürleştirme eğilimi mikrofabrikasyon ve nanofabrikasyon tekniklerinin adaptasyonunu gerektirmektedir. Ayrıca, sensörün pratik uygulaması için pompa, filtre, membran ve örnek şartlandırması gibi analiz sistemlerinin kullanılması gerekir (Ziegler ve Gopel 1998).

2.4.4 Network sistemleri

Kablosuz iletişim, akarsu, göl, kuyu ve hatta su arıtma tesislerinde geniş ağlı çok sayıda otonom analitik santrallerin ortaya çıkmasını sağlar. Bu birimler, çevrenin kalitesinin belirlenmesinde anahtar kimyasal parametreler hakkında yüksek kalitede bilgi sağlayacaktır (Rodriguez-Mozaz vd. 2004). Bu network sistemi ile uzaktan inceleme mümkün olacaktır.

2.4.5 Validasyon

Biyosensör ölçümleri kimyasal analiz sonuçları ile karşılaştırılarak doğrulanmaktadır (Sticher vd. 1997) (Şekil 2.4).



Şekil 2.4 Triazinin belirlenmesinde immünosensör ve LC/MS (Sıvı Kromatografi/Kütle Spektroskopisi) ile elde edilen sonuçlar arasındaki korelasyon (Mallat vd. 2001)

Thevenot (2001) biyosensör performansını karakterize etmek amacıyla çeşitli analitik parametreler önermiştir. Bu parametreler:

1) Kalibrasyon karakteristikleri: duyarlılık, çalışma ve lineer konsantrasyon aralığı, tespit limiti (LOD) ve ölçüm limiti (LOQ)
2) Seçicilik ve güvenilirlik
3) Kararlı hal, süreksiz cevap zamanı ve örnek verimliliği
4) Yeniden üretilebilirlik, kararlılık ve raf ömrü

Uluslararası geçerliliği kabul edilen AOAC (Association of Official Analytical Chemists), ISO (Uluslararası Standartlar Teşkilatı) ve IDF (Şiddet-Süre-Frekans) prosedürleri kullanılarak validasyon sağlanır (Patel 2002).

2.4.6 Biyomühendislik

Biyosensör alanında genetik mühendisliği iki alana odaklanır:

1) Genetiği değiştirilmiş reseptör moleküller
2) Genetik olarak dönüştürülmüş hücreler

Sensörün seçici reseptör birimleri hücre altı düzeyde bileşenlerden türetilir. En yaygın uygulanan biyomoleküller enzimler, antikorlar ve reseptörlerdir (Kuswandi 2001).

Son geliştirilen metod spesifik olarak hedef moleküle bağlanan antikor benzeri moleküller oluşturmaktadır (phage display). Bu teknik ile peptid ve antikorların yüksek miktarda üretimi sağlanır (Iqbal vd. 2000).

Önce izole edilir, açığa çıkan peptid sekansının belirlenmesi için kolaylıkla incelenebilir ve ardından stabilitesi veya afinitesini geliştirmek için manipule edilebilir.

Faj döngüsünde, peptidlerin veya büyük moleküllerin kütüphanesi, antijen bağlama fragmentleri (Fabs) veya tek zincir değişken fragmanları (scFVs) içerir, bakteriyofaj popülasyonu içinde kodlanır, yüzeyde onları eksprese eder (Iqbal vd. 2000). Bu kütüphaneler herhangi bir antijen için spesifik uygun antikorları veya peptidleri seçmek veya izole etmek için uygulanabilir.

Rekombinant luminesent bakteriyel sensörler kadmiyum, çinko, civa ve krom'un belirlenmesi için Ivask (2002) tarafından kullanılmıştır. Hg(II) biyosensör bakterisinin sitoplazmasında bulunduğunda merR'ye bağlanır, mer promotoru aktive olur, lux genlerinin transkripsiyonu ile sonuçlanır ve ardından ışık parlar.

2.5 Elektrokimya

Elektrokimya kısaca, maddenin elektrik enerjisi ile etkileşmesi ile birlikte ortaya çıkan kimyasal dönüşümlerle fiziksel değişimleri ve kimyasal enerjinin elektrik enerjisine dönüştürülmesini inceleyen bilim dalı olarak tanımlanmaktadır.

Elektrokimyasal bir tepkimenin oluşabilmesinde üç ana bileşen rol oynar:

1. İncelenmekte olan maddeyi içeren çözelti (elektrolitik çözelti elektriksel iletkenliği sağlamak amacıyla kullanılmaktadır)
2. Bu maddenin kimyasal dönüşüme uğraması amacıyla tasarlanan elektrot sistemi
3. Bu elektrotları birbirine bağlayan bir çevirim sistemi

Başlıca iki tür iletkenlik bulunmaktadır:

1. Metalik iletkenlik: Metallerdeki değerlik elektronların serbestçe hareketi sonucu meydana gelen iletkenliktir.
2. Elektriksel iletkenlik: Elektrik enerjisi madde içerisinde elektrik yükünün bir noktadan diğer bir noktaya elektriksel olarak taşınması olayıdır.

Elektrolizde, elektrik enerjisi kullanılarak kimyasal bir değişim meydana getirmek amaçlanmaktadır. Michael Faraday tarafından elektroliz kanunları olarak adlandırılan Faraday kanuna göre "bir elektrotta değişikliğe uğrayan maddenin ağırlığı elektrottan geçen elektrik miktarı ve maddenin eşdeğer gram ağırlığı ile orantılıdır" şeklindedir.

Faraday kanunu matematiksel olarak:

Q= Ixt

Q: Değişikliğe uğrayan madde miktarı

I: Akım şiddeti

T: Zaman (s)

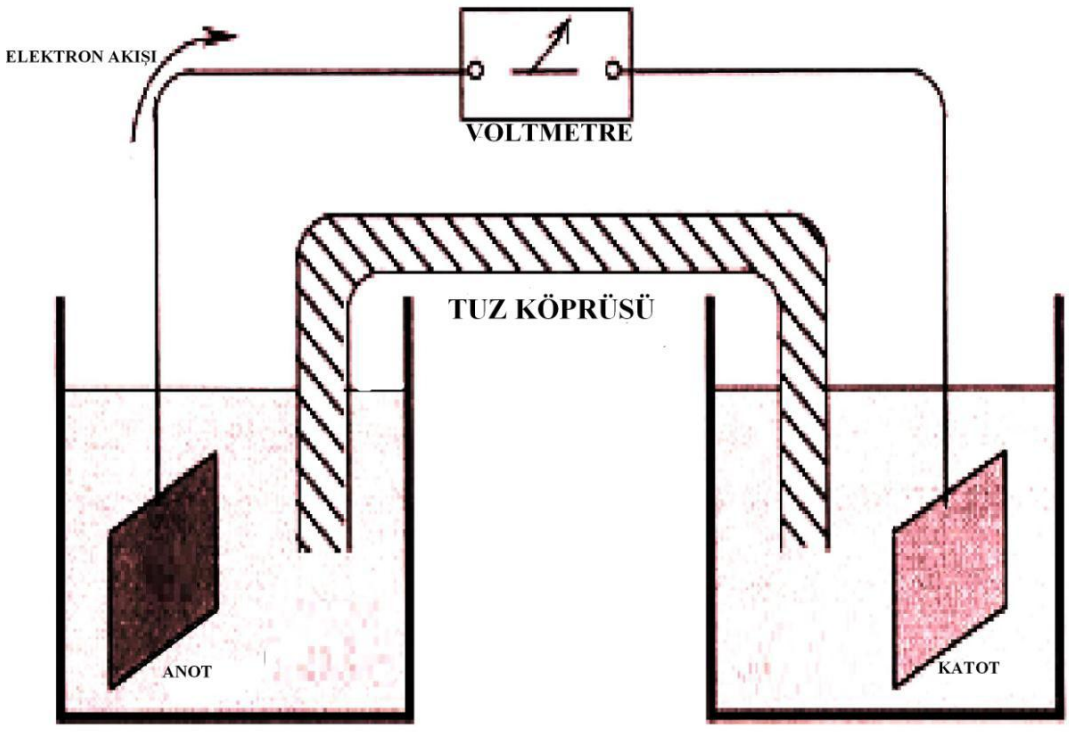
Şeklinde ifade edilmektedir (Sienko and Plane 1983, Atkins and Jones 2008, Petrucci vd. 2015).

Elektrokimyasal metotta, elektriksel sinyal ile uyarılmış olan çözeltinin farklı bir özelliği ölçülmektedir. Elektrokimyasal uygulamalar, elektrik akımı ve kimyasal proses temelleri ile kurulmuş olan teknolojilerdir. Bu proseslerin yüzey kaplamadan batarya anot-katot üretimine, kimyasal sentezden çözelti içinde metal giderimi ve kazanımına kadar birçok uygulama alanı bulunmaktadır.

Elektrokimyasal prosesler; yaygın kullanım alanının bulunması, oldukça önemli bir ekonomik değere sahip olması ve çevre dostu olması gibi nedenlerle oldukça önemli uygulamalardır. Enerjiden savunma sanayisine, metalden otomotiv sektörlerine kadar elektrokimyasal prosesler faal olarak kullanılmaktadır. Dolayısıyla bu alanların geliştirilmesi, optimizasyonun sağlanması ve gerekli olan ekipmanların üretim yöntemlerinin belirlenmesi açısından AR-GE çalışmalarının yapılması önem arz etmektedir.

2.5.1 Elektrokimyasal hücreler

Elektrokimyasal bir hücre, kendi kendine oluşan bir redoks reaksiyonu sonucu ortaya çıkan enerji ile elektrik akımı üretilen veya elektrik akımı kullanılarak redoks reaksiyonları oluşturulan düzeneklerdir. Bu tür bir hücre, Galvanik veya Voltaik hücre olarak da adlandırılabilmektedir. Elektrik akımı oluşturmak üzere kimyasal reaksiyonların kullanıldığı hücreler galvanik hücreler veya kısaca pil olarak adlandırılmaktadır. İletkenlik, akım, potansiyel vb. elektrokimyasal ölçümlerin ve sıyırma, elektro-depozisyon ve korozyon gibi elektrokimyasal işlemlerin gerçekleştirildiği bu hücreler cam veya polimer ve teflon gibi inert malzemelerden 10-20 ml hacimlerinde üretilmektedir. İletken tampon çözeltiler ile çalışılmaktadır. Elektrokimyasal hücreler kolaylıkla laboratuvar koşullarında hazırlanabileceği gibi hazır olarak da satın alınabilirler. Elektrokimyasal hücrenin basit gösterimi şekil 2.5'de yer aldığı gibidir.



Şekil 2.5 Elektrokimyasal hücrenin basit gösterimi

Galvanik hücrede oksidasyon anotta, redüksiyon ise katotta gerçekleştirilmektedir.

Galvanik hücrede bulunan metallerin farklı yarı-hücre reaksiyonlarına göre çözünmelerinden kaynaklı çözünme hızları farklıdır. Bu şekilde her metal ile elektrolit arasında da farklı bir elektrot potansiyeli oluşmaktadır. Örneğin bir tel ile iki metal arasında elektriksel bir bağlantı sağlanması durumunda metaller arasında elektrik akışı gerçekleşebilmektedir.

Daniell hücresi, elektrotları çinko ve bakır olan ve önce çinko sülfat, sonra da bakır sülfat çözeltilerine daldırılmış bir elektrokimyasal hücre olarak bilinmektedir. Daniell hücresinde anot ve katotta gerçekleşmekte olan yarı-reaksiyonlar şu şekildedir:

Çinko elektrotta (anot): $Zn_{(s)} \rightarrow Zn^{2+}_{(aq)} + 2e^-$

Bakır elektrotta (katot): $Cu^{2+}_{(aq)} + 2e^- \rightarrow Cu_{(s)}$

Anotta pozitif yüklerin birikimini önlemek amacıyla, tuz köprüsü olarak adlandırılan ve bir elektrolit ile doldurulmuş U-tübü ters şekilde hücre içerisine yerleştirilmektedir. Bu şekilde iyonların akışı ve elektrik akımının üretilmesi sağlanmaktadır.

Anot ve katot arasındaki potansiyel bir voltmetre aracılığıyla ölçülebilmektedir. Elektrokimyasal hücre potansiyeli, elektromotor kuvvet (emk) olarak da adlandırılmaktadır.

Bir hücre diyagramının çizilmesi ile elektronların elektrokimyasal hücrede izlediği yolu belirtmek mümkündür. Örneğin, Daniell hücresi için hücre diyagramı şu şekilde gösterilebilir:

$Zn(s) \mid Zn^{2+}_{(1M)} \mid \mid Cu^{2+}_{(1M)} \mid Cu(s)$

Öncelikle Zn'nin yani anotta oksitlenmiş olan metalin redüklenmiş formu belirtilir. Bu form iki faz arasındaki sınırı simgeleyen düşey bir çizgi ile oksitlenmiş formundan (Zn^{2+}) ayrılır. Hücredeki tuz köprüsünü ise yan yana iki düşey çizgi simgelemektedir. Son olarak, katotta redüklenen Cu'nun oksitli formu (Cu^{2+}) ve yanına bir düşey çizgiyi

takiben redüklenmiş formu yazılmaktadır (Sienko and Plane 1983, Atkins and Jones 2008, Petrucci vd. 2015).

Bir elektrokimyasal hücrede elektrot potansiyeli demek elektrodun sahip olduğu e^- alma veya verme eğilimi olarak tanımlanmaktadır. Her elektrokimyasal hücre iki yarı hücreden meydana gelmektedir. Yarı hücrelerin potansiyelleri ise Nernst eşitlikleri ile hesaplanmaktadır.

Nernst eşitliği:

$E=E^0$-RT/Nf ln K

R: Gaz sabiti

T: Mutlak sıcaklık

N: alınıp verilen e^- sayısı

F: Faraday sabiti

Şeklinde olup sabit sayılar tek bir sayı olarak ifade edilirse;

$E=E^0$+0.0591/n log K şeklinde özetlenmektedir.

Yarı hücrelerin ayrı ayrı potansiyelleri hesaplandıktan sonra genel olarak E hücre toplam potansiyeli;

$E_{hücre} = E_{anot} - E_{katot}$ formülü ile hesaplanmaktadır.

Hesaplanan $E_{hücre}$ – olarak hesaplanırsa reaksiyonun yazılan yönde yürüyemeyeceğini, + olarak bulunursa reaksiyonun yazılan yönde yürüyebileceğini ifade etmektedir (Sienko and Plane 1983, Atkins and Jones 2008, Petrucci vd. 2015).

Elektrokimyasal tepkimelerin oluşma aşamasında elektrotlarda iki farklı süreç gerçekleşmektedir.

1. *Faradayik süreçler*: Elektrot ve çözelti ara yüzeyinden yük geçişi yapılması ile yükseltgenme ve indirgenme gerçekleşmesidir. *Faradayik akım* ($İ_f$) reaksiyon sırasında analiz edilecek maddeden kaynaklanmaktadır.
2. *Faradayik olmayan süreçler*: Bazı durumlarda ise Faradayik süreçlerden farklı olarak elektrot yük geçişinin gerçekleşmediği potansiyel aralığında bulunmaktadır. Fakat elektrot-çözelti ara yüzeyinin yapısında adsorbsiyon gibi bazı işlemlerden dolayı değişiklik oluşabilir. Bu durumda yük geçişine bağlı olmaksızın akım değerlerinde değişiklik oluşur. *Kapasitif akım* bu süreçlere verilebilecek en iyi örnektir. Elektrot ve çözelti arasındaki yüzeyin iki kenarından potansiyelin uygulanması sırasında, dizilen karşıt yükler ile meydana gelen akım *kapasitif akım* olarak adlandırılmaktadır. Elektrodun elektrolit çözeltisine daldırılması ve negatif yükle yüklenmesi ile birlikte çözelti içerisindeki pozitif yüke sahip iyonlar elektrot tarafına geçerler ve böylelikle elektrot ve çözelti arasındaki yüzeyde bir gerilim farkı meydana gelir. Ters işarete sahip olan yüklerin elektrot-çözelti ara yüzeyinin iki tarafında birden toplanması sonucu bu bölgede elektriksel bir çift tabaka meydana gelmektedir. Bu kapasitörün yüklenmesi amacıyla ortamda yükseltgenebilecek ya da indirgenebilecek bir madde olmadan da akım oluşabilmektedir. Oluşan akım reaksiyondan bağımsız olarak sistemden kaynaklanmaktadır ve *kapasitif akım* (İc) olarak adlandırılmaktadır. *Kapasitif akım* ne kadar düşük ise, ölçümler de o derecede doğru yapılabilmektedir.

2.5.2 Elektrokimyasal uygulamalarda kullanılan elektrotlar

Elektrokimyasal hücrelerde iki veya üç elektrot bulunmaktadır. Bu elektrotlar analit ve destek elektrolitini içeren çözeltiye daldırılmış haldedir. İkili elektrot sistemi yalnızca karşıt elektrot ve çalışma elektrotundan oluşmakta, üçlü elektrot sistemi ise çalışma, karşıt ve referans elektrottan oluşmaktadır. Bir pilde elektrotların üretildiği yer (-) uç yani anot, tüketildiği yer ise (+) uç yani katot olarak adlandırılmaktadır.

2.5.2.1 Referans elektrotları

Elektroanalitik uygulamalar sırasında kullanılan elektrotlardan herhangi birinin yarı-hücre potansiyeli bilinmeli, ortamdaki çözelti içeriğinden etkilenmemeli ve stabil kalması arzulanmaktadır. Bu amaçla "referans elektrot" kullanılmaktadır. Referans elektrot ile birlikte kullanılan diğer elektrot ise "indikatör elektrot"tur. İndikatör elektrot, çözelti içindeki molekül veya iyonların derişimine bağlı olarak hareket etmektedir (Beşergil 2019).

Referans elektrot kolaylıkla hazırlanabilmekte ve küçük akımların var olması durumunda dahi potansiyeli sabit ve tekrarlanabilir özelliktedir (Beşergil 2019).

Elektrokimyasal ölçümlerin raporlanması aşamasında nasıl bir referans yarı-hücrenin kullanıldığı belirtilmek durumundadır. Böylelikle ortaya çıkan değer ile farklı bir referans yarı-hücreden alınan ölçüm arasında karşılaştırma imkanı sağlanmaktadır (Beşergil 2019).

Referans elektrotlar üç tiptir:

1. Redoks elektrotlar

- İnert metal elektrodu: Platin (Pt)
- Normal hidrojen elektrodu (NHE)

2. Birinci tip elektrotlar

Metal ve katyon temas durumundadır: M I M^{+n}

Potansiyelin belirlenmesi direk olarak çevre ve elektrotta yüzeyde denge halindeki bir reaksiyon tarafından olmaktadır. Bu grupta yer alan elektrotlar katı elektrot ve sıvı çevre olmak üzere iki fazlı sistemlerdir ve çözelti içeriğindeki bileşenlere bağlı dönüşümlüdür (Beşergil 2019).

Örnek: Ag I Ag^+

$Ag^+ + e^- \longleftrightarrow Ag$ (k)

3. İkinci tip elektrotlar

Metal, metal katyonu bulunduran ve çözünürlüğü az olan bir tuz ile elektrodun sarılmasına neden olan çözelti içindeki anyon

M I MX I X^{-n}

Çözelti içindeki anyon ile tuz fazı arasında oluşan dönüşümlü reaksiyon ile potansiyel belirlenir (Beşergil 2019).

Örnek: Gümüş / gümüş halojenürler (Ag/AgX)

M I MX I X^{-n}

Ag I AgCl (k) I Cl^-

$AgCl + e^- \longleftrightarrow Ag$ (k) + Cl^-

Örnek: Kalomel (civa / civa klorür; Hg/Hg_2Cl_2)

M I MX I X^{-n}

Hg I Hg_2Cl_2 (k) I Cl^-

$Hg2^{+2} + 2e^- \longleftrightarrow Hg$ (k)

Hg_2Cl_2 (k) + $2e^- \longleftrightarrow 2$ Hg + 2 Cl^-

Bu grupta yer alan elektrotlara verilebilecek diğer örnekler:

Civa /civa sülfat (Hg/Hg_2SO_4)

Bakır / bakır sülfat ($Cu/CuSO_4 \bullet xH_2O$)

Civa / civa oksit (Hg/HgO)

Ag/AgCl elektrot, gümüş klorür ve doygun potasyum klorür çözeltisi içerisine daldırılmış olan bir gümüş elektrota denmektedir (Beşergil 2019).

Yarı-hücre diyagramı: M I MX I X^{-n}

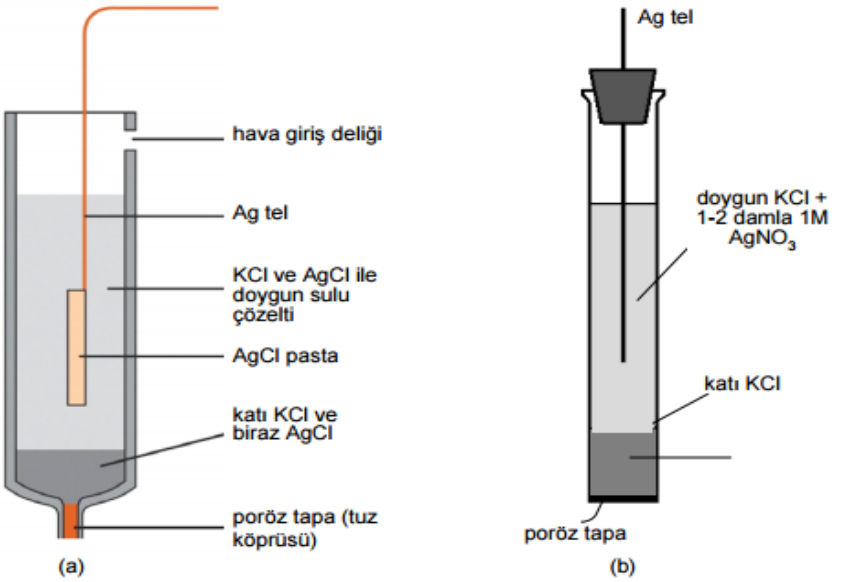
Ag (k) | AgCl (doygun), KCl (xM) ||

Denge reaksiyonu: $AgCl\ (k) + e^- \longleftrightarrow Ag\ (k) + Cl^-$

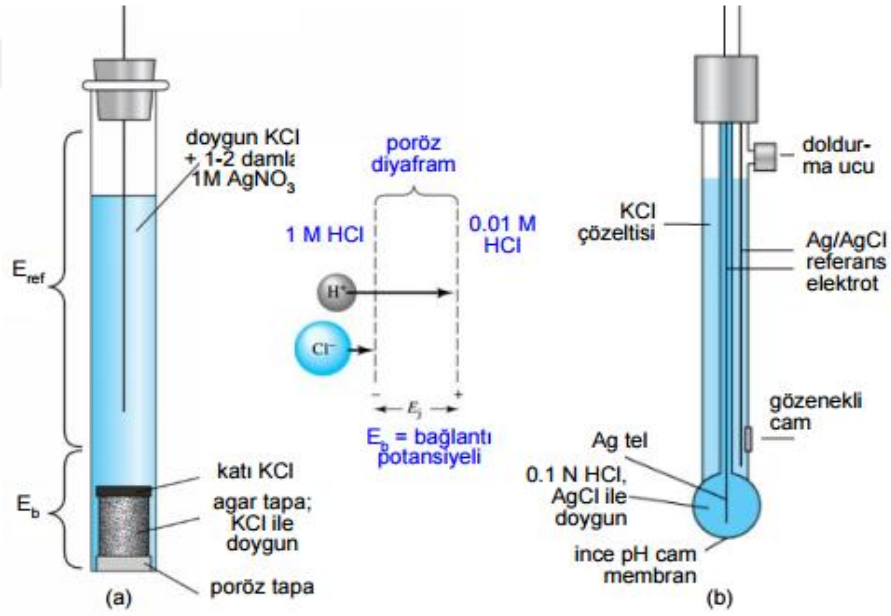
$E^0 = 0.222$ ($25\ ^0$ C, SHE)

Nernst eşitliği: $E = E^0 - 0.0591 \log a_{Cl^-}$

Gümüş klorür elektrotların ticari olarak temin edilmesi mümkün olduğu gibi laboratuvar koşulları altında da kolaylıkla yapılabilir. Elektrodun yapısı oldukça basittir ve şekil 2.6, 2.7'de yer verildiği gibi kolay bir şekilde hazırlanabilir. Şematize edildiği üzere elektrot, bir ucunda 10 mm'lik poröz cam disk barındıran pyreks bir tübün içerisine yerleştirilmiştir. Çözeltinin yarı-hücreden sızmasını önlemek amacıyla poröz diskin üstüne potasyum klorür ile doyurulmuş olan agar jelinden tapa konulmuştur. Tapanın hazırlanması için 4-6 g saf agar 100 ml su içinde çözdürülüp berrak bir çözelti elde edilene dek ısıtılır ve sonra da 35 g potasyum klorür eklenir. Çözeltinin sıcak şekilde tüpün içerisine aktarılır ve soğuduğunda elektriksel direnci düşük bir jel olarak katılaşır. Jelin üzerine bir tabaka katı potasyum klorür yerleştirilir ve tübün doygun haldeki potasyum klorür çözeltisiyle doldurulması sağlanır. Son olarak bir veya iki damla 1 M gümüş nitrat çözeltisi damlatılır ve çözelti içine yaklaşık 1-2 mm kalınlıktaki gümüş bir tel daldırılır (Beşergil 2019).



Şekil 2.6 (a) Bir Ag/AgCl elektrodun şematik görünümü, (b) laboratuvarda hazırlanabilen Ag/AgCl elektrodu (Beşergil 2019)



Şekil 2.7 (a) Tipik bir Ag/AgCl referans elektrotu, ve (b) bir cam indikatör ile bir Ag/AgCl referans elektrottan meydana gelen kombinasyon prob (Beşergil 2019)

Referans elektrodun sahip olduğu potansiyel, doldurma çözeltisi içerisindeki klorür iyonun konsantrasyonu ile ilişkilidir.

Doygun haldeki potasyum klorür çözeltisi ile hazırlanan elektrotun SHE'ye karşı 25 ^{0}C'deki potansiyeli bağlantı potansiyelinden kaynaklanan hatadan dolayı 0.199 V, sıvı bağlantısının olmadığı durumda ise 0.197 V civarındadır (Beşergil 2019).

2.5.2.2 Karşıt/yardımcı elektrotlar

Referans elektrot ile çalışma elektrotu arasında uygulanan gerilim farkını güvence altına almak amacıyla karşıt elektrot kullanılmaktadır. Referans elektrot ve çalışma elektrodu arasına potansiyel uygulanırken yardımcı elektrot sayesinde potansiyel sabit kalmaktadır. Akımın yönü çalışma elektrodundan yardımcı elektroda doğrudur (Yüce 2011).

Karşıt elektrot olarak çoğunlukla platin tel tercih edilmektedir. Karşıt elektrot inerttir ve ölçülen sonuçlar üzerinde herhangi bir etkisi bulunmamaktadır.

2.5.2.3 Çalışma elektrotları

Çalışma elektrotları, yüzeyinde analitin indirgenmesi veya yükseltgenmesi nedeniyle indikatör elektrotlar olarak da adlandırılırlar. Referans elektrotla birlikte kullanılırlar ve potansiyeli çözelti bileşimine bağlı olarak değişmektedir. Çalışma elektrotlarında, kullanılan çözeltiye bağlı olarak potansiyel çalışma aralıkları seçilmektedir. Örneğin civa elektrodunda 1 M H_2SO_4 çözeltisi ile (-0.8)-(+0.4) V aralığı, 1 M potasyum klorür çözeltisi için ise (-1.6) ile (+0.2) V aralığı kullanılmaktadır. Membran elektrotlar (cam, iyon seçici vb.) ve metal elektrotlar bu gruba örnek verilebilir. Metal olarak inert metaller (platin ya da altın gibi) kullanılabildiği gibi; karbondan, pirolitik grafite ya da camsı karbona; indiyum oksitten kalay oksit benzeri yarı iletken olan ya da civa filmi ile kaplanmış bir metale kadar kullanılabilmektedir (Yüce 2011).

İdeal bir çalışma elektrodunun sahip olması gereken özellikler arasında analit aktivitesindeki değişimlere tekrarlanabilir ve hızlı bir şekilde cevap verebilmesi yer almaktadır. Tersinir olarak yükseltgenme ile iyonlarını oluşturan Ag, Cd ve Cu gibi elementler kendi iyonlarını tayin etmekte kullanılırken; Au, Ir ve Pt gibi inert olan

elektrotlar birden çok oksidasyon basamaklarında yer alan iyonların konsantrasyonlarındaki farklılıkları takip etmek için kullanılmaktadır (Anonim 2016).

Membran elektrotlar ise belirli bazı iyonlara karşı oldukça duyarlı olan elektrotlar sınıfındadır. Cam elektrotların ucunda özel camdan yapılmış bir baloncuk bulunmaktadır ve H^+ iyonlarına duyarlı olup pH ölçümlerinde kullanılmaktadır. Baloncuğun içerisine genellikle 0.1 M'lık HCl çözeltisi konulmaktadır ve Ag/AgCl elektrot bu çözelti içerisine daldırılmaktadır. İki çözelti arasındaki konsantrasyon farkından kaynaklanıp oluşan potansiyel referans elektroda karşı okunmaktadır. Bu potansiyel farkı çözelti pH'sı ile doğrudan ilişkilidir (Anonim 2016).

$$e\ cam = e^0 cam - 0.0591 \log a_{H^+} = e^0 cam + 0.0591\ pH\ (25^0 C)$$

Cam elektrotun pH ölçümünde kullanılması aşağıdaki gibi gösterilebilmektedir.

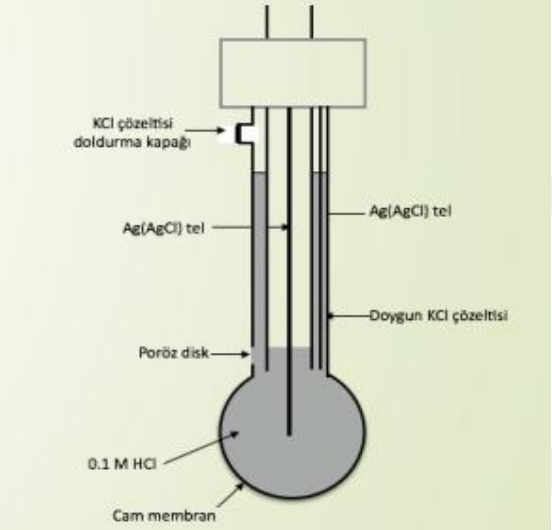
$Ag\ I\ AgCl_k\ I\ O.1\ M\ HCl\ I\ Cam\ I$ Çözelti II Kalomel

pH ölçümünde referans elektrot olarak kullanılan kalomel elektrotta ortaya çıkan emk kuvveti: $E = e_{Ag} + e_{cam} + e_{kalomel}$

pH'nın 10'un üzerinde olduğu ortamlarda elektrot H+ ile birlikte camın yapısında var olan alkali metal iyonlarındaki değişime de yanıt vermeye başlar ve böylelikle alkali hatası oluşur. pH'nın 1'den düşük olduğu ortamlarda ise cam elektrodun cam yüzeyinde bulunan merkezlerin H+ ile dolması ve sonuçta H+ değişikliğine yanıt vermekte zorlandığı düşünülmektedir. Bu hata da asidik hata olarak adlandırılmaktadır. Bu nedenlerden dolayı cam elektrot optimum pH 1-10 aralığında çalışabilmektedir (Anonim 2016).

Potansiyometrik olan titrasyonların bir başka dezavantajı ise normal titrasyona göre daha fazla vakit alıyor olmasıdır.

Cam elektrot (Şekil 2.8) çok hassas olması nedeniyle kullanımında dikkatli olmak gerekmektedir. Doygun KCl çözeltisi içerisinde muhafaza edilmelidir. Elektrodun sülfürik asit ve etanol gibi sıvı kaybına neden olan çözücüler içerisine, hidrofobik asit gibi camı çözen çözeltilere veya konsantre olan alkali çözeltilere daldırılmaması gerekmektedir. Elektrotların yıkanmasında organik çözücüler kullanılmamalıdır (Anonim 2016).



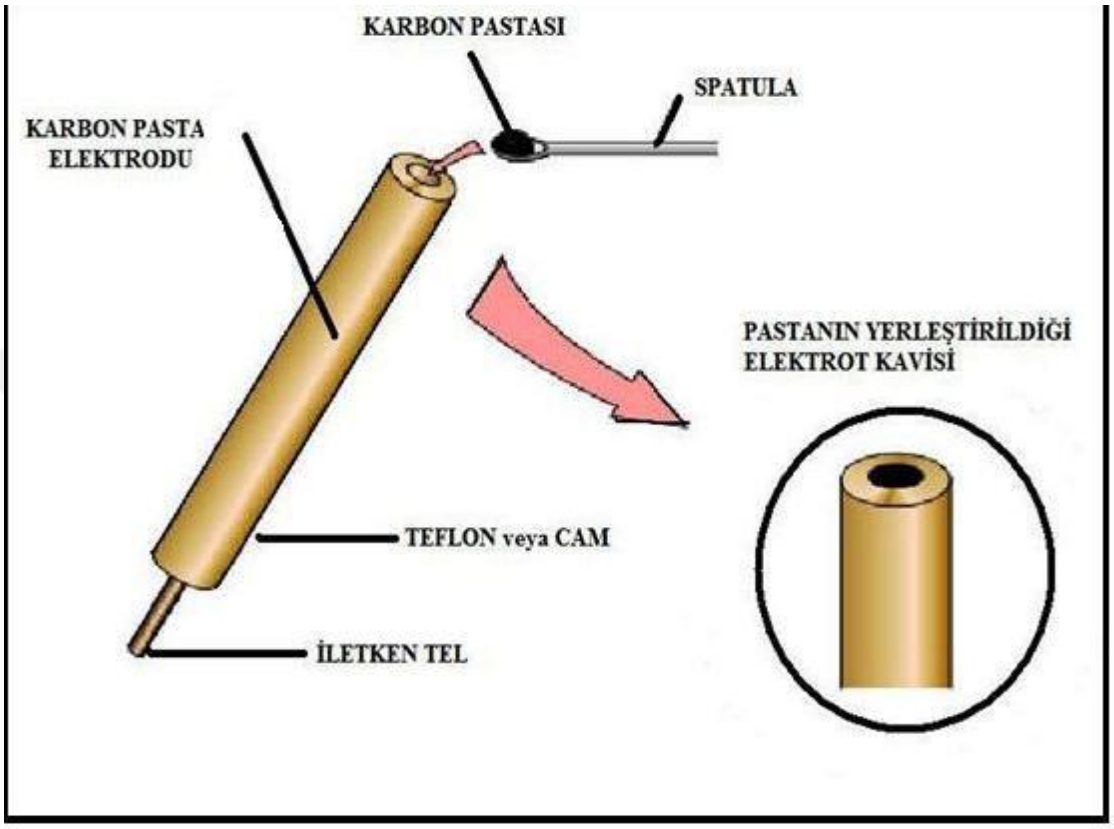
Şekil 2.8 Cam elektrot şeması

Karbon pasta elektrotları (CPE): Diğer katı-temaslı elektrotların hazırlanması oldukça uğraştırıcı olmasına rağmen CPE'ler oldukça kolay bir şekilde hazırlanabilmektedir. Elektrot yüzeyi yenilenerek pürüzsüz hale getirilip defalarca kullanılabilmektedir.

Karbon pasta elektrotlarının geniş potansiyel aralıklarında çalışabilmesi ve düşük maliyetli olması gibi avantajları da bulunmaktadır (Adams 1958).

CPE genellikle 7/3 ağırlık oranında grafit tozu ve mineral yağ karışımı şeklinde hazırlanmaktadır. Bu karışım 2-5 mm çapındaki cam ya da teflon boru içerisine yerleştirilmektedir. Elektriksel iletkenliğin sağlanması amacıyla diğer uçtan pirinç gibi iletken bir tel borunun 2/3'üne gelecek şekilde konumlandırılır. Elektrot yüzeyinin pürüzsüz hale getirilmesi için kaygan ve yumuşak olan bir zemin üzerinde sürtülerek

düzleştirilmesi gerekmektedir (Yüce 2011). Grafit tozu ve mineral yağ kullanarak hazırlanan bu karışıma kimyasal veya biyolojik katalizörler eklenebilmektedir (Şekil 2.9).



Şekil 2.9 Karbon pastası elektrodunun şematik gösterimi

2.5.3 Voltametri yöntemi

Voltametri, elektroda uygulanan potansiyelin bir fonksiyonu olarak akım ölçümüne dayanan bir elektrokimyasal yöntemdir. Voltametride çoğunlukla yüzey alanı birkaç milimetrekare olan çalışma elektrotları ve bazen sadece birkaç mikrometrekare olan mikro elektrotlar kullanılarak büyük yüzeyli bir elektrot ile arasına bir potansiyel farkı uygulanmaktadır. Bu şekilde hücreden akım geçmemektedir. Ancak Nernst eşitliği ile hesaplanmış potansiyel farkı değişmekte ve bu eşitliğe uyum sağlamak için reaksiyona giren madde konsantrasyonları değişmektedir. Hücrede gerçekleşen bu reaksiyon sonucunda ise akım oluşmaktadır (Anonim 2016).

Bir elektroliz hücresi analiz edilecek olan çözeltiyle doldurulur ve gittikçe artmakta olan potansiyel farkları uygulanır. Bu şekilde hücreden geçen akım değerleri okunabilmektedir. Potansiyel farkına karşı akım grafiğe geçirilir ve bir akım-potansiyel eğrisi elde edilir. Kullanılan elektrodun cinsine bağlı olarak da *voltamogram* ya da *polarogram* olarak adlandırılmaktadır. Bu eğrilerden yararlanılarak yapılan analiz yöntemine ise *voltametri* ya da *polarografi* denilmektedir. Kullanılan elektrot membranı katı elektrot (metalik, karbon vb.) ise yöntem *voltametri*; damlayan, asılı damlayan, civa ince film elektrot ve durağan civa damla ise *polarografi* olarak adlandırılmaktadır (Anonim 2016).

Polarografi, damlayan civanın kolaylıkla yükseltgenmesinden dolayı genellikle indirgenme olaylarının, voltametri ise katı elektrotların yardımıyla yükseltgenme olaylarının araştırılmasında başvurulan yöntemlerdir. Voltametride karbon elektrotlarının kullanılması ile yükseltgenme ve indirgenme bölgelerinin her ikisinde de sulu ortamda geniş bir çalışma aralığı (–1.8V - +1.8V) sağlanmaktadır.

Çek kimyacı Jaroslav Heyrovsky 1922'de polarografiyi bulmuş ve 1959'da Nobel Kimya Ödülü'ne layık görülmüştür.

Analizi yapılacak olan madde ve elektrotun reaksiyona girmesini takiben potansiyelde oluşabilecek en ufak değişikliğe karşılık akımda olan yükseliş de hızlı olacaktır. Elektroaktif maddenin elektrotun yüzeyine doğru belli bir hızdan büyük olarak ulaşması sonucu akım büyüklüğü sınırlanır ve bundan dolayı belirli bir potaniyel değerinden sonra akım büyüklüğünde artış görülmemeye başlar. Artık artışın görülemediği bu akım büyüklüğü ise *sınır akımı* olarak adlandırılmaktadır (Anonim 2016).

Elektroaktif maddenin elektrot ile reaksiyonu öncesinde ise ufak bir akım gözlenir. Elektriksel çift tabakanın yüklenmesi ve çözeltideki safsızlıklardan dolayı oluşan bu akım büyüklüğüne de *artık akım* denilmektedir (Anonim 2016).

Potansiyelin çok az artışı ile akımın büyük oranda artış gösterdiğinde bu bölgedeki akımın büyüklüğü *difüzyon akım (i_d)*, difüzyon akımın yarısına denk gelen potansiyele ise *yarı dalga potansiyeli ($E_{1/2}$)* denilmektedir (Anonim 2016).

Polarogramlar ile maddenin hem kalitatif hem de kantitatif analizi yapılabilmektedir.

Her maddenin belli koşullar altında elektroaktif maddeler için karakteristik olan belli bir yarı dalga potansiyeli bulunmaktadır. Böylelikle kalitatif analiz yapılabilmektedir.

Kantitatif analizlerde ise difüzyon akımı ve konsantrasyonun orantılı olması söz konusudur. *İlkoviç denklemi* aşağıda yer aldığı gibidir:

$İ_d = 605\ n\ D^{1/2}\ C\ m^{2/3}\ t^{1/6}$

$İ_d$: difüzyon akımı (µA olarak) 1 µA=10^{-6} A (cihazdan okunabilmektedir)

n: elektrot reaksiyonunda bulunan elektron sayısı

D: çözünmüş maddenin difüzyon katsayısı

C: çözünmüş maddenin konsantrasyonu (mmol/L) (bulunur)

m: civa kütlesi (mg/s)

t: damlama zamanı (s)

605: damlanın geometrisi ve Faraday sabiti ile ilgili bir sayı

$İ_d$ değeri ile konsantrasyon arasında doğrusal bir ilişki bulunmaktadır.

$İ_d = kxC$

Bu denklemden faydalanılarak standart madde yardımı ile hazırlanacak olan kalibrasyon denkleminden yola çıkarak örnekteki bilinmeyen madde miktarı hesaplanabilmektedir.

Bilinmeyen ve bilinen konsantrasyonlardaki çözeltiler için okunan i_d değerleri oranlanıp kantitatif analiz yapılabilmektedir (Anonim 2016).

$İ_d$ standart/i_d numune= $C_{standart}$/ C_{numune}

2.5.3.1 Voltametride kullanılan uyarma sinyalleri

Karakteristik akım cevapları alabilmek amacıyla çalışma elektrodunun yer aldığı elektrokimyasal hücreye uygulanan değişken potansiyel uyarma sinyaline göre voltametrik yöntemler aşağıda yer aldığı gibidir:

Doğrusal taramalı voltametri (DTV): Elektrokimyasal bir hücreye uygulanmakta olan doğru akım (dc) potansiyeli zamanın bir fonksiyonu olacak şekilde doğrusal olarak yükseltilir. Hücrede oluşan akım zamanın aynı zamanda da potansiyelin fonksiyonu olarak kayıt altına alınır ve voltamogram olarak adlandırılan grafiklere dönüştürülür (Yüce 2011).

Diferansiyel puls voltametrisi (DPV): Kapasitif akımın (elektriksel çift tabakanın yüklenme akımı) ölçülen akımdaki payını daha da azaltmak ve seçiciliğini artırmak için puls uygulamadan önce ve uyguladıktan sonra akımın ölçülmesi ile farkın hesaplandığı metota denilmektedir. Bu yöntemin DTV'ye göre oldukça önemli avantajları bulunmaktadır. DTV için yarı-dalga potansiyel farkı minimum 0.2 V olmalı iken DPV'de farkın 0.005 V olduğu maddelere özgü pik maksimumu elde edilebilmektedir. DPV'nin tayin sınırı DTV'ninkinden 100 ile 1000 kat daha düşük ve 10^{-7} ile 10^{-8} M aralığındadır (Yüce 2011).

Kare dalga voltametrisi (KDV): İlk defa Barker tarafından geliştirilmiş olan bu yöntem son derece hızlı ve duyarlıdır (Barker ve Jenkins 1952). Potansiyel ve zaman dalga şekli simetrik olan kare dalgalardan oluşmaktadır. İleri ve geri olan pulsların bitimine doğru t_s olarak belirtilen bir zaman aralığı içerisinde akım ölçümleri yapılmaktadır. Kare dalga voltamogramlarını oluşturmak amacıyla ileri-geri darbe akım farkları potansiyele karşı grafiğe geçirilmektedir. Ölçümün çok hızlı bir şekilde yapılmasından dolayı birkaç voltametrik tarama sonucu alınan sinyal ortalaması ile analizin doğruluğu arttırılabilir. Metodun tayin sınırı 10^{-7}-10^{-8} M arasında olup en hızlı ve duyarlı elektroanalitik uygulamalar içerisinde yer almaktadır (Çekirdek 2005).

Dönüşümlü voltametri (DV/CV): Bu yöntem elektrokimyasal yöntemler arasında en sık kullanılandır. Potansiyel zaman ile doğrusal bir şekilde değiştirilir ve potansiyelin zamanla değişimi de tarama hızı olarak adlandırılmaktadır. Dönüşümlü voltametride, doğrusal taramalı voltametride olduğu gibi potansiyel taraması E_1 başlangıç potansiyelinden E_2'ye doğru yapılmasının ardından aynı tarama hızı ile ilk tarama yönüne doğru ters yönde tarama yapılmaktadır. Ters yönde yapılan taramada potansiyel E_1'de sonlanabileceği gibi farklı bir E_3'de de sonlanabilmektedir. Dönüşümlü voltamogramda, elektrot tepkimeleri ile ortaya çıkan akıma karşı taranan potansiyel grafiğe geçirilerek eğriler elde edilmektedir. Eğer ileri yönde taramada indirgenme gerçekleşmiş ise ters yöndeki taramada yükseltgenme gerçekleşecektir. Elektrot mekanizmalarının araştırılmasında CV tekniği yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu metot ile miktar tayini yapılamaz ancak analiz edilmek istenen maddenin hangi potansiyelde daha iyi cevap verdiği ile ilgili bilgi vermesinden dolayı araştırmalarda seçilen ilk tekniktir. Maddenin hangi potansiyelde optimum cevap verebileceği belirlenebilmektedir. Bu şekilde miktar tayini için kullanılacak olan yöntem öncesi ön bir hazırlık yapılmış olur. CV'de çalışılan potansiyel aralığı dışında kaç defa tarama yapıldığı ve tarama hızı gibi faktörlerin de etkisi bulunmaktadır.

2.5.3.2 Voltametrik sıyırma yöntemleri

Voltametrik sıyırma yöntemleri ile elektrolizdeki ön deriştirme basamağı sayesinde sulu ve susuz ortamlarda eser miktardaki maddelerin tayini yapılabilmektedir. Atomik absorpsiyon, florometrik, kromatografik ve nötron aktivasyon yöntemlerinin yanı sıra sıyırma yöntemleri eser madde analizlerinde kullanılabilmek üzere başvurulan yöntemlerden biridir. Atomik absorpsiyonun yalnızca anorganik tayinlerde kullanılmasına rağmen sıyırma teknikleri anorganik ve organik tayinlerin her ikisinde de kullanılabilmektedir. Sıyırma yöntemlerinin önemli bir avantajı atomik absorpsiyondan farklı olarak analizi yapılacak olan numuneye zarar vermeden defalarca çalışılabilmesine imkan sağlamasıdır. Sıyırma tekniklerinin bir diğer avantajı da kullanılan cihazların daha ucuz ve basit oluşudur. 10^{-6}-10^{-9} M aralığındaki çözeltilerin analizi yapılabilmektedir (Yüce 2011). Elektroanalitik yöntemler içerisinde en duyarlısı olan sıyırma yöntemleri iki değişik şekilde uygulanmaktadır. İlkinde, analiz edilecek

olan madde seyreltik çözeltide indirgenme ve yükseltgenme ile elektrotun üstünde biriktirilmektedir. Elektroda sabit potansiyel uygulanarak çözelti içindeki madde indirgenerek ya da yükseltgenerek elektrotun yüzeyinde çözünemez hale getirilir. Sonrasında potansiyel taraması elektroda pozitif (anodik) veya negatif (katodik) yönde uygulanır. Tarama sırasında elektrotun yüzeyinde biriktirilen madde indirgenme ya da yükseltgenme ile elektrotun yüzeyinden ayrılarak çözelti içine geri döner. Bu işlem nedeniyle de yöntem sıyırma voltametrisi olarak adlandırılmaktadır. Bu işlem sırasında oluşan akımın ölçülmesi ile maddenin miktarı tayin edilmektedir.

Anodik sıyırma voltametrisinde; biriktirme basamağında elektrotun potansiyeli, analizi yapılmak istenen metalin indirgenmesi için gerekli potansiyelinden daha katodik bir potansiyelde tutulmaktadır. Bu sürede çözelti karıştırılır. Sıyırma basamağında ise elektrot potansiyelinin anodik yönde ilerlemesi ile elektrotta toplanmış olan madde yükseltgenme için gereken potansiyele ulaştığı sırada akım oluşturmaktadır. Bu akım da elektrot potansiyelinin bir fonksiyonu şeklinde okunmakta ve analizi yapılan maddenin elektrot ve çözelti içindeki konsantrasyonu ile doğru orantılı olarak değişmektedir (Copeland ve Skogerboe 1974, Bard ve Faulkner 1980, Bond 1980).

Katodik sıyırma voltametrisi ile de anyon ve moleküllerin tayini yapılabilmektedir. Bu yöntemde elektrot; biriktirme adımında anot, sıyırma esnasında ise bir katot olarak davranmaktadır. Biriktirme adımında, elektrotun yüzeyinde toplama aşamasında ortaya çıkan anodik reaksiyon sonucu analizi yapılan madde iyonlarına yükseltgenmektedir. Yükseltgenme sonucu oluşan bu iyonlar çözünmeyen tuzlar şeklinde elektrotun yüzeyine çökmektedir (Kaçar 2010).

Adsorptif sıyırma voltametrisinde karıştırılan çözeltiden elektrot yüzeyine önderiştirme elektroanalitik değil fiziksel adsorpsiyonla sağlanmaktadır. Yeterince analit biriktirilmesini takiben karıştırma sonlandırılır ve birikmiş olan madde DTV ya da DPV ölçümleri ile tayin edilebilir. Bu yöntem oldukça duyarlı, doğruluğu yüksek, hızlı ve düşük maliyetlidir. Yöntem ile organik ve inorganik maddelerin tayini yapılabilmektedir.

2.5.4 Elektrokimyasal yanıt üzerinde etkili olan faktörler

2.5.4.1 Tarama hızı

Potansiyelin zamanla değişme hızı tarama hızı olarak adlandırılmaktadır. Elektrokimyasal reaksiyon sırasında uygulanan potansiyele bağlı olarak elektrot yüzeyinde oluşan difüzyon tabakasında ortaya çıkan incelme ya da kalınlaşma sonucunda analit ile ilgili fikir veren akım değerlerindeki değişiklikler gözlenmektedir. Düşük potansiyel uygulanması sonucu difüzyon tabakasında kalınlaşma olmakta ve bundan dolayı elektronların elektrotun yüzeyine varış hızı düşmektedir. Bu durumda analite ait olan pik akımları da azalmaktadır. Daha fazla potansiyel uygulanması durumunda da elektrot yüzeyindeki difüzyon tabakası incelmekte ve böylelikle elektronlar hızlı bir şekilde elektrot yüzeyine ulaşarak analite ait pik akım değerlerini yükseltmektedir (Yüce 2011).

2.5.4.2 Destek elektrolit çözeltileri

Elektrokimyasal deneylerin yapılabilmesi için bir destek elektrolit-çözücü sistemi gereklidir. Destek elektroliti ve çözücü oldukça saf olmalıdır. Deneyde kullanılması gereken çözücünün elektriksel iletkenliği, elektrokimyasal inertliği, kimyasal inertliği, çözme kapasitesi, vizkozitesi, dielektrik sabiti, saflaştırılabilirliği, ucuzluğu ve kolay bulunabilir olması gibi özelliklerinin biliniyor olması gereklidir. Dielektrik sabitinin büyük olması polarlığın da büyük olması anlamına gelmektedir. Çözücünün polar olması demek iyonik bileşikleri kolayca çözebileceği anlamına gelmektedir. Elektrokimyasal reaksiyonun gerçekleşebilmesi için çözeltinin gerekli ölçülerde iletkenliği önemlidir. Asit, baz ve tuz gibi iyonik maddelerin su içerisinde çözünmesi ile sulu çözeltilerdeki iletkenlik sağlanabilmektedir (Yüce 2011).

2.5.4.3 Çözelti pH'sı

Solüsyon içerisindeki metal iyonlarının çözünürlüğü ile hücre duvarında bulunan fonksiyonel grupların iyonizasyonu şartlandırma çözeltisinin pH'sı ile etkilenmektedir (Alpat vd. 2008). Elektrot yüzeyindeki indirgenme ve yükseltgenme olaylarında

çözeltinin iyice tamponlanmaması durumunda çözeltiye ait pH önemli oranda değişir. Çözelti pH'sındaki değişimler reaksiyonun indirgenme potansiyeline etki ederek zayıf dalgalara sebep olmaktadır (Nielsen ve Utley 2001).

2.5.4.4 Destek elektrolit çözeltisi konsantrasyonunun önemi

Voltametri uygulamalarında destek elektrolit çözeltisi ile elektroaktif maddenin elektrot yüzeyine difüzyonla aktarımı ve ortamın iletkenliği sağlanmaktadır. Ayrıca bazı uygulamalarda ortam pH'sının ayarlanmasını sağlayan bir tampon ya da ortamdaki bazı iyonların kompleksleşmesine neden olan bir ligand olarak da rol alabilmektedir. Kullanılan çözelti konsantrasyonu, çözeltinin iletkenliği ve analit adsorbsiyonunu doğrudan etkilemektedir. Çözelti konsantrasyonunun yüksek olması durumunda destek elektrolit madde miktarındaki fazlalık nedeniyle çözünmüş iyonlar ile analit maddenin arasındaki yüzeye tutunma rekabeti sonucu elektrokimyasal yanıt olumsuz olarak etkilenebilir. Çözelti konsantrasyonunun düşük olması durumunda ise böyle bir yarışın söz konusu olmayacağı gibi elektrokimyasal hücredeki direnç sabitlenir, elektron göçü olmaz ve statik bir çalışma ortamı oluşur (Yüce 2011).

2.5.4.5 Şartlandırma süresi

Şartlandırma süresi ne kadar uzun olursa doygunluk noktasına ulaşıncaya kadar elektrot yüzeyine adsorblanan madde miktarı o kadar fazla olur. Ancak doygunluk noktasına ulaştıktan sonra şartlandırma süresi uzatıldığı taktirde elektrokimyasal cevaplarda sapmalar görülecektir. Bu nedenle elektrokimyasal cevap üzerine etki eden diğer faktörlerde olduğu gibi şartlandırma süresi de optimize edilmelidir (Yüce 2011).

2.5.4.6 Depozisyon potansiyeli ve depozisyon süresi

Elektrokimyasal hücrede katotta redüksiyon meydana getiren potansiyel depozisyon potansiyeli ve indirgenme ile metallerin metalik olan formlarına dönüşmesi için geçen süreye de depozisyon süresi adı verilmektedir (Mojica vd. 2007).

3. MATERYAL ve YÖNTEM

3.1 Materyal

3.1.1 Kullanılmış olan kimyasallar

Deneyler sırasında kullanılmış olan kimyasal maddeler ve hangi amaçla kullanıldıkları çizelge 3.1'de yer aldığı şekildedir.

Çizelge 3.1 Deneyler sırasında kullanılmış olan kimyasal maddeler ve hangi amaçla kullanıldıkları

Kullanılan madde	**Kullanım amacı**
Agar	*Aspergillus versicolor* geliştirilmesi için hazırlanan besiyerini katı hale getirmek amacıyla kullanılmıştır.
Amonyum klorid	Destek elektrolit çözeltisi olarak kullanılmıştır.
Amonyum sülfat	*Aspergillus versicolor* geliştirilmesi için hazırlanan besiyerine ilave edilmiştir.
Asetik asit	Asetik asit / sodyum asetat içerikli tampon çözeltisine dahil edilmiştir.
Etanol	Sterilizasyonu sağlamak amacıyla kullanılmıştır.
Formaldehit	Hücrelerin modifiye edilmesi amacıyla hazır bulundurulmuştur.
Grafit tozu	CPE'de kullanılan karbon pastasının bileşeni olarak kullanılmıştır.
Hidroklorik asit (HCl)	Tampon çözeltilerinin pH ayarlaması amacıyla kullanıldı.
Kadmiyum nitrat	Araştırılan madde olarak kullanıldı.
Melas	*Aspergillus versicolor* geliştirilmesi için hazırlanan besiyerinde kullanılmıştır.
Metanol	Hücrelerin modifiye edilmesi amacıyla kullanılmıştır.
Mineral yağ	Karbon pastası bileşeni olarak kullanılmıştır.
Nitrik asit	Tampon çözeltilerinin pH ayarlaması amacıyla kullanılmıştır.
Potasyum dihidrojen fosfat	*Aspergillus versicolor* geliştirilmesi için hazırlanan besiyerinde kullanılmıştır.
Potasyum fosfat dibasic	Fosfat tamponu hazırlamak için kullanılmıştır.
Potasyum fosfat monobasic anhydrous	Fosfat tamponu hazırlamak için kullanılmıştır.
Potasyum hidroksit	Tampon çözeltilerinin pH ayarlaması amacıyla kullanılmıştır.
Doygun potasyum klorür	Referans elektrodun hazırlanması ve muhafaza edilmesi amacıyla kullanılmıştır.
Potasyum nitrat	Tampon çözeltisi olarak kullanıldı.
Sodyum asetat	Asetik asit / sodyum asetat içerikli tampon çözeltisinin hazırlanması amacıyla kullanıldı.
Sodyum fosfat dibasic heptahidrat	Fosfat tamponu hazırlamak için kullanılmıştır.
Sodyum hidroksit	Melaslı besiyerinin pH ayarlaması amacıyla kullanıldı.
Sodyum nitrat	Destek elektrolit çözeltisinin hazırlanması sırasında kullanıldı.
Sülfürik asit	*Aspergillus versicolor* geliştirilmesi için hazırlanan besiyerinde kullanıldı.
Tris-HCl	Destek elektrolit solüsyonu olarak kullanıldı.
Trisma base	Destek elektrolit solüsyonu olarak kullanıldı.

3.1.2 Kullanılan mikrobiyal materyal

Araştırması yapılan mikrobiyal biyosensör, Ankara Üniversitesi, Fen Fakültesi'nde bulunan Biyoteknoloji Araştırma Laboratuvarı'nın Kültür Koleksiyonundan elde edilen *Aspergillus versicolor* isimli mikroorganizma ile modifiye edilmiştir. Bilimsel sınıflandırması çizelge 3.2'de yer almaktadır.

Çizelge 3.2 Çalışmada kullanılan mikroorganizmanın bilimsel sınıflandırılması

Alem Fungi
Bölüm Ascomycota
Sınıf Eurotiomycetes
Takım Eurotiales
Familya Trichocomaceae
Cins *Aspergillus*
Tür *Aspergillus versicolor*

3.1.3 Kullanılan cihazlar ve teçhizatlar

Deneyler sırasında kullanılmış olan cihaz/teçhizatlar ve ne amaçla kullanıldıkları çizelge 3.3'de yer almaktadır.

Çizelge 3.3 Kullanılan cihaz/teçhizatlar ve kullanım amaçları

Cihaz/Teçhizat	**Marka**	**Kullanım amacı**
Gümüş/Gümüş klorür referans elektrotu	*CHI660B*	Potansiyostat cihazında referans elektrot olarak (doygun KCl) kullanılmıştır.
Buzdolabı	*Arçelik*	Tampon çözelti ve mikroorganizmanın uygun koşullarda saklanması için kullanılmıştır.
Etüv	*Nüve FN400*	Sterilizasyon ve mikroorganizmanın sıcaklık ile kurutulması işlemlerinde kullanılmıştır.
İnkübatör (Çalkalamalı)	*Innova 4230*	Mikroorganizma üretimi sırasında kullanılmıştır.
İnkübatör (Statik)	*Memmert*	Mikroorganizma üretimi sırasında kullanılmıştır.
Karbon pastası elektrodu	-	Araştırılması yapılan mikroorganizmayı içeren çalışma elektrodu olarak kullanılmıştır.

Çizelge 3.3 Kullanılan cihaz/teçhizatlar ve kullanım amaçları (devam)

Cihaz/Teçhizat	**Marka**	**Kullanım amacı**
Manyetik karıştırıcı	*VELP*	Elektrodların şartlandırılması sırasında kullanılmıştır.
Otoklav	*ALP*	Çalışmalar sırasında kullanılan malzemelerin sterilizasyonu için kullanılmıştır.
PH metre	*Consort p500*	Besiyeri ve destek elektrolit çözeltilerinin pH ayarlamaları için kullanılmıştır.
Platin tel	*CHI660B*	Potansiyostat cihazında karşıt elektrot olarak kullanılmıştır.
Potansiyostat	*CHI660B*	Elektrokimyasal ölçümlerin yapılması amacıyla kullanılmıştır.
Terazi	*Metler*	Kurutulmuş mikroorganizma ve çözelti hazırlanması sırasında kullanılan kimyasalların tartımı sırasında kullanılmıştır.
Distile su cihazı	*GFL*	Çeşme suyunun distile edilmesi amacıyla kullanılmıştır.
Vortex	*STUART*	Örneklerin homojen bir şekilde karıştırılması amacıyla kullanıldı.

3.2 Yöntem

3.2.1 Çalışmalar sırasında kullanılan destek elektrolit çözeltileri

3.2.1.1 Tris hidroklorik asit (Tris-HCl) tampon çözeltisinin hazırlanması

12 g Trizma base 100 ml su içerisinde çözdürülmüştür. Daha sonra Trizma base 60 g'a ve distile su 500 ml'ye tamamlanarak uygun pH değerinin sağlanması için konsantre HCl çözeltisi kullanılmıştır.

3.2.1.2 Asetik asit / sodyum asetat tampon çözeltisinin hazırlanması

0.5 M CH_3COOH çözeltisinden 217.39 ml ve 0.5 M'lık CH_3COONa çözeltisinden 782.61 ml alınıp homojen bir şekilde karıştırılmıştır ve istenen pH değerini sağlamak amacıyla 0.1 M HCl ya da NaOH kullanılmıştır.

0.5 M CH_3COOH: 28.50 ml CH_3COOH ve 1 L distile su ile karıştırılmıştır.

0.5 M CH_3COONa: 70 g NH_4Cl ve 1 L su karıştırılmıştır.

3.2.1.3 Sodyum nitrat çözeltisinin hazırlanması

42 g $NaNO_3$ 1 L su içerisinde çözdürülmüştür ve istenen pH değerinin sağlanması amacıyla 0.1 M HNO_3 ya da KOH kullanılmıştır.

3.2.1.4 Fosfat tampon çözeltisi

A solüsyonu (1 M KH_2PO_4): 34 g KH_2PO_4 250 ml su ile tamamlanarak çözünmesi sağlanmıştır.

B solüsyonu (1 M $K_2HPO_4.4H_2O$): 45.6 g K_2HPO_4 200 ml su ile tamamlanarak çözünmesi sağlanmıştır.

B solüsyonu, A solüsyonuna ilave edilmiş ve pH değeri yaklaşık 100 ml K_2HPO_4 ile 4'ten 6'ya çıkarılmıştır.

3.2.1.5 HCl çözeltisinin hazırlanması

0.1 M'lık hidoklorik asit hazırlanması amacıyla %37'lik hidroklorik asit çözeltisinden 80.28 ml alınmış ve üzerine son hacmi 1 L olana kadar distile su ilave edilmiştir.

3.2.2 Ağır metal solüsyonunun hazırlanması

Ağır metal tayini için çalışmada kullanılan Cd(II), kadmiyum nitrat tuzundan son konsantrasyonun 0.1 M olması sağlanarak stok çözelti şeklinde hazırlandı. $Cd(NO_3)_2$'den 0.308 g hassas terazide tartılıp son hacminin 10 ml olması sağlandıktan sonra, ağız kısmının kapaklı olması sağlanarak koyu renkte bir cam şişeye aktarılmıştır. Kapalı bir dolap içerisinde muhafaza edilmiştir. Değişik konsantrasyonlarda ağır metal içeren solüsyonlar ile çalışmak için stok çözeltiden seyreltilerek kullanılmıştır.

3.2.3 Mikrobiyal materyalin hazırlık aşaması

3.2.3.1 Melaslı besiyeri hazırlanması

Deneylerin yapılmış olduğu laboratuvarın kültür koleksiyonundan temin edilen *Aspergillus versicolor* adlı küfün biyolojik materyal olarak kullanımı ile mikrobiyal biyosensör tasarlanmıştır.

Öncelikle 180 g melas, 9 ml sülfürik asit ve 600 ml çeşme suyu ile kaynatılmış, daha sonra soğutularak süzülmüştür. NaOH ile pH 5'e çıkarılmıştır. Daha sonra 1 g $(NH_4)_2SO_4$ ve 0.5 g KH_2PO_4 tartılarak 80 ml melas ve 920 ml su ile karıştırılarak 1000 ml melaslı besiyeri hazırlanmış ve NaOH ile pH ayarlanmıştır. Melaslı besiyerleri 5 erlene 200'er ml olacak şekilde bölüştürülerek, her besiyerine 5 ml *Aspergillus versicolor* aktive edilmek üzere ekilmiştir. 2 gün sonra melaslı besiyerleri 10 erlene 100'er ml olacak şekilde bölüştürülerek, daha önce aktive edilen *Aspergillus*

versicolor'dan 5'er ml ekilmiştir. 5 gün sonra 100 ml'lik besiyerlerine 3 ml *Aspergillus versicolor* ekilmiştir. Aktive edilen hücreler süzgeçten geçirilip distile su ile yıkanmıştır. Yıkanan hücreler petrilere yayılıp 80 ºC'ye ayarlanan fırında kurutulmuştur. Kurutulan hücreler kazılarak karbon pastasında kullanılmak üzere toz haline getirilmiştir. Kullanım dışında cam bir kapta ve serin bir yerde saklanmıştır.

3.2.4 Karbon pastasının hazırlanması

Çalışmalar sırasında günlük 1000 mg taze bir şekilde hazırlanmış ve mikrobiyal hücre ile modifiye edilmiş karbon pastası kullanılmıştır. Karbon pastası için 50 mg sıcaklık ile kurutulmuş *Aspergillus versicolor* hücreleri ve 950 mg grafit tozu tartılarak bir petride yaklaşık 10 dk karıştırılıp hücrelerin grafit tozu içerisinde homojen bir şekilde dağılması sağlanmıştır. Daha sonra pastör pipeti ile 15-20 damla mineral yağ eklenerek karıştırmaya devam edilmiştir.

3.2.5 Çalışma elektrodunun hazırlanması

Çalışma elektrodu olarak elektriksel iletkenliği sağlamak amacıyla içinde pirinç tel bulunan, çapı 5 mm ve boyu 7 cm olan teflondan bir elektrot kullanılmıştır. Elektrot ucunda karbon pastası yerleştirilmesine imkan sağlayan 3 mm çapında derin bir hazne bulunmaktadır. Çalışmaların hepsinde kullanılan çalışma elektrotu aynıdır.

Hazırlanmış olan karbon pastasının çalışma elektrodundaki hazneye çelik spatül yardımıyla yerleştirilmesinden sonra düz ve kayganca bir yüzeye sürtülerek pürüzsüz olması sağlanmıştır. Kontrol olarak hem mikrobiyal kültür bulundurmayan fakat tayini yapılan kadmiyum metalinin bulunduğu destek elektrolit solüsyonunda şartlandırılmış hem de mikrobiyal kültürü bulunduran fakat bu sefer de ağır metal içermeyen destek elektrolit çözeltisinde şartlandırılmış elektrot kullanılmıştır. Bu yolla, *Aspergillus versicolor* ve kadmiyumun elektrokimyasal alanda oluşturduğu farklar gözlemlenebilmiştir.

3.2.6 Analiz yöntemleri

3.2.6.1 Dönüşümlü voltametri yönteminin kullanılması ile yapılan deneyler

Analizi yapılacak olan ağır metalin hangi potansiyelde nasıl davrandığı ile ilgili kantitatif analizlerden önce ön bir bilgi vermesi, basit, kısa bir zamanda yanıt veren ve güvenilir bir metod olması nedeniyle elektrokimyasal uygulamalarda yaygın olarak tercih edilen CV yöntemi kullanılmıştır. Ölçümler öncesinde 1-3 dk süresince elektrokimyasal hücreden azot gazı geçirilerek, içerisinde bulunan çözünmüş gazların giderilmesine çalışılmıştır.

Aspergillus versicolor ile yapılan dönüşümlü voltametri çalışmaları:

Dönüşümlü voltametri çalışmalarında hem *Aspergillus versicolor* ile modifiye edilen hem de edilmeyen karbon pastaları kullanılarak karşılaştırma yapılmıştır. *Aspergillus versicolor* ile modifiye edilen karbon pastası; 50 mg *Aspergillus versicolor*, 950 mg grafit tozu ve 15-20 damla mineral yağ, non-modifiye pasta 1000 mg grafit tozu ve 15-20 damla mineral yağ kullanılarak hazırlanmıştır. Hazırlanan karbon pastası elektrotun üzerinde yer alan boş kısma doldurularak elektrotun yüzeyi temiz bir kağıt üzerine sürtülerek pürüzsüz hale getirilmiştir. Şartlandırmanın gerçekleştirilmesi için $1.0x10^{-3}$ M Cd(II) bulunduran 20 ml'lik 0.05 M ve pH değeri 6 olan Tris hidroklorik asit, Sodyum nitrat, Asetik asit sodyum asetat ve fosfat tampon çözeltilerinde devamlı karıştırması sağlanan ortamda 15 dk bekletilmiştir. Şartlandırmanın bitmesini takiben elektrot yüzeyleri distile su ile dikkatli bir şekilde yıkanıp üç elektrotlu elektrokimyasal hücreye yerleştirilerek +1.6 ile -1.6 V aralıkta, 0.08 V/s tarama hızı ile analizlerin yapılması sağlanmıştır. Referans elektrotu olarak Gümüş/Gümüş klorür ve karşıt elektrotu olarak da platin tel tercih edilmiştir. Modifiye edilen ve modifiye edilmeyen elektrotlar eşit koşullarda şartlandırılıp CV analizleri karşılaştırılmış ve *Aspergillus versicolor*'ın kadmiyum adsorbsiyonu üzerindeki etkisi izlenmiştir.

3.2.6.2 Sıyırma voltametrisi yönteminin kullanılması ile yapılan deneyler

CV metodu ile analizi yapılacak olan ağır metalin yanıt verdiği potansiyel aralığının belirlenmesini takiben kantitatif analizlerin yapılması amacıyla elektroanalitik yöntemler içerisinde en duyarlısı olan ve oldukça düşük tayin sınırına ulaşan sıyırma voltametrisi yönteminin kullanılmasıyla elektrokimyasal yanıtları optimize etmek üzere deneyler yapılmıştır. Yapılan deneylerde değişik destek elektrolit çözeltileri kullanılmıştır ve de bu farklı çözeltilerin bazı pH aralıkları, iyonik konsantrasyonları, çöktürme potansiyelleri ve çöktürme süreleri araştırılarak bu parametrelerin ve farklı şartlandırma sürelerinin elektrokimyasal cevaba ne derecede etki ettikleri belirlenmiştir. Sıyırma voltametrisiyle yapılmış olan tüm çalışmalarda, çalışma elektrotu olarak *Aspergillus versicolor* ile modifiye edilmiş CPE, referans elektrotu olarak Gümüş/Gümüş klorür elektrotu ve karşıt elektrotu olarak da platin tel kullanılması uygun görülmüştür.

Ölçümler öncesinde 1-3 dk süresince elektrokimyasal hücreden azot gazı geçirilerek, içerisinde bulunan çözünmüş gazların giderilmesine çalışılmıştır.

3.2.7 Elektrokimyasal yanıt üzerinde etkisi araştırılan faktörler

3.2.7.1 Destek elektrolit çözeltileri

Aspergillus versicolor ile Cd(II) tayininin yapılması için gerçekleştirilen çalışmalarda değişik destek elektrolit çözeltilerinin elektrokimyasal yanıt üzerine olan etkilerini incelemek üzere asetik asit sodyum asetat, fosfat, sodyum nitrat ve Tris-HCl tampon çözeltilerinden, konsantrasyonları 0.05 M ve pH'ları 6.0 olarak hazırlanmıştır. Elektrotların 10 dk süresince açık devre potansiyeli ile şartlandırılmasını takiben elektrokimyasal analizler için sıyırma voltametrisi yöntemi kullanılmıştır.

3.2.7.2 Destek elektrolit çözeltisinin pH'sı

Çalışma için uygun olan destek elektrolit çözeltisi belirlendikten sonra uygun pH değerinin belirlenmesi amacıyla yine sıyırma voltametrisi yöntemi kullanılmıştır.

Çalışmalar için gerekli olan solüsyonlar günlük olarak hazırlanmış ve gereken durumlarda stok çözeltiden seyreltme yapılmıştır.

Aspergillus versicolor ile yapılmış çalışmalar için pH' nın ne derecede etki ettiği 0.05 M'lık fosfat tampon çözeltisiyle 5.0-7.0 aralığında denenmiş ve Cd(II) konsantrasyonunun tüm bu çalışmalar sırasında 1.0×10^{-5} M olarak kalması sağlanmıştır.

3.2.7.3 Destek elektrolit çözeltisinin konsantrasyonu

Aspergillus versicolor' ın Cd(II) tayininde vermiş olduğu elektrokimyasal yanıtlar ile ilgili destek elektrolit çözeltisi olarak kullanılan fosfat tampon çözeltisinin 0.05-0.3 M konsantrasyon aralığında nasıl etki ettiği araştırılmıştır.

3.2.7.4 Depozisyon potansiyeli

Sıyırma voltametrisi yöntemi kullanılarak depozisyon yani çöktürme potansiyelinin elektrokimyasal yanıtlara olan etkisinin araştırılması için yapılan deneylerde, elektrodun şartlandırılması açık devre potansiyeli altında ve oda sıcaklığında gerçekleştirilmiştir. Destek elektrot çözeltisinin optimum pH ve iyonik aralık değerleri kullanılarak aynı koşullarda yalnızca depozisyon potansiyeli değiştirilerek elektrokimyasal yanıtın nasıl etkilendiği araştırılmıştır.

Aspergillus versicolor ile modifiye edilen elektrotlarla depozisyon potansiyelinin etkisinin araştırılması için fosfat tamponu içindeki Cd(II)'ye ait konsantrasyon 1.0×10^{-5} M olarak sabit tutulmuş, -1.6 ve -0.4 V aralığındaki depozisyon potansiyelleri denenmiştir.

3.2.7.5 Şartlandırma süresi

Şartlandırma süresinin elektrokimyasal cevaba olan etkisinin araştırılması amacıyla yapılan deneyler oda sıcaklığında, açık devre potansiyeli altında ve sürekli karıştırma olan ortamda gerçekleştirilmiştir. Şartlandırma süresinin elektrokimyasal yanıta olan

etkisinin belirlenmesi için 5 ve 25 dk arasındaki süreler baz alınarak sıyırma voltametrisi yöntemi kullanılmıştır. Çalışmalar sırasında kullanılmış olan destek elektrolit çözeltisinin optimum pH ve iyonik aralığı, Cd(II)'nin de 5.0×10^{-6} M seviyesinde konsantrasyonu sabit tutulmuştur.

3.2.7.6 Depozisyon süresinin etkisi

Uygun destek elektrolit çözeltisi, bu çözeltinin optimum pH değeri ile iyonik aralığı ve optimum depozisyon potansiyeli belirlendikten sonra, depozisyon süresinin elektrokimyasal yanıtı nasıl etkilediğinin araştırılması için 20 ve 80 s aralığında sıyırma voltametrisi ile deneyler yürütülmüştür.

3.2.8 Kalibrasyon doğrusunun elde edilmesi

Yukarıda yer alan tüm deney koşulları optimize edildikten sonra yine sıyırma voltametrisi kullanılarak belirli Cd(II) konsantrasyonlarına karşılık akım değerleri grafiğe geçirilerek kalibrasyon eğrisi elde edilmiştir. Kalibrasyon eğrisi en az 2 paralelli olacak şekilde, elektrokimyasal ölçümler sonucunda ortaya çıkarılmıştır ve Cd(II)'ye ait en düşük ve en yüksek tayin limitleri bulunmuştur.

4. ARAŞTIRMA BULGULARI

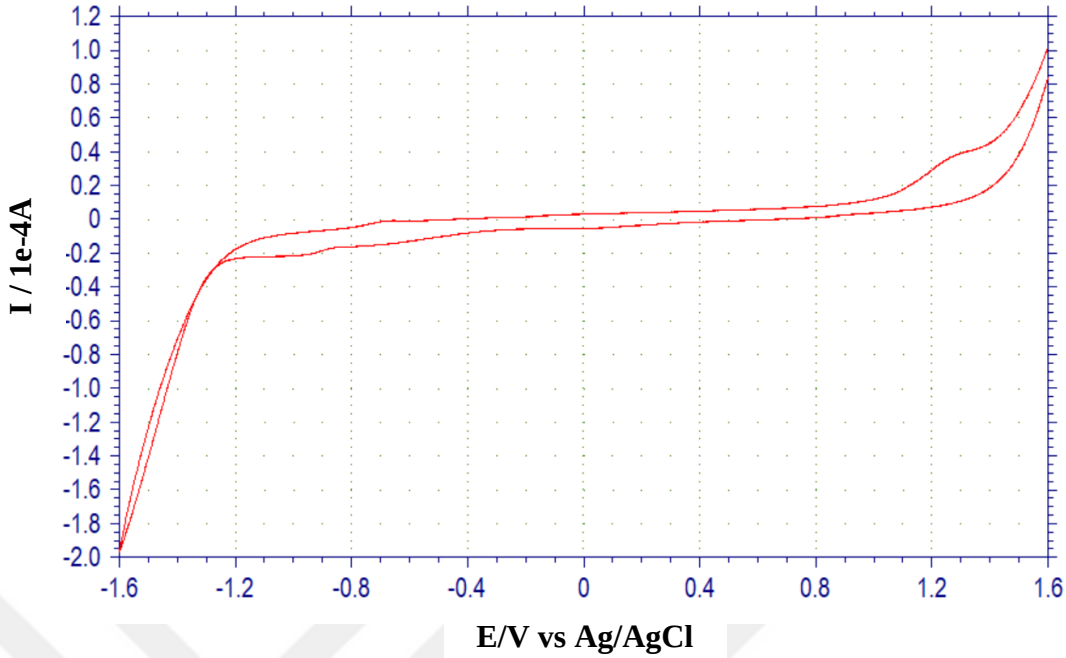
4.1 *Aspergillus versicolor* Kullanımıyla Geliştirilen Mikrobiyal Biyosensöre ait Araştırma Bulguları

Kurutulmuş *Aspergillus versicolor* hücrelerinin kullanımıyla Cd(II) tayinine yönelik geliştirilmiş olan mikrobiyal biyosensörün optimum tayin koşullarını belirlemek üzere yapılan çalışmalar aşağıda detaylarıyla sunulmuştur.

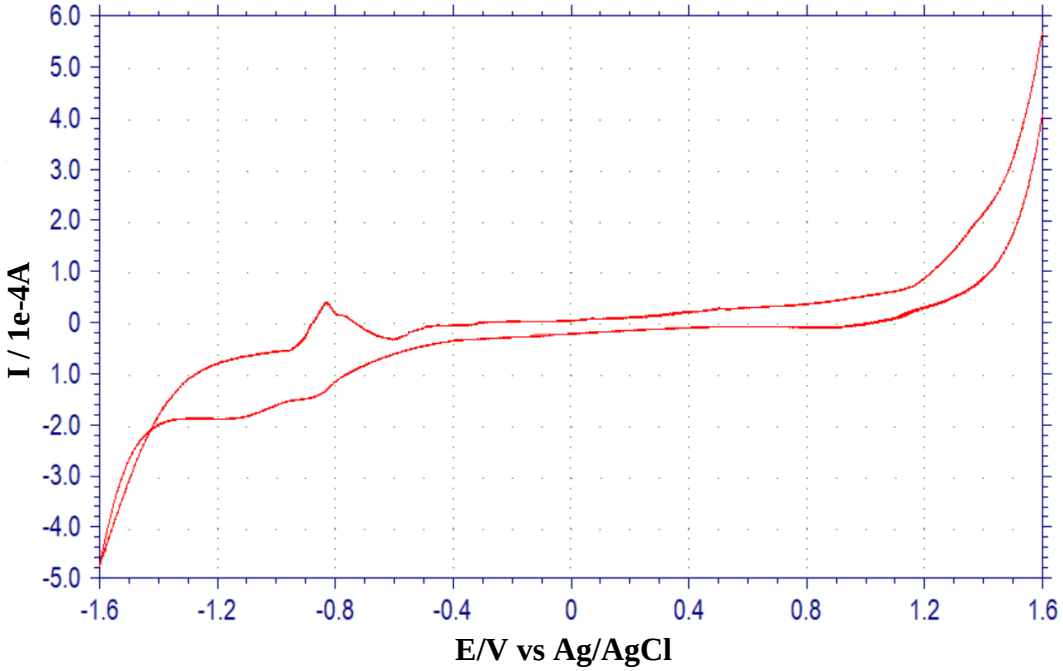
4.1.1 CPE ile Cd(II) bulunduran şartlandırma ortamında CV çalışmalarının yürütülmesi

CV deneyleri sırasında hem *Aspergillus versicolor* ile modifiye edilen hem de edilmeyen yani non-modifiye iki türde karbon pastası kullanıldı. 950 mg grafit tozu, 50 mg kurutulmuş hücre ve mineral yağın karıştırılmasıyla hazırlanan modifiye karbon pastası ve kurutulmuş hücre içermeyen non-modifiye karbon pastası çalışma elektrodunda yer alan boşluğa yerleştirildikten sonra elektrot yüzeyi kağıt üzerinde sürtülerek yüzeyin pürüzsüz olması sağlanmış ve elektrokimyasal analizler için hazır hale getirilmiştir. Çalışmalar sırasında şartlandırma ve destek elektrolit çözeltisi olarak kullanılması için $1.0x10^{-3}$ M Cd(II) bulunduran 20 ml 0.05 M'lık fosfat tamponu hazırlanmıştır.

Her iki türdeki karbon pastaları (modifiye ve non-modifiye) kullanılarak hazırlanan çalışma elektrotları 15 dk süre ile karıştırılmış olan çözeltiler içerisinde şartlandırılarak CV yöntemiyle *Aspergillus versicolor*'ın kadmiyum adsorbsiyonu üzerindeki etkisi araştırılmıştır (Şekil 4.1, 4.2). Aynı koşullar altında şartlandırılmış olan her iki elektrotun CV sonuçları karşılaştırıldığı zaman kadmiyum iyonlarının modifiye edilen elektrot yüzeyine tutuklandığı görülmüştür. Bu da biyomateryal seçiminin çalışma için uygun olduğunu göstermektedir.



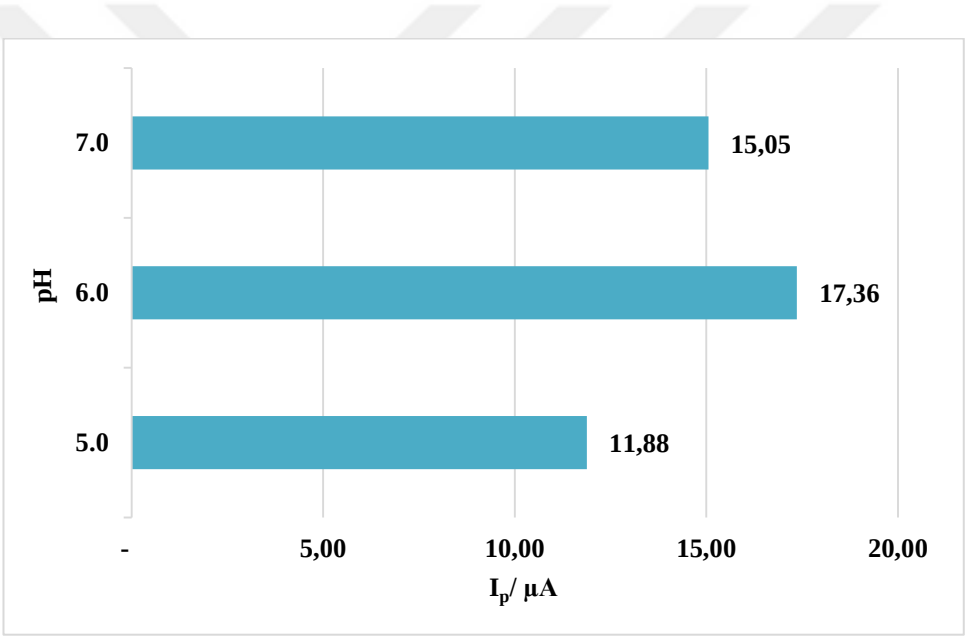
Şekil 4.1 Modifiye edilmemiş karbon pastası elektrodunun dönüşümlü voltamogramı



Şekil 4.2 Modifiye edilmiş karbon pastası elektrodunun dönüşümlü voltamogramı

4.1.2 Şartlandırma çözeltisi pH'sının elektrokimyasal cevap üzerindeki etkisi

Solüsyondaki metal iyonlarının çözünürlüğü ile hücre duvarındaki fonksiyonel grupların iyonizasyonu şartlandırma çözeltisinin pH'sı ile etkilenmektedir. DPSV yönteminin kullanıldığı çalışmada, şartlandırma çözeltisi olarak kullanılan fosfat tamponu pH 5, pH 6 ve pH 7'de denenerek optimum pH değerine ulaşılmaya çalışılmıştır (Şekil 4.3). Ortalama pH değerleri grafiğe geçirildiğinde pH 6.0'da pik akımlarının daha yüksek olduğu, daha düşük ve yüksek pH değerlerinde pik akımlarının azaldığı görülmüştür. Denenen diğer parametrelerde de şartlandırma çözeltisi pH'sı 6.0'a sabitlenmiştir.

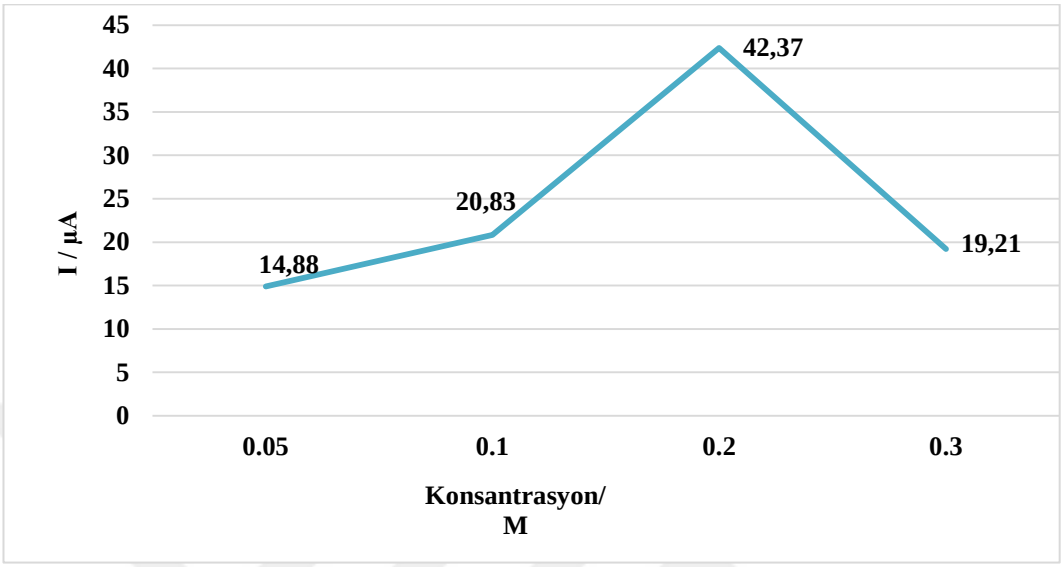


Şekil 4.3 Şartlandırma çözeltisine ait pH değerinin elektrokimyasal yanıt üzerindeki etkisi (Cd(II) konsantrasyonu: 1.0×10−5 M, şartlandırma çözeltisi: 0.05 M fosfat tamponu, şartlandırma süresi: 10 dk, tarama hızı: 20 mV/s, metot: DPSV)

4.1.3 Destek elektrolit çözeltisi konsantrasyonunun elektrokimyasal yanıt üzerindeki etkisi

Çalışma için uygun görülen destek elektrolit çözeltisinin hangi iyonik aralıkta elektrokimyasal yanıt üzerinde en olumlu etkisini belirlemek üzere fosfat tampon çözeltisi 0.05-0.3 M konsantrasyon aralığında denemeler yapılmıştır. En iyi sonuca 0.2 M konsantrasyonunda ulaşılmıştır. Bu değerden daha düşük ve yüksek iyonik aralıklarda elektrokimyasal cevap üzerine negatif etki yaptığı görülmüştür (Şekil 4.4).

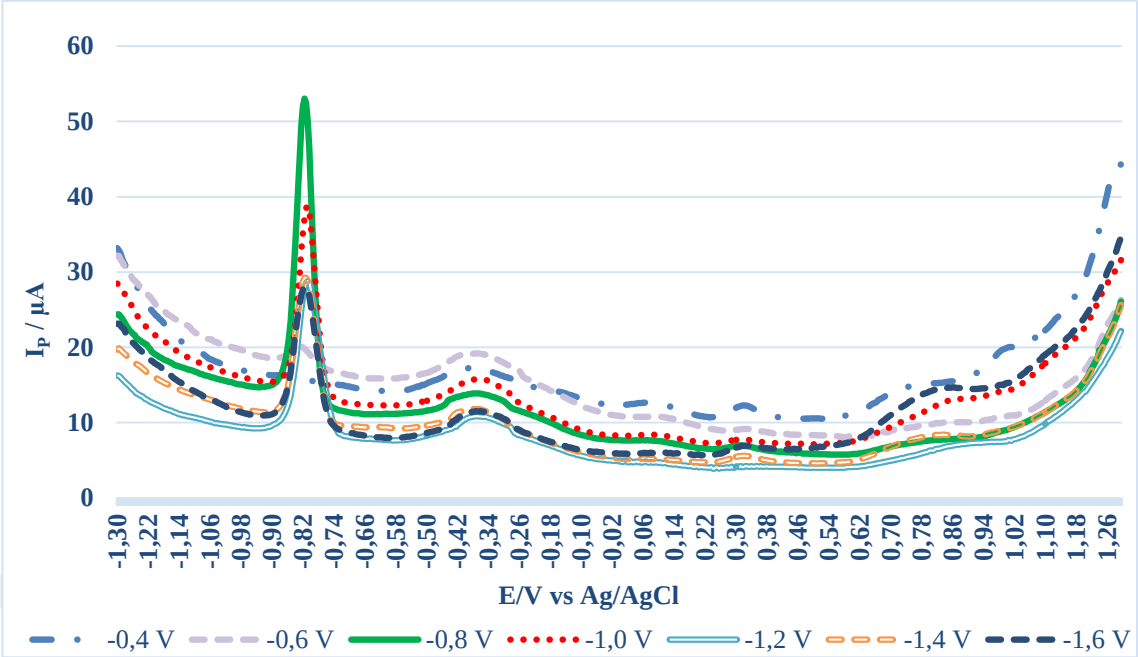
Diğer parametrelerin denendiği sonraki çalışmalarda da 0.2 M fosfat tamponu kullanılmıştır.



Şekil 4.4 Destek elektrolit çözeltisi konsantrasyonunun elektrokimyasal cevap üzerine etkisi (Cd(II) konsantrasyonu: 1.0×10−5 M, fosfat tamponu pH: 6.0, şartlandırma süresi: 10 dk, tarama hızı: 20 mV/s, metot: DPSV)

4.1.4 Depozisyon potansiyelinin elektrokimyasal yanıt üzerindeki etkisi

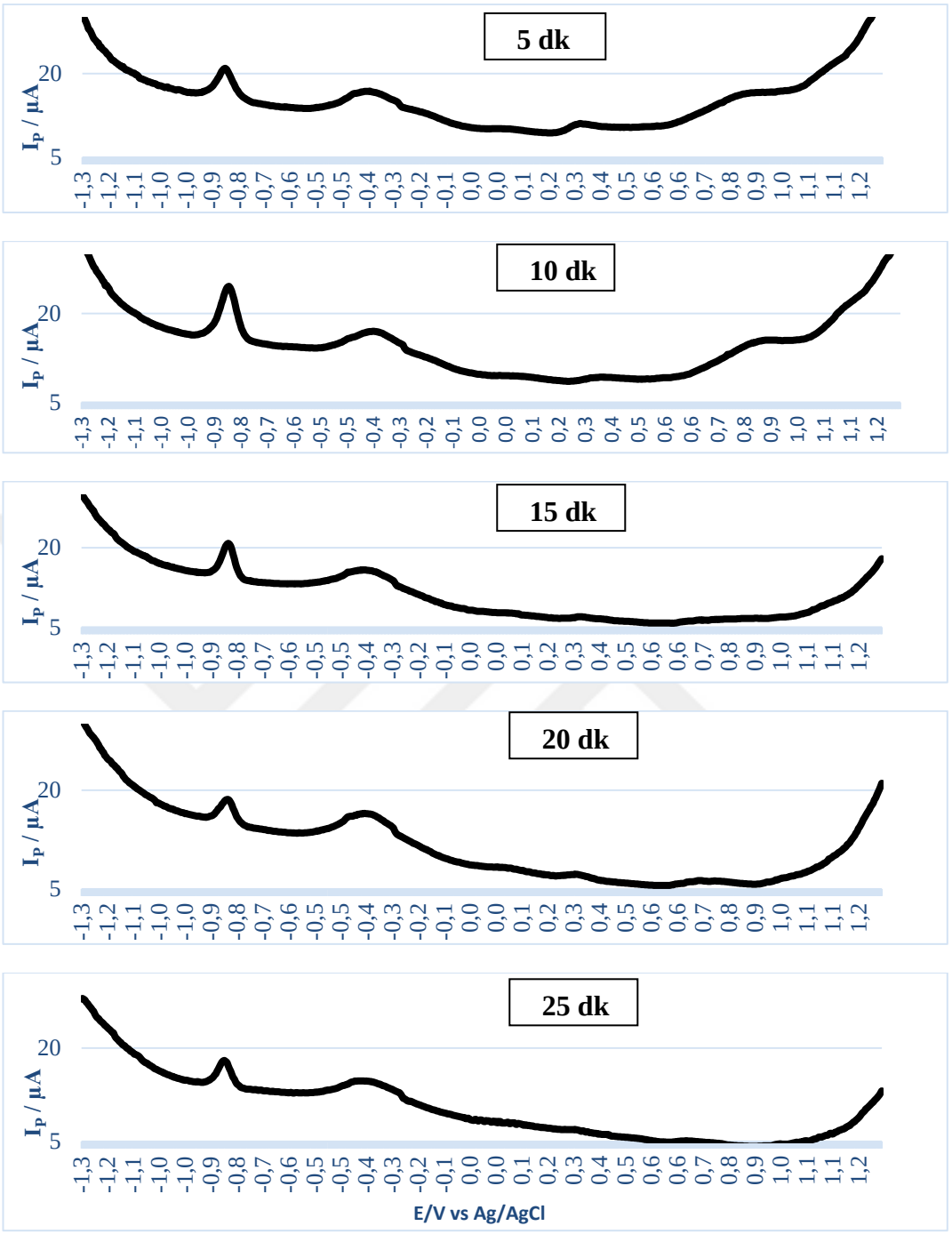
Depozisyon potansiyeli, elektrokimyasal hücrede katotta redüksiyon meydana getiren potansiyeldir. Maksimum miktarda Cd(II)'nin yüzeyden sıyrılması amacıyla -1.6 ile -0.4 V aralığında yürütülen deneylerde en iyi pik akımına ulaşmak için -0.8 V'un uygun olduğu görülmüştür (Şekil 4.5).



Şekil 4.5 Farklı depozisyon potansiyellerinde alınan elektrokimyasal yanıtlar

4.1.5 Farklı şartlandırma sürelerinin elektrokimyasal yanıt üzerindeki etkisi

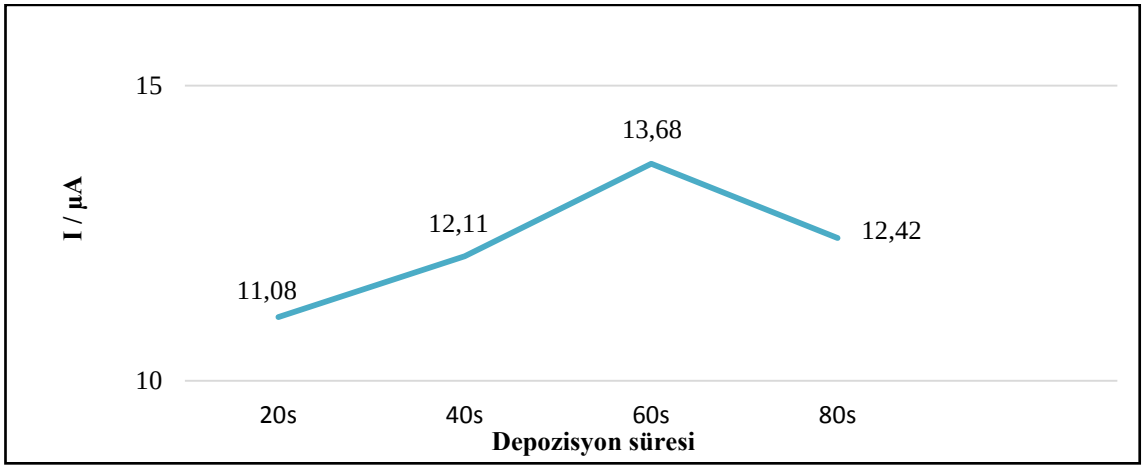
Şartlandırma süresi ile yüzeye adsorblanan metal miktarı doğrudan ilişkili olduğundan optimum tayin koşullarının belirlenmesinde önemli bir parametredir. Yapılan tüm çalışmalarda Cd(II)'nin 5.0×10^{-6} M konsantrasyonunda olması sağlanarak 5 ve 25 dk arasında değişen şartlandırma sürelerinin elektrokimyasal cevap üzerine etkisi araştırılmıştır. En iyi Cd(II) pikleri, 10 dk devam eden şartlandırma süresinde elde edilmiştir (Şekil 4.6).



Şekil 4.6 Şartlandırma süresinin elektrokimyasal yanıt üzerindeki etkisi

4.1.6 Depozisyon süresinin elektrokimyasal yanıt üzerindeki etkisi

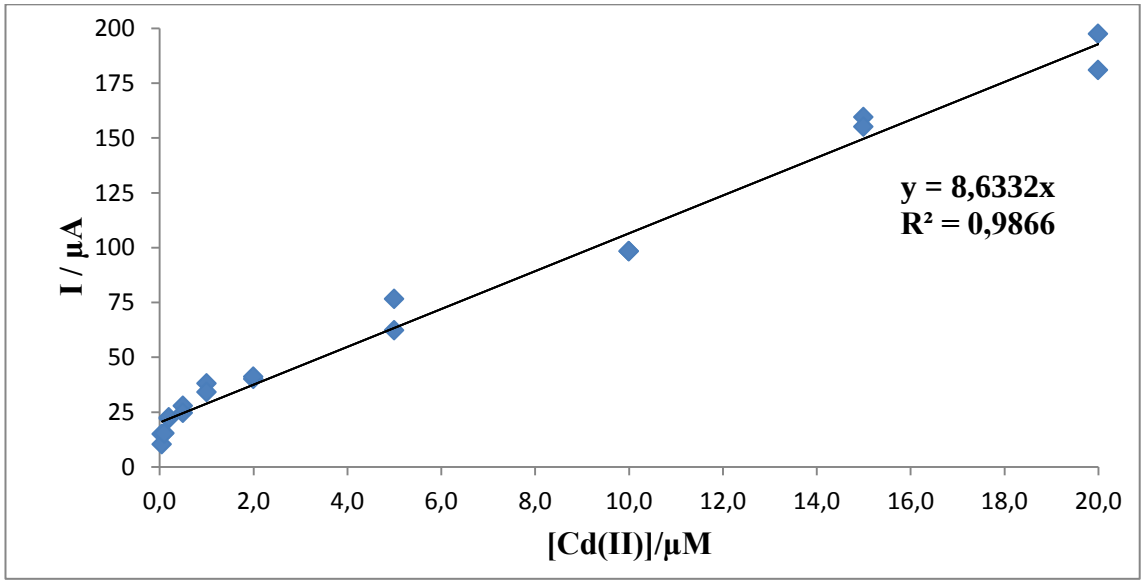
Optimum depozisyon süresini belirlemek üzere yapılan çalışmada Cd(II) konsantrasyonu 5.0×10^{-6} M olacak şekilde sabit tutularak 20 ve 80 s aralığında sıyırma voltametrisi tekniği ile çalışılmıştır. En iyi pik akımına 60 s'de ulaşılmıştır (Şekil 4.7).



Şekil 4.7 Depozisyon süresinin elektrokimyasal yanıt üzerindeki etkisi

4.1.7 Kalibrasyon doğrusunun elde edilmesi

Cd(II) tayinine yönelik tasarlanan mikrobiyal biyosensör için optimize edilmiş koşullar altında elde edilen kalibrasyon doğrusunu elde etmek amacıyla Cd(II) konsantrasyonu 0.05-20 µM aralığında uygulanmış ve çalışma elektrotları 10 dk süre ile şartlandırılarak DPSV yöntemi kullanılmıştır (Fosfat tampon pH'sı 6.0 ve konsantrasyonu 0.2 M, depozisyon potansiyeli: -0.8 V, depozisyon süresi: 60 s) (Şekil 4.8).



Şekil 4.8 Optimum şartlarda elde edilmiş kalibrasyon doğrusu

Tayin limitinin hesaplanabilmesi için Akyılmaz vd. (2010) tarafından verilen formül ($3S_b/m$) kullanılmıştır ve *Aspergillus versicolor* ile modifiye edilen biyosensör için tayin limiti $1{,}05x10^{-8}$ M olarak bulunmuştur. Cd(II) için tayin aralığı 0.0056-0.0224 $mg.L^{-1}$ olarak tespit edilmiştir.

5. TARTIŞMA ve SONUÇ

Biyosensörlerin, tıbbi uygulamalar, ilaç üretimi, bakteriyel/viral tanı, biyoreaktörler, süreç denetleme, endüstriyel atık suların kontrolü, askeri savunma sanayi, madencilik, kalite kontrol, tarım ve veterinerlik alanlarında yaygın bir şekilde kullanımı söz konusudur. Biyolojik silahların gündeme gelmesiyle 21. yüzyılda biyosensör araştırmaları ivme kazanmıştır.

Biyosensörler ilk olarak Clark ve Lyons tarafından geliştirilmiştir. Laboratuvar koşulları için ilk glikoz biyosensörü geliştirilmiştir. 1973 yılında glikoz biyosensörü ticari hale getirilmiştir. Ticari biyosensörler küçük boyutta ve basit yapılı olmakla birlikte bakım noktası biyoalgı için idealdir. Ticari biyosensörler ile glikozun yanı sıra laktat, kolesterol ve kreatinin de tayin edilebilmektedir. Glikoz biyosensörleri gibi gebelik (hCG), *Escherichia coli* O157, influenza A ve B virüsleri, *Helicobacter pylori*, insan immün yetmezlik virüsü (HIV), tüberküloz ve sıtma gibi diğer ticari testler de başarıya ulaşmıştır. Klinik analizlerde kullanımından ayrı olarak ticari testler çevre (biyolojik oksijen ihtiyacı, nitrat, pestisit gibi), gıda (glutamat, glutamin, sükroz, laktoz, alkol, askorbik asit gibi) ve biyotehdit/biyosavaş (*Bacillus anthracis*, *Salmonella*, *Botulinum toxin*) analizlerinde de kullanılmaktadır (Bahadır ve Sezgintürk 2015).

Ağır metallerin insan sağlığına olan etkisi ve yasal mevzuatlar göz önünde bulundurulduğunda çevre kontrolü önemli hale gelmiştir. Geleneksel analizlerde örnekler test edilmek üzere laboratuvara gönderilmek zorunda kalınırken biyosensörlerin kullanımı ile örnek alınan yerde testlerin hızlı bir şekilde yapılmasına imkan tanınmıştır. Geleneksel metotlarla düşük tayin limitlerinde yüksek doğruluğa ulaşılabilir, ancak bu yöntemler pahalı, zaman alıcı ve eğitimli personele ihtiyaç duymaktadır. Biyosensörlerin geliştirilmesi ile düşük maliyetle hızlı, güvenilir ve duyarlı ölçümler yapılabilmektedir.

Biyosensör yapımında kurutulmuş (ölü) hücre olarak *Aspergillus versicolor* kullanımı ile ilgili literatürde çok az çalışma bulunmakla birlikte kadmiyum tayinine yönelik herhangi bir çalışma bulunmamaktadır. *Aspergillus versicolor* şeker fabrikası atığı olan

melas ile hazırlanan besiyerinde geliştirilip kurutulmuştur. Çalışma elektrodu olan karbon pastası elektrodunda da kurutulmuş olan ölü hücre kullanılmıştır. Melas ve karbon pastası oldukça ekonomiktir. Bu şekilde biyomateryal gelişiminden çalışmanın yapılıp sonucun alınmasına kadar tüm aşamalar kısa sürmesi, pratik olması ve ekonomik olması nedeniyle ağır metal tayini için kullanılan diğer yöntemlere göre oldukça avantajlıdır. Kurutulmuş ölü hücrelerin canlı hücrelere göre metali adsorblama yetenekleri daha güçlüdür. Buradaki önemli nokta hücrelerin kurutulması/öldürülmesi ile birlikte ölü hücre yüzeyinin yapısındaki değişiklikler ve fonksiyonel grupların ortaya çıkmasıdır (Tsezos ve Volesky 1981, Aksu ve Gülen 2002).

Ağır metal içeren atık sularda biyolojik arıtım süreçlerinin fiziksel ve kimyasal arıtım yöntemlerine kıyasla daha etkili, pratik ve ekonomik olması nedeniyle mikroorganizmaların kullanıldığı biyosorbsiyon çalışmaları önem kazanmıştır. Metal biyosorbsiyonunda; bakteri, maya, fungus, alg ve bazı bitki türleri kullanılmaktadır.

Mikroorganizmaların atık sulardaki ağır metal iyonlarını ve reaktif boyaları biyobirikim yoluyla uzaklaştırdığına dair çalışmalar mevcuttur. *Aspergillus versicolor* türü ile yapılan bir çalışmada optimum pH değeri 50 mg/L Cr(VI), Ni(II) iyonları için 6 ve Cu(II) iyonu için 5 bulunmuştur. Cr(VI), Ni(II) ve Cu(II) için uzaklaştırma verimi sırasıyla %99.89, %30.05 ve %29.06 olarak bulunmuştur (Taştan vd. 2010).

Kadmiyum tayinine yönelik tasarlanan biyosensörlerde ise aşağıda birkaç örneğine yer verildiği üzere farklı yöntemlere başvurulmuştur.

LSPR (lokalize yüzey plazman rezonans) sensörü, altın nanopartikülü ile modifiye edilen optik fiber ($NM_{Au}OF$) üzerine fitokelatinlerin (PCs), (γGlc-Cys)$_8$-Gly immobilize edilmesiyle yapılmıştır. Cd(II) 1-8 ppb ($1x10^{-3}$-$8x10^{-3}$ mg.L^{-1}) aralığında çalışılmış ve duyarlılığı 1.24 ppb^{-1}, deteksiyon limiti 0.16 ppb ($16x10^{-5}$ mg.L^{-1}) olarak bulunmuştur (Lin ve Chung 2009).

Bir diğer çalışmada, mısır püskülü-MWCNTs kompozite dayalı yabanturpu peroksidaz enzimatik inhibisyonu ile biyosensör tasarlanmış olup UV-Vis ve dönüşümlü voltametri (CV) teknikleri kullanılmıştır. Cd(II) tayin aralığı 2-30 µg/L ($2x10^{-3}$-$30x10^{-3}$ $mg.L^{-1}$) ve tayin limiti 0.51 µg/L ($51x10^{-5}$ $mg.L^{-1}$) olarak bulunmuştur (Moyo ve Okonkwo 2014).

Diferansiyel puls voltametrisi (DPV) tekniğinin kullanıldığı bir çalışmada ise kitosan (CS), altın nanopartikülleri (AuNPs) ve aptamer ile modifiye edilmiş cam karbon elektroduna (GCE) dayalı elektrokimyasal biyosensör kullanılmıştır. Cd(II) için tayin limiti 0.04995 pM ($5.614x10^{-15}$ g/mL) ($5.614x10^{-9}$ $mg.L^{-1}$) olarak bulunmuştur. Lineer aralık ise 0.001 nM-100 nM ($1.124x10^{-13}$ g/mL-$1.124x10^{-8}$ g/mL) olarak verilmiştir (Liu vd. 2017).

Kadmiyum, kurşun ve civa metal iyonlarının amperometrik tayini için yeni bir polimer immobilize yabanturpu peroksidaz enzimi (Pt/PANI-co-PDTDA/HRP) biyosensör sisteminin tasarlandığı çalışmada Cd(II) için tayin limiti $8x10^{-4}$ µg/L ($8x10^{-7}$ $mg.L^{-1}$) olarak bulunmuştur (Silwana vd. 2014).

Başka bir çalışma için ters yer değiştirme metodunun kullanıldığı protein bazlı floresans biyosensöründe rodamin işaretli metalotionin (MT) kullanılmıştır. Cd(II) için tayin limiti 0.5 µM ($56x10^{-3}$ $mg.L^{-1}$) olarak verilmiştir. Burada kadmiyum iyonları yüksek afinite ile metalotionine bağlanmıştır (Varriale vd. 2007).

Genetik mühendisliği ile kırmızı pigment üreten *Deinococcus radiodurans* bakterisi kullanılarak kolorimetrik tüm hücre biyosensörü tasarlanmıştır. Kırmızı pigment sentezi ile renk değişimi makroskobik olarak izlenmiştir ve Cd(II) için tayin aralığı 50 nM - 1 mM (0.0056-112 $mg.L^{-1}$) olarak verilmiştir (Joe vd. 2012).

Tez çalışmasında geliştirilen kurutulmuş *Aspergillus versicolor* hücresinin kullanıldığı biyosensör, yukarıda yer alan diğer çalışmalar ile karşılaştırıldığında düşük tayin limiti ($1,05x10^{-8}$ M), genetik mühendisliği gibi diğer yöntemlerde uygulanan uzun ön hazırlık

sürecine ihtiyaç duyulmaksızın hızlı cevap verme süresi, pratik ve ekonomik olması gibi avantajlara sahiptir.

Aspergillus versicolor hücre duvarında yer alan ve Cd(II) ile doğrudan etkileşime giren fonksiyonel grupların ortaya çıkarılması, diğer ağır metallerin tekli ve birlikte Cd(II) tayini üzerindeki girişim etkilerinin araştırılması ve bu girişim etkilerini azaltmak amacıyla modifikasyon yoluna başvurulması ilgili tez çalışmasında araştırılan biyosensörün geliştirilmesi ve ticari olarak kullanılabilir hale getirilmesi açısından önem arz etmektedir.

KAYNAKLAR

Abdelghani, A. and Jaffrezic-Renault, N. 2001. SPR fibre sensor sensitised by fluorosiloxane polymers. Sensors and Actuators, 74; 117-123.

Abshire, M. K., Devor, D. E., Diwan, B. A., Shaughnessy, J. D., Waalkes, M. P. 1996. *In vitro* exposure to cadmium in rat L6 myoblasts can result in both enhancement and suppression of malignant progression in vivo. Carcinogenesis, 17; 1349–1356.

Adams, R. N. 1958. Carbon paste electrodes. Analytical Chemistry, 30; 1576.

Ahmad, A., Ramakrishnan, A., McLean, M. A., Li, D., Rock, M. T., Karim, A. and Breau, A. P. 2002. Use of optical biosensor technology to study immunological cross-reactivity between different sulfonamide drugs. Analytical Biochemistry, 300; 177-184.

Åkesson, A., Bjellerup, P., Lundh, T., Lidfeldt, J., Nerbrand, C. and Samsioe, G. 2006. Cadmium-induced effects on bone in a population-based study of women. Environ Health Perspect. 2006;114:830–834.

Akkoyun, A., Kohen, V. F. and Bilitewski, U. 2000. Detection of sulphamethazine with an optical biosensor and anti-idiotypic antibodies. Sensors and Actuators, 70; 12-18.

Aksu, Z. and Gülen, H. 2002. Binary biosorption of iron(III) and iron(III)-cyanide complex ions on Rhizopus arrhizus: modelling of synergistic interaction. Process Biochemistry, 38; 161-173.

Aksu, Z. and Dönmez, G. 2006. Binary biosorption of cadmium(II) and nickel(II) onto dried Chlorella vulgaris: Co-ion effect on mono-component isotherm parameters. Process Biochemistry, 41; 860-868.

Akyılmaz, E. and Dinçkaya, E. 2005. An amperometric microbial biosensor development based on Candida tropicalis yeast cells for sensitive determination of ethanol. Biosensors and Bioelectronics, 20; 1263-1269.

Akyılmaz, E. Yorgancı, E. and Asav, E. 2010. Do copper ions activate tyrosinase enzyme? A biosensor model for the solution. Bioelectrochem, 78; 155-160.

Alocilja, E. C. and Radke, S. M. 2003. Market analysis of biosensors for food safety. Biosensors and Bioelectronics, 18; 841-846.

Alpat, Ş., Alpat, S. K., Çadırcı, B. H., Yaşa, İ. and Telefoncu, A. 2008. A novel microbial biosensor based on Circinella sp modified carbon paste electrode and its voltammetric application. Sensors and Actuators B, 134; 175-181.

Andreou, V. G. and Clonis, Y. D. 2002. A portable fiber-optic pesticide biosensor based on immobilized cholinesterase and sol-gel entrapped bromcresol purple infield use. Biosensors & Bioelectronics, 17; 61-69.

Andres, R. T. And Narayanaswamy, R. 1997. Fiber-optic pesticide biosensor based on covalently immobilized acetylcholinesterase and thymol blue. Talanta, 44; 1335-1352.

Anonim. 2016. Web Sitesi: http://akimya.pharmacy.ankara.edu.tr/wp-content/uploads/sites/43/2016/10/potansiyometri.pdf. Erişim Tarihi: 20.12.2019.

Anonim. 2016. Web Sitesi: http://akimya.pharmacy.ankara.edu.tr/wp-content/uploads/sites/43/2016/10/voltametri.pdf. Erişim Tarihi: 20.12.2019.

Anonymous. 1987. Gesamp. IMO/FAO/UNESCO/WMO/WHO/IAEA/UN/UNEP Joint Group of Experts on the Scientific Aspects of Marine Pollution: Report of the seventeenth session. World Health Organization (Reports and Studies No. 31), Geneva, Switzerland.

Anonymous. 1993. Monographs-Cadmium. International Agency for Research on Cancer (IARC), Lyon, France.

Anonymous. 2006. Cadmium Compounds. U.S Environmental Protection Agency (EPA).

Anonymous. 2006. Web Sitesi: https://serc.carleton.edu/microbelife/topics/marinesymbiosis/squid-vibrio/index.html. Erişim Tarihi: 23.12.2019.

Anonymous. 2008. Draft Toxicological Profile for Cadmium. Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR), Atlanta.

Anonymous. 2016. Web Sitesi: http://akimya.pharmacy.ankara.edu.tr/wp-content/uploads/sites/43/2016/10/voltametri.pdf. Erişim Tarihi: 24.12.2019.

Anonymous. 2019. Web Sitesi: https://www.gelifesciences.com/en/us/shop/biacore-3000-goldseal-p-02795. Erişim Tarihi: 23.12.2019.

Atkins, P. and Jones, L. 2008. Temel Kimya 2 – Moleküller, Maddeler ve Değişimler. Bilim Yayıncılık, 956.

Badia, R. and Diaz Garcia, M. E. 1998. Room temperature phosphorescence flow-through biosensing of anionic surfactants. Analytica Chimica Acta, 371; 73-80.

Bagchi, S. 1995. Oxidative mechanisms in the toxicity of metal ions. Free Radic Biol Med., 18; 321–336.

Bahadır, E. B. and Sezgintürk, M. K. 2015. Applications of commercial biosensors in clinical, food, environmental, and biothreat/biowarfare analyses, 478; 107-120.

Bard, A. J. and Faulkner, L. R. 1980. Electrochemical Methods, Fundamentals and Applications. John Wiley and Sons, New York.

Barker, G. C. and Jenkins, I. L. 1952. Analyst, 77; 685.

Barzen, C., Brecht, A. and Gauglitz, G. 2002. Optical multiple-analyte immunosensor for water pollution control. Biosensors & Bioelectronics, 17; 289-295.

Baselt, R. C. and Cravey, R. H. 1995. Disposition of Toxic Drugs and Chemicals in Man. 4th Edn. Chicago, IL: Year Book Medical Publishers, 105–107.

Baselt, R. C. 2000. Disposition of Toxic Drugs and Chemicals in Man. 5th Ed. Foster City, CA: Chemical Toxicology Institute.

Becker, K., Kaus, S., Krause, C., Lepom, P., Schulz, C. and Seiwert, M. 2002. German Environmental Survey 1998 (GerES III): environmental pollutants in blood of the German population. Intl J Hyg Environ Health, 205; 297–308.

Beşergil, B. 2019. Referans Elektrotlar. Web Sitesi: http://bilsenbesergil.blogspot. com/p/blog-page_708.html. Erişim Tarihi: 24.12.2019.

Boenke, A. 2002. Contribution of European research to anti-microbials and hormones. Analytica Chimica Acta, 473; 83-87.

Boiarski, A. A., Busch, J. R., Brody, R. S., Ridgway, R. W., Altman, W. P. and Golden, C. 1996. Integrated optic sensor for measuring aflatoxin-B in corn. Proc. SPIE-Int. Soc. Opt. Eng., 2686; 45-52.

Bond, A. M. 1980. Modern polarographic methods in analytical chemistry. Marcel Dekker, New York.

Carter, R. M., Lubrano, G. J., Guilbault, G. G. 1994. Immunobiosensors for toxins and bacteria. Life Chem. Rep., 11; 271-277.

Chinalia, F.A., Paton, G.I. and Killham, K.S. 2008. Physiological and toxicological characterization of an engineered whole-cell biosensor. Bioresource Technology, 99; 714-721

Chouteau, C., Dzyadevych, S., Durrieu, C. and Chovelon, J.M. 2004. A bi-enymatic whole cell coductometric biosensor for heavy metal ions and pesticides in water samples. Biosensors and Bioelectronics, 21; 273-281.

Coille, I., Reder, S., Bucher, S. and Gauglitz, G. 2002. Comparison of two fluorescence immunoassay methods for the detection of endocrine disrupting chemicals in water. Biomolecular Engineering, 18; 273-280.

Collings, A. F. and Caruso, F. 1997. Biosensors: Recent Advances. Reports on progress in physics, 60; 1397-1145.

Contreras-Coll, N., Lucena, F., Mooijman, K., Havelaar, A., Pierzo, V., Boque, M., Gawler, A., Holler, C., Lambiri, M. and Mirolo, G. 2002. Occurrence and levels of indicator bacteriophages in bathing waters throughout Europe. Water Research, 36; 4963-4974.

Copeland, T. R. and Skogerboe, R. K. 1974. Anodic stripping voltammetry. Anal. Chem., 46; 1257A-1268a.

Çekirdek, P. 2005. Voltametrik metotlarla ditiyofosfonat anyonlarının elektrokimyasal davranışlarının incelenmesi. Doktora Tezi, Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Anabilim Dalı, 116, Ankara.

Davison, A. G., Fayers, P. M., Taylor, A. J., Venables, K. M., Darbyshire, J. and Pickering, C. A. 1988. Cadmium fume inhalation and emphysema. Lancet, 1(8587); 663–667.

Degiuli, A. and Blum, L. J. 2000. Flow injection chemiluminescence detection of chlorophenols with a fiber optic biosensor. Med. Biochem., 4; 32-42.

Delehanty, J. B. and Ligler, F. S. 2002. A microarray immunoassay for simultaneous detection of proteins and bacteria. Analytical Chemistry, 74; 5681-5687.

Deng, J., Liao, B., Ye, M., Deng, D., Lan C. and Shu, W. 2007. The effects of heavy metal pollution on genetic diversity in zinc/cadmium hyperaccumulator *Sedum alfredii* populations. Plant and Soil, 297; 83-92.

Dönmez, G. and Aksu, Z. 1999. The effect of copper (II) ions on growth and bioaccumulation properties of some yeasts. Process Biochem., 35; 135-42.

Dönmez, G. and Aksu, Z. 2001. Bioaccumulation of copper(II) and nickel(II) by the non-adapted and adapted growing Candida sp. Water Research, 35(6); 1425-1434.

D'souza, S.F. 2001. Microbial biosensors. Biosensors and Bioelectronics, 16; 337-353.

Durnam, D. M. and Palmiter, R. D. 1981. Transcriptional regulation of the mouse metallothionein-I gene by heavy metals. J Biol Chem., 256; 5712–5716.

Durrieu, C. and Tran-Minh, C. 2002. Optical algal biosensor using alkaline phosphatase for determination of heavy metals. Ecotoxicology and Environmental Safety, 51; 206-209.

Elinder, C. G. and Järup, L. 1996. Cadmium exposure and health risks: Recent findings. Ambio, 25; 370.

Ercole, C., Gallo, M. D., Pantalone, M., Santucci, S., Mosiello, L., Laconi, C. and Lepidi, A. 2002. A biosensor for Escherichia coli based on a potentiometric alternating biosensing (PAB) transducer. Sensors and Actuators B, 83; 48-52.

Evans, M. R., Jordison, G. M., Rawson, D. M. and Regerson, J. G. 1998. Pestic. Sci., 54; 447.

Farre, M., Pasini, O., Carmen, A., Castillo, M. and Barcelo, D. 2001. Toxicity assesment of organic pollution in wastewaters using a bacterial biosensor. Analytica Chimica Acta, 426; 155-165.

Farre, M. and Barcelo, D. 2003. Toxicity testing of wastewater and sewage sludge by biosensors, bioassays and chemical analysis. TrAC Trends in Analytical Chemistry, 22; 299-310.

Fishman, H. A., Greenwald, D. R. and Zare, R. N. 1998. Biosensors in chemical separations. Annu. Rev. Biophys. Biomol. Struct., 27; 165-198.

Gallagher, C. M., Kovach, J. S. and Meliker, J. R. 2008. Urinary cadmium and osteoporosis in U.S. women ≥ 50 years of age: NHANES 1988–1994 and 1999–2004. Environ Health Perspect, 116; 1338–1343.

Gonzalez-Martinez, M. A., Puchades, R. and Maquieira, A. 1999. On-line immunoanalysis for environmental pollutants: from batch assays to automated sensors. TrAC Trends in Analytical Chemistry, 18; 204-218.

Guilbault, G. G., Sibley, D. E. T., Carter, R. M. and Lubrano, G. J. 1993. NATO ASI Ser., Ser. E, 252; 377-385.

Hansen, L. H. and Sorensen, S. J. 2000. Detection and quantification of tetracyclines by whole cell biosensors. FEMS Microbiol. Lett., 190; 273-278.

Hansen, P. D., Dizer, H., Hock, B., Marx, A., Sherry, J., McMaster, M., Blaise, C. 1998. Vitellogenin – a biomarker for endocrine disruptors. TrAC Trends in Analytical Chemistry, 17; 448-451.

Hasebe, Y., Yokobori, K., Fukasawa, K., Kogure, T. and Uchiyama, S. 1997. Highly sensitive electrochemical determination of Escherichia coli density using tyrosinase-based chemically amplified biosensor. Analytica Chimica Acta, 357; 51-54.

Hwua, Y. and Yang, J. 1998. Effect of 3-aminotriazole on anchorage independence and mutagenicity in cadmium- and lead-treated diploid human fibroblasts. Carcinogenesis, 19; 881–888.

Iqbal, S. S., Mayo, M. W., Bruno, J. G., Bronk, B. V., Batt, C. A. and Chambers, J. P. 2000. A review of molecular recognition Technologies for detection of biological threat agents. Biosens. Bioelectron., 15; 549-578.

Ivask, A., Virta, M. and Kahru, A. 2002. Construction and use of spesific luminescent recombinant bacterial sensors for the assessment of bioavailable fraction of cadmium, zinc, mercury and chromium in the soil. Soil Biol. Biochem., 34; 1439-1447.

Jarup, L., Berglund, M. And Elinder, C. G. 1998. Health effects of cadmium exposure-a review of the literature and a risk estimate. Work Environ Health, 24(3); 240.

Joe, M., Lee, K., Lim, S., Im, S., Song, H., Lee, I. and Kim, D. 2012. Pigment-based whole-cell biosensor system for cadmium detection using genetically engineered Deinococcus radiodunans. Bioprocess and Biosystems Engineering, 35; 265-272.

Kaçar, C. 2010. Trazodon'un elektrokimyasal davranışı ve adsorptif sıyırma yöntemleriyle tayini. Yüksek Lisans Tezi, Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Anabilim Dalı, 75, Ankara.

Kaji, M. 2012. Role of experts and public participation in pollution control: the case of Itai-itai disease in Japan. Ethics Sci Environ Polit., 12; 99-111.

Koubova, V., Brynda, E., Karasova, L., Skvor, J., Homola, J., Dostalek, J., Tobiska, P. and Rosicky, J. 2001. Detection of foodborne pathogens using surface plasmon resonance biosensors. Sens. Actuators B, 74; 100-105.

Krawczynski vel Krawczyk, T., Moszczynska, M. and Trojanowicz, M. 2000. Inhibitive determination of mercury and other metal ions by potentiometric urea biosensor. Biosens. Bioelectron., 15; 681-691.

Kuswandi, B., Andres, R. and Narayanaswamy, R. 2001. Optical fibre biosensors based on immobilized enzymes. Analyst, 126 (8); 1469-1491.

Landolph, J. 1994. Molecular mechanisms of transformation of CH3/10T1/2 C1 8 mouse embryo cells and diploid human fibroblasts by carcinogenic metal compounds. Environ Health Perspect, 102; 119–125.

Larsen, L. H., Kjaer, T. and Revsbech, N. P. 1997. A microscale NO_3^- biosensor for environmental applications. Anal. Chem., 69; 3527-3531.

Lei, Y., Chen, W. and Mulchandani, A. 2006. Microbial Biosensors. Analytica Chemica Acta, 568; 200-210.

Lin, T. and Chung, M. 2009. Detection of cadmium by a fiber-optic biosensor based on localized surface plasmon resonance. Biosensors and Bioelectronics, 24; 1213-1218.

Liu, J. and Mattiasson, B. 2002. Microbial BOD sensors for wastewater analysis. Water Res., 36; 3786-3802.

Liu, Y., Lai, Y., Yang, G., Tang, C., Deng, Y., Li, S. and Wang, Z. 2017. Cd-Aptamer Electrochemical Biosensor Based on AuNPs/CS Modified Glass Carbon Electrode. Journal of Biomedical Nanotechnology, 13; 1253-1259(7).

Liu, Z.Y., Wang, G.C. and Zhou, B.C. 2008. Effect of iron on growth and lipid accumulation in Chlorella vulgaris. Bioresource Technology, 99; 4717–4722.

Malitesta, C. and Guascito, M.R. 2005. Heavy metal determination by biosensors based on enzyme immobilised by electropolymerisation. Biosensors and Bioelectronics, 20; 1643-1647.

Mallat, E., Barzen, C., Klotz, A., Brecht, A., Gauglitz, G. and Barcelo, D. 1999. Analyzer for chlorotriazines with a direct optical immunosensor. Environ. Sci. Technol., 33; 965-971.

Mallat, E., Barzen, C., Abuknesha, R., Gauglitz, G. and Barcelo, D. 2001. Fast determination of paraquat residues in water by an optical immunosensor and validation using capillary electrophoresis-ultraviolet detection. Analytica Chimica Acta, 427; 165-171.

Mallat, E., Barzen, C., Abuknesha, R., Gauglitz, G. and Barcelo, D. 2001. Part per trillion level determination of isoproturon in certified and estuarine water samples with a direct optical immunosensor. Analytica Chimica Acta, 426; 209-216.

Mannino, D. M., Holguin, F., Greves, H. M., Savage-Brown, A., Stock, A. L., Jones, R. L. 2004. Urinary cadmium levels predict lower lung function in current and former smokers: data from the Third National Health and Nutrition Examination Survey. Thorax, 59; 194–198.

Mascagni, P., Consonni, D., Bregante, G., Chiappino, G. and Toffoletto, F. 2003. Olfactory function in workers exposed to moderate airborne cadmium levels. Neurotoxicol, 24; 717–724.

McArdle, F. A. and Persaud, K. C. 1993. Development of an enzyme-based biosensor for atrazine detection. Analyst, 118; 419-423.

Mitra, R. S. 1984. Protein synthesis in *Escherichia coli* during recovery from exposure to low levels of Cd^{2+}. Appl Environ Microbiol, 47; 1012–1016.

Mojica, E. R. E., Vidal, J. M., Pelegrina, A. B. and Micor, J. R. L. 2007. Voltammetric determination of lead (II) ions at a carbon paste electrode modified with banana tissue. Journal of Applied Sciences, 7; 128-129.

Mouvet, C., Harris, R. D., Maciag, C., Luff, B. J., Wilkinson, J. S., Piehler, J., Brecht, A., Gauglitz, G., Abuknesha, R. and Ismail, G. 1997. Determination of simazine in water samples by waveguide surface plasmon resonance. Analytica Chimica Acta, 338; 109-117.

Moyo, M. and Okonkwo, J. O. 2014. Horseradish peroxidase biosensor based on maize tassel –MWCNTs composite for cadmium detection. Sensors and Actuators B: Chemical, 193; 515-521.

Mukherjee, S., Das, S. K., Kabiru, W., Russell, K. R., Greaves, K. and Ademoyero, A. A. 2002. Acute cadmium toxicity and male reproduction. Adv Reprod., 6; 143–155.

Mulchandani, A., Chen, W., Mulchandani, P., Wang, J. and Rogers, K. R. 2001. Biosensors for direct determination of organophosphate pesticides. Biosens. Bioelectron, 16; 225-230.

Nielsen, F. M. and Utley, J. H. P. 2001. Organic electrochemistry, 4thed. H. Lund and O. Hammerich, Eds. Marcel Dekker, New York.

Ogert, R. A., Brown, J. E., Singh, B. R., Shriver-Lake, L. C. and Ligler, F. S. 1992. Detection of *Clostridium botulinum* toxin A using a fiber optic-based biosensor. Anal. Biochem., 205; 306-312.

Palleschi, G., Compagnone, D., Moscone, D. 1997. VTT Symp., 177; 141-160.

Parellada, J., Narvaez, A., Lopez, M. A., Dominguez, E., Fernandez, J. J., Pavlov, V. and Katakis, I. 1998. Amperometric immunosensors and enzyme electrodes for environmental applications. Anal. Chim. Acta, 362; 47-57.

Paschal, D. C., Burt, V., Caudill, S. P., Gunter, E. W., Pirkle, J. L. and Sampson, E. J. 2000. Exposure of the U.S. population aged 6 years and older to cadmium: 1988–1994. Arch Environ Contam Toxicol, 38; 377-383.

Pasini, P., Gentlilomi, G., Baraldini, M., Musiani, M. and Roda, A. 2002. 12th International Symposium on Bioluminescence and Chemiluminescence.

Patel, P. D. 2002. (Bio)sensors for measurement of analytes implicated in food safety: a review. TrAC Trends in Analytical Chemistry, 21; 96-115.

Petanen, T. and Romantschuk, M. 2002. Use of bioluminescent bacterial sensors an alternative method for measuring heavy metals in soil extracts. Anal. Chim. Acta, 456; 55-61.

Petrucci, R. H., Herring, F. G., Madura, J. D. and Bissonnette, C. 2015. Genel Kimya Cilt 1 İlkeler ve Modern Uygulamalar. Palme Yayıncılık, 674.

Pianetti, A., Baffone, W., Bruscolini, F., Barbieri, E., Biffi, M. R., Salvaggio, L. and Albano, A. 1998. Presence of several pathogenic bacteria in the Metauro and Foglia Rivers (Pesaro-Urbino, Italy). Water Res., 32; 1515-1521.

Purdom, C. E., Hardiman, P. A., Bye, V. J., Eno, N. C., Tyler, C. R., Sumpter, J. P. 1994. Estrogenic effects of effluents from sewage treatments works. Chem. Ecol., 8; 275-285.

Purohit, H. J. 2003. Biosensors as molecular tools for use in bioremediation. J. Cleaner Prod., 11; 293-301.

Ramanathan, S., Ensor, M. and Daunert, S. 1997. Bacterial biosensors for monitoring toxic metals. Trends Biotechnol., 15; 500-506.

Ramanathan, K. and Danielsson, B. 2001. Principles and application of thermal biosensors. Biosens. Bioelectron., 16; 417-423.

Rasmussen, L. D., Sorensen, S. J., Turner, R. R. and Barkay, T. 2000. Application of a mer-lux biosensor for estimating bioavailable mercury in soil. Soil Biol. Biochem., 32; 639-646.

Reshetilov, A.N., Semenchuk, I. N., Iliasov, P. V. and Taranova, L. A. 1997. The amperometric biosensor for detection of sodium dodecyle sulfate. Anal. Chim. Acta, 347; 19-26.

Rether, A. 2002. Entwicklung und Charakterisierung wasserlöslicher Benzoylthioharnstofffunktionalisierter Polymere zur selektiven Abtrennung von Schwermetallionen aus Abwässern und Prozesslösungen. Doktora Tezi. Münih Teknik Üniversitesi.

Rodriguez-Mozaz, S., Marco, M., Lopez de Alda, M. J. and Barcelo D. 2004. Biosensors for environmental applications: Future development trends. Pure Appl. Chem., 76; 723-752.

Rossman, T. G., Roy, N. K. and Lin, W. C. 1992. Is cadmium genotoxic? IARC Sci Publ., 118; 367–375.

Rowe-Taitt, C. A., Golden, J. P., Feldstein, M. J., Cras, J. J., Hoffman, K. E. and Ligler, F. S. 2000. Array biosensor for detection of biohazards. Biosens. Bioelectron., 14; 785-794.

Rowe-Taitt, C. A., Hazzard, J. W., Hoffman, K. E., Cras, J. J., Golden, J. P. and Ligler, F. S. 2000. Simultaneous detection of six biohazardous agents using a planar waveguide array biosensor. Biosens. Bioelectron., 15; 579-589.

Satarug, S., Baker, J. R., Urbenjapol, S., Haswell-Elkins, M., Reilly, P. E. and Williams, D. J. 2003. A global perspective on cadmium pollution and toxicity in non-occupationally exposed population. Toxicol Lett, 137; 65–83.

Schutte, R., Nawrot, T. S., Richart, T., Thijs, L., Vanderschueren, D. and Kuznetsova, T. 2008. Bone resorption and environmental exposure to cadmium in women: a population study. Environ Health Perspect, 116; 777–783.

Sequeira, M., Bowden, M., Minogue, E. and Diamond, D. 2002. Towards autonomous environmental monitoring systems. Talanta, 56; 355-363.

Setford, S. J., Van Es, R. M., Blankwater, Y. J. and Kroger, S. 1999. Receptor binding protein amperometric affinity sensor for rapid β-lactam quantification in milk. Anal. Chim. Acta, 398; 13-22.

Shimomura, M., Nomura, Y., Zhang, W., Sakino, M., Lee, K. H., Ikebukuro, K. and Karube. 2001. Simple and rapid detection method using surface plasmon resonance for dioxins, polychlorinated biphenylx and atrazine. Anal. Chim. Acta, 434; 223-230.

Sienko, M. J. and Plane, R. A. 1983. Temel Kimya. Ankara Üniversitesi Fen Fakültesi Yayınları, 541, Ankara.

Silwana, B., Van Der Horst, C., Iwuoha, E. and Somerset, V. 2014. Amperometric determination of cadmium, lead and mercury metal ions using a novel polymer immobilised horseradish peroxidase biosensor system. Journal of Environmental Science and Health, Part A>Toxic/Hazardous Substances and Environmental Engineering, 49; 1501-1511.

Singhal, R. L., Merali, Z. and Hrdina, P. D. 1976. Aspects of the biochemical toxicology of cadmium. Fed Proc, 35(1); 75–80.

Smith, M. H. and Rechnitz, G. A. 1993. Anal. Chem., 65; 380.

Socorro-Leranoz, A. B., Santano, D., Del Villar, I. and Matias, I. R. 2019. Trends in the design of wavelength-based optical fibre biosensors (2008-2018). Biosensors and Bioelectronics: X, 1; 100015.

Sticher, P., Jaspers, M. C., Stemmler, K., Harms, H., Zehnder, A. J. and van der Meer, J. R. 1997. Development and Characterization of a whole-cell bioluminescent sensor for bioavailable middle-chain alkanes in contaminated groundwater samples. Appl. Environ. Microbiol., 63; 4053-4060.

Stiner, L. and Halverson, L. J. 2002. Development and characterization of a gren fluorescent protein-based bacterial biosensor for bioavailable. Appl. Environ. Microbiol., 68; 1962-1971.

Stoppler, M., Cadmium, U., Ewers, H., -W., Schlipköter, Lead, in: Merian, E. (Ed.). 1991. Metals and Their Compounds in the Environment. VCH, New York.

Subrahmanyam, S., Piletsky, S. A. and Turner, A. P. F. 2002. Application of natural receptors in sensors and assays. Anal. Chem., 74; 3942-3951.

Taranova, L., Semenchuk, I., Manolov, T., Iliasov, P. and Reshetilov, A. 2002. Biosens. Bioelectron., 17; 635-640.

Taştan, B. E., Ertuğrul, S. and Dönmez, G. 2010. Effective bioremoval of reactive dye and heavy metals by *Aspergillus versicolor*. Bioresource Technology, 101; 870-876.

Taton, T. A., Lu, G. and Mirkin, C. A. 2001. Two-color labeling of oligonucleotide arrays via size-selective scattering of nanoparticle probes. J. Am. Chem. Soc., 123; 5164-5165.

Thevenot, D. R., Toth, K., Durst, R. A. and Wilson, G. S. 2001. Electrochemical biosensors: recommended definitions and classification. Biosens. Bioelectron., 16; 121-131.

Tiefenauer, L. and Ros, R. 2002. Biointerface analysis on a molecular level, new tools for biosensor research. Colloids Surf. B: Biointerfaces, 23; 95-114.

Tothill, I. E. 2001. Biosensor developments and potential applications in the agricultural diagnosis sector. Computers and Electronics in Agriculture, 30; 205-218.

Toze, S. 1999. PCR and the detection of microbial pathogens in water and wastewater. Water Res., 33; 3545-3556.

Tran Minh, C. and Pandey, P. C. 1992. Biosensors and toxins detection. Bull. Electrochem., 8; 199-204.

Tsezos, M. and Volesky, B. 1981. Biosorption of Uranium and Thorium. Biotechnology and Bioengineering, 23(3); 583-604.

Tsuzuki, K., Sugiyama, M. and Haramaki N. 1994. DNA single-strand breaks and cytotoxicity induced by chromate (VI), cadmium (II), and mercury (II) in hydrogen peroxide-resistant cell lines. Environ Health Perspect., 102;341–342.

Yüce, M. 2011. Bazı ağır metallerin tayininde kullanılmak üzere mikrobiyal biyosensör geliştirilmesi. Doktora Tezi, Ankara Üniversitesi, Biyoteknoloji Enstitüsü, Temel Biyoteknoloji Anabilim Dalı, 113, Ankara.

Varriale, A., Staiano, M., Rossi, M. and D'Auria, S. 2007. High-Affinity Binding of Cadmium Ions by Mouse Metallothionein Prompting the Design of a Reversed-Displacement Protein-Based Fluorescence Biosensor for Cadmium Detection. Anal. Chem., 79, 15; 5760-5762.

Vedrine, C., Leclerc, J. C., Durrieu, C. and Tran-Minh, C. 2003. Optical whole-cell biosensor using Chlorella vulgaris designed for monitoring herbicides. Biosens. Bioelectron., 18; 457-453.

Volotovsky, V., Nam, Y. J. and Kim, N. 1997. Urease-based biosensor for mercuric ions determination. Sens. Actuator B Chem., 42; 233-37.

Waalkes, M. P. and Rehm, S. 1992. Fundam Appl Toxicol., 19; 512.

Waalkes, M. P., Berthan, G. and editors. 1995. Handbook on Metal-Ligand Interactions of Biological Fluids. Vol. 2.: Marcel Dekker, 471–482, New York.

Waalkes, M. P., Misra, R. R., Chang, L. W. and editors. 1996. Toxicology of Metals. Boca Raton, FL: CRC Press, 231–244.

Wadkins, R. M., Golden, J. P., Pritsiolas, L. M. and Ligler, F. S. 1998. Detection of multiple toxic agents using a planar array immunosensor. Biosens. Bioelectron., 13; 407-415.

Wang, J., Rivas, G., Cai, X., Palecek, E., Nielsen, P., Shiraishi, H., Dontha, N., Luo, D., Parrado, C. and Chicharro, M. 1997. DNA electrochemical biosensors for environmental monitoring. A review. Anal. Chim. Acta, 347; 1-8.

Wang, J. and Chen, C. 2009. Biosorbents for heavy metals removal and their future. Biotechnology Advances, 27; 195-226.

Wilmer, M., Trau, D., Renneberg, R. and Spener, F. 1997. Amperometric immunosensor for the detection of 2,4-Dichlorophenoxyacetic acid in water. Analytical Letters, 30(3); 515-525.

Wilson, D. N. 1988. Association Cadmium, Cadmium - market trends and influences. Cadmium 87 Proceedings of the 6th International Cadmium Conference, pp. 9–16, London.

Wink, T. H., van Zuilen, S. J., Bult, A. and van Bennekom, W. P. 1997. Self-assembled monolayers for biosensors. Analyst, 122; 43-50.

Wittman, R. and Hu, H. 2002. Cadmium exposure and nephropathy in a 28-year-old female metals worker. Environ Health Perspect, 110; 1261.

Yerian, T. D., Christian, G. D. and Ruzicka, J. 1988. Flow injection analysis as a diagnostic technique for development and testing of chemical sensors. Anal. Chim. Acta, 204; 7-28.

Ziegler, C. and Gopel, W. 1998. Biosensor development. Curr. Opin. Chem. Biol., 2; 585-591.

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Seda Nur TOKUÇCU
Doğum Yeri : Ankara
Doğum Tarihi : 05.01.1987
Medeni Hali : Evli
Yabancı Dili : İngilizce

Eğitim Durumu

Lise : Cumhuriyet Anadolu Lisesi (2005)
Lisans : Ankara Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü (2009)
Yüksek Lisans : Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı (Şubat 2020)

Çalıştığı Kurum

Radmed A.Ş. (2010-2017)