T.C.
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

8-HİDROKSİ-2'-DEOKSİGUANOZİN TAYİNİ İÇİN ELEKTROKİMYASAL SENSÖR HAZIRLANMASI

AYAD JIRJEES DHULKEFL DHULKEFL

YÜKSEK LİSANS TEZİ
Kimya Anabilim Dalı

14/10/2019
KONYA
Her Hakkı Saklıdır

ÖZET

YÜKSEK LİSANS TEZİ

8-HİDROKSİ-2'-DEOKSİGUANOZİN TAYİNİ İÇİN ELEKTROKİMYASAL SENSÖR HAZIRLANMASI

AYAD JIRJEES DHULKEFL DHULKEFL

Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü
Kimya Anabilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. Salih Zeki BAŞ

2019, 46 Sayfa

Jüri
Doç. Dr. Salih Zeki BAŞ
Doç. Dr. Mustafa ÖZMEN
Doç. Dr. Özlem ŞAHİN

Bu çalışmada, Ag-TiO_2-indirgenmiş grafen oksit hibrit nanomalzemesi kullanılarak oksidatif DNA hasar ürünlerinden biri olan 8-hidroksi-2'-deoksiguanozin (8-OHdG) tayini için oldukça seçici bir elektrokimyasal sensör geliştirildi. Hazırlanan sensörün (Ag-TiO_2-rGO/SPE) amperometrik cevapları diferansiyel puls voltametri (DPV) tekniği ile 8-OHdG'in yükseltgenme akımı izlenerek ölçüldü. Ag-TiO_2-rGO/SPE sensörünün akım cevapları üzerine rGO : Ag-TiO_2 oranı, elektrot yüzeyindeki Ag-TiO_2-rGO miktarı, elektrolit pH'ı ve girişim maddelerinin etkisi detaylı bir şekilde araştırıldı. Optimum şartlarda, sensörün akım cevapları 10 nM gözlenebilme sınırı ile 0,05-25 µM 8-OHdG konsantrasyon aralığında lineerlik gösterdi. Ayrıca, Ag-TiO_2-rGO/SPE sensörü 8-OHdG tayini için sadece 50 µL insan idrar numunesine başarıyla uygulandı.

Anahtar Kelimeler: 8-hidroksi-2'-deoksiguanozin, hibrit nanomalzeme, indirgenmiş grafen oksit, Ag-TiO_2, elektrokimyasal sensör.

ABSTRACT

MS

PREPARATION OF AN ELECTROCHEMICAL SENSOR FOR DETERMINATION OF 8-HYDROXY-2'-DEOXYGUANOSINE

AYAD JIRJEES DHULKEFL DHULKEFL

THE GRADUATE SCHOOL OF NATURAL AND APPLIED SCIENCE OF SELÇUK UNIVERSITY
THE DEGREE OF MASTER OF SCIENCE

Advisor: Assoc. Prof. Dr. Salih Zeki BAŞ

2019, 46 Pages

Jury
Assoc. Prof. Dr. Salih Zeki BAŞ
Assoc. Prof. Dr. Mustafa ÖZMEN
Assoc. Prof. Dr. Özlem ŞAHİN

In this study, a highly selective electrochemical sensor based on Ag-TiO_2-reduced graphene oxide (rGO) hybrid nanomaterial modified screen printed electrode (Ridnour ve ark., 2005) was developed for the determination of 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine (8-OHdG), which is an important DNA biomarker due to one of the major products of oxidative DNA damage. The amperometric responses of the fabricated sensor (Ag-TiO_2-rGO/SPE) were measured via monitoring oxidation current of 8-OHdG by using differential pulse voltammetry (DPV) technique. Effects of rGO : Ag-TiO_2 ratio, amount of Ag-TiO_2-rGO on the electrode surface, electrolyte pH, possible interfering substances on the current response of Ag-TiO_2-rGO/SPE were investigated in detail. Under the optimized conditions, the current signals linearly correlated with the concentration of 8-OHdG in the range of 0.05-25 µM with a detection limit of 10 nM. Furthermore, Ag-TiO_2-rGO/SPE was successfully applied for the determination of 8-OHdG in human urine samples (only in a volume of 50 µL) with satisfactory recovery.

Keywords: 8-hydroxy-2′-deoxyguanosine, hybrid nanomaterial, reduced graphene oxide, Ag-TiO_2, electrochemical sensor.

ÖNSÖZ

Bu çalışma, Selçuk Üniversitesi Fen Fakültesi Kimya Bölümü Öğretim Üyesi Doç. Dr. Salih Zeki BAŞ danışmanlığında tamamlanarak, Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü'ne Yüksek Lisans Tezi olarak sunulmuştur.

Tez çalışmalarım boyunca desteğini esirgemeyen, zorluk yaşadığım tüm anlarda yanımda olan danışmanım Sayın Doç. Dr. Salih Zeki BAŞ'a, çalışmalarım boyunca benden destek ve teşviklerini esirgemeyen Sayın Doç. Dr. Mustafa ÖZMEN'e, çalışmalarımda kullandığım Ag-TiO_2 nanomalzemesinin sentezi için Sayın Öğr. Gör. Dr. Keziban ATACAN'a ve eğitim hayatım boyunca maddi-manevi, her anlamda beni destekleyen ve yanımda olan aileme, tez çalışmam boyunca destek ve fedakârlıklarını esirgemeyen kardeşim Elaf Jirjees Dhulkefl Dhulkefl ve arkadaşlarıma çok teşekkür ederim.

Ayad Jirjees Dhulkefl Dhulkefl

Konya-2019

İÇİNDEKİLER

ÖZET ..... **iv**

ABSTRACT ..... **v**

ÖNSÖZ ..... **vi**

İÇİNDEKİLER ..... **vii**

1. GİRİŞ **1**

2. 8-HİDROKSİ-2'-DEOKSİGUANOZİN (8-OHdG) **3**

2.1. 8-OHdG Seviyesi ve Ölçüm Yöntemleri 4
2.2. Oksidatif ve Nitrosatif Stres 5

3. KİMYASAL SENSÖRLER **8**

3.1. Sensör Tanımı ve Tarihçesi 8
3.2. Kimyasal Sensörler ve Sınıflandırılması 8
3.3. Elektrokimyasal Sensörler 9
3.3.1. Kondüktometrik sensörler 9
3.3.2. Potansiyometrik Sensörler 9
3.3.3. Amperometrik Sensörler 10
3.4. Sensörlerin Performans Parametreleri 11
3.4.1. Seçicilik 11
3.4.2. Duyarlılık 11
3.4.3. Doğrusallık 11
3.4.4. Gözlenebilme Sınırı 12
3.4.5. Tekrarlanabilirlik 12
3.4.6. Tekrar üretilebilirlik 13
3.4.7. Kararlılık 13

4. KAYNAK ARAŞTIRMASI **14**

5. MATERYAL ve YÖNTEM **19**

5.1. Deneysel Çalışmalarda Kullanılan Kimyasal Maddeler 19
5.2. Deneysel Çalışmalarda Kullanılan Elektrot ve Cihazlar 19
5.2.1. Ekran baskılı elektrot (Ridnour ve ark., 2005) 19
5.3. Deneysel Çalışmalarda Kullanılan Yöntemler 20
5.4. Ag-TiO_2-rGO/SPE Sensörünün Hazırlanması 22
5.4.1. İndirgenmiş grafen oksitin (rGO) sentezi 22
5.4.2. Ag-TiO_2'in sentezi 22
5.4.3. Ag-TiO_2-rGO hibrit nanomalzemenin hazırlanması 23
5.4.4. Ag-TiO_2-rGO/SPE sensörünün hazırlanması 23

6. ARAŞTIRMA SONUÇLARI VE TARTIŞMA **25**

6.1. Karakterizasyon 25
6.2. Elektrokimyasal Ölçümler 28
6.3. Ag-TiO_2-rGO/SPE Sensörünün Analitik Performansı 33
6.4. Tekrarüretilebilirlik 34
6.5. Girişim Etkisi 35
6.6. Kararlılık 35
6.7. Gerçek Numune Çalışması 36

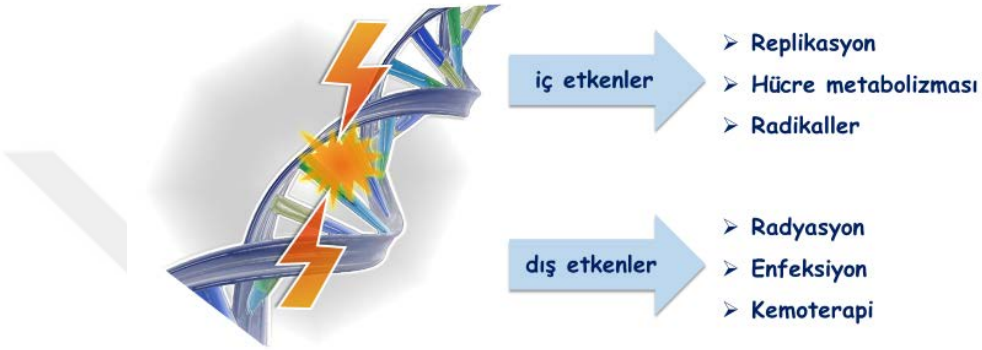
7. SONUÇLAR ve ÖNERİLER 38

KAYNAKLAR 40

ÖZGEÇMİŞ 46

1. GİRİŞ

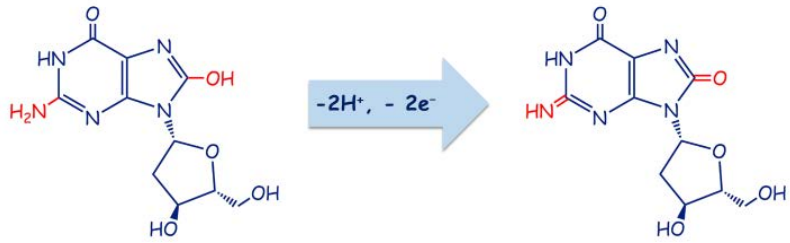
DNA zincirinin yapısında meydana gelebilecek bir değişim hatalı protein üretilmesine, çeşitli mutasyonların hasar ürünlerinin veya hastalıkların oluşmasına neden olabilmektedir. DNA hasarı aflatoksinler, kemoterapi ajanları, radyasyon gibi dış etkenler ve oksidatif hasar, replikasyon hataları, deaminasyon, metilasyon gibi iç etkenler tarafından meydana gelmektedir (Şekil 1.1).



Şekil 1.1. DNA hasarına neden olan etkenlerin şematik gösterimi

DNA hasarına yol açan önemli kimyasal yapılardan birisi olan serbest radikaller, bir atomun dış yörüngesinde veya molekül orbitalinde bir veya daha fazla ortaklaşmamış elektron bulunduran ve vücutta metabolizma sırasında meydana gelen son derece etkin moleküller olarak tanımlanmaktadır. Serbest radikaller DNA zincirinde bulunan bazlara saldırarak oksidatif hasar ürünü oluşturmaktadır. Biyolojik sistemlerdeki en önemli serbest radikaller oksijenden oluşan reaktif oksijen türleri (ROS: reactive oxygen species) ve azottan oluşan reaktif azot türleri (RNS: reactive nitrogen species) dir (Brent ve Rumack, 1993; Gülbahar, 2007; Atmaca ve Aksoy, 2009) . Reaktif oksijen ve reaktif azot türleri vücutta bulunan antioksidan sistemler tarafından ortadan kaldırılmaktadır. Ancak, çeşitli nedenler ile reaktif oksijen ve azot türlerinin artması ve antioksidan mekanizmaların yetersiz kalması sonucunda oksidatif denge bozulmakta ve oksidatif stres olarak adlandırılan bir dizi patolojik olay meydana gelmektedir. Oksidatif dengenin bozulmasıyla hücre içi oksidatif hasarlar ortaya çıkmaktadır. Membran lipidleri, proteinler ve nükleik asitlerde görülen hücre içi hasarlar sonucunda yaşlanma, tümör ve kanser gibi hastalıklar ortaya çıkmaktadır. DNA hasarı, hücrenin yaşamı boyunca yaygın olarak görülen ve mutasyon, kanser, yaşlanma

ve hücre ölümüne yol açabilen bir olaydır (Atmaca ve Aksoy, 2009) . DNA hasarı sonucunda en sık karşılaşılan hasar ürünü 8-hidroksi-2'-deoksiguanozin (8-OHdG)'dir.



Şekil 1.2. 8-OHdG'nin yükseltgenme reaksiyonu

Bu tez çalışmasında, Ag-TiO_2 ve ingirgenmiş grafen oksit (rGO) ile hazırlanan Ag-TiO_2-rGO hibrit nanomalzemesi ile modifiye edilmiş ekran baskılı elektrot (screen printed electrode, SPE) kullanılarak elektroaktif bir DNA hasar ürünü olan 8-hidroksi-2'-deoksiguanozin (8-OHdG)'in elektrokimyasal tayini için yeni bir sensör geliştirilmiştir. Şekil 1.2'de gösterilen 8-OHdG'nin elektrokimyasal olarak yükseltgenme reaksiyonu için Ag-TiO_2-rGO/SPE sensörü kullanılarak elde edilen elektrokimyasal ölçüm sonuçları oldukça seçici ve duyarlı cevaplar vermiştir.

2. 8-HİDROKSİ-2'-DEOKSİGUANOZİN (8-OHdG)

Reaktif oksijen türlerinin DNA'da yaptığı 20'den fazla oksidatif baz hasar ürününden en sık karşılaşılan ve mutajenitesi en iyi bilinen baz hasar ürünü 8-hidroksi-2'-deoksiguanozin (8-OHdG)'dir (Calderón-Garcidueñas ve ark., 1999) . Guanin, DNA yapısındaki en düşük iyonizasyon özelliği ile serbest radikal etkilere en açık molekül olarak göze çarpar. Reaktif oksijen türlerini arttıran tüm etkenler oksidatif DNA hasarlarının artmasına yol açmaktadır. Oksijen tüketiminin en yüksek olduğu dokularda 8-OHdG düzeyinin de doğrusal biçimde arttığı belirlenmiştir (Helbock ve ark., 1998) . Bu sonuç, ayrıca 8-OHdG düzeyinin neden en yüksek oranda böbrek dokusunda bulunduğunu açıklamaktadır (Shigenaga ve Ames, 1991) . 8-OHdG, birçok çalışmada tek başına oksidatif DNA hasarının göstergesi olarak kullanılmıştır. Bununla birlikte bazı çalışmalarda da diğer oksidatif belirleyiciler ile birlikte çalışılmıştır (Kasai, 1997) .

Nörolojik hastalıklar, zeka geriliği, epilepsi, diyabet, böbrek yetmezliği ve kanser riskinin belirlenmesi ve değerlendirilmesinde 8-hidroksi-2'-deoksiguanozin seviyesinin ölçülmesi oldukça önemlidir (Renner ve ark., 2000; Dizdaroglu ve ark., 2002; Kato ve ark., 2015; Pan ve ark., 2016) .

1984 yılında keşfedilen 8-hidroksi-2'-deoksiguanozin (8-OHdG), guaninin karbon atomuna hidroksil radikali (HO•) atakları sonucu oluşan bir hasar ürünüdür. Hidroksil radikali, guaninin 4. 5. ve 8. pozisyonlarındaki karbon atomları (C-4, C-5 ve C-8) ile reaksiyona girerek, DNA ürün radikallerini oluşturmaktadır. Hidroksil radikalinin C-8'e katılması ile oluşan C-8-OH radikali bir elektron ve proton kaybederek 8-OHGua'e yükseltgenir (De Martinis ve De Lourdes Pires Bianchi, 2002; Yokuş ve Çakir, 2002) . Bu nedenle 8-OHdG tayini, DNA'daki oksidatif hasarın doğrudan göstergesi olarak kabul edilmekte ve oksidatif DNA hasarını belirlemede kullanılan yöntemlerde analit olarak sıklıkla kullanılmaktadır (Helbock ve ark., 1999) . 8-OHdG tayininde immunokimyasal teknikler, kapiler elektroforez, tek hücre jel elektroforezi (Comet testi), 32P post labeling ölçüm teknikleri, alkalin elüsyon testi ve kromatografik teknikler (HPLC-ECD, GC-MS, LC-MS, LC-MS-MS) kullanılmaktadır (Dizdaroglu ve ark., 2002).

2.1. 8-OHdG Seviyesi ve Ölçüm Yöntemleri

Normal şartlarda, insan dokularındaki 8-OHdG ve diğer okside baz oluşumu ile bunların onarım hızı, kişiden kişiye değişmekle birlikte, neredeyse birbirine eşittir (Cadet ve ark., 1998) . İnsan DNA'sında oluşan lezyonların yarı ömrü 8 ile 60 dakika arasında olup, pirimidin lezyonlarının onarım süresi ise daha kısadır. Yaşa bağlı olarak bu yarılanma ömründe artış gözlenmektedir (Calderón-Garcidueñas ve ark., 1999) . Bunun en muhtemel nedeni antioksidan enzim aktivitelerindeki azalmayla birlikte onarım mekanizmalarındaki yetersizliktir. Antioksidan mekanizmaların yetersiz kaldığı ya da bu moleküllerin oluşumunu hızlandıran oksidatif stres nedenlerinin ağır bastığı durumlarda onarılamayacak sayıda okside baz oluşur ve oluşan bu bazlar bozulmuş DNA ürünlerine neden olarak hastalık sürecinin daha da kötüye gitmesine etki etmektedir.

Yaşa bağlı olarak, özellikle bağırsak, karaciğer ve böbrek dokusunda 8-OHdG düzeyinde artış görülmektedir (Calderón-Garcidueñas ve ark., 1999) . Bu durumun yaş ile birlikte artan tümör, dejeneratif hasar türleri ve organ fonksiyon kapasitelerinde azalma gibi sorunlar ile ilişkili olabileceği düşünülmektedir. Oksijen radikali üreten etkenlerin ve kanserojen meddelerin (benzen, aflatoksin vb.) *in vitro veya in vivo* ortamda, deoksiguanozinden 8-OHdG oluşumunu hızlandırdığı belirlenmiştir. Sigara içimi, oksidatif DNA hasarını başlı başına arttıran bir etkendir (Chen ve ark., 2007) . Hava kirliliği, içerdiği ozon, nitrojen oksitler, aldehitler ve metaller nedeniyle, maruz kalma süresiyle doğrusal olarak 8-OHdG düzeyini arttırdığı saptanmıştır. Ayrıca, diyabetik mikro ve makrovasküler komplikasyon gelişimi ve ilerlemesinde, hemodiyaliz hastalarında akkiz renal kistlerden karsinoma gelişiminde, güneşin zararlı ışınlarının neden olduğu deri hasarlarında ve miyokard infarktüsünde gözlenen reperfüzyon hasarı patofizyolojisinde 8-OHdG'nin rolü olduğu düşünülmektedir. Ayrıca, Parkinson hastalığı, meme kanseri, böbrek taş hastalığı, hepatosellüler kanser, sepsis, inflamatuar bağırsak hastalığı, periodontit, romatoid artrit ve depresyon gibi birçok hastalıkta oksidatif DNA hasarı geliştiği belirlenmiştir. Bu nedenle 8-OHdG, oksidatif DNA baz hasarının bir göstergesi olarak kabul edilmektedir.

Okside olmuş DNA ürünleri düzeyi ölçümleri ilk olarak 1986 yılında gerçekleştirilmiştir (Floyd ve ark., 1986) . Günümüzde hücre, doku, kan, idrar ve diğer vücut sıvılarında 8-OHdG veya diğer okside DNA baz seviyesinin belirlenebileceği birçok yöntem geliştirilmiştir. Çeşitli kromotografik yöntemler immünoafinite

yöntemleri, immünhistokimyasal yöntemler ve ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay) okside DNA baz seviyesinin belirlenmesi için kullanılan yöntemlerden bazılarıdır. Oksidatif DNA Hasarı için Avrupa Standartları Komitesi (ESCODD) bu yöntemleri standardize etmeye çalışan bir kuruluş olarak görev yapmaktadır. Ancak, halihazırda ESCODD tarafından ortaya konmuş net bir metodoloji yoktur.

Son yıllarda, yüksek performanslı sıvı kromatografi (HPLC), gaz kromatografi-kütle spektrometresi (GC-MS) ve sıvı kromatografi-kütle spektrometrisi (LC-MS-MS) ve immünohistokimyasal teknikler ve tek hücreli jel elektroforezi, 8-OHdG lezyonlarının saptanmasında kullanılmaktadır. 8-OHdG, hayvan organlarında ve doğal numunelerde (idrar, insan organları, lökosit DNA) oksidatif stres, yaşlanma ve karsinojenezin bir biyolojik işareti olarak belirlenebilir ve analiz edilebilir (Collins, 2000) . Elde edilen analiz sonuçlarının değerlendirildiği ve muhtemel sorunların çözümü amacıyla 1997 yılında Avrupa Oksidatif Hasar Komitesi kurulmuştur (Valavanidis ve ark., 2009) .

Radikal oluşumunu arttıran faktörler 8-OHdG seviyesinde artışa ve hastalıklara karşı risk oluşturmaktadır. Tütün dumanına maruz kalan kişilerde 8-OHdG seviyelerinde artış olduğu belirlenmiştir. Asbest liflerinin akciğerlerde genotoksik olduğu kanıtlanmıştır ve mesleki olarak maruz kalan işçiler için potansiyel kanserojen bir tehlikedir. Dizel egzoz partikülleri, organik kimyasalların, ağır metallerin ve kalıcı serbest radikallere sahip karbon partiküllerinin bir karışımı, oksidatif hasara neden olma yeteneğine sahip olduğu ve potansiyel olarak kanserojen olduğu çeşitli çalışmalarla bilinmektedir. Kentsel ortamlardaki ortamdaki partikül hava kirliliği, akciğer kanseri ve kardiyopulmoner mortalitedeki artışla ilişkilendirilmiştir (Valavanidis ve ark., 2009) .

2.2. Oksidatif ve Nitrosatif Stres

Oksidatif stres, hücresel metabolizma sırasında oluşan hidroksil radikali, süperoksit radikali ve hidrojen peroksit gibi reaktif oksijen türlerinin (Kasai, 1997) veya reaktif azot türlerinin (RNS) artışı ile onların etkilerini gideren antioksidanların (Tian ve ark., 2018) yetersizliği sonucu oksidatif dengenin bozulması olarak tanımlanmaktadır. Oksidatif dengenin bozulmasına yol açan serbest radikaller, vücudun metabolizması sırasında ortaya çıkan oldukça aktif kimyasal ürünlerdir. Bir başka ifadeyle serbest radikal, bir atomun dış yörüngesinde veya molekül orbitalinde bir veya daha fazla

ortaklaşmamış elektron bulunduran molekül olarak tanımlanmaktadır. İç (hücre içi metabolizmanın bozulması vb.) ve dış faktörler (güneş ışınları, sigara, tümör, hava kirliliği, kimyasal ilaçlar vb.) nedeniyle hücrelerde serbest radikaller oluşmaktadır. Serbest radikal oluşturan başlıca mekanizmalar otooksidasyon, fotooksidasyon, enzimatik oksidasyon ve geçiş metal iyonlarının etkisi şeklinde ifade edilebilir. Biyolojik sistemlerdeki en önemli serbest radikaller, reaktif oksijen türleri (Kasai, 1997) ve reaktif azot türleri (RNS) dir (Gülbahar, 2007; Atmaca ve Aksoy, 2009) .

1954 yılında Gershman'ın serbest radikal oksijen toksisite teorisinin yayınlanmasına kadar oksijenin toksik özellikleri hakkında yeterli bilgi yoktur (Gerschman, 1954) . Aynı yıl, çeşitli liyofilize edilmiş biyolojik materyallerde serbest radikallerin varlığına atfedilebilen zayıf bir elektron paramanyetik rezonans (EPR) sinyalinin gözlemleri yayınlanmıştır (Commoner ve ark., 1954). Biyolojik sistemlerdeki serbest radikallerin yaşlanma sürecinde rol oynadığı ilk olarak 1956 yılında Denham Harman tarafından keşfedilmiştir (Harman, 1956) .Biyolojik sistemlerdeki serbest radikaller üzerine yapılan ikinci araştırmalar, 1969'da McCord ve Fridovich'in süperoksit dismutaz enzimini (Setyaningsih ve ark., 2015) keşfetmeleri üzerine gerçekleşmiştir (McCord ve Fridovich, 1969). Biyolojik yapılardaki serbest radikaller üzerine yapılan üçüncü araştırmalar ise hidroksil radikalinin guanilat siklaz aktivasyonunun ve cGMP'nin (cyclic guanosine monophosphate) oluşumunun kanıtlaması ile gerçekleşmiştir (Mittal ve Murad, 1977) .

Reaktif oksijen türleri arasında süperoksit anyonu ve hidroksil radikali en önemli serbest radikaller olarak ortaya çıkmaktadır. Hidroksil radikali yaklaşık 10^{-9} s'lik *in vitro* yarı ömrü ile çok tehlikeli bir radikaldir (Pastor ve ark., 2000). Metabolik işlemler veya fiziksel ışınlama yoluyla oksijenin aktifleştirilmesinden sonra ortaya çıkan süperoksit anyonu, ana reaktif oksijen türü olarak kabul edilir ve doğrudan veya ağırlıklı olarak enzim veya metal katalizörü yoluyla ikincil reaktif oksijen türü oluşumu için diğer moleküller etkişebilmektedir (Valko ve ark., 2005) . Süperoksit üretimi çoğunlukla bir hücrenin mitokondrisinde gerçekleşir (Cadenas ve Sies, 1998) .

Reaktif azot türlerinden azot oksit radikali birkaç saniyelik yarılanma ömrüne sahiptir. Bununla birlikte, hem sulu hem de lipid ortamlarında çözünür olduğu için, sitoplazmalar ve plazma zarları yoluyla kolayca yayılır (Chiueh, 1999) . Reaktif azot türlerinin neden olduğu nitrosatif stres, protein yapısını değiştirebilecek ve böylece normal fonksiyonlarını önleyebilecek nitrosilasyon tepkilerine katkı sağlayabilmektedir.

İnflamatuar süreçler sırasında bağışıklık sisteminin hücreleri hem süperoksit anyon hem de azot oksit üretmektedir. Bu şartlar altında, azot oksit ve süperoksit anyonu, DNA parçalanmasını ve lipit ayrışmasını tetikleyebilen güçlü bir oksitleyici ajan olan peroksinitrit anyonunun oluşumuna neden olabilmektedir (Carr ve ark., 2000) .

Vücutta bulunan serbest radikallerin etkisi antioksidan sistemler tarafından yok edilmektedir. Antioksidanlar, bir hedef molekülde meydana gelebilecek oksidatif hasarı geciktiren veya engelleyen moleküllerdir. Antioksidan molekül, serbest radikallere cevap verebilir ve serbest radikalleri kendi elektronlarından biri ile nötrleştirebilir. Antioksidanlar dışarıdan alınabileceği gibi, vücut serbest radikalleri nötralize etmek ve vücudu doku hasarından kaynaklanan çeşitli hastalıklardan korumak için çeşitli antioksidanlar üretebilmektedir. Vücut serbest radikallere karşı savunma sistemini enzimatik ve enzimatik olmayan iki farklı antioksidan koruma mekanizması ile gerçekleştirmektedir. Süperoksit dismutaz (Setyaningsih ve ark., 2015) , katalaz, glutatyon peroksidaz, glutatyon redüktaz enzimatik savunma sisteminde yer alırken, E vitamini, C vitamini ve glutatyon ise enzimatik olmayan savunma sisteminde yer almaktadır (Harris, 1992; Jacob, 1995) .

Reaktif oksijen türlerinin artması ve çeşitli nedenlerden dolayı yetersiz antioksidan mekanizmaların bir sonucu olarak oksidatif stres adı verilen bir dizi patolojik olay ortaya çıkmaktadır. Oksidatif stres sonucunda çeşitli mekanizmalar ile DNA zinciri değişimlere maruz kalmaktadır (Williams ve Jeffrey, 2000; Cooke ve ark., 2003; Atmaca ve Aksoy, 2009) . Bu değişimler tek hücreli organizmalarda hücresel ölüme veya çok hücreli organizmalarda dejenerasyon ve yaşlanmaya sebep olmaktadır. Daha önce de ifade edildiği gibi araştırılan en yaygın DNA hasarı 8-OHdG'dir ve biyolojik sıvılarda 8-OHdG seviyesi genetik değişim, mutajenez, karsinojenez ve yaşlanma hakkında bilgi vermektedir (Sen ve ark., 2010) .

3. KİMYASAL SENSÖRLER

3.1. Sensör Tanımı ve Tarihçesi

Sensörler sistem fonksiyonlarının doğru bir şekilde yapılabilmesi ve işlemlerin gerçekleştirebilmesi için fiziksel büyüklükleri kontrol ünitesinin anlayabileceği halde elektrik sinyaline dönüştüren sistem elemanları olarak tanımlanabilir.

Sensör teknolojisi alanındaki ilk çalışmalar, kimyasal bileşen olarak enzimlerin kullanılmasıyla hazırlanan enzim sensörleriyle başlamıştır. 1950'li yılların ortalarında L.C. Clark ameliyat sırasında kanın O_2 miktarını bir elektrot ile izlemiştir. 1962 yılında Clark ve Lyons, 1967'de Updike ve Hick tarafından hazırlanan glukoz tayinine yönelik glukoz oksidaz enzim elektrotları bu alandaki ilk biyosensör örnekleri olmuştur. Daha sonraki yıllarda da enzimlerin yanında doku kültürleri, organeller, mikroorganizmalar, antikorlar ve nükleik asitler gibi biyokimyasal bileşenlerin kullanılmasıyla değişik tipte birçok sensör hazırlanmıştır.

3.2. Kimyasal Sensörler ve Sınıflandırılması

Kimyasal sensör, herhangi bir analit konsantrasyonunda ölçülebilir bir sinyal çıkışı üretmek için belirli bir hedef kimyasal maddeyle (analit) mükemmel bir seçicilik ile tepki verebilen, ucuz, portatif, kusursuz bir cihaz olarak tanımlanabilir. Bir başka ifade ile kimyasal sensörler, analizi yapılacak olan bileşene karşı seçici olarak hazırlanmış olup, bir numunedeki hedef madde konsantrasyonundan yararlanarak elde edilen kimyasal veriyi analitiksel olarak yararlı bir sinyale dönüştüren sistemlerdir. Kimyasal sensörler fiziksel dönüştürücü ve kimyasal ara yüzey tabakası olmak üzere iki kısımdan oluşmaktadır. Analit bu kimyasal ara yüzey tabakası ile etkileşime girmektedir. Bu etkileşim sonucu meydana gelen kimyasal değişim fiziksel dönüştürücüden faydalanılarak monitörden bir sinyal aracılığıyla okunması sağlanmaktadır. Bu fiziksel dönüştürücüler dikkate alınarak sensörleri elektrokimyasal sensörler, optik sensörler, piezoelektrik sensörler ve termal sensörler olarak gruplandırmak mümkündür.

Optik sensörler hedef analit tayinine yönelik meydana gelen etkileşim sonucunda ışığın floresans ve absorbans gibi özelliklerinden faydalanılarak yapılan ölçümleri kapsayan sensörlerdir.

Piezoelektrik sensörler elektriksel bir güç uygulandığında maddedeki yükün ilerlemesi ile bir manyetik alan oluşturan piezoelektrik maddenin rezonans frekansının ölçümüne dayanmaktadır.

Termal sensörler sıcaklığın değişimi üzerine kurulmuş olan sensörlerdir. Genellikle reaksiyon sıcaklığı ve adsorpsiyon sıcaklığı ölçüm temeline dayanmaktadır.

Fiziksel bileşen olarak elektrokimyasal yöntemlerin kullanıldığı ve bu tez çalışmasında da yararlanılan elektrokimyasal sensörler ise aşağıda incelenmiştir.

3.3. Elektrokimyasal Sensörler

Elektrokimyasal sensörler, analit ile elektrot arasında elektrokimyasal etkileşim sonucunda meydana gelen elektriksel değişimin ölçümüne dayanan sensörlerdir. Elektrokimyasal sensörler potansiyometrik, kondüktometrik ve amperometrik olmak üzere üç temel başlıkta incelenmektedir.

3.3.1. Kondüktometrik sensörler

Bu tür sensörlerde ölçülen parametre ölçüm ortamında meydana gelen direnç ya da iletkenlik değişimidir. Elektrokimyasal tepkimeler sonucunda iyonlar ve elektronlar üretildiği zaman çözeltinin toplam iletkenliği ve direnci değişir. Kondüktometrik sensörler ana çözeltideki ya da ince film üzerindeki elektrik iletkenliğinin değişimi üzerine kurulmuştur. Bu iletkenlikte analitin bulunma miktarı etkilidir. Kondüktometrik yöntemler temel olarak seçici değildir; ancak yüzey modifikasyonu ile seçicilik arttırılarak sensör tasarımına bu yöntemin girmesi sağlanıştır.

3.3.2. Potansiyometrik Sensörler

Potansiyel ölçümüne dayanan analitik metotlar potansiyometrik metotlar veya potansiyometri olarak adlandırılır. Akımın çok az geçtiği yada hiç geçmediği sistemlerde, ortamdaki analit aktifliğine (konsantrasyonuna) bağlı olarak indikatör elektrotun değişen potansiyelinin referans elektroda karşı ölçülmesi temeline dayanır (Alanyalıoğlu, 2017).

Potansiyometrik sistem bir test hücresi (elektrolitik çözelti), buna bağlantılı olan indikatör elektrot (değişken potansiyel) ve referans elektrot (sabit potansiyel) ile kararlı

bir potansiyometreden oluşur. Bunlara “potansiyometrik hücre elemanları” da denir (Alanyalıoğlu, 2017) .

Potansiyometri, bir çalışma ve referans elektrot arasındaki potansiyel farkının ölçümünü esas almaktadır ve belirlenen elektrot potansiyeli doğrudan analit derişimini tanımlamaktadır. Potansiyometrik sensörlerin düşük hassasiyet, spesifik olmayan etkileşimlere ait ve aletsel sinyal alınması gibi büyük problemleri vardır. Özellikle sinyal/gürültü oranı analitik problemlere sebep olmaktadır.

3.3.3. Amperometrik Sensörler

Amperometrik sensörler, çalışma elektrodu ve referans elektrot arasındaki sabit bir potansiyelde oluşan akımın ölçülmesine dayanan sensörlerdir. Amperometrik sensör ve biyosensörlerde akım şiddeti, çalışma elektrotunda yükseltgenen veya indirgenen elektroaktif türlerin konsantrasyonunun bir fonksiyonudur. Sensör veya biyosensör, analit veya substrat konsantrasyonuna karşı amperometrik lineer sinyaller verir. Substrat ya da üründen herhangi biri elektrot yüzeyinde elektroaktif özellikte (yükseltgenebilir ya da indirgenebilir) olması gerekmektedir. Amperometrik sensörlerde, çalışma elektrodunun yüzeyinin yapısı kimyasal maddelerle modifiye edilerek değiştirilebilir. Son yıllarda yapılan çalışmalarda sıkça, modifiye edilmiş ve modifiye edilmemiş cam karbon elektrotlar kullanılmaya başlanmıştır.

Sensörlerin tanıma bileşeni olarak çeşitli biyolojik moleküllerin dahil olması ile birlikte hazırlanan sensörler biyosensör olarak tanımlanmaktadır. Biyobileşen olarak enzim, hücre, doku, antikor, nükleik asit gibi biyomoleküllerden faydalanılır. Enzimin substratı ile olan spesifik etkileşimi bir enzim biyosensörünün tasarlanmasında oldukça önemli bir etki sağlamaktadır. 1962 yılında Clark ve Lyons, 1967 yılında Updike ve Hick tarafından rapor edilen glikoz tayinine yönelik glikoz oksidaz enzim elektrotları bu alandaki ilk örnekler olarak bilinmektedir. Enzimlerin sağladığı biyokatalitik etki sonucunda, hazırlanan enzim biyosensörlerinin daha düşük substrat konsantrasyonlarında ölçüm yapabilmelerine olanak sağlanmaktadır. DNA biyosensörünün hazırlanmasında ise belirlenen hedef baz dizilimi dikkate alınır ve hedef dizinin sensör üzerindeki DNA zinciri ile hibridizasyonu temel alınarak sensör işleyişi sağlanmış olur. Hibridizasyon kinetiğini baz kompozisyonu, DNA dizi

uzunluğu, sıcaklık, iyonik kuvvet, baz değişimleri, pH ve viskozite gibi faktörler etkilemektedir.

3.4. Sensörlerin Performans Parametreleri

Hazırlanan elektrokimyasal sensörün analitik performansı aşağıda verilen temel kriterlerin belirlenmesi ile ortaya konmaktadır.

3.4.1. Seçicilik

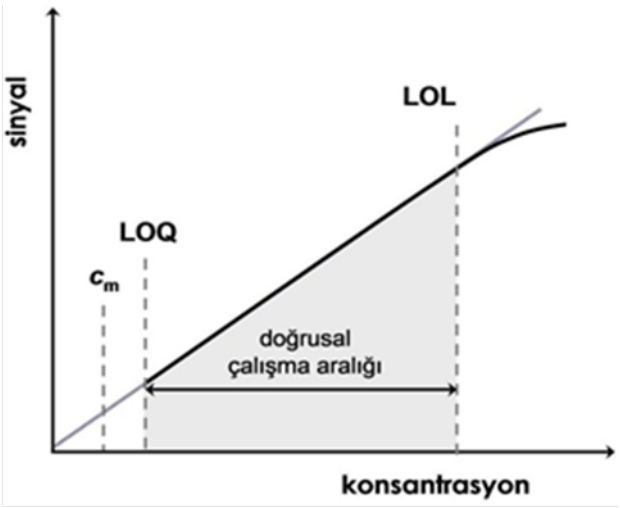
Elektrokimyasal bir sensörde en önemli kriterlerden birisi olan seçicilik, muhtemel girişim maddelerine karşı hazırlanan sensörün hedef analite karşı seçici olarak sinyal vermesi şeklinde tanımlanabilir (Türkmen, 2015) .

3.4.2. Duyarlılık

Duyarlılık, analiz ortamına eklenen hedef analit sinyalinin analit konsantrasyonuna karşı değişimi olarak tanımlanır. Hazırlanan elektrokimyasal sensörün doğrusal çalışma aralığı tespitinde elde edilen kalibrasyon grafiğinin eğiminden yola çıkılarak sensörün duyarlılığı hesaplanabilir (Türkmen, 2015) .

3.4.3. Doğrusallık

Hazırlanan elektrokimyasal sensör ile yapılan deneysel çalışmalarda hedef analitin ölçüm ortamına eklenmesiyle oluşan sinyal değişimlerinin incelenmesi sonucunda elde edilen doğrusal bölge sensörün doğrusal çalışma aralığını tanımlamaktadır. Sensörün sinyallerinden elde edilen doğrusallık belirli bir analit konsantrasyonundan sonra sapma göstermektedir. Ortam kararlılığının değişmesi, elektrot yüzeyinin oluşan bazı radikallere bağlı olarak farklılık göstermesi gibi sebeplerden dolayı doğrusallıktan sapma görülmektedir. Şekil 3.1'de bir analitik metot için elde edilen doğrusal çalışma aralığında, LOQ (kantitatif ölçüm sınırı) tayin edilebilen en düşük analit konsantrasyonunu, LOL (doğrusallık sınırı) ise kalibrasyon grafiğinin doğrusallıktan sapma gösterdiği analit konsantrasyonu olarak tanımlanmaktadır (Skoog ve ark., 1998; Türkmen, 2015) .



Şekil 3.1. Bir analitik yöntem için doğrusal çalışma aralığı (Türkmen, 2015)

3.4.4. Gözlenebilme Sınırı

Belirli bir güven seviyesinde, hazırlanan sensörün cevap verebildiği en küçük analit konsantrasyonu gözlenebilme sınırı olarak tanımlanmaktadır. Bu gözlenebilme sınırı analitik sinyal büyüklüğünün tanık sinyalindeki istatistiksel sapma oranına bağlıdır. Diğer bir ifadeyle, analitik sinyal gürültü sinyalindeki sapmanın *k* katı kadar büyük olmadığı sürece sinyali belirli bir kesinlikle görmek imkansızdır (Türkmen, 2015) .

$S_m = \overline{S}_{bl} + k s_{bl}$

S_m: Belirlenen en küçük analitik sinyal

S_{bl}: ortalama tanık sinyali

$\overline{S}_{bl}$: tanığın standart sapması

3.4.5. Tekrarlanabilirlik

Hazırlanan bir sensör ile elde edilen deney verilerinin birbiriyle uyumlu olmasını ifade eder. Bir enzim elektrodunun kararlılığı diğer faktörlerde yeterli koşullar sağlandıktan sonra onun pratik kullanılabilirliğinin en önemli belirteçlerinden biridir.(Türkmen, 2015) .

3.4.6. Tekrar üretilebilirlik

Benzer şekilde hazırlanan farklı sensörlerin birbiri arasındaki uyumu açıklamaktadır**.** Analite karşı aynı özelliklere sahip farklı elektrotlar ile aynı derişimde analit kullanılmasıyla yapılan denemelerde elde edilen sonuçların aynı olması sensörün tekrarlanabilirliğini yani kesinliğini göstermektedir (Türkmen, 2015) .

3.4.7. Kararlılık

Aynı sensör ile belirli bir zaman aralığında ne kadar çok sayıda ölçüm yapılabileceği ölçülmektedir. Kararlılık yüksek olursa aynı sensörü kullanarak çok sayıda analizin yapılabilmesi mümkün olur ve böylece maliyet azaltılır. Bir biyosensörde ise kullanım ömrü yapılan toplam ölçüm sayısına veya ölçülen analitin derişiminin büyüklüğüne bağlı olabilir ve ölçümler sonucunda biyomolekülün aktivitesindeki değişimin bir ölçüsü olarak tanımlanan bir faktördür (Türkmen, 2015) .

4. KAYNAK ARAŞTIRMASI

8-OHdG'nin elektrokimyasal tayini için hazırlanan sensörde camsı karbon elektrot ilk olarak grafen oksitin elektrokimyasal indirgenmesi yoluyla elde edilen indirgenmiş grafen oksit ile kaplanmıştır. Daha sonra çok duvarlı karbon nanotüp (MWCNTs) çözeltisi modifiye edilmiş elektrot yüzeyine damlatılarak MWCNT/ErGO/GCE şeklinde tanımlanan sensör hazırlanmıştır. Sensör 3-75 μM 8-OHdG konsantrasyon aralığında lineer cevaplar verirken, gözlenebilme sınırı 35 nM olarak bulunmuştur. Hazırlanan sensör ile askorbik asit, ürik asit, ksantin ve hipoksantin gibi biyomoleküllere karşı sensörün girişim etkisi incelenmiştir (Rosy ve Goyal, 2016) .

Bir diğer sensör çalışmasında, glutaraldehit/poli1,5-diaminonaftain kaplı grafit elektrot melaminin elektrokimyasal polimerizasyonu ile hazırlanmış ve 20×10^{-9}-3×10^{-6} M 8-OHdG konsantrasyon aralığında lineer cevaplar vermiştir. Hazırlanan sensörün gözlenebilme sınırı 3×10^{-9} M olarak tespit edilmiştir. Ayrıca, idrar numunesi içerisinde sıklıkla bulunabilen askorbik asit, ürik asit, ksantin ve hipoksantin gibi maddelerin girişim etkisi incelenmiş ve bu maddelerin idrar numunesi içerisinde olması gereken miktarının 100 katına kadar arttırılarak hazırlanan numunelere karşı da sensörün girişim etkisi göstermediği belirlenmiştir. Hazırlanan sensör böbrek yetmezliği olan bir hastadan alınan idrar numunesi içerisindeki 8-OHdG miktarının tayini için de kullanılmıştır (Kumar ve ark., 2017) .

2018 yılında yapılan bir başka sensör çalışmasında, gözenekli tek duvarlı karbon nanotüp (PSWNT) ilk kez termal indirgeme yöntemi kullanılarak hazırlanmıştır. Karbon nanotüpün gözenek büyüklüğü yaklaşık 3 nm olarak tespit edilmiştir. Ayrıca, hazırlanan karbon nanotüpün nispeten daha geniş bir yüzeye sahip olduğu, güçlü adsorplama yeteneği ve elektriksel iletkenliğinin olduğu yapılan deneysel çalışmalar ile ortaya konmuştur. Sentezlenen gözenekli tek duvarlı karbon nanotüp kullanılarak 8-OHdG tayini için hazırlanan sensörün 1 nM gözlenebilme sınırına sahip olduğu bulunmuştur (Shang ve ark., 2018).

Camsı karbon elektrodun çok duvarlı karbon nanotüp ile modifiye edilmesi ile hazırlanan sensörde 8-OHdG'nin yükseltgenme reaksiyonuna karşı $5{,}63\times10^{-8}$-$6{,}08\times10^{-6}$ M ve $6{,}08\times10^{-6}$-1.64×10^{-5} M aralıklarında doğrusal akım cevapları elde edilmiştir (Guo ve ark., 2016).

Kükürt katkılı indirgenmiş grafen oksit kullanılarak hazırlanan elektrokimyasal sensörde 20-0,002 μM 8-OHdG konsantrasyon aralığı için lineer cevaplar elde

edilmiştir. Ayrıca, çalışmada kükürtün güçlü elektron verme yeteneğinin elektrot yüzeyinde gerçekleşen reaksiyon için elektron transferini kolaylaştırıcı etki gösterdiği ve sensörün duyarlılığını arttırdığı ortaya konmuştur (Shahzad ve ark., 2017).

İletken grafen nanokatmanlar ile biyouyumluluğu yüksek tek zincirli DNA kullanılarak hazırlanan sensör için 0,0056-1,155 μM, 1,155-11,655 μM ve 11,655-36,155 μM 8-OHdG konsantrasyon aralıklarında lineer cevaplar elde edilmiştir. Gözlenebilme sınırı ise 0,875 nM olarak belirlenmiştir. Ayrıca, ürik asit varlığında hazırlanan sensörün 8-OHdG'ye karşı elektrokimyasal davranışı incelenmiştir (Jia ve ark., 2015).

2016 yılında yapılan sensör çalışmasında, 8-OHdG'nin elektrokimyasal tayini için sensör moleküler baskılı polimer (MIP) yöntemi ile hazırlanmıştır. Sensör 0,1-100 pg/mL 8-OHdG konsantrasyon aralıklarında lineer cevap göstermiştir. Ayrıca, idrar örneğinde 8-OHdG'nin konsantrasyonunu belirlemek için çoklu standart ekleme metodu kullanılmış ve idrar numunesinde belirlenen 8-OHdG konsantrasyonu 4,1 ng/mL olarak bulunmuştur (Martins ve ark., 2016).

Elektrokaplama işçilerinin çalışmaları boyunca kroma maruz kalmalarının oksidatif DNA hasarına neden olabileceği üzerine yapılan çalışmada, işçilerden alınan idrar numunuleri üzerinde AAS yöntemi ile krom miktarı tayini, ELISA yöntemi ile de 8-OHdG miktarı tayini yapılmıştır. İşçilerden alınan tüm numunelerde normal krom seviyesinin (11,77 μg/L) üzerinde değerler tespit edilmiştir. Numunelerdeki 8-OHdG seviyeleri ise 23,83 ng/mL olarak bulunmuştur (Setyaningsih ve ark., 2015).

Bu çalışmada 8-OHdG tayini için daha seçici ve kolay bir yöntem geliştirilmesi hedeflenmiş ve kuvartz kristal mikrobalans (QCM) sensöründen faydalanılmıştır. Bu amaçla metal-şelat monomerleri olarak metakriloil aminoantipirin-Pt (Marcano ve ark., 2010) ve metakriloil histidin-Pt (Marcano ve ark., 2010) kullanılmıştır. Gözlenebilme sınırı ve lineer aralık sırasıyla 0,0075 ve 0,0100-3,5 μM 8-OHdG olarak bulunmuştur. Kanserli bir hastaya ait kan serumundaki 8-OHdG seviyesi hazırlanan QCM sensörü ile tespit edilerek sensörün gerçek numuneye uygulanabilirliği araştırılmıştır (Say ve ark., 2009).

2016 yılında yapılan bir diğer çalışmada prolitik grafit elektrot kullanılarak hazırlanan 8-OHdG sensöründe akım cevapları voltametrik teknik ile incelenmiş ve 0,5-100 mM 8-OHdG konsantrasyon aralığında doğrusal bir kalibrasyon eğrisi elde edilmiştir. Sensör için gözlenebilme sınırı 28×10^{-9} M ve seçiciliği ise 1.068 μA μM^{-1}

olarak bulunmuştur. Ayrıca, elektrokimyasal oksidasyon ürünleri GC-MS kullanılarak karakterize edilmiş ve 8-OHdG'nin oksidasyon reaksiyonu için deneysel mekanizma belirlenmiştir (Gupta ve ark., 2016).

Bir başka çalışmada, PAMAM dendrimerleri oluşturmak amacıyla altın elektrot yüzeyi tiyol grupları ile modifiye edilerek HPLC yardımıyla 8-OHdG'nin elektrokimyasal tayininde kullanılmıştır. Gözlenebilme sınırı $1{,}2\times10^{-9}$ M olarak bulunmuştur. En iyi sonuçlar alifatik amino tiyol grubu ve karboksilatlı dendrimerler ile modifiye edilmiş elektrotlarda elde edilmiştir (Gutiérrez ve ark., 2008).

Basit bir "yeşil" elektrokimyasal indirgeme metodunun kullanıldığı elektrokimyasal 8-OHdG sensöründe, elektrot yüzeyi poli(L-arginine), indirgenmiş grafen oksit ve altın nanopartikül ile modifiye edilmiştir. Hazırlanan nanokompozit modifiye elektrot ile 8-OHdG'nin akım cevapları askorbik asit ve ürik asit gibi girişime neden olabilecek biyomoleküllerin varlığında başarıyla kaydedilmiştir. DPV sonuçları sensörün 1,0-100 nM ve 0,5-10 μM aralıklarında lineer cevaplar gösterdiğini ortaya çıkarmıştır. Gözlenebilme sınırı ise 1,0 nM olarak bulunmuştur. Ayrıca, hazırlanan sensör insan idrar numunelerinde hedef analit tayini için başarıyla uygulanmış ve çok yüksek bir geri kazanım yüzdesi elde edilmiştir (Khan ve ark., 2018).

Bu çalışmada, 8-hidroksi-2'-deoksiguanozin (8-OHdG) tayini için silikon nanotel (SiNW) bazlı biyosensör geliştirilmiştir. Prostat kanser riskinin gözlenmesinde biyobelirteç olan 8-hidroksi-2'-deoksiguanozin için hazırlanan sensör 3,5 nM 8-OHdG konsatrasyonuna kadar tayine izin vermektedir (Mohd Azmi ve ark., 2014).

Sensör materyali olarak indirgenmiş grafen oksit ve ZnO nanopartiküllerinden oluşan bir nanokompozitin kullanıldığı 8-OHdG sensörü 1,25 nM gözlenebilme sınırı ile 5-5000 nM 8-OHdG aralığında lineer cevaplar göstermiştir. Hazırlanan sensörün idrar numunelerinde pratik uygulamaları yapılmış ve oldukça iyi sonuçlar elde edilmiştir. Ayrıca, sensörün 8-OHdG'nin yükseltgenme reaksiyonuna ait akım cevapları camsı karbon elektrot ve grafen oksit ile modifiye edilmiş camsı karbon elektrodun akım cevapları ile kıyaslanmıştır (Hao ve ark., 2018).

1998 yılında yapılan çalışma, antioksidan takviyesinin sigara içenleri oksidatif hasarlardan koruyabileceği ve kanser riskini veya sigara ile ilişkili serbest radikallerin neden olduğu diğer hastalıkları azaltabileceğini ortaya koymuştur. 8-OHdG seviyesinin antioksidan takviyesi ile azaldığı belirlenmiştir. Ayrıca, E vitamini, kırmızı ginseng ve C vitamini takviyesi sonucunda, oksidatif hasar ile plazma antioksidan seviyeleri

arasında anlamlı bir ters korelasyon gözlenmiştir. Bu nedenle, antioksidanların sigara içenlerde kanserin önlenmesinde rol oynayabileceği ifade edilmiştir (Lee ve ark., 1998).

Bu çalışmada, 8-OHdG seviyesinin kanser riski ile ilişkilendirildiği insan periferal lökositinde oksidatif stresin bir biyobelirteci olarak 8-OHdG seviyesinin tayini UHPLC-MS/MS yöntemi kullanılarak gerçekleştirilmiştir. 5 µL numune kullanılarak yapılan analizde gözlenebilme sınırı (LOD) 0,30 nM olarak belirlenmiştir. Tayin alt sınırı (LOQ) ise 1,0 nM olarak belirlenmiştir. 8-OHdG seviyesi sağlıklı ve kanser hastalarında tayin edilmiştir. 75 sağlıklı hastadan alınan numune sonuçlarına karşılık, 46 kanserli hastanın numune sonuçlarında bulunan 8-OHdG seviyesi önemli ölçüde artış göstermiştir (Wu ve ark., 2017).

2010 yılında yapılan çalışmada tek hücre yüzeyinde gerçek zamanlı olarak 8-OHdG'nin tayin edilebileceği bir metodoloji geliştirilmiştir. 2-8 mM nikotin çözeltileri, tek hücrelerde doza bağımlı DNA hasarını tetiklemiş ve bunun sonucunda oluşan 8-OHdG seviyesi amperometrik ölçümler ile tespit edilmiştir (Prabhulkar ve Li, 2010).

8-OHdG-aptamer kullanılarak 8-hidroksi-2'-deoksiguanozinin (8-OHdG) oldukça hassas olarak tayini için bir yöntem geliştirilmiştir. 90,8 pM ile 14,1 nM 8-OHdG konsantrasyon aralığında lineer cevaplar elde edilmiştir. Gözlenebilme sınırı ise 27,3 pM olarak tespit edilmiştir. Ayrıca, 8-OHdG seviyesi için gerçek numunelerde denemeler yapılmış ve oldukça güvenilir sonuçlar elde edilmiştir (Wang ve ark., 2014).

2008 yılında yapılan bir çalışmada katı faz ekstraksiyonu ve kuvars kristal mikroterazi teknikleri kullanılarak 8-OHdG tayini için bir sensör geliştirilmiştir. Çalışmada metal-şelatlaştırıcı monomeri olarak metakrilamidohistidin-platin (Marcano ve ark., 2010) kullanılmıştır. Geliştirilen QCM sensörü kullanılarak kan plazmasında 8-OHdG tayini yapılmış ve elde edilen sonuçlar kanserli hastalarda 8-OHdG seviyesinin oldukça yüksek olduğu belirlenmiştir (Ersöz ve ark., 2008).

Bu çalışmada, metal koordinasyon-şelatlaşma etkileşimi yoluyla 8-OHdG seviyesinin tayini için bir QCM sensörü hazırlanmıştır. Metal-şelatlaştırıcı monomeri olarak metakrilolaminoantiprin-Fe(III) kullanılarak hazırlanan sensörde lineer aralık 0,1-1 mM 8-OHdG olarak bulunmuştur. Hazırlanan sensörün analitik performansı kapiler elektroforez sistemi ile karşılaştırılmıştır (Ersöz ve ark., 2009).

Bu çalışma, sensör uygulamaları için yeni bir biyouyumlu malzeme olarak altın nanopartiküller ile fonksiyonelleştirilmiş grafen oksitin (AuNPs-GO) hazırlanmasını içermektedir. Hazırlanan glikoz biyosensöründe lineer aralık 0,1 mM ile 3,8 mM glikoz konsantrasyon aralıklarında elde edilmiştir. Gözlenebilme sınırı ise 17,68 μAmM^{-1} cm^{-2} duyarlılıkta 0,075 mM glikoz olarak belirlenmiştir (Bas, 2015).

Bu çalışma, TiO_2-Ag/PPy nanokompozit modifiye camsı karbon elektroduna (GCE) dayalı yeni bir elektrokimyasal sensör (TiO_2-Ag / PPy / GCE) kullanarak tiramin (TA) tayinini içermektedir. Hazırlanan sensör için lineer aralık $4{,}10 \times 10^{-8}$ ile $3{,}06 \times 10^{-6}$ M konsantrasyon aralığında elde edilmiştir (Erdogan ve ark., 2018).

Tarımsal sulamanın hızla genişlemesi ve sıkı çevre koruma faaliyetleri nedeniyle yer altı sularında pestisitlerin tayini çok önemli bir araştırma alanı haline gelmiştir. Metil paratiyon tayini için enzim kullanmaksızın bir elektrokimyasal sensör tasarlanmış ve tasarlanan bu sensörde camsı karbon elektrot CuO-TiO_2 hibrit nanokompozit ile modifiye edilmiştir. Dönüşümlü voltametri ve diferansiyel puls voltametri teknikleri kullanılarak hazırlanan sensörün 0-2000 ppb konsantrasyon aralığında metil paratiyon tayinine izin verdiği belirlenmiştir. Gözlenebilme sınırı (LOD) ise 1,21 ppb seviyesinde belirlenmiştir (Tian ve ark., 2018).

2019 yılında yapılan çalışmada, insan tam kan ve idrar örneklerinde epirubisin ilacının basit bir yol ile hassas bir şekilde tayininde başarılı bir şekilde kullanılabilecek bir elektrokimyasal sensör tasarlanmıştır. Hazırlanan Ag-MWCNT/GCE sensörü ile lineer aralık 0,003-0,25 μM olarak tespit edilmiştir. Gözlenebilme sınırı ise $1{,}0 \times 10^{-3}$ μM olarak bulunmuştur (Shams ve Yari, 2019).

5. MATERYAL ve YÖNTEM

5.1. Deneysel Çalışmalarda Kullanılan Kimyasal Maddeler

Deneysel çalışmada kullanılan 8-hidroksi-2′-deoksiguanozin (8-OHdG), nafyon (%5) ve dopamine hidroklorik asit (-%98) Sigma-Aldrich firmasından, NaCl (%99,5), $MgCl_2$ (%99), $Zn(NO_3)_2$ (%98,5) Merck firmasından temin edilmiştir. $CaCl_2$ (%99) Riedel firmasından, ürik asit (-%99) Alfa Aesar firmasından, askorbik asit J. T. Baker firmasından satın alınmıştır.

8-OHdG çözeltisinin hazırlanmasında ve diğer elektrokimyasal ölçümlerde kullanılan tampon çözelti NaH_2PO_4 (Merck) ve NaOH (Merck) kimyasal maddeleri ile hazırlanmış ve bu tampon çözeltisinin yanı sıra diğer sulu çözeltilerde hazırlanırken Millipore Milli-Q ultra saf su sisteminden (25 ºC'de R=18,2 MΩcm) faydalanılmıştır.

5.2. Deneysel Çalışmalarda Kullanılan Elektrot ve Cihazlar

Elektrokimyasal çalışmalar CHI-660C model bir elektrokimyasal analizör (CH Instruments) ile DRP-150 model ekran baskılı elektrot (SPE, DropSens) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Bu elektrotta çalışma elektrodu karbon (çap: 4 mm), karşıt elektrot platin, referans elektrot ise gümüşten oluşmaktadır.

pH ölçümleri için WTW marka (pH/ion/cond 750 model) bir pH metreden, Ag-TiO_2-rGO nanoalzemesinin dispersiyonunun hazırlanmasında ise Branson marka (1510-MTH model) bir ultrasonik yıkama cihazından faydalanılmıştır.

TEM görüntüleri JEOL JEM-2100 (200 kV, UHR) geçirimli elektron mikroskopu ile XPS ölçümleri Specs-Flex marka X-Işını Fotoelektron Spektrometresi ile XRD ölçümleri Bruker D8 Advance X ışınları kırınım cihazı ile UV spektrumları UV-1800 marka bir spektrofotometre ile IR ölçümleri ise Bruker Vertex ATR-FTIR marka bir spektrofotometre tarafından gerçekleştirilmiştir.

5.2.1. Ekran baskılı elektrot (Ridnour ve ark., 2005)

Yüksek hassasiyetleri ve geniş doğrusal çalışma aralıklarından dolayı, ekran baskılı elektrotlar (Ridnour ve ark., 2005) birçok elektrokimyasal analizde kullanılabilmektedir. Ayrıca ekran baskılı elektrotlar, tek kullanımlık olmalarından

dolayı tekrarlanabilirliği yüksek sensörlerin hazırlanmasına yardımcı olurken, diğer elektrotlarda karşımıza çıkan yüzey temizliği gibi zaman alıcı işlemlerin önüne geçmektedir (Couto ve ark., 2016). Serigrafi teknolojisi, çok çeşitli elektrot geometrilerinin üretilmesine izin verir ve referans, çalışma ve yardımcı elektrotlar veya özelleştirilmiş özelliklere sahip üç elektrot içeren tek bir cihaz üretmek için kullanılabilir (Honeychurch, 2012).

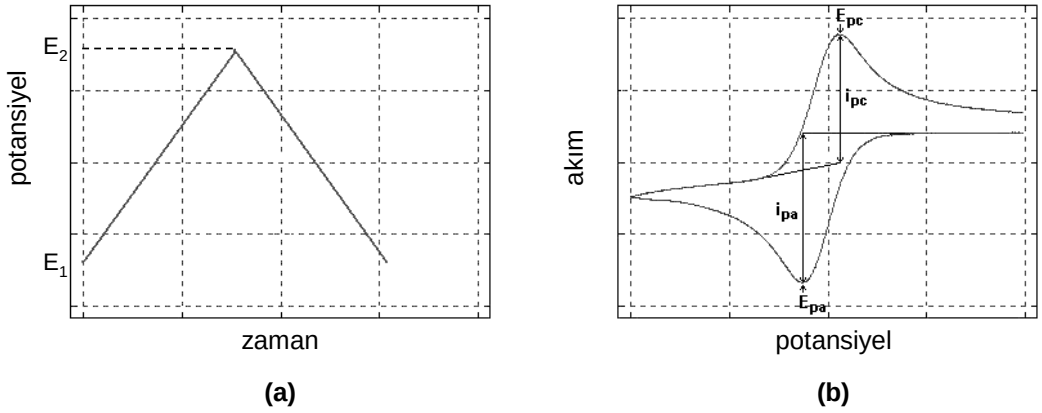
Ekran baskılı elektrodun elektrik iletkenliğini geliştirmek için, birinci kısım ekranın altına yerleştirilen iletken bir plastik malzeme (Au, Pt veya Ag) olabilir (Ag mürekkebi düşük maliyetler nedeniyle en yaygın kullanılanıdır). Ardışık bölümler (çalışma, karşıt, referans elektrotlar) farklı gösterim motifleri kullanılarak alt tabakaya yazılır ve her tabakaya karşılık gelen mürekkebin katılaşması için ısıtılır. Bu yöntem mekanik olarak sağlamdır ve büyük ölçekli elektrot üretimi sağlamaktadır (Chu ve ark., 2017).

5.3. Deneysel Çalışmalarda Kullanılan Yöntemler

5.3.1. Dönüşümlü voltametri (CV)

Dönüşümlü voltametri (CV) yönteminde karşıt elektroduna göre çalışma elektrodunun potansiyelinin belirli bir potansiyel programına uyacak şekilde değiştirilmesi esas alınmaktadır. Potansiyel taraması bir başlangıç potansiyelinden (E_1) başlayarak belirli bir potansiyel değerine (E_2) kadar zamanla doğrusal olarak değişerek devam eder. E_2 potansiyel değerine ulaştıktan sonra potansiyel tarama yönü ters çevrilir (Şekil 5.1a). Sabit bir tarama hızında ileri ve geri yöndeki potansiyel taraması bir kez yapılabildiği gibi (tek döngülü voltamogram), birçok kez de uygulanabilir (çok döngülü voltamogram). Gerilim taraması sırasında çalışma elektrodu ile karşıt elektrot arasında geçen akım kaydedildiğinde pik şeklinde bir akım-gerilim eğrisi elde edilir. Bu pik çözeltideki elektroaktif maddenin yükseltgenmesine ya da indirgenmesine aittir. Gerilim tarama yönü ters çevrildiğinde yükseltgenmiş elektroaktif maddenin yeniden indirgenmesine ya da yükseltgenmesine karşı gelen bir geri pik gözlenir. Çalışma elektroduna uygulanan potansiyel elektroaktif maddenin yükseltgenme potansiyeline ulaşınca yükseltgenme olayı başlar ve elektrot yüzeyini çevreleyen kısımdaki elektroaktif madde hızlı bir şekilde tüketilir. Bu nedenle akımdaki değişim hızlı bir artış

şeklinde gözlenir. Çalışma elektrodu civarında bir difüzyon tabakası oluşur ve çözeltiden elektrot yüzeyine doğru difüzyonla madde aktarımı başlar. Difüzyonla kütle aktarım hızı, elektron aktarım hızından çok daha küçük olduğunda, voltamogramın tepe noktasından sonra akımda üstel bir düşüş gözlenecektir (Türkmen, 2015). Şekil 5.1b'de verilen dönüşümlü voltamogramda, E_{pa} ve i_{pa} sırasıyla anodik pik potansiyeli ve pik akımını, E_{pc} ve i_{pc} sırasıyla katodik pik potansiyeli ve pik akımını göstermektedir.



Şekil 5.1. (a) Dönüşümlü voltametride uyarma sinyali **(b)** Tersinir bir elektrokimyasal reaksiyon için elde edilen dönüşümlü voltamogram

Tersinir bir sistem için elde edilen dönüşümlü voltamogramda anodik ve katodik pik akımları birbirine eşittir. Ayrıca, bu piklerin potansiyelleri ile 25 ºC'deki voltametrik yarı dalga potansiyeli ($E_{1/2}$) arasında aşağıdaki eşitlikler yazılabilir.

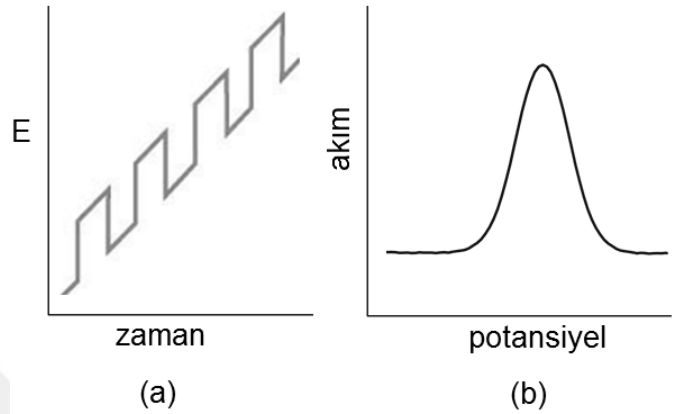
$$E_{pa}=E_{1/2} + 0{,}029/n \qquad (5.1)$$

$$E_{pk}=E_{1/2} - 0{,}029/n \qquad (5.2)$$

5.3.2. Diferansiyel puls voltametri (DPV)

Diferansiyel puls voltametrisi elektrokimyasal bir sistemde reaksiyonun kinetiği, termodinamiği ve mekanizmasının çalışılmasına olanak sağlayan bir teknik olmak ile birlikte çoğunlukla elektroaktif bir bileşenin kantitatif analizinde kullanılır. Diferansiyel puls voltametrisi diğer elektrokimyasal metotlar ile karşılaştırıldığında elektroaktif analite karşı çok daha duyarlı cevaplar vermektedir.

Şekil 5.2a'da gösterilen puls uygulanmadan önce ve sonra akım değeri kaydedilir ve elde edilen sonuçlar doğrusal taramalı voltametrisindeki eğrinin eğimi olarak ele alınır. Eğrinin altındaki alan (diferansiyel ifadenin integrali, eğri denkleminin belirli sınırlardaki integrali) elektroaktif madde miktarı ile orantılıdır (Şekil 5.2b).



Şekil 5.2. (a) Diferansiyel puls voltametrisinde uyarma sinyali **(b)** Diferansiyel puls voltametrisine ait bir voltamogram.

5.4. Ag-TiO_2-rGO/SPE Sensörünün Hazırlanması

5.4.1. İndirgenmiş grafen oksitin (rGO) sentezi

İndirgenmiş grafen oksitin (rGO) sentezinden önce grafit tozundan yola çıkarak grafen oksitin (GO) sentezi Marcano ve ark. tarafından geliştirilen bir metot izlenerek gerçekleştirilmiştir (Marcano ve ark., 2010). 1 g GO 50 mL ultra saf su içerisinde 1 saat boyunca ultrasonikatörde bekletilmiştir. Daha sonra bir balon içerisine aktarılan GO dispersiyonuna 50 µL hidrazin ve 200 µL amonyak çözeltisi eklenmiş ve 90 °C'de 5 saat boyunca geri soğutucu altında karıştırılmıştır. Elde edilen karışım oda sıcaklığına soğutulmuş ve santrifüjleme işlemi yapılmıştır. Çöken rGO vakum altında bir gece boyunca 80 °C'de kurutulmuştur (Benvidi ve ark., 2017).

5.4.2. Ag-TiO_2'in sentezi

TiO_2, mikrodalga hidrotermal yöntem kullanılarak hazırlanmıştır (Çakar ve Özacar, 2019). 5 mL titanium(IV) isopropoxide (TTIP) ve 5 mL NaOH (1 M) 60 mL

deiyonize su içerisinde çözülmüştür. Oda sıcaklığında 1 saat kuvvetlice karıştırıldıktan sonra, karışım 100 mL'lik teflon kaplı otoklav mikrodalga destekli hidrotermal kap içine aktarılmış ve 100 °C'de 30 dakika boyunca 380 W gücünde mikrodalga ışıması (CEM Mars 5 model) ile ısıtılmıştır. Oluşan TiO_2 nanopartikülleri 5000 rpm'de 15 dakika santrifüj edilmiş ve birkaç kez deiyonize su ve en son etanol ile yıkanmıştır. Sonrasında elde edilen TiO_2 nanopartikülleri 1 gece 70 °C'de kurutulmuştur.

TiO_2 üzerine Ag katkılamak için, 0,5 g TiO_2 40 mL deiyonize suda 30 dakika boyunca ultrasonikatörde bekletilmiştir. Sonrasında dispersiyon, Ag'nin TiO_2 reaksiyonuna gravimetrik ağırlık oranı %5 olacak şekilde $AgNO_3$ ilave edilmiştir (Güy ve Özacar, 2016). Sonrasında gümüş iyonlarını indirgemek için 20 mL $NaBH_4$ (0,0175 M) damla damla çözeltiye eklenmiş ve 1 saat karıştırılmıştır. Oluşan Ag-TiO_2 nanopartiküllerini çözeltiden ayırmak için çözelti 5000 rpm'de 5 dakika santrifüjlenmiş ve iki kez deiyonize su ve etanol ile yıkama işlemi yapılarak santrifüjleme işlemi tekrarlanmıştır. Sonrasında Ag-TiO_2 nanopartikülleri 1 gece 70 °C'de kurutulmuştur.

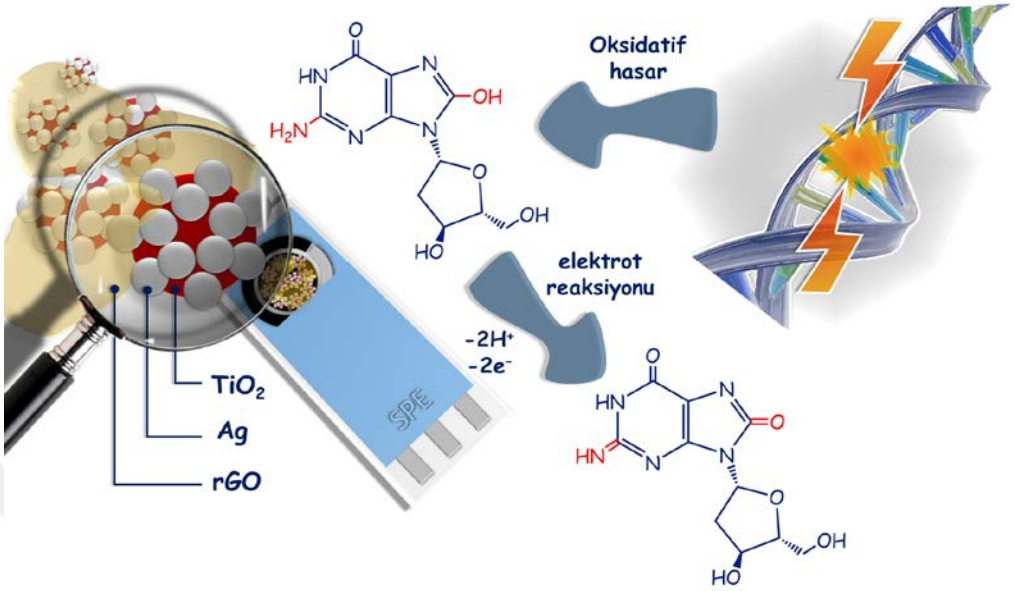
5.4.3. Ag-TiO_2-rGO hibrit nanomalzemenin hazırlanması

0,1 g rGO 10 mL ultra saf su içerisinde 1 saat boyunca ultrasonikatörde bekletilmiştir. Ag-TiO_2 (0,01 g/ 1 mL) dispersiyonu, yavaş yavaş rGO süspansiyonuna ilave edilmiş ve karışım bir teflon kaplı otoklava aktarılarak 180 °C'de 12 saat ısıtılmıştır. Elde edilen hibrit malzeme (Ag-TiO_2-rGO), santrifüj işleminden sonra gece boyunca 80 °C'de kurutulmuştur.

5.4.4. Ag-TiO_2-rGO/SPE sensörünün hazırlanması

Ag-TiO_2-rGO hibrit nanomalzemesinin filmi, ekran baskılı elektrot yüzeyine (Ridnour ve ark., 2005) damlama-kurutma yöntemi kullanılarak hazırlanmıştır (Şekil 5.3). 1 mg Ag-TiO_2-rGO, % 0,5 nafyon içeren 1 mL etanol içerisinde 30 dakika boyunca ultrasonikatörde bekletilmiştir. Nafyon birçok girişim maddesine karşı seçicilik göstermesi ve aynı zamanda film oluşturma kabiliyetinin yüksek olması nedeniyle sensör hazırlanmasına yardımcı olmaktadır (Yusoff, 2019). Ag-TiO_2-rGO/SPE olarak adlandırılan sensörü hazırlamak için elde edilen dispersiyonun 5 µL'si ekran baskılı

elektrot yüzeyine (Ridnour ve ark., 2005) damlatılmış ve oda sıcaklığında kurutulmuştur.

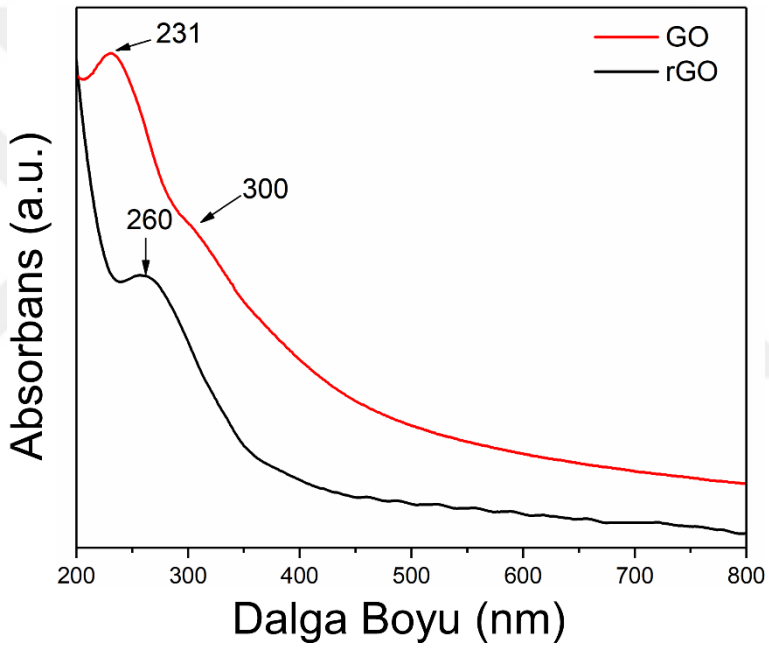


Şekil 5.3. Hazırlanan sensörün (Ag-TiO_2-rGO/SPE) şematik gösterimi ve 8-OHdG tayini için elektrot reaksiyonu.

6. ARAŞTIRMA SONUÇLARI VE TARTIŞMA

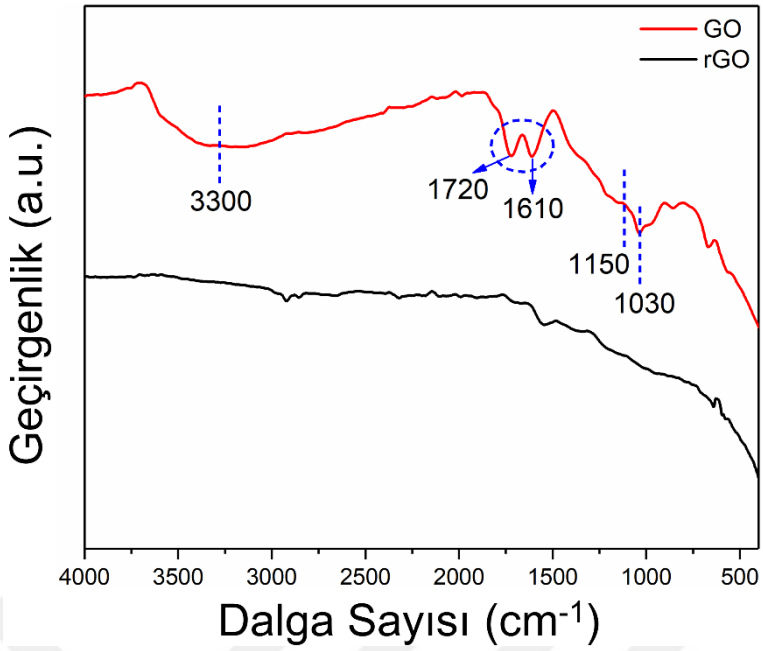
6.1. Karakterizasyon

GO ve rGO'nun yapısal karakterizasyonu UV ve FT-IR spektrumları karşılaştırılarak incelenmiştir. Şekil 6.1'de verilen UV spekturumunda GO için C=C bağının π–π* geçişine karşılık gelen 231 nm'de bir pik ve C=O bağının n–π* geçişine karşılık gelen 300 nm'de bir pik gözlenmektedir. rGO'nun UV spektrumunda ise GO için 231 nm'de gözlenen pik 260 nm'ye kayarken, GO için 300 nm'de gözlenen pik kaybolmaktadır. Bu durum GO'nun indirgenmesi ile birlikte GO'nun yapısında yer alan oksijen gruplarının kaybolduğunu işaret etmektedir.



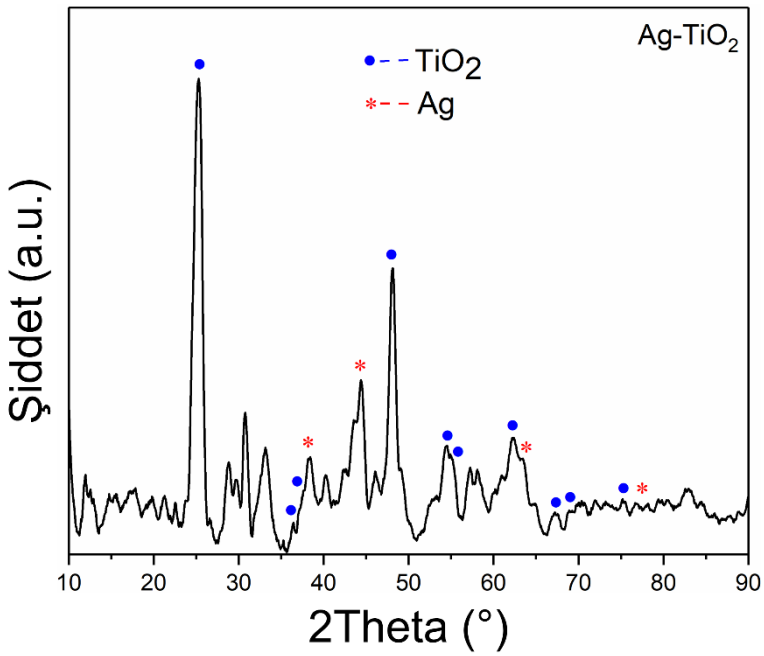
Şekil 6.1. GO ve rGO'nun UV spektrumları.

Şekil 6.2'de verilen GO'nun FT-IR spektrumunda 1030 cm^{-1}, 1150 cm^{-1}, 1610 cm^{-1}, 1720 cm^{-1} ve 3300 cm^{-1}'de gözlenen pikler sırasıyla C–O, C–OH, C=C, C=O ve O–H bağlarına işaret etmektedir. GO'nun indirgenmesi ile birlikte rGO'nun yapısında yer alan oksijen içeren grupların azalması ya da kaybolması rGO'nun FT-IR spektrumunda bu gruplara ait piklerin ya kaybolmasına ya da pik şiddetlerinin düşmesine neden olmaktadır. Bu sonuç GO'nun indirgenme işleminin başarılı bir şekilde gerçekleştiğini göstermektedir (Emiru ve Ayele, 2017).



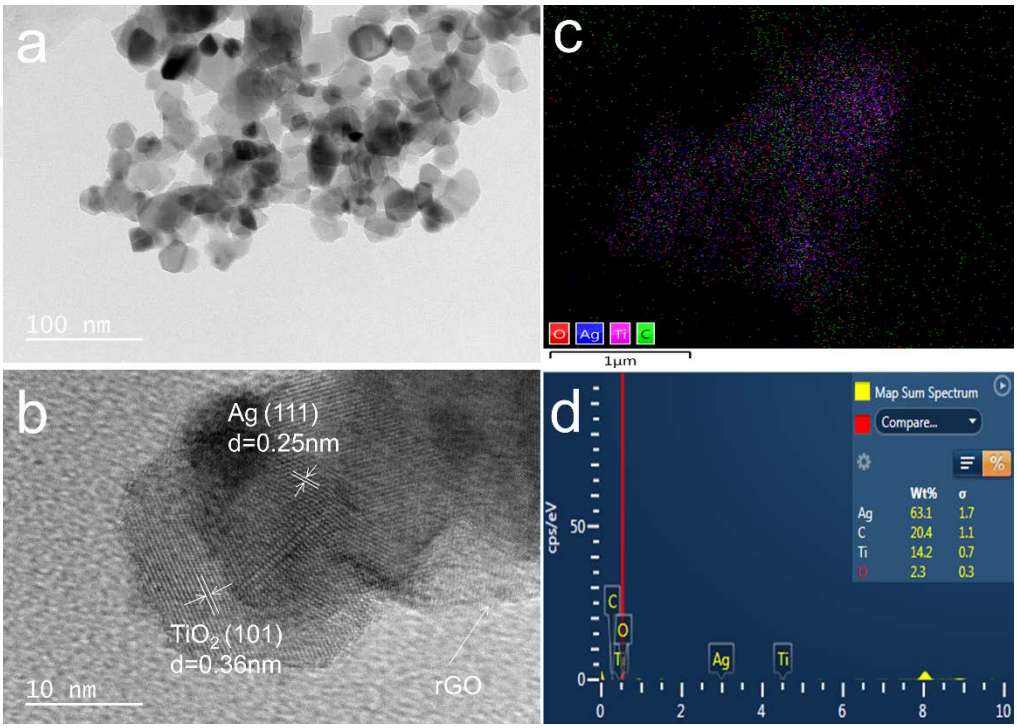
Şekil 6.2. GO ve rGO'nun FT-IR spektrumları.

Şekil 6.3'de verilen Ag-TiO_2 nanomalzemesinin XRD analizinde 25.26°, 36.34°, 37.60°, 48.05°, 54.30°, 55.04°, 62.34°, 67.27°, 69.32°, and 75.15°'de gözlenen 2θ değerleri sırasıyla (101), (103), (004), (200), (105), (211), (204), (116), (220) ve (215) kristal düzlemlerine karşılık gelmektedir. Bu değerler literatürde verilen metalik gümüş (JCPDS card no. 04-0783) ve TiO_2 (JCPDS card no. 21-1272) için elde edilen XRD sonuçları ile uyumludur (Wang ve ark., 2019).



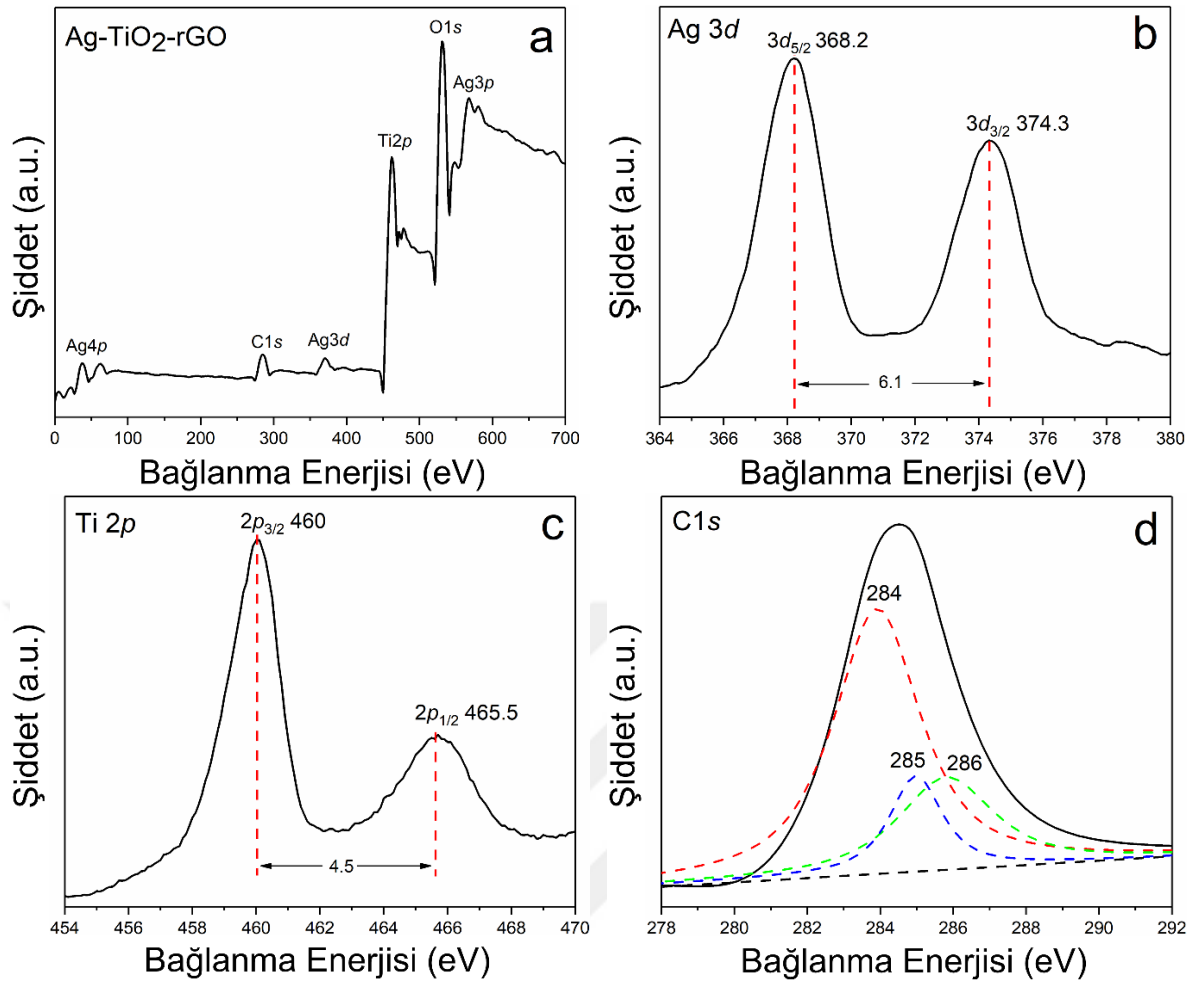
Şekil 6.3. Ag-TiO_2'in XRD analizi.

Şekil 6.4'de Ag-TiO_2'in TEM görüntüleri ve EDS analizleri verilmiştir. Görüntülerde Ag nanopartiküllerinin TiO_2 üzerine başarıyla biriktiği görülmektedir. Ayrıca, daha büyük büyütme oranlarında elde edilen görüntülerde nanomalzemenin iyi bir kristallenmeye sahip olduğu görülmektedir. Ag-TiO_2 kompozitinin HR-TEM görüntüsünde 0,36 nm ve 0,25 nm boşlukları sırasıyla TiO_2 (101) ve metalik Ag (111) kristal düzlemlerine karşılık gelmektedir. EDS analizi ile nanomalzemenin yüzey kompozisyonu belirlenmiş, Ti, O, Ag, C atomları için kompozisyon yüzdeleri verilmiştir (Wang ve ark., 2019).



Şekil 6.4. (a) TEM görüntüleri, (b) HR-TEM görüntüleri, (c) EDS analizi, (d) yüzey kompozisyon bilgisi.

Ag-TiO_2-rGO nanomalzemenin (Şekil 6.5a), Ag 3*d* (Şekil 6.5b), Ti 2*p* (Şekil 6.5c) ve C 1*s* (Şekil 6.5d) XPS spektrumları Şekil 6.5'te verilmiştir. Bu pikler sırasıyla Ag, TiO_2 ve rGO'in bağlanma enerjilerine karşılık gelmektedir (Wang ve ark., 2011). Elde edilen bu sonuçlar nanomalzemenin Ag, TiO_2 ve rGO içerdiğini doğrulamaktadır.



Şekil 6.5. (a) Ag-TiO_2-rGO, **(b)** Ag 3*d*, **(c)** Ti 2*p* ve **(d)** C 1*s* 'in XPS spektrumları

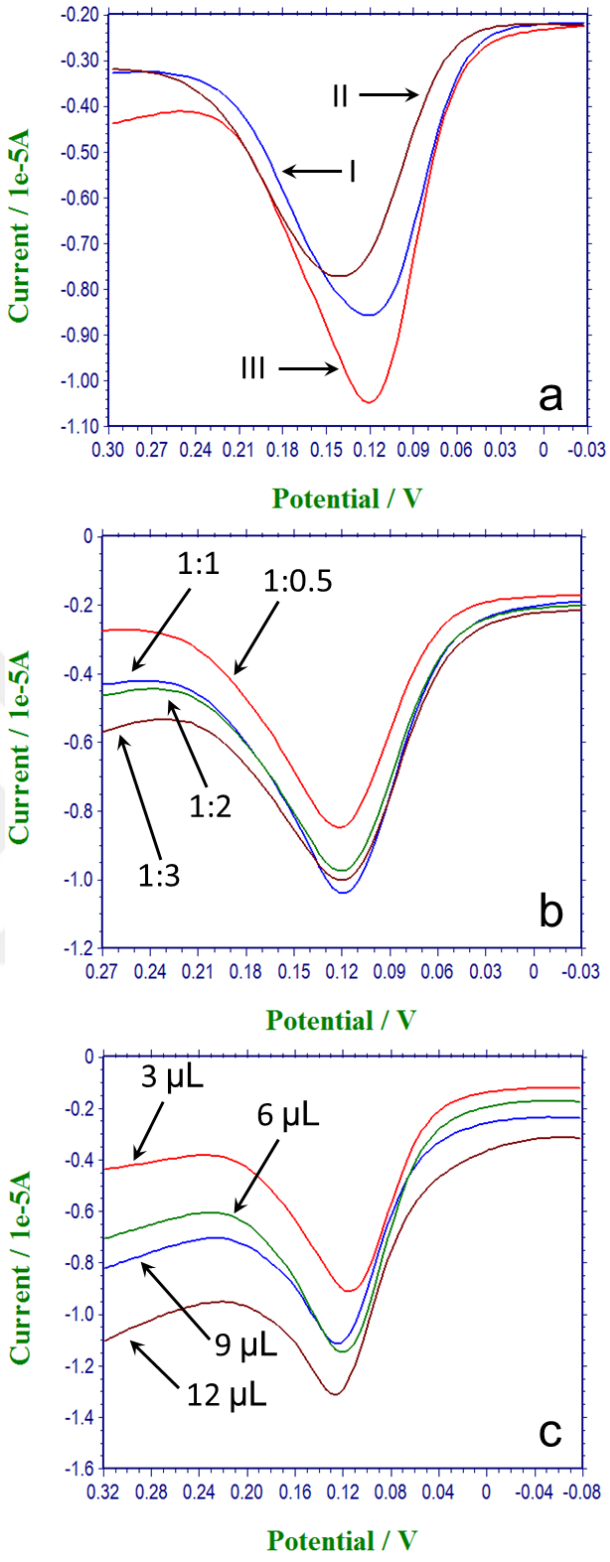
6.2. Elektrokimyasal Ölçümler

Yüzeyleri farklı malzemeler ile modifiye edilmiş ekran baskılı elektrotların 8-OHdG'nin yükseltgenmesine ilişkin elektrokimyasal davranışları, diferansiyel puls voltametri (DPV) tekniği kullanılarak incelenmiştir. Ag-TiO_2/SPE (I), rGO/SPE (Marcano ve ark., 2010) ve Ag-TiO_2-rGO/SPE (III) şeklinde gösterilen üç farklı modifiye elektrodun 0,1 M fosfat tamponu (pH 7,4) içerisinde bulunan 5 µM 8-OHdG için elde edilen voltamogramları Şekil 6.6a'da gösterilmiştir. Ag-TiO_2-rGO hibrit nanomalzemesi ile modifiye edilmiş ekran baskılı elektrot diğer modifiye elektrotlar ile karşılaştırıldığında, Ag-TiO_2-rGO/SPE elektrodunun 8-OHdG'nin yükseltgenmesine ilişkin akım cevabının çok daha büyük olduğu gözlenmiştir.

Ekran baskılı elektrot yüzeyindeki hibrit nanomalzemenin kompozisyonunun sensörün akım cevaplarına etkisini araştırmak için farklı rGO : Ag-TiO_2 oranlarında

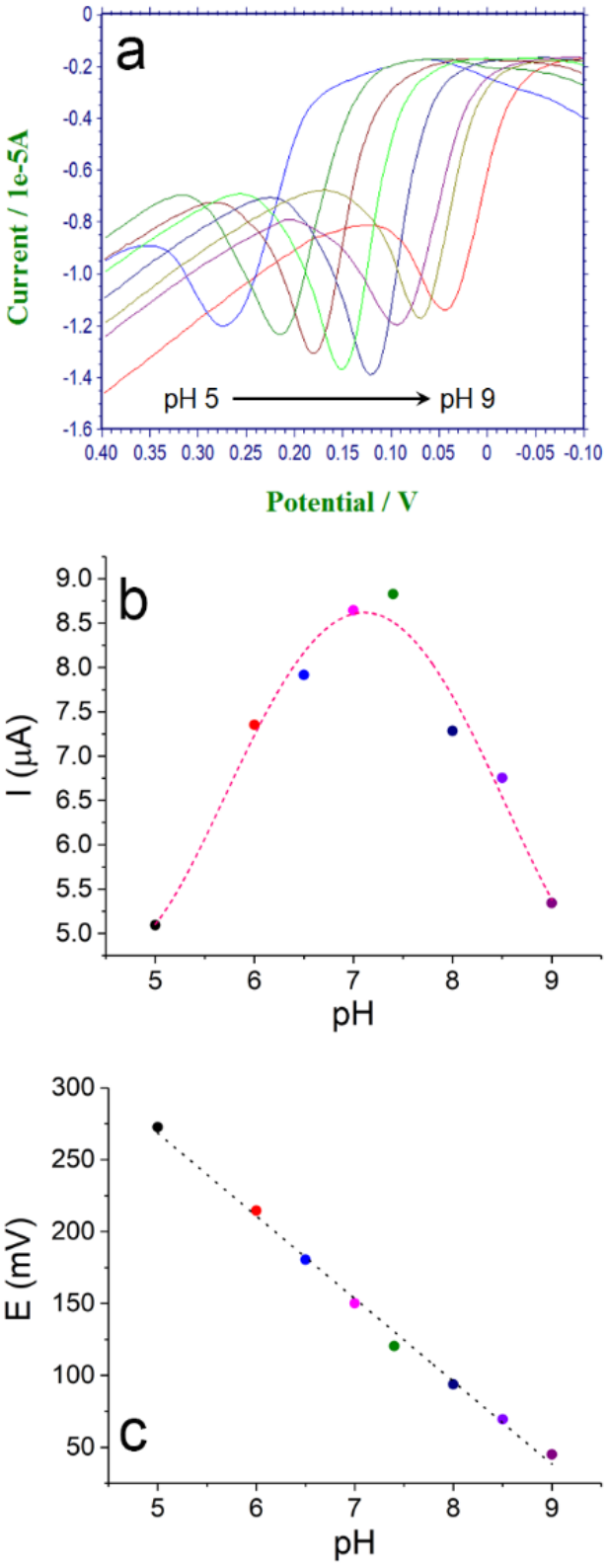
hazırlanan Ag-TiO_2-rGO/SPE sensörlerinin 0,1 M fosfat tamponu (pH 7,4) içerisinde bulunan 5 µM 8- OHdG için elde edilen voltamogramları karşılaştırılmıştır. 1:0.5, 1:1, 1:2; 1:3 (rGO : Ag-TiO_2) oranlarında sensörler hazırlanırken Ag-TiO_2-rGO nanomalzemesinden 6 µL ekran baskılı elektrot yüzeyine damlama-kurutma yönteminden faydalanarak kaplanmıştır. Şekil 6.6b'de gösterilen voltamogramlar incelendiğinde 1:0.5 (rGO : Ag-TiO_2) oranı ile hazırlanan sensör diğer sensörlere göre daha düşük akım cevabı göstermiştir. Diğer oranlarda hazırlanan sensörlerin 8-OHdG'nin yükseltgenmesine ilişkin akım cevapları incelendiğinde en yüksek akım cevabını 1:1 (rGO : Ag-TiO_2) oranı ile hazırlanan Ag-TiO_2-rGO/SPE sensörü göstermiştir.

Ekran baskılı elektrot yüzeyine Ag-TiO_2-rGO nanomalzemesinin etil alkol içerisindeki dispersiyonun uygulanan hacmi de değiştirilerek farklı nanomalzeme film kalınlığında Ag-TiO_2-rGO/SPE sensörler hazırlanmış ve 0,1 M fosfat tamponu (pH 7,4) içerisinde bulunan 5 µM 8-OHdG için elde edilen voltamogramları karşılaştırılmıştır (Şekil 6.6c). 6 µL Ag-TiO_2-rGO nanomalzeme dispersiyonu kullanılarak hazırlanan Ag-TiO_2-rGO/SPE sensörü diğer sensörlere göre daha yüksek akım cevabı göstermiştir. Bu durum ekran baskılı elektrot yüzeyindeki Ag-TiO_2-rGO miktarındaki artışın aktif yüzeyleri engelleyebileceği ve analit ile sensör arasındaki elektron transfer prosesini de yavaşlatabileceği şeklinde açıklanabilir (Wan Khalid ve ark., 2019).



Şekil 6.6. (a) Ag-TiO_2/SPE (I), rGO/SPE (Marcano ve ark., 2010) ve Ag-TiO_2-rGO/SPE (III) modifiye elektrotlarının 0,1 M fosfat tamponu (pH 7,4) içerisinde bulunan 5 µM 8-OHdG için elde edilen voltamogramları. **(b)** Farklı rGO : Ag-TiO_2 oranlarında hazırlanan Ag-TiO_2-rGO/SPE sensörlerinin 0,1 M fosfat tamponu (pH 7,4) içerisinde bulunan 5 µM 8-OHdG için elde edilen voltamogramları. **(c)** Ag-TiO_2-rGO dispersiyonunun farklı hacimleri (3, 6, 9, 12 µL) kullanılarak hazırlanan Ag-TiO_2-rGO/SPE sensörlerinin 0,1 M fosfat tamponu (pH 7,4) içerisinde bulunan 5 µM 8-OHdG için elde edilen voltamogramları.

Destek elektrolitin pH değeri elektrokimyasal olarak tayini yapılan analitin hem pik akımını hem de pik potansiyelini önemli ölçüde etkilemektedir. Destek elektrolitin pH değerinin etkisi 8-OHdG'nin elektrokimyasal yükseltgenmesinde Ag-TiO_2-rGO/SPE sensörünün 0,1 M fosfat tamponu (pH 7,4) içerisinde bulunan 5 µM 8-OHdG için elde edilen voltamogramları kıyaslanarak incelenmiştir (Şekil 6.7a). pH'ı 5 ile 9 aralığında değiştirilerek hazırlanan destek elektrolitler içerisinde alınan voltamogramlar incelendiğinde, 8-OHdG'nin yükseltgenmesine ilişkin pik akımları pH 5'den pH 7,4 değerine kadar yükselmiş, daha yüksek pH değerlerinde ise pik akımlarında düşüş gözlenmiştir (Şekil 6.7b). Ayrıca, destek elektrolitin pH değeri 8-OHdG'ye ait yükseltgenme pik potansiyelini de etkilemiş, pH 5'den pH 9'a doğru olan değişimde 8-OHdG'ye ait yükseltgenme pik potansiyelleri Şekil 6.7c'de gösterilmiştir. pH değerindeki artış ile 8-OHdG'nin pik potansiyelinin negatif yönde kayması 8-OHdG'nin elektrokimyasal yükseltgenme reaksiyonunda protonların direkt olarak etkili olduğunu göstermektedir (Jia ve ark., 2015; Guo ve ark., 2016). Şekil 6.7c'de elde edilen E_p - pH değişim grafiğine ilişkin doğru denklemi E_p/mV (pH 5-9) = - 57,56 pH + 556,31 (R=0,9952) şeklindedir. Bu doğru denkleminde E_p, 8-OHdG'nin yükseltgenmesine ilişkin pik potansiyelini göstermektedir. Doğru denkleminin eğimi -59 mV pH^{-1} teorik değerine çok yakın olması 8-OHdG'nin yükseltgenmesinde proton ve elektron sayılarının eşit olduğu göstermektedir (Laviron, 1974; Li ve ark., 2007; Gupta ve ark., 2016). Bu ifadeden yola çıkarak 8-OHdG'nin elektrokimyasal yükseltgenme mekanizmasının iki elektron ve iki protondan meydana gelen bir işlem olduğu belirtilebilir (Rosy ve Goyal, 2016).



Şekil 6.7. (a) Ag-TiO_2-rGO/SPE sensörünün farklı pH değerlerinde 0,1 M fosfat tamponu (pH 7,4) içerisinde bulunan 5 µM 8-OHdG için elde edilen voltamogramları. **(b)** Ag-TiO_2-rGO/SPE sensörünün 8-OHdG'nin yükseltgenme pik akımları üzerine pH'ın etkisi. **(c)** Ag-TiO_2-rGO/SPE sensörünün 8-OHdG'nin yükseltgenme pik potansiyeli üzerine pH'ın etkisi.

6.3. Ag-TiO_2-rGO/SPE Sensörünün Analitik Performansı

8-OHdG'nin kantitatif tayininde dönüşümlü voltametri tekniğinden daha büyük akım duyarlılığı gösterdiği için diferansiyel puls voltametrisi tekniğinden faydalanılmıştır. Çeşitli konsantrasyonlardaki 8-OHdG'nin Ag-TiO_2-rGO/SPE sensöründe elde edilen voltamogramları Şekil 6.8a'da gösterilmiştir. Şekil 6.8a'da gösterilen voltamogramlara göre 8-OHdG'nin yükseltgenme pik akımları 8-OHdG'nin konsantrasyonundaki artış ile birlikte basamaklı olarak ve lineer bir şekilde artmaktadır. 0,1 M fosfat tamponu (pH 7,4) içerisinde yapılan elektrokimyasal ölçüm sonuçlarında $I_{8\text{-OHdG}}(\mu A) = 0{,}9005 + 1{,}2397 C_{8\text{-OHdG}}(\mu M)$ ($R^2 = 0{,}9967$) şeklinde doğrusal bir denklem elde edilmiştir. Bu denklemde,

$I_{8\text{-OHdG}}$: 8-OHdG'nin akım cevabını (µA)

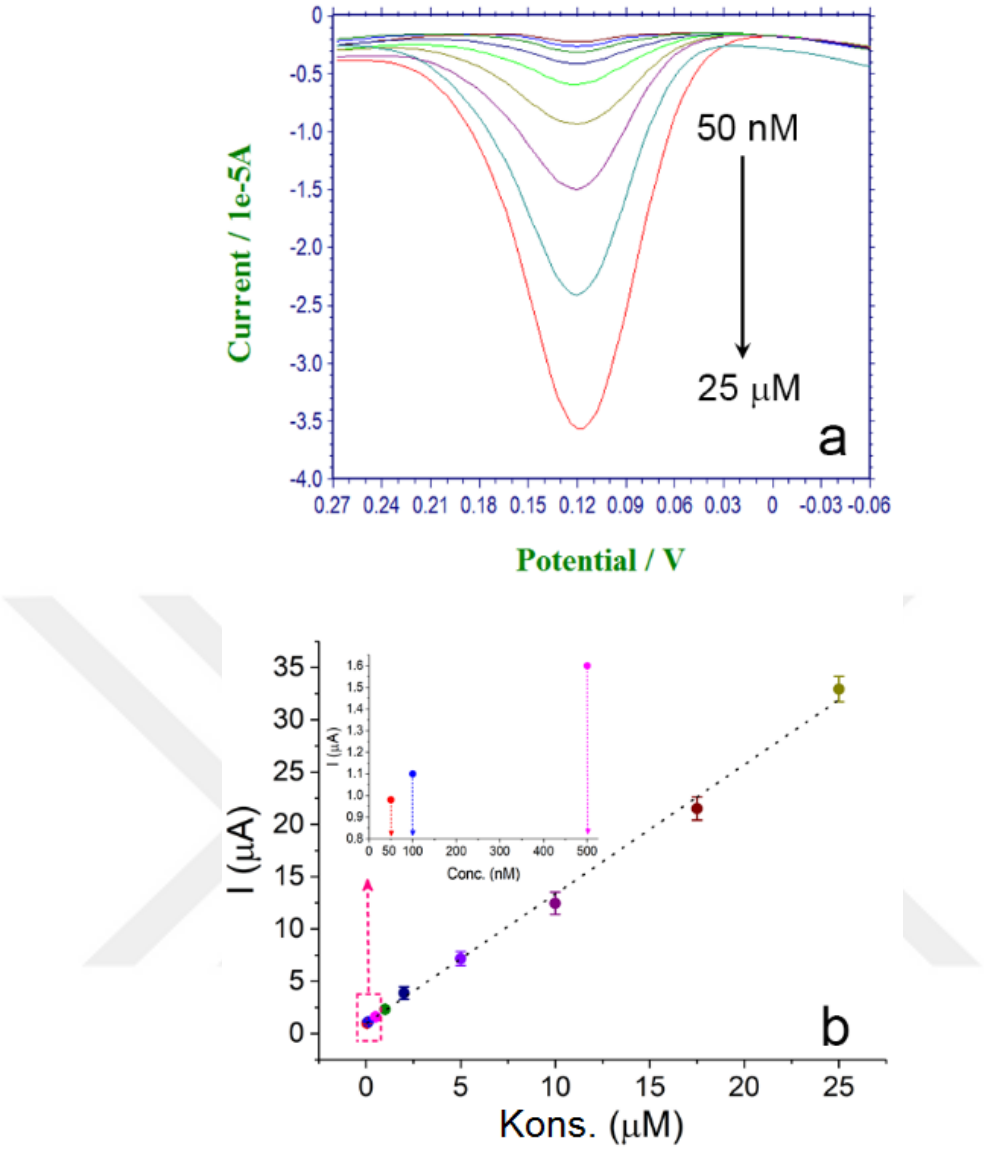
$C_{8\text{-OHdG}}$: 8-OHdG'nin 0,1 M fosfat tamponu (pH 7,4) içerisindeki konsantrasyonunu

göstermektedir. 8-OHdG'nin konsantrasyon değişimine karşı elde edilen voltamogramlardaki akım cevapları dikkate alınarak çizilen kalibrasyon grafiğinde, Ag-TiO_2-rGO/SPE sensörünün 50 nM ile 25 µM aralığında lineer cevaplar verdiği gözlenmiştir (Şekil 6.8b). Hazırlanan Ag-TiO_2-rGO/SPE sensörünün gözlenebilme sınırı (LOD) ise *3SD/m* kriterine göre hesaplanmıştır. Bu kritere göre,

SD : Ag-TiO_2-rGO/SPE sensörünün 100 nM 8-OHdG için elde edilen DPV cevaplarının standart sapması

m : 8-OHdG tayini için Ag-TiO_2-rGO/SPE'nin kalibrasyon grafiğinin eğimini

göstermektedir.



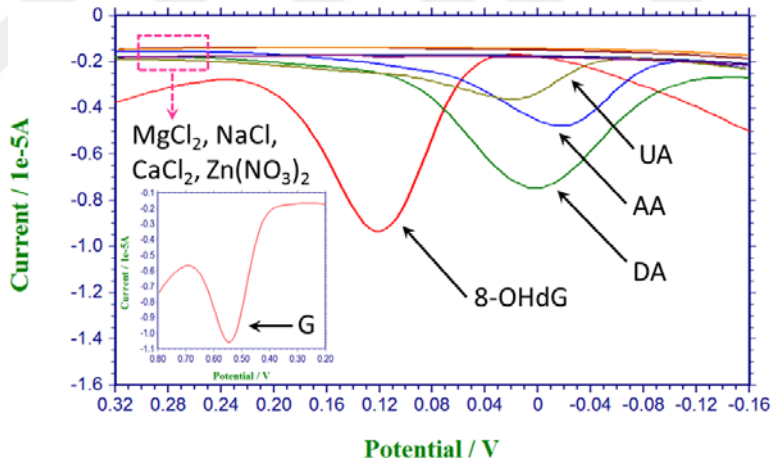
Şekil 6.8. (a) 0,1 M fosfat tamponu (pH 7,4) içerisinde bulunan farklı konsantrasyonlardaki 8-OHdG için Ag-TiO_2-rGO/SPE kullanılarak elde edilen voltamogramlar. **(b)** 8-OHdG tayini için Ag-TiO_2-rGO/SPE sensörünün kalibrasyon grafiği.

6.4. Tekrarüretilebilirlik

Ag-TiO_2-rGO/SPE sensörünün tekrar_üretilebilirliğinin araştırılması amacıyla aynı şartlar altında hazırlanan beş farklı Ag-TiO_2-rGO/SPE sensörü ile 0,1 M fosfat tamponu (pH 7,4) içerisindeki 5 µM 8-OHdG'nin yükseltgenme pik akımları ölçülerek karşılaştırma yapılmıştır. Elde edilen akım cevaplarından bağıl standart sapma %2,35 olarak hesaplanmıştır. Bu değer sensörün hazırlanmasında iyi bir tekrarüretilebilirliğe sahip olduğunu göstermektedir.

6.5. Girişim Etkisi

Deneysel çalışmada hazırlanması planlanan sensörün seçiciliğini değerlendirmek amacıyla, bazı inorganik iyonların yanı sıra guanin (G), askorbik asit (Repine ve ark., 1997), ürik asit (UA) ve dopamin (DA) gibi biyolojik sıvılarda 8-OHdG ile birlikte bulunma ihtimali olan maddelerin diferansiyel puls voltametri tekniği kullanılarak girişim etkisi araştırılmıştır. Şekil 6.9'da 0,1 M fosfat tamponu (pH 7,4) içerisinde bulunan 25 µM NaCl, 25 µM $CaCl_2$, 25 µM $MgCl_2$, 25 µM $Zn(NO_3)_2$, 25 µM G, 25 µM AA, 25 µM UA, 25 µM DA ve 5 µM 8-OHdG için Ag-TiO_2-rGO/SPE sensörü kullanılarak elde edilen voltamogramlar gösterilmiştir. NaCl, $CaCl_2$, $MgCl_2$ ve $Zn(NO_3)_2$ maddelerine ait voltamogramlarda bir pik gözlenmezken, askorbik asit, ürik asit, dopamine ve guanin için elde edilen voltamogramlarda sırasıyla -0,018 V; 0,021 V; 0,002 V ve 0,545 V'da pik gözlenmiştir. Ancak bu pikler 8-OHdG'nin yükseltgenme piki ile girişim etkisi gösterecek kadar yakın değildir. Bu sonuçlar Ag-TiO_2-rGO/SPE sensörünün yüksek seçicilik ile 8-OHdG tayinine olanak sağladığını göstermektedir.

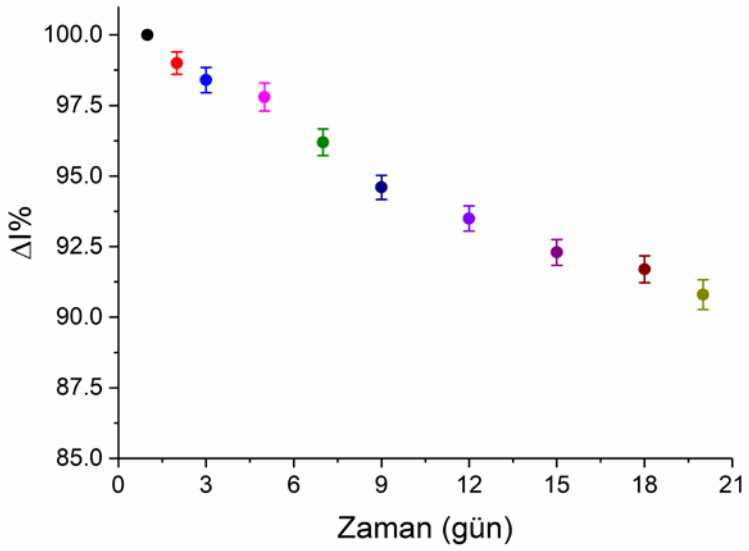


Şekil 6.9. 0,1 M fosfat tamponu (pH 7,4) içerisinde bulunan 25 µM NaCl, 25 µM $CaCl_2$, 25 µM $MgCl_2$, 25 µM $Zn(NO_3)_2$, 25 µM G, 25 µM AA, 25 µM UA, 25 µM DA ve 5 µM 8-OHdG için Ag-TiO_2-rGO/SPE sensörü kullanılarak elde edilen voltamogramlar.

6.6. Kararlılık

Ag-TiO_2-rGO/SPE sensörünün depolama kararlılığının belirlenmesi amacıyla, sensörün 20 gün boyunca 0,1 M fosfat tamponu (pH 7,4) içerisinde bulunan 2 µM 8-OHdG'ye karşı DPV cevapları izlenmiştir. Farklı günlerde elde edilen DPV akım cevapları ve ilk gün okunan akım cevabı karşılaştırılarak çizilen grafikte sensörün bir

hafta boyunca akım değerindeki düşüş yaklaşık % 4 civarında olmuştur (Şekil 6.10). 15 günün sonunda ise Ag-TiO_2-rGO/SPE sensörünün akım cevabı % 7,5 oranında düşüş göstermiştir.



Şekil 6.10. Ag-TiO_2-rGO/SPE sensörünün kararlılığı (Grafikte yer alan her bir değer 0,1 M fosfat tamponu (pH 7,4) içerisinde bulunan 2 µM 8-OHdG'nin akım cevabı ölçülerek oluşturulmuştur.)

6.7. Gerçek Numune Çalışması

Ag-TiO_2-rGO/SPE sensörünün gerçek numunelere uygulanabilirliğinin araştırılması amacıyla 2 farklı idrar numunesi üzerinde standart ekleme metodu kullanılarak elektrokimyasal ölçümler yapılmıştır. İlk olarak idrar numuneleri 9000 rpm'de 20 dakika boyunca santrifüjleme işlemine tabi tutulmuştur. Santrifüj sonrası üst fazdan alınan A ve B olarak gösterilen idrar numuneleri Tablo 6.1'de verilen son konsantrasyona ulaşacak şekilde standart 8-OHdG çözeltileri ile karıştırılarak Ag-TiO_2-rGO/SPE sensörünün akım cevapları incelenmiştir. Her bir numune için okunan akım cevapları ile standart 8-OHdG çözeltilerinin akım cevapları kıyaslanarak % geri kazanım değerleri hesaplanmıştır.

Table 6.1. Ag-TiO_2-rGO/SPE sensörünün gerçek numunede 8-OHdG tayinine uygulanabilirliği.

Örnek	Eklenen 8-OHdG (µM)	Bulunan 8-OHdG (µM)	Geri kazanım (%)
A	1	0,98	98
	1,5	1,48	98,7
	2	1,97	98,5
B	1	0,98	98
	1,5	1,47	98
	2	1,97	98,5

7. SONUÇLAR ve ÖNERİLER

8-OHdG oksidatif DNA hasar ana ürünlerinden bir tanesidir. İdrar numunesi içerisindeki 8-OHdG seviyesi, oksidatif DNA hasarının neden olduğu diyabet ve nörolojik hastalıkların yanı sıra kişinin kanser riskinin değerlendirileceği bir indikatör olarak kullanılabilmektedir.

Bu bilgiler ışığında sunulan tez çalışmasında 8-OHdG tayini için ekran baskılı elektrot kullanılarak yeni bir elektrokimyasal sensör geliştirilmiştir. Ekran baskılı elektrot (Ridnour ve ark., 2005) Ag-TiO_2 ve rGO kullanılarak hazırlanan hibrit nanomalzeme ile modifiye edilmiş ve 50 nM - 25 µM 8-OHdG konsantrasyon aralığında lineer akım cevapları göstermiştir. Ag-TiO_2-rGO/SPE sensörünün gözlenebilme sınırı ise 10 nM olarak hesaplanmıştır. Ag-TiO_2 : rGO oranı, hibrit nanomalzeme hacmi, pH gibi sensörün akım cevabını önemli ölçüde etkileyebilecek parametreler optimize edilmiştir. Buna göre, ekran baskılı elektrot yüzeyi Ag-TiO_2 : rGO oranı 1:1 olan hibrit nanomalzemeden 6 µL kullanılarak modifiye edilmiş, elektrokimyasal ölçümler ise 0,1 M pH 7,4 fosfat tamponu içerisinde gerçekleştirilmiştir.

8-OHdG tayini için son yıllarda yapılan sensör çalışmalarına ait lineer çalışma aralıkları ve gözlenebilme sınırları Tablo 7.1'de gösterilmiştir. Tez çalışmasında hazırlanan Ag-TiO_2-rGO/SPE sensörünün analitik performansı Tablo 7.1'de verilen diğer 8-OHdG sensörlerinin çoğundan ya daha iyi ya da karşılaştırılabilir kriterlere sahiptir. Bu sonuç, Ag-TiO_2-rGO hibrit nanomalzemenin oksidatif DNA hasarının tespitinde bir biyobelirteç olan 8-OHdG'nin tayininde yeni bir platform olarak kullanılabileceğini gösterdiği gibi farklı analitlerin de elektrokimyasal tayininde görev yapabileceğine işaret etmektedir.

Tablo 7.1. 8-OHdG tayini için farklı sensör sistemlerinin karşılaştırılması.

Elektrot	**Teknik**	**Lineer aralık (µM)**	**Gözlenebilme sınırı**	**Kaynak**
SrGO-HD/GCE	DPV	0,002-20	1	(Shahzad ve ark., 2017)
EPPGE	DPV	0,5-100	28	(Gupta ve ark., 2016)
MWCNT/ErGO/GCE	SWV	3-75	35	(Rosy ve Goyal, 2016)
MWCNTs/GCE	CV	0,0563-6,08 6,08-16,8	18,8	(Guo ve ark., 2016)
MIP Sensor	SWV	0,020-3	3	(Kumar ve ark., 2017)
GCE/P-Arg/ErGO-AuNPs	DPV	0,001-0,1 0,5-10	1	(Khan ve ark., 2018)
PSWNT/GCE	LSV	0,0029-87	0,996	(Shang ve ark., 2018)
Ag-TiO_2-rGO/SPE	DPV	0,05-25	10	Tez çalışması

KAYNAKLAR

Alanyalıoğlu, D. D. M., 2017, Farklı boyar maddelerle katkılanmış grafen kompozit kağıt elektrotların hazırlanması ve amperometrik sensör uygulamaları.

Atmaca, E. ve Aksoy, A., 2009, Oksidatif DNA hasarı ve kromatografik yöntemlerle tespit edilmesi, *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 20 (2), 79-83.

Bas, S. Z., 2015, Gold nanoparticle functionalized graphene oxide modified platinum electrode for hydrogen peroxide and glucose sensing, *Materials Letters*, 150, 20-23.

Benvidi, A., Nafar, M. T., Jahanbani, S., Tezerjani, M. D., Rezaeinasab, M. ve Dalirnasab, S., 2017, Developing an electrochemical sensor based on a carbon paste electrode modified with nano-composite of reduced graphene oxide and CuFe2O4 nanoparticles for determination of hydrogen peroxide, *Materials Science and Engineering: C*, 75, 1435-1447.

Brent, J. A. ve Rumack, B. H., 1993, Role of free radicals in toxic hepatic injury I. free radical biochemistry, *Journal of Toxicology: Clinical Toxicology*, 31 (1), 139-171.

Cadenas, E. ve Sies, H., 1998, The Lag Phase, *Free Radical Research*, 28 (6), 601-609.

Cadet, J., D'Ham, C., Douki, T., Pouget, J.-P., Ravanat, J.-L. ve Sauvaigo, S., 1998, Facts and artifacts in the measurement of oxidative base damage to DNA, *Free Radical Research*, 29 (6), 541-550.

Çakar, S. ve Özacar, M., 2019, The pH dependent tannic acid and Fe-tannic acid complex dye for dye sensitized solar cell applications, *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*, 371, 282-291.

Calderón-Garcidueñas, L., Wen-Wang, L., Zhang, Y. J., Rodriguez-Alcaraz, A., Osnaya, N., Villarreal-Calderón, A. ve Santella, R. M., 1999, 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine, a major mutagenic oxidative DNA lesion, and DNA strand breaks in nasal respiratory epithelium of children exposed to urban pollution, *Environmental Health Perspectives*, 107 (6), 469-474.

Carr, A. C., McCall, M. R. ve Frei, B., 2000, Oxidation of LDL by myeloperoxidase and reactive nitrogen species: reaction pathways and antioxidant protection, *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology*, 20 (7), 1716-1723.

Chen, H.-I., Liou, S.-H., Ho, S.-F., Wu, K.-Y., Sun, C.-W., Chen, M.-F., Cheng, L.-C., Shih, T.-S. ve Loh, C.-H., 2007, Oxidative DNA Damage Estimated by Plasma 8-hydroxydeoxyguanosine (8-OHdG): Influence of 4, 4'-methylenebis (2-chloroaniline) Exposure and Smoking, *Journal of Occupational Health*, 49 (5), 389-398.

Chiueh, C. C., 1999, Neuroprotective Properties of Nitric Oxide, *Annals of the New York Academy of Sciences*, 890 (1), 301-311.

Chu, Z., Peng, J. ve Jin, W., 2017, Advanced nanomaterial inks for screen-printed chemical sensors, *Sensors and Actuators B: Chemical*, 243, 919-926.

Collins, A., 2000, Comparison of different methods of measuring 8-oxoguanine as a marker of oxidative DNA damage, *Free Radical Research*, 32 (4), 333-341.

Commoner, B., Townsend, J. ve Pake, G. E., 1954, Free radicals in biological materials, *Nature*, 174 (4432), 689-691.

Cooke, M. S., EVANS, M. D., DIZDAROGLU, M. ve LUNEC, J., 2003, Oxidative DNA damage: mechanisms, mutation, and disease, *The FASEB Journal*, 17 (10), 1195-1214.

Couto, R. A. S., Lima, J. L. F. C. ve Quinaz, M. B., 2016, Recent developments, characteristics and potential applications of screen-printed electrodes in pharmaceutical and biological analysis, *Talanta*, 146, 801-814.

De Martinis, B. S. ve De Lourdes Pires Bianchi, M., 2002, METHODOLOGY FOR URINARY 8-HYDROXY-2′-DEOXYGUANOSINE ANALYSIS BY HPLC WITH ELECTROCHEMICAL DETECTION, *Pharmacological Research*, 46 (2), 129-131.

Dizdaroglu, M., Jaruga, P., Birincioglu, M. ve Rodriguez, H., 2002, Free radical-induced damage to DNA: mechanisms and measurement1, 2 1This article is part of a series of reviews on "Oxidative DNA Damage and Repair." The full list of papers may be found on the homepage of the journal. 2Guest Editor: Miral Dizdaroglu, *Free Radical Biology and Medicine*, 32 (11), 1102-1115.

Emiru, T. F. ve Ayele, D. W., 2017, Controlled synthesis, characterization and reduction of graphene oxide: A convenient method for large scale production, *Egyptian Journal of Basic and Applied Sciences*, 4 (1), 74-79.

Erdogan, Z. O., Akin, I. ve Kucukkolbasi, S., 2018, A new non-enzymatic sensor based on TiO2-Ag/polypyrrole for electrochemical detection of tyramine, *Synthetic Metals*, 246, 96-100.

Ersöz, A., Diltemiz, S. E., Özcan, A. A., Denizli, A. ve Say, R., 2008, Synergie between molecular imprinted polymer based on solid-phase extraction and quartz crystal microbalance technique for 8-OHdG sensing, *Biosensors and Bioelectronics*, 24 (4), 742-747.

Ersöz, A., Diltemiz, S. E., Özcan, A. A., Denizli, A. ve Say, R., 2009, 8-OHdG sensing with MIP based solid phase extraction and QCM technique, *Sensors and Actuators B: Chemical*, 137 (1), 7-11.

Floyd, R. A., Watson, J. J., Wong, P. K., Altmiller, D. H. ve Rickard, R. C., 1986, Hydroxyl Free Radical Adduct of Deoxyguanosine: Sensitive Detection and Mechanisms of Formation, *Free Radical Research Communications*, 1 (3), 163-172.

Gerschman, R., 1954, Oxygen Poisoning and X-irradiation: A Mechanism in Common, In: Glutathione, Eds: Colowick, S., Lazarow, A., Racker, E., Schwarz, D. R., Stadtman, E. ve Waelsch, H.: Academic Press, p. 288-291.

Gülbahar, Ö., 2007, Protein oksidasyonunun mekanizması, önemi ve yaşlılıkla ilişkisi, *Turkish Journal of Geriatrics*, 10 (1), 43-48.

Guo, Z., Liu, X., Liu, Y., Wu, G. ve Lu, X., 2016, Constructing a novel 8-hydroxy-2′-deoxyguanosine electrochemical sensor and application in evaluating the oxidative damages of DNA and guanine, *Biosensors and Bioelectronics*, 86, 671-676.

Gupta, P., Oyama, M. ve Goyal, R. N., 2016, Electrochemical investigations of 8-hydroxydeoxyguanosine and its determination at an edge plane pyrolytic graphite electrode, *RSC Advances*, 6 (3), 1722-1728.

Gutiérrez, A., Osegueda, S., Gutiérrez-Granados, S., Alatorre, A., García, M. G. ve Godínez, L. A., 2008, Amperometric Detection and Quantification of 8-Hydroxy-2′-deoxyguanosine (8-OHdG) Using Dendrimer Modified Electrodes, *Electroanalysis*, 20 (21), 2294-2300.

Güy, N. ve Özacar, M., 2016, The influence of noble metals on photocatalytic activity of ZnO for Congo red degradation, *International Journal of Hydrogen Energy*, 41 (44), 20100-20112.

Hao, J., Wu, K., Wan, C. ve Tang, Y., 2018, Reduced graphene oxide-ZnO nanocomposite based electrochemical sensor for sensitive and selective monitoring of 8-hydroxy-2′-deoxyguanosine, *Talanta*, 185, 550-556.

Harman, D., 1956, Aging: A Theory Based on Free Radical and Radiation Chemistry, *Journal of Gerontology*, 11 (3), 298-300.

Harris, E. D., 1992, Regulation of antioxidant enzymes, *The FASEB Journal*, 6 (9), 2675-2683.

Helbock, H. J., Beckman, K. B., Shigenaga, M. K., Walter, P. B., Woodall, A. A., Yeo, H. C. ve Ames, B. N., 1998, DNA oxidation matters: The HPLC–electrochemical detection assay of 8-oxo-deoxyguanosine and 8-oxo-guanine, *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 95 (1), 288-293.

Helbock, H. J., Beckman, K. B. ve Ames, B. N., 1999, 8-Hydroxydeoxyguanosine and 8-hydroxyguanine as biomarkers of oxidative DNA damage, In: Methods in Enzymology, Eds: Academic Press, p. 156-166.

Honeychurch, K. C., 2012, Screen-printed electrochemical sensors and biosensors for monitoring metal pollutants, *Insciences Journal*, 2 (1), 1-51.

Jacob, R. A., 1995, The integrated antioxidant system, *Nutrition Research*, 15 (5), 755-766.

Jia, L.-P., Liu, J.-F. ve Wang, H.-S., 2015, Electrochemical performance and detection of 8-Hydroxy-2′-deoxyguanosine at single-stranded DNA functionalized graphene modified glassy carbon electrode, *Biosensors and Bioelectronics*, 67, 139-145.

Kasai, H., 1997, Analysis of a form of oxidative DNA damage, 8-hydroxy-2′-deoxyguanosine, as a marker of cellular oxidative stress during carcinogenesis, *Mutation Research/Reviews in Mutation Research*, 387 (3), 147-163.

Kato, S., Yoshimura, K., Kimata, T., Mine, K., Uchiyama, T. ve Kaneko, K., 2015, Urinary 8-Hydroxy-2′-Deoxyguanosine: A Biomarker for Radiation-Induced Oxidative DNA Damage in Pediatric Cardiac Catheterization, *The Journal of Pediatrics*, 167 (6), 1369-1374.e1361.

Khan, M. Z. H., Liu, X., Tang, Y. ve Liu, X., 2018, Ultra-sensitive electrochemical detection of oxidative stress biomarker 8-hydroxy-2′-deoxyguanosine with poly (L-arginine)/graphene wrapped Au nanoparticles modified electrode, *Biosensors and Bioelectronics*, 117, 508-514.

Kumar, N., Rosy ve Goyal, R. N., 2017, A melamine based molecularly imprinted sensor for the determination of 8-hydroxydeoxyguanosine in human urine, *Talanta*, 166, 215-222.

Laviron, E., 1974, Adsorption, autoinhibition and autocatalysis in polarography and in linear potential sweep voltammetry, *Journal of Electroanalytical Chemistry and Interfacial Electrochemistry*, 52 (3), 355-393.

Lee, B. M., Lee, S. K. ve Kim, H. S., 1998, Inhibition of oxidative DNA damage, 8-OHdG, and carbonyl contents in smokers treated with antioxidants (vitamin E, vitamin C, β-carotene and red ginseng), *Cancer Letters*, 132 (1), 219-227.

Li, T.-H., Jia, W.-L., Wang, H.-S. ve Liu, R.-M., 2007, Electrochemical performance of 8-hydroxy-2′-deoxyguanosine and its detection at poly(3-methylthiophene) modified glassy carbon electrode, *Biosensors and Bioelectronics*, 22 (7), 1245-1250.

Marcano, D. C., Kosynkin, D. V., Berlin, J. M., Sinitskii, A., Sun, Z., Slesarev, A., Alemany, L. B., Lu, W. ve Tour, J. M., 2010, Improved Synthesis of Graphene Oxide, *ACS Nano*, 4 (8), 4806-4814.

Martins, G. V., Marques, A. C., Fortunato, E. ve Sales, M. G. F., 2016, 8-hydroxy-2′-deoxyguanosine (8-OHdG) biomarker detection down to picoMolar level on a plastic antibody film, *Biosensors and Bioelectronics*, 86, 225-234.

McCord, J. M. ve Fridovich, I., 1969, Superoxide dismutase an enzymic function for erythrocuprein (hemocuprein), *Journal of Biological chemistry*, 244 (22), 6049-6055.

Mittal, C. K. ve Murad, F., 1977, Activation of guanylate cyclase by superoxide dismutase and hydroxyl radical: a physiological regulator of guanosine 3',5'-monophosphate formation, *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 74 (10), 4360-4364.

Mohd Azmi, M. A., Tehrani, Z., Lewis, R. P., Walker, K. A. D., Jones, D. R., Daniels, D. R., Doak, S. H. ve Guy, O. J., 2014, Highly sensitive covalently functionalised integrated silicon nanowire biosensor devices for detection of cancer risk biomarker, *Biosensors and Bioelectronics*, 52, 216-224.

Pan, D., Zhou, Q., Rong, S., Zhang, G., Zhang, Y., Liu, F., Li, M., Chang, D. ve Pan, H., 2016, Electrochemical immunoassay for the biomarker 8-hydroxy-2′-deoxyguanosine using a glassy carbon electrode modified with chitosan and poly(indole-5-carboxylic acid), *Microchimica Acta*, 183 (1), 361-368.

Pastor, N., Weinstein, H., Jamison, E. ve Brenowitz, M., 2000, A detailed interpretation of OH radical footprints in a TBP-DNA complex reveals the role of dynamics in the mechanism of sequence-specific binding11Edited by I. Tinoco, *Journal of Molecular Biology*, 304 (1), 55-68.

Prabhulkar, S. ve Li, C.-Z., 2010, Assessment of oxidative DNA damage and repair at single cellular level via real-time monitoring of 8-OHdG biomarker, *Biosensors and Bioelectronics*, 26 (4), 1743-1749.

Renner, T., Fechner, T. ve Scherer, G., 2000, Fast quantification of the urinary marker of oxidative stress 8-hydroxy-2′-deoxyguanosine using solid-phase extraction and high-performance liquid chromatography with triple-stage quadrupole mass

detection, *Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications*, 738 (2), 311-317.

Repine, J., BAST, A., LANKHORST, I. ve TheOxidativeStressStudyGroup, 1997, Oxidative Stress in Chronic Obstructive Pulmonary Disease, *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, 156 (2), 341-357.

Ridnour, L. A., Isenberg, J. S., Espey, M. G., Thomas, D. D., Roberts, D. D. ve Wink, D. A., 2005, Nitric oxide regulates angiogenesis through a functional switch involving thrombospondin-1, *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 102 (37), 13147-13152.

Rosy ve Goyal, R. N., 2016, Determination of 8-Hydroxydeoxyguanosine: A potential biomarker of oxidative stress, using carbon-allotropic nanomaterials modified glassy carbon sensor, *Talanta*, 161, 735-742.

Say, R., Gültekin, A., Özcan, A. A., Denizli, A. ve Ersöz, A., 2009, Preparation of new molecularly imprinted quartz crystal microbalance hybride sensor system for 8-hydroxy-2′-deoxyguanosine determination, *Analytica Chimica Acta*, 640 (1), 82-86.

Sen, S., Chakraborty, R., Sridhar, C., Reddy, Y. ve De, B., 2010, Free radicals, antioxidants, diseases and phytomedicines: current status and future prospect, *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research*, 3 (1), 91-100.

Setyaningsih, Y., Husodo, A. H. ve Astuti, I., 2015, Detection of Urinary 8-hydroxydeoxyguanosine (8-OHdG) Levels as a Biomarker of Oxidative DNA Damage among Home Industry Workers Exposed to Chromium, *Procedia Environmental Sciences*, 23, 290-296.

Shahzad, F., Zaidi, S. A. ve Koo, C. M., 2017, Highly sensitive electrochemical sensor based on environmentally friendly biomass-derived sulfur-doped graphene for cancer biomarker detection, *Sensors and Actuators B: Chemical*, 241, 716-724.

Shams, A. ve Yari, A., 2019, A new sensor consisting of Ag-MWCNT nanocomposite as the sensing element for electrochemical determination of Epirubicin, *Sensors and Actuators B: Chemical*, 286, 131-138.

Shang, T., Wang, P., Liu, X., Jiang, X., Hu, Z. ve Lu, X., 2018, Facile synthesis of porous single-walled carbon nanotube for sensitive detection of 8-Hydroxy-2′-deoxyguanosine, *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 808, 28-34.

Shigenaga, M. K. ve Ames, B. N., 1991, Assays for 8-hydroxy-2′-deoxyguanosine: A biomarker of in vivo oxidative DNA damage, *Free Radical Biology and Medicine*, 10 (3), 211-216.

Skoog, D. A., Holler, F. J. ve Nieman, T. A., 1998, Principles of instrumental analysis : Douglas A. Skoog, F. James Holler, Timothy A. Nieman, Belmont (Calif.) : Brooks/Cole.

Tian, X., Liu, L., Li, Y., Yang, C., Zhou, Z., Nie, Y. ve Wang, Y., 2018, Nonenzymatic electrochemical sensor based on CuO-TiO2 for sensitive and selective detection of methyl parathion pesticide in ground water, *Sensors and Actuators B: Chemical*, 256, 135-142.

Türkmen, E., 2015, Glikoz tayini için bir biyosensör geliştirilmesi.

Valavanidis, A., Vlachogianni, T. ve Fiotakis, C., 2009, 8-hydroxy-2′ -deoxyguanosine (8-OHdG): A Critical Biomarker of Oxidative Stress and Carcinogenesis, *Journal of Environmental Science and Health, Part C*, 27 (2), 120-139.

Valko, M., Morris, H. ve Cronin, M., 2005, Metals, toxicity and oxidative stress, *Current medicinal chemistry*, 12 (10), 1161-1208.

Wan Khalid, W. E. F., Mat Arip, M. N., Jasmani, L. ve Lee, Y. H., 2019, A New Sensor for Methyl Paraben Using an Electrode Made of a Cellulose Nanocrystal–Reduced Graphene Oxide Nanocomposite, *Sensors*, 19 (12), 2726.

Wang, J.-C., Wang, Y.-S., Xue, J.-H., Zhou, B., Qian, Q.-M., Wang, Y.-S., Yin, J.-C., Zhao, H., Liu, H. ve Liu, S.-D., 2014, An ultrasensitive label-free assay of 8-hydroxy-2′-deoxyguanosine based on the conformational switching of aptamer, *Biosensors and Bioelectronics*, 58, 22-26.

Wang, P., Han, L., Zhu, C., Zhai, Y. ve Dong, S., 2011, Aqueous-phase synthesis of Ag-TiO2-reduced graphene oxide and Pt-TiO2-reduced graphene oxide hybrid nanostructures and their catalytic properties, *Nano Research*, 4 (11), 1153-1162.

Wang, T., Tang, T., Gao, Y., Chen, Q., Zhang, Z. ve Bian, H., 2019, Hydrothermal preparation of Ag-TiO2-reduced graphene oxide ternary microspheres structure composite for enhancing photocatalytic activity, *Physica E: Low-dimensional Systems and Nanostructures*, 112, 128-136.

Williams, G. M. ve Jeffrey, A. M., 2000, Oxidative DNA Damage: Endogenous and Chemically Induced, *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 32 (3), 283-292.

Wu, D., Liu, B., Yin, J., Xu, T., Zhao, S., Xu, Q., Chen, X. ve Wang, H., 2017, Detection of 8-hydroxydeoxyguanosine (8-OHdG) as a biomarker of oxidative damage in peripheral leukocyte DNA by UHPLC–MS/MS, *Journal of Chromatography B*, 1064, 1-6.

Yokuş, B. ve Çakir, D. Ü., 2002, İnvivo Oksidatif DNA Hasarı Biyomarkerı; 8-Hydroxy-2'-deoxyguanosine, *Turkiye Klinikleri Journal of Medical Sciences*, 22 (5), 535-543.

Yusoff, N., 2019, Chapter 7 - Graphene–Polymer Modified Electrochemical Sensors, In: Graphene-Based Electrochemical Sensors for Biomolecules, Eds: Pandikumar, A. ve Rameshkumar, P.: Elsevier, p. 155-186.

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı	**:**	Ayad Jirjees DHULKEFL
Uyruğu	**:**	Irak
Doğum Yeri ve Tarihi	**:**	Kerkük 28.12.1990
Telefon	**:**	0534 078 15 91
Faks	**:**	
e-mail	**:**	eyad.cercis90@gmail.com

EĞİTİM

Derece		**Adı, İlçe, İl**	**Bitirme Yılı**
Lise	**:**	Qubbat-Al-Sakhrraa, Kerkük	2012
Üniversite	**:**	Kerkük Üniversitesi, Kerkük	2016
Yüksek Lisans	**:**	Selçuk Üniversitesi, Konya	2019
Doktora	**:**		

AKADEMİK FAALİYETLER

1. **Ayad Jirjess Dhulkefl**, Keziban Atacan, Salih Zeki Bas, Mustafa Ozmen, *Preparation of an electrochemical sensor for detection of oxidative DNA damage*, Middle East International Conference on Multidisciplinary Studies, Beirut-Lebanon, 9-12 May, 2019, (Poster Presentation).

2. **Ayad Jirjees Dhulkefl**, Salih Zeki Bas, *An electrochemical biosensor based on gold nanoparticle functionalized graphene oxide*, 1st International Balkan Chemistry Congress (IBCC 2018), Edirne-Turkey, 17-20 September, 2018 (Poster Presentation).