



T.C.

SELÇUK ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

NANOMALZEMELERE DAYALI ELEKTROT MATERYALLERİNİN GELİŞTİRİLMESİ VE ELEKTROKİMYASAL PUTRESİN SENSÖRÜ OLARAK KULLANILABİLİRLİĞİNİN ARAŞTIRILMASI

AYŞE BETÜL ALTUN

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Kimya Anabilim Dalı

KASIM-2019
KONYA
Her Hakkı Saklıdır

ÖZET

YÜKSEK LİSANS

NANOMALZEMELERE DAYALI ELEKTROT MATERYALLERİNİN GELİŞTİRİLMESİ VE ELEKTROKİMYASAL PUTRESİN SENSÖRÜ OLARAK KULLANILABİLİRLİĞİNİN ARAŞTIRILMASI

Ayşe Betül ALTUN

Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü
Kimya Anabilim Dalı

Danışman: Doç.Dr.Semahat KÜÇÜKKOLBAŞI

2019, 48 Sayfa

Jüri
Doç. Dr. Semahat KÜÇÜKKOLBAŞI
Prof. Dr. S. Beniz GÜNDÜZ
Doç. Dr. Pınar Esra ERDEN

Poliaminler insan ve hayvanlarda fizyolojik işlevlerin yerine getirilmesinde önemli rol alırlar. Hücresel gelişim, hücre farklılaşması, enzim faaliyetlerinin ve iyon kanallarının düzenlenmesi, DNA ve protein sentezi kontrolünde görevlidirler. Gıdalarda ise putresin iki nedenle önem arz etmektedir. Birincisi, biyojen amin miktarının kalite indikatörü olarak kabul edilir olması diğeri ise sağlığa etkili toksik etkilerinin bulunmasıdır.

Bu çalışmada; TiO_2, CoS,In_2S_3 nanopartiküllerinin değişik kombinasyonları ile modifiye edilmiş elektrotlar hazırlandı ve putresin tayininde kullanılabilirliği araştırıldı. Hazırlanan modifiye elektrotların yüzey morfolojileri ve elektrokimyasal davranışları taramalı elektron mikroskopu (SEM), dönüşümlü voltametri (CV) ve elektrokimyasal impedans spektroskopisi (EIS) yöntemleri ile incelendi. Modifiye elektrotların performans faktörleri diferansiyel puls voltametrisi (DPV) yöntemiyle belirlendi ve modifiye edilmemiş elektrodun performansı ile karşılaştırıldı. Hazırlanan TiO_2-CoS modifiyeli camsı karbon eletrodun (GCE) doğrusal çalışma aralığı 0,32 µM-16,66 µM, gözlenebilme sınırı (LOD) 0,09 µM, alt tayin sınırı (LOQ) 0,27 µM, tekrarlanabilirlik ve tekrar üretilebilirlikleri sırasıyla %4,7 ve %3,3 olarak tespit edildi. Tasarlanan elektrodun gıda numunelerinde putresin analizi için kullanılabilirliği araştırıldı.

Anahtar Kelimeler: CoS, elektrokimya, metal oksit, nanoteknoloji, poliamin, putresin, sensör, TiO2, voltametri

ABSTRACT

MS THESIS

DEVELOPMENT OF ELECTRODE MATERIALS BASED ON NANOMATERIALS AND INVESTIGATION OF USABILITY OF ELECTROCHEMICAL PUTRESCINE SENSOR

Ayşe Betül ALTUN

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

Advisor: Assoc.Prof.Dr. Semahat KÜÇÜKKOLBAŞI

Jury
Assoc. Prof. Dr. Semahat KÜÇÜKKOLBAŞI
Prof. Dr. S. Beniz GÜNDÜZ
Assoc. Prof. Dr. Pınar Esra ERDEN

Polyamines play an important role in performing physiological functions in humans and animals. They are responsible for cellular development, cell differentiation, regulation of enzyme activities and ion channels, DNA and protein synthesis control. In food, putressin is important for two reasons. The first is that the amount of biogenic amine is accepted as a quality indicator and the other is that it has toxic health effects.

In this study; Modified electrodes with different combinations of TiO_2, CoS, In_2S_3 nanoparticles were prepared and their usability in the determination of putresin was investigated. Surface morphology and electrochemical behavior of the modified electrodes were investigated by scanning electron microscopy (SEM), cyclic voltammetry (CV) and electrochemical impedance spectroscopy (EIS). The performance factors of the modified electrodes were determined by differential pulse voltammetry (DPV) method and compared with the performance of the unmodified electrode. The linear operating range of the TiO_2-CoS / GCE (glassy carbon electrode) prepared is 0,32 µM-16,66 µM, the observability limit (LOD) is 0,09 µM and the lower detection limit (LOQ) is 0,27 µM. Reusability and reproducibility were found to be 4.7% and 3.3%, respectively. The usability of the designed electrode for putresin analysis in food samples was investigated.

Keywords: CoS, electrochemistry, metal oxide, nanotechnology, polyamine, putrescine, sensor, TiO_2, voltammetry

ÖNSÖZ

Yüksek lisans eğitimim boyunca desteğini hiçbir zaman esirgemeyen, tecrübeleriyle deneysel çalışmalarımı planlayan, yol gösteren ve bütün imkanları sunan kıymetli danışmanım Sayın Doç. Dr. Semahat KÜÇÜKKOLBAŞI'na,

Deneysel çalışmalarda kullandığım maddeleri sentezleyen ve tez yazım aşamasında bilgisini ve yardımlarını esirgemeyen Necmettin Erbakan Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoteknoloji Bölümü öğretim üyesi Dr. Öğr. Üyesi İlker AKIN'a,

Çalışmalarım boyunca deneyimleri ile bana yol gösteren, tezimin araştırma kısmında ve analizleri yapmam konusunda büyük desteği olan bilim insanı Yüksek İhtisas Üniversitesi Meslek Yüksekokulu Öğr. Gör. Dr. Zehra Özden ERDOĞAN'a, ve Selçuk Üniversitesi Fen Fakültesi Kimya Bölümü Arş. Gör. Mustafa Barış KOÇER'e,

Birlikte eğlendiğim, güldüğüm ve zor zamanda yanımda olan kardeşlerim Sümeyye KOÇ ve Rumeysa KOÇ'a,

Varlıklarıyla hayatımı anlamlı kılan, iyi insan olma konusunda beni yetiştiren, destekleyen, yol gösteren canım annem ve canım babama,

Bu zorlu süreçte daima yanımda olan, sabrını ve desteğini esirgemeyen, bilimsel çalışma konusunda maddi manevi destek olan eşim Dr. Yunus ALTUN'a teşekkürlerimi sunar ve yüksek lisans tezimi eşime armağan ederim.

Ayşe Betül ALTUN
KONYA-2019

İÇİNDEKİLER

ÖZET ..... **iv**

ABSTRACT ..... **v**

ÖNSÖZ ..... **vi**

İÇİNDEKİLER ..... **vii**

SİMGELER VE KISALTMALAR ..... **ix**

ŞEKİLLER DİZİNİ ..... **x**

ÇİZELGELER DİZİNİ ..... **xi**

1. GİRİŞ **1**

1.1 Poliaminler 3
1.1.1. Poliamin Nedir? 3
1.1.2. Putresin Nedir? Önemi 6
1.2. Nanoteknoloji 8
1.3. Elektrokimyasal Teknikler 10
1.3.1 Voltametri 11
1.3.2 Voltametrik Teknikler 12

2. KAYNAK ARAŞTIRMASI **15**

3. MATERYAL METOD **18**

3.1. Kullanılan Cihazlar ve Elektrotlar 18
3.2. Kullanılan Kimyasallar 19
3.3. Kullanılan Çözeltiler 19
3.3.1. Putresin Çözeltisi 19
3.3.2. Jelatin Çözeltisi 20
3.3.3. Nafyon Çözeltisi 20
3.3.4. Fosfat Tampon Çözeltisi 20
3.3.5. Redoks Probu Çözeltisi 20
3.3.6. Girişim Yapan Türlerin Çözeltileri 20
3.4. TiO_2-CoS Sentez ve Karakterizasyonu 20
3.5. Camsı Karbon Elektrot Temizlenmesi 21
3.6. Modifiye Elektrotların Hazırlanması 21
3.7. Elektrotların Yüzey Karakterizasyonlarının İncelenmesi 22
3.7.1. Dönüşümlü Voltametri (CV) 22
3.7.2. Elektrokimyasal İmpedans Spektroskopisi (EIS) 22
3.8. TiO_2-CoS Modifiye Elektrodun Putresin Yanıtı 22
3.9. Optimum Çalışma Koşullarının Belirlenmesi 23
3.9.1. TiO_2-CoS Miktarı 23
3.9.2. pH 23
3.9.3. Biriktirme Potansiyeli 23
3.9.4. Biriktirme Süresi 24

3.10. Modifiye Elektrodun Performans Faktörlerinin Belirlenmesi 24
3.10.1. Doğrusal Çalışma Aralığı ve Gözlenebilme Sınırı 24
3.10.2. Tekrarlanabilirlik ve Tekrar Üretilebilirlik 24
3.10.3. Raf Ömrü 25
3.10.4. Girişim Yapan Maddelerin Elektrot Cevabı Üzerine Etkisi 25
3.11. Numune Analizi 25
3.11.1. Numunelerin Analize Hazırlanması 25
3.11.2. Numunelerde Putresin Tayini 25

4. ARAŞTIRMA SONUÇLARI VE TARTIŞMA 27

4.1. TiO_2-CoS Nanokompozit Karekterizasyonu 27
4.1.1. Taramalı Elektron Mikroskopu (SEM) 27
4.1.2. RAMAN Spekrometresi 29
4.2. Elektrodun Yüzey Karakterizasyonlarının İncelenmesi 29
4.2.1. Dönüşümlü Voltametri (CV) 29
4.2.2. Elektrokimyasal İmpedans Spektroskopisi (EIS) 30
4.3. Optimizasyon Çalışmaları 31
4.3.1. TiO_2-CoS Miktarı 31
4.3.2. pH 32
4.3.3. Biriktirme Potansiyeli 33
4.3.4. Biriktirme Süresi 33
4.4. Performans Faktörlerinin Belirlenmesi 34
4.4.1. Doğrusal Çalışma Aralığı ve Duyarlık 34
4.4.2. Tekrarlanabilirlik ve Tekrar Üretilebilirlik 37
4.4.3. Raf Ömrü 38
4.4.4. Girişim Yapan Maddelerin Elektrot Cevabı Üzerine Etkisi 38
4.4.5. Numune Analizi 39

5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER 40

5.1. Sonuçlar 40
5.2. Öneriler 40

KAYNAKLAR 42

ÖZGEÇMİŞ 47

SİMGELER VE KISALTMALAR

Simgeler

µ	Mikro
M	Molarite
nm	Nanometre
i_p	Pik akımı
i_{pa}	Anodik pik akımı
i_{pk}	Katodik pik akımı
s	Standart sapma,

Kısaltmalar

GCE	:Camsı karbon elektrot
BSS	:Bağıl standart sapma
EIS	:Elektrokimyasal impedans spektroskopisi
CV	:Dönüşümlü voltamogram
DP*Ad*SV	:Diferansiyel puls adsorbtif sıyırma voltametrisi
CA	:Kronoamperometre
PBS	:Fosfat tamponu
LOD	:Gözlenebilme sınırı
LOQ	:Alt tayin sınırı
SEM	:Taramalı elektron mikroskobu

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1 Poliaminlerin kimyasal yapısı 4
Şekil 1.2 Poliamin biyosentezi..... 4
Şekil 1.3 Putresinin insan vücudundaki fizyolojik fonksiyonları. 7
Şekil 1.4 a) Dönüşümlü voltametri potansiyel-zaman eğrisi b) Dönüşümlü voltametri akım potansiyel grafiği 12
Şekil 1.5 Sıyırma voltametrisinde potansiyelin zamanla değişimi ve akım-potansiyel voltamogramı 13

Şekil 3.1 TiO_2-CoS/GCE elektrot hazırlanışı 22

Şekil 4.1 TiO_2-CoS nanokompozitin SEM görüntüsü 28
Şekil 4.2 TiO_2/CoS nanokompozit için EDX spektrumu ve elementel bileşim çizelgesi 28
Şekil 4.3 TiO_2-CoS nanokompozitin RAMAN spektrometresi 29
Şekil 4.4 Modifikasyonda kullanılan nanokompozitlerin dönüşümlü voltamogram cevapları: a) GCE, b) TiO_2/GCE, c) CoS/GCE, d) TiO_2-CoS/GCE, e) TiO_2-In_2S_3/GCE, f) TiO_2-In2S3-Ag/GCE, g) TiO_2-In_2S_3-CoS/GCE (0,1 M KCl içeren $Fe(CN)_6^{3-/4-}$ redoks probunda) 30
Şekil 4.5 Modifikasyonda kullanılan nanokompozitlerin Nyquist eğrileri (0,1 M KCl içeren $Fe(CN)_6^{3-/4-}$ redoks probunda) 31
Şekil 4.6 TiO_2-CoS putresin cevabına etkisi (0,1 M PBS; 0,0104 mM putresin; 25ºC) 32
Şekil 4.7 TiO_2-CoS/GCE' nin putresin cevabına pH' nın etkisi (0,1 M PBS; 0,0104 mM putresin; 25ºC) 33
Şekil 4.8 TiO_2-CoS/GCE' nin putresin cevabına biriktirme süresinin etkisi (0,1 M PBS pH 5,0; 25ºC; 0,0V) 34
Şekil 4.9 TiO_2-CoS/GCE' nin putresin cevabı için çizilen adsorptif sıyırma voltamogram grafiği ve kalibrasyon eğrisi (0,1 M PBS pH 5,0, biriktirme süresi 60 s) [Put]: 3,2-16,66 µM 35
Şekil 4.10 TiO_2-CoS/GCE' nin putresin cevabı için çizilen adsorptif sıyırma voltamogram grafiği ve kalibrasyon eğrisi (0,1 M PBS pH 5,0, biriktirme süresi 60 s) [Put]: 0,32-1,42 µM 36
Şekil 4.11 TiO_2-CoS/GCE nin kararlılığı 37

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 3. 1 Kullanılan kimyasallar, saflık dereceleri ve temin edildiği firmalar. 19

Çizelge 4.1 Hazırlanan modifiye elektrot için en uygun çalışma koşulları ve performans faktörleri..... 38

Çizelge 4. 2 TiO_2-CoS elektrodu kullanılarak numunelerde katma yöntemi ile elde edilen geri kazanım sonuçları 39

Çizelge 5.1 Literatürde putresin tayini için tasarlanan elektrotlar..... 41

1. GİRİŞ

Biyojenikaminler (BA), insanlar, hayvanlar, bitkiler ve mikroorganizmalardaki normal metabolik faaliyetlerin bir sonucu olarak genellikle alfa-karboksil grubunun proteinojenik bir amino asitten çıkarılmasıyla oluşan organik, bazik azotlu bileşiklerdir (Henao-Escobar ve ark., 2015). Biyojen aminlere, mikrobiyal ve biyokimyasal aktivite için uygun koşulların olduğu durumlarda, serbest amino asit varlığında veya protein içeren hemen hemen tüm gıdalarda rastlanabilir.

Biyojen aminler kimyasal molekül yapılarına göre alifatik (putresin, kadaverin, spermin, spermidin, agmatin), aromatik (tiramin, feniletilamin) ve heterosiklik (histamin, triptamin) bileşikler olarak ya da içerdikleri azot sayısına göre monoaminler (β- feniletilamin, tiramin), diaminler (histamin, triptamin, putresin, kadaverin) ve poliaminler (agmatin, spermin, spermidin) olarak sınıflandırılabilmektedirler (Smith, 1981; Halász ve ark., 1994)

Poliaminler (putresin, spermidin ve spermin), arginin / ornitin ve metiyonin metabolizmasından türetilen biyojenik aminlerdir (Melgarejo ve ark., 2010). DNA, RNA ve protein sentezinin neredeyse tüm basamaklarında rol aldıkları için her tür hücre büyümesi, çoğalması ve hayatın devamlılığı için gereklidirler. Bu nedenle yeni doğanların büyümesi ve ameliyat sonrası hastaların yaralarının iyileşmesi gibi hızlı hücre büyümesi gereken durumlarda poliamin tüketimi önemlidir. Besin yoluyla alınan en önemli poliamin kaynakları, sebze, meyve, tahıl, kuruyemiş, et ve süt ürünleridir. Bitkilerde bulunan önemli poliaminler putresin, spermin ve spermidindir (Büyükuslu, 2014).

Fazla miktarda poliamin tüketimi gıda zehirlenmelerine ve bazı rahatsızlıklara sebep oldukları için dikkat edilmelidir. Eğer yüksek miktarda poliamin içeren gıdalar tüketilirse veya poliaminleri detoksifiye eden enzimlerin genetik olarak eksikliğinde veya bu enzimleri engelleyen bazı bileşiklerin vücuda alımıyla baş ağrısı, solunumda güçlük, kalp çarpıntısı, hipotansiyon (histamin, putresin ve kadaverin alımıyla), hipertansiyon (tiramin alımıyla), mide bulantısı, baş dönmesi, beyin içi kanama, anafilaktik şok ve daha ağır durumlarda ölüme yol açabilmektedir (Lonvaud-Funel, 2001) (Hornero-Mendez ve Garrido-Fernandez, 1997) (Lange ve Wittmann, 2002). Tüm bu sebeplerden dolayı poliaminlerin tüketimine dikkat edilmelidir (Til ve ark., 1997) deney fareleri üzerinde yaptıkları çalışmada putresinin akut oral dozunu 2000

mg/kg olarak belirlemişlerdir. Aynı araştırmada putresinin gözlenmeyen yan etkilere neden olan dozu ise 180 mg/kg/gün olarak saptanmıştır.

Putresin, amino asitler arginin ve ornitinin dekarboksilasyonu ile meydana gelir. Putresin hızlı bir şekilde emilir ve metabolik aktif spermidin ve spermine dönüşür. İnce bağırsakta ve kolon içinde en yaygın bulunan poliamin, putresindir. Yüksek putresin seviyesinin nedeninin, Enterobacteriaceae ve Clostridium türleri başlıca olmak üzere, bakteriyel kökenli olduğu gösterilmiştir (Shalaby, 1996; Milovic, 2001)

Putresin zehirli bir diamin, kötü kokulu organik kimyasal bir bileşiktir (Wunderlichová ve ark., 2014; Apetrei ve Apetrei, 2016b). Poliaminler gıda zehirlenmelerine ve bazı rahatsızlıklara sebep oldukları için sağlık yönünden; hayvansal gıdalarda mikroorganizmalar tarafından oluşturuldukları için de hijyen açısından önemlidir. Gıdaların mikrobiyal bozulması sırasında dekarboksilaz aktivitesi arttığında poliaminlerin miktarı artar. Bu artış gıda bozulmalarının göstergesi olması nedeni ile de önem taşımaktadır. Putresin miktarı yüksek gıdalar (>40 mg/kg) portakal, portakal suyu, mandalina, greyfurt suyu, ketçap, dondurulmuş bezelye, fermente soya ürünleridir (Büyükuslu, 2014).

Geçtiğimiz yıllarda biyolojik numunelerdeki poliaminleri ölçmek için ince tabaka kromatografisi, kılcal elektroforez, gaz kromatografisi, spektroskopi, yüksek performanslı sıvı kromatografisi, elektrokimyasal yöntemler gibi analitik yöntemler geliştirilmiştir (Leonardo ve Campàs, 2016). Bu yöntemler arasında elektrokimyasal yöntemler doğrudan sinyal üretimi, yüksek hassasiyet, hızlı algılama ve ekonomik analiz gibi diğer analitik sistemlere göre üstündür.

Elektrokimyasal sensörler, elektrotların modifiye edilerek seçiciliğin ve duyarlılığın artırılması hedeflenen elektroanalitik yöntemdir. Elektrokatalizlerde kimyasal olarak modifiye edilmiş elektrotların kullanılabilmesi, araştırmacıların bu elektrotlara yönelmesini sağlamıştır. Elektrot yüzeyinde gerçekleşen elektron aktarım hızlarının geliştirilebilmesi için elektrot yüzeylerinin tabaka ve filmlerle kaplanması gerekmektedir (İnce, 2008).

Metal nanopartiküller, oksit nanopartiküller, yarı iletken nanopartiküller ve hatta kompozit nanopartiküller gibi birçok nanopartikül, elektrokimyasal sensörler ve biyosensörlerde yaygın olarak kullanılmaktadır. Genel olarak, metal nanopartikülleri mükemmel iletkenliğe ve katalitik özelliklere sahiptir, bu da onları proteinler ve elektrot yüzeylerindeki redoks merkezleri arasındaki elektron transferini ve elektrokimyasal reaksiyonları arttırmak için katalizörler olarak geliştirmek için "elektronik kablolar"

olarak hareket etmelerini sağlar. Oksit nanopartiküller genelde yüksek biyouyumluluklarından dolayı biyomolekülleri immobilize etmek için kullanılırken yarı iletken nanopartiküller elektrokimyasal analizlerde etiketleme ajanı olarak kullanılırlar (Luo ve ark., 2006). Enerji band boşluğuyla (3,2 eV'luk) bilinen en iyi yarı-iletken nanopartiküllerden olan TiO_2 nanopartiküller birçok elektrokimyasal uygulamada kullanılmaktadır (Luo ve ark., 2006; Wang ve ark., 2011)

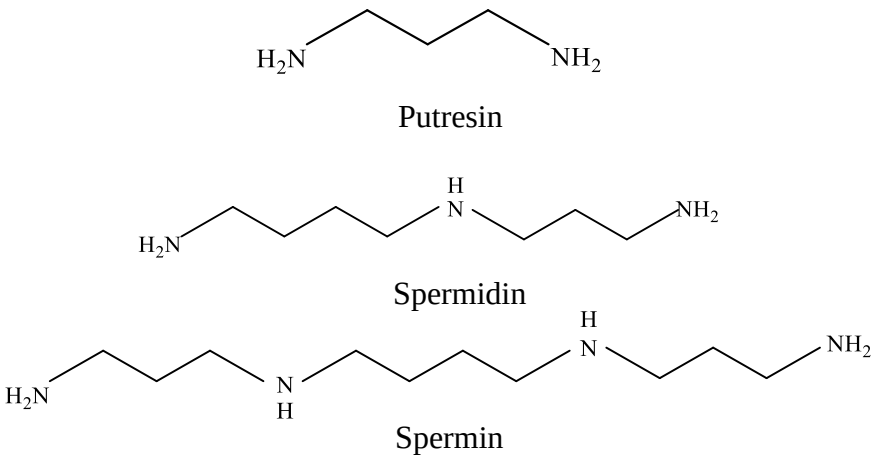
Bu tez çalışması kapsamında putresinin nicel analizinin yapılabilmesi için elektrokimyasal sensör olarak modifiye elektrot tasarlanması amaçlanmaktadır. Çalışmamızın ilk bölümünde TiO_2, CoS, InS_2 nanopartiküllerinin değişik kombinasyonları ile hazırlanan camsı karbon elektrot yüzeylerinin elektrokimyasal davranışları incelenecek ve en uygun modifikasyon malzemesi seçilecektir. Çalışmamızın ikinci bölümünde ise seçilen modifiye elektrodun performansı putresin tayini için diferansiyel puls voltametrisi (DPV) yöntemiyle incelenecek ve modifiye edilmemiş elektrodun performansı ile karşılaştırılacaktır. Geliştirilecek elektrokimyasal sensörün çalışma potansiyeli düşürülerek seçiciliği artımak ve gözlenebilme sınırını düşürülerek literatürde bulunan elektrokimyasal sensörlere alternatifin sunulması amaçlanmaktadır.

1.1 Poliaminler

1.1.1. Poliamin Nedir?

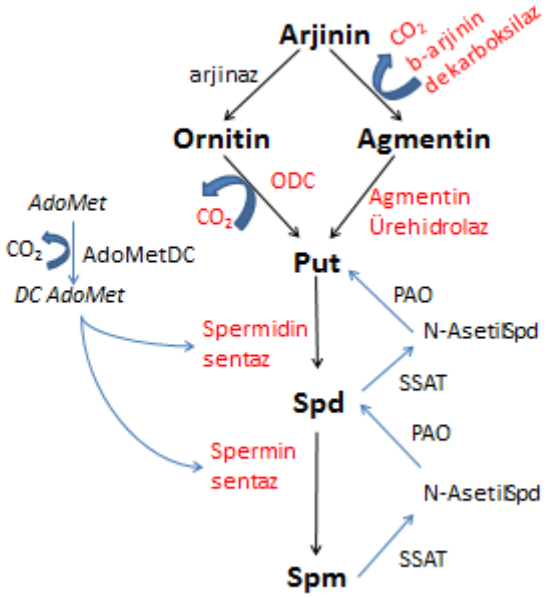
Poliaminler; dekarboksilaz aktivitesine sahip mikroorganizmalar ve/veya az fermente gıdalardaki proteinlerin parçalanması sonucu oluşan serbest amino asitlerin dekarboksilasyonu veya aldehit ve ketonların transaminaz enzimi ile deaminasyonu sonucu oluşan, yapılarında iki yada daha fazla amin grubu ($-NH_2$) bulunduran biyojenik aminlerdir (Smith, 1981; Halász ve ark., 1994).

İnsan vücudunda 20'den fazla poliamin türü vardır. Spermidin, spermin ve putresin, tüm canlı organizmalarda mevcut olan en yaygın poliamindir (Şekil 1.1).



Şekil 1.1 Poliaminlerin kimyasal yapısı

Endojen olarak, poliaminler amino asitten, argininden sentezlenir ve ornitine dönüştürülür; ornitin dekarboksilaz (ODC) enzimi tarafından katalize edilerek putresine dönüştürülür. Putresin, spermidin sentaz tarafından spermidine dönüştürülürken, spermidin, spermin sentaz ile spermine sentezlenir (Şekil 1.2) (Scalabrino ve Ferioli, 1984; Yoshinaga ve ark., 1993) .



Şekil 1.2 Poliamin biyosentezi

Poliaminler memelilerde hücre büyümesinde, farklılaşmasında, DNA, RNA ve protein sentezinde rol alırlar. Bu nedenle poliaminler, her tür hücre büyümesi, çoğalması ve hayatın devamlılığı için gereklidirler (Büyükuslu, 2014).

Poliaminlerin vücutta önemli ve çeşitli biyolojik etkileri söz konusudur. Özellikle ökaryotik hücrelerde; hormonların, alkaloidlerin, nükleik asitlerin ve proteinlerin sentezlenmesinde azot kaynağı olarak öncül maddeler olarak kullanıldığı, organizmada vücut sıcaklığının düzenlenmesi, kan basıncının azaltılması ve arttırılması gibi birçok işlevlerin yerine getirilmesinde etkili oldukları görülmüştür (Çolak ve Aksu, 2002; Karovičová, 2005; Spano ve ark., 2010).

İnsan sağlığı açısından yararlı olan pek çok kritik fonksiyonun yerine getirilmesinde farklı yapıdaki poliaminlere ihtiyaç duyulmasına karşın, yüksek miktarlarda poliamin içeren gıdaların tüketimi sonucu bazı toksik etkiler de görülebilmektedir (Guo ve ark., 2015). Poliaminlerin alınan miktara göre, gıda alerjisiyle ilişkili olabildikleri belirtilmektedir. Ayrıca spermin, spermidin ve putresin büyüme ve gelişmede önemli rol oynadıklarından katabolize edilmeleri sınırlıdır. Böylelikle tümör gelişimini hızlandırabilmektedirler, bundan dolayı kanser tedavisi araştırmalarının en önemli hedeflerinden birinin de kanserli hastalarda poliaminlerin inhibe edilmesinin olduğu ifade edilmektedir (Bardócz, 1995; Ruiz-Capillas ve Jimenez-Colmenero, 2005; Rodriguez ve ark., 2014) (Bardócz, 1995; Rodriguez vd., 2014).

Poliaminler düşük derişimlerde bitki ve hayvan metabolizması tarafından sentezlenmesine karşın, daha çok serbest amino asitlerden mikrobiyal dekarboksilasyon sonucu üretilmeleri nedeniyle, aynı zamanda gıdaların tazelikleri, kalitelerinin belirlenmesi ve zehirli etkileri açısından potansiyel belirteç maddeler olarak bilinmektedirler (Yeğin1 ve *, 2008).

Poliaminler üzerine yapılan çeşitli çalışmalarda poliaminlerin taze gıdalarda düşük derişimlerde bulundukları veya hiç bulunmadıkları belirlenmiş olmasının yanı sıra; balık ve ürünleri, et ve ürünleri, süt ve ürünleri gibi yüksek protein içeren gıdalar ile şarap, bira, sebzeler, meyveler gibi düşük proteinli gıdalar ve kabuklu yemiş, çikolata ve fermente gıdalarda da toksisiteye yol açabilecek yüksek derişimlerde bulunabildikleri belirtilmektedir (Askar ve Treptow, 1986; ten Brink ve ark., 1990). Bu nedenle biyojen amin analizleri temel olarak hammadde, ara ürünler ve son ürünlerin kalite kontrolleri ile fermantasyon sürecinin izlenmesi, proses kontrolü, araştırma ve geliştirme gibi çalışmalarda önemli olmaktadır (UYLAŞER ve KONAK; Gürbüz, 2002; Önal, 2007; Hazards, 2011).

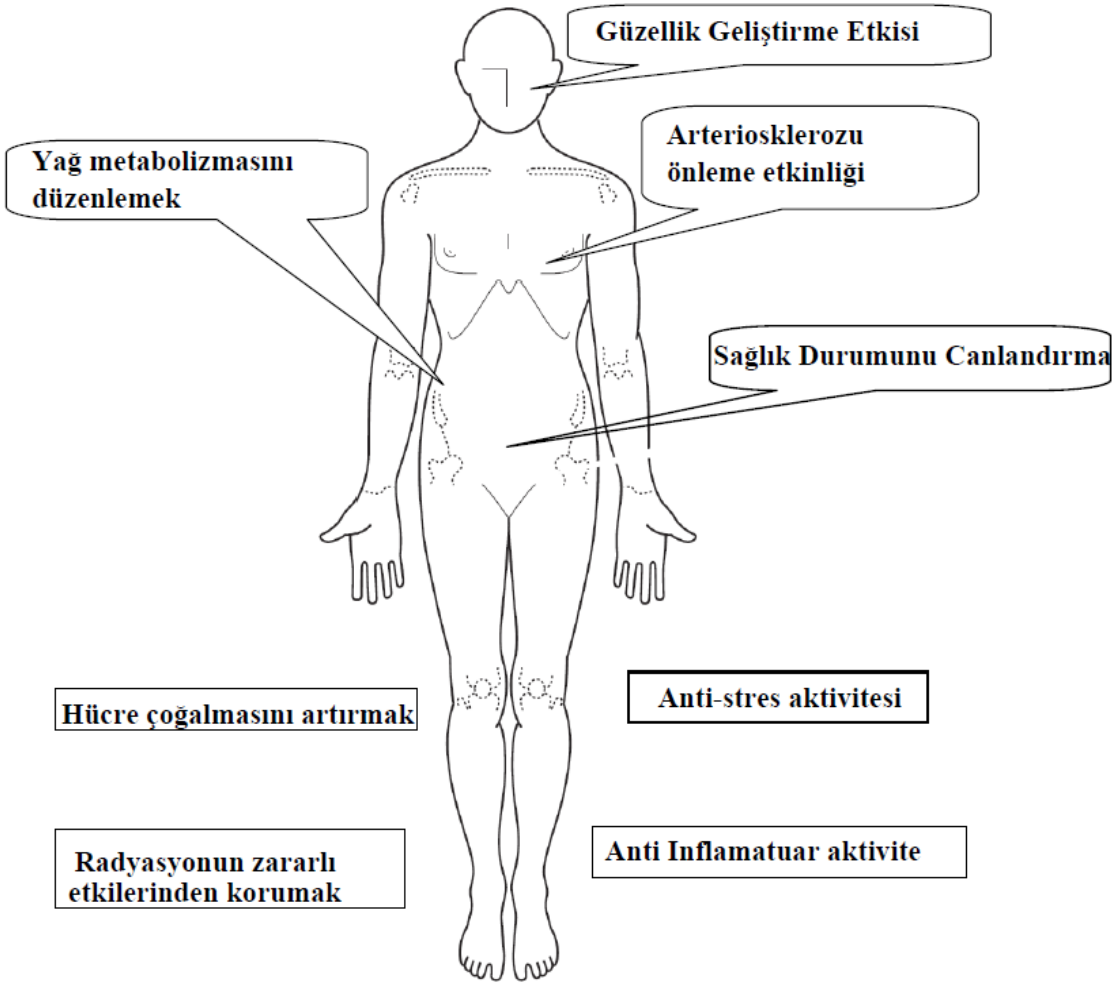
Poliaminlerin ölçülmesi için kullanılan analitik yöntemler, temel olarak kromatografik yöntemlere dayanır: İnce tabaka kromatografisi (TLC), gaz

kromatografisi (GC), kılcal elektroforez (CE) ve yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC). HPLC, poliaminlerin analizinde en çok tercih edilen yöntemdir (Önal, 2007).

1.1.2. Putresin Nedir? Önemi

Putresin vücutta ornitinin dekarboksilasyonuyla oluşan poliamindir. Dolaylı olarak agmatinden de oluşabilmektedir (Zomkowski ve ark., 2006; Landete ve ark., 2008). Mantarlar tarafından da sentezlendiği bilinen bu madde, diğer poliaminlerin (spermidin, spermin) ön maddesidir (Ioannidis ve ark., 2006; Amprayn ve ark., 2012).

Putresin ve diğer poliaminlerin vücutta DNA, RNA, protein sentezine katıldığı bilinmektedir (Fukumoto ve Byus, 1997; Ioannidis ve ark., 2006). Bu sebeple hücre gelişimi ve büyümesini artırmaktadır. Putresin ve spermin vücutta nörotransmitterler olarak önemli göreve sahiptir. Beyinde yüksek miktarda bulunduğu ve azlığında depresyon geliştiği dolayısı ile depresyonun fizyopatolojisinde etkili olduğu bildirilmektedir (Zomkowski ve ark., 2006). Poliaminlerin saç ve tırnakların yenilenmesine yardımcı olduğu, kolajen üretimini desteklediği, radyasyonun DNA üzerindeki etkisinin önüne geçtiği görülmektedir (Douki ve ark., 2000). Putresin organların gelişiminde, bağışıklık sisteminin güçlenmesinde ve hücrelerin yenilenmesinde etkilidirler (Halász ve ark., 1994). Şekil 1.3’ te putresinin insan vücudundaki fizyolojik fonksiyonları gösterilmiştir.



Şekil 1.3 Putresinin insan vücudundaki fizyolojik fonksiyonları.

Poliamin vücut deposu: poliaminlerin vücutta sentezi, bağırsak kanalında bulunan mikroorganizmaların üretimi ve beslenme ile alınan poliaminlerle korunmaktadır (Zoumas-Morse ve ark., 2007). Sıçanlarda yapılan çalışmalar, diyet putresinin % 10'unun, diyet spermidinin % 40'ın ve diyet sperminin % 8'inin vücut dokularında tutulduğunu göstermektedir (Bardocz ve ark., 1998).

Putresin vücutta deaminasyona uğrayarak amonyak ve azot oksitlere indirgenir ya da yükseltgenebilir. Metabolizma sonucu ortaya çıkan nitröz oksit ve guanidino grubu taşıyan putresin türevlerinin antiproliferatif etkinlikleri de ortaya konmaktadır. Hücre yıkımını başlatmaktadır. Bu bilgilerden yola çıkarak fazla miktarlarının hücreler üzerine zehirli etkilerinin olduğu sonucu çıkarılabilir (DOĞAN ve ark., 2012). Diğer aminlerin zehir etkisini artırır. Çene kilitlenmesi ve kalp sorunlarına neden olur (Ercan ve ark., 2017). Tümör oluşumunu hızlandırması nedeniyle, kanser hastalarının beslenmesinde poliamince zengin besinlerden uzak durulmasının, hastaların yaşam

kalitesi üzerinde olumlu etkileri olduğu ifade edilmiştir (Frydman ve Valasinas, 1999; Cipolla ve ark., 2010).

Tüm besinler poliamin içerirler, ancak içerdikleri putresin, spermidin ve spermin oranları farklıdır. Bitkisel veya hayvansal kaynaklı besinlerde poliamin içeriği besinin yapısı ile mikroorganizmaların cinsine bağlı olarak değişir. Besinlerin putresin içerikleri farklı besinlerde oldukça değişkenlik gösterdiği gibi, aynı besinlerde işleme, depolama, mevsimsel gibi süreçlerin değişimine bağlı olarak farklı sonuçlar verir (Kalač ve Krausová, 2005; Atiya Ali ve ark., 2011). Besin yoluyla alınan en önemli poliamin kaynakları, sebze, meyve, tahıl, kuruyemiş, et ve süt ürünleridir. Yüksek putresin içeren besinler (>40 mg/kg) portakal, portakal suyu, mandalina, greyfurt suyu, ketçap, dondurulmuş bezelye, fermente soya ürünleridir

Gıdalarda oluşan poliaminler, gıdaların bozulmaları, tazelikleri ve gıda güvenliği ile yakından ilgili olup bunların derişimleri gıdaların tazeliğinin belirlenmesinde işaretçi maddeler olarak kullanılabilmektedirler (Akan ve Demirağ, 2018). Putresin için lahana turşusu, balık, peynir, fermente edilmiş sosisler ve baharatlar için önerilen maksimum tolere edilebilir seviyeler sırasıyla 140, 170, 180, 360 ve 510 mg / kg'dır (Rauscher-Gabernig ve ark., 2012)

Gelişim döneminde olan bebek ve çocuklarda, yaraların kapanması, ameliyat sonrası hastaların iyileşmesi gibi durumlarda poliamin içeriği yüksek besinler tercih edilmesi gerekirken tümör oluşumunu hızlandırması nedeniyle kanserli hastaların beslenmesinde poliamin içeriğinden uzak diyet önerilmelidir (Büyükuslu ve Erdoğdu Eröz, 2015). Bu sebeplerden dolayı gıdaların putresin içeriğinin belirlenmesi oldukça önem arz etmektedir.

1.2. Nanoteknoloji

Nanobilim ve nanoteknolojinin tam bir tanımı olmamakla birlikte, genel görüşe göre 1-100 nanometre boyutundaki maddelerin anlaşılması, kontrol edilmesi ve atomsal seviyede değiştirilip işlevsel hale getirilmesidir. Bir başka tanıma göre nanoteknoloji nanometre ölçekli yapıların analizi, imalatı ve nano hassasiyette cihazların geliştirilmesi olarak özetlenebilir. Nanoteknoloji kapsamına giren malzemeler için 100 ile 1 nanometre (nm) (1/10 milyon metre ile 1/1 milyar metre) arasındaki herhangi bir büyüklük (uzunluk, genişlik veya kalınlık) ifade edilmektedir. Bu denli küçük boyutlara sahip bu yapılar için, çevremizdeki nesneler için geçerli olan fiziksel ve kimyasal yasalar geçerli değildir. (Yalçın, 2010). Örneğin, nano ölçekteki malzemelerin optik, elektronik, manyetik ve

kimyasal davranışlar klasik değil kuantum olarak tanımlanmaktadır (Qian ve Hinestroza, 2004; ÖZDOĞAN ve ark., 2006).

Mevcut nano yapıya yabancı bir atomun yapışması, elektronik özellikleri, örneğin elektrik iletkenliği fark edilebilir şekilde değiştirmektedir. Bu yabancı atom geçiş elementi olduğunda yapıştığı bir nano yapıya manyetik özellikler kazandırabilmektedir.

Nanoteknoloji son zamanlarda analitik kimyadaki en heyecan verici ön alanlardan biri haline gelmiştir. Çok çeşitli nanomateryaller, özellikle farklı özelliklere sahip nanopartiküller birçok farklı analitik yöntemde geniş uygulama alanı bulmuştur (Penn ve ark., 2003). Bu malzemeler arasında, metalik nanopartiküller, önemli özellikleri ve sayısız olası uygulamaları nedeniyle büyük ilgi çekmektedir. Metalik nanoparçacık elektrotlarının kısa sürede hazırlanması için kolay ve hızlı bir alternatif sunar (Renedo ve Martínez, 2007). Genel olarak, metal nanoparçacıklar mükemmel iletkenliğe ve katalitik özelliklere sahiptir, bu da onları proteinler ve elektrot yüzeylerindeki redoks merkezleri arasındaki elektron transferini arttırmak ve elektrokimyasal reaksiyonları hızlandırmak için katalizörler olarak "elektronik teller" gibi kullanmaya uygun hale getirir (Luo ve ark., 2006). Nano ölçekli boyutlarda iletken polimerler ve metal oksit nanokompozitler, sensörlerin özelliklerini iyileştirmek için özel bir ilgi uyandırmaktadır (Coronado ve ark., 2000; Yoon, 2013). Metal oksit nanopartikülleri arasında, titanyum dioksit (TiO_2) nanopartiküller, yüksek yüzey alanı ve yüksek katalitik verim dahil olmak üzere benzersiz özellikleri nedeniyle çok sayıda uygulama için potansiyel bir materyal olarak kullanılmıştır(He ve ark., 2014; Yang ve ark., 2015). Ayrıca TiO_2 nanopartikülleri yüksek kimyasal ve termal kararlılık nedeniyle mükemmel özelliklere sahip oldukları bilinmektedir (Bamwenda ve ark., 1997). TiO_2, elektrokimyasal ortamda stabiliteyi ve ticari bulunabilirliği garanti eden heterojen katalizörler için bir destek olarak görülebilir (Tauster ve ark., 1981; Kim ve ark., 2003).

Biyomoleküler algılamaya yönelik elektrokimyasal sensörlerin daha seçici ve daha hassas bir şekilde geliştirilebilmesi, nanoteknoloji ile üretilen nanopartikül, nanotüp ve nanokompozit gibi gelişmiş fizikokimyasal özelliklere sahip nanomalzemeler büyük önem taşımaktadır. Elektroanalizde uygulanmasını kolaylaştıran birçok farklı boyut ve bileşime sahip nanopartiküller mevcuttur. Nanopartiküllerin en büyük avantajları yüksek yüzey alanı : hacim oranıdır. Elektrotlar nanopartiküllerle modifiye edildiklerinde hem elektrodun yüzey alanını arttırarak immobilizasyon

verimini arttırmakta hem de elektron aktarım hızını arttırarak daha düşük tayin limitlerine inilebilmesine olanak sağlamaktadırlar.

Nanometre büyüklüğündeki nanomazemeler sensör tasarımlarında;

- biyolojik moleküllerin (enzim, DNA, protein vb. gibi) elektrot yüzeyine doğrudan bağlanmasını kolaylaştırmak,
- elektrokimyasal tepkimeleri hızlandırmak,
- biyomalzemeleri nanobarkotlarla etiketlemek,
- biyomoleküler etkileşim/tanıma tepkimesi sonucunda oluşan sinyalin hassasiyetini arttırmak,
- tanıma yüzeyi ve/veya çevirici bölümün küçültülebilmesi

gibi amaçlar için kullanılmakta, bu durum aynı zamanda, biyosensörlerin boyut olarak ta minyatürize edilebilmesine olanak sağlamaktadır (Muti Erdem, 2010)

1.3. Elektrokimyasal Teknikler

Elektrokimya, madde ile elektrik enerjisi arasında etkileşmeyi, bu etkileşmenin sonucunda oluşan kimyasal enerjinin fiziksel enerjiye dönüşümü gibi kimyasal ve fiziksel değişimleri inceleyen bilim dalıdır (Skoog ve West, 1997). İyonik bir iletken ile elektronik iletken ara yüzeyinde gerçekleşen indirgenme yükseltgenme tepkimelerini inceler.

Elektrokimyasal teknikler çözeltilerin elektrokimyasal bir hücrede elektriksel özelliklerinin ölçülmesi ve ölçülen bu özelliklerinden yararlanılarak maddelerin kalitatif ve kantitatif analizine dayanan tekniklerdir. Elektrokimyasal hücre, analiz edilecek maddeyi (analit) içeren bir çözelti, bu maddenin kimyasal dönüşüme uğradığı elektrotlar ve bu elektrotları birbirine bağlayan bir dış devreden oluşur. Akım, potansiyel, yük gibi elektriksel büyüklüklerin ölçümüne ve bunların kimyasal değişkenler ile arasındaki ilişkiye dayanır. Analitik amaçlı elektriksel ölçümler, endüstrideki kalite kontrol, çevresel ve biyomedikal analizler gibi alanlarda uygulamalara sahiptir.

Genel olarak bütün elektrokimyasal tekniklerde potansiyel, akım ve zaman parametreleri bulunur ve bu parametreler de elektrokimyasal tekniğin adını belirler. Örneğin, voltametride potansiyel-akım, kronoamperometride zaman akım ve kronokulometride zaman-yük parametreleri bulunmaktadır.

1.3.1 Voltametri

Voltammetri, bir çalışma (indikatör) elektrodunun polarize olduğu koşullarda karşılaştırma (referans) elektrodu arasında oluşan akımın potansiyel fonksiyonu (V) ölçülmesi esasına dayanan, analitler hakkındaki bilgileri inceleyen elektroanaliz yöntemlerinden biridir. Akım, analit derişimi ile doğru orantılıdır. Elektrokimyasal hücreye uygulanan potansiyel zamanla artırılarak potansiyel-akım eğrisi elde edilir. Oluşan bu grafiğe voltamogram denir.

Çeşitli ortamlarda meydana gelen yükseltgenme indirgenme olaylarının, yüzeydeki adsorbsiyon olaylarının, kimyasal olarak modifiye edilmiş elektrot yüzeylerindeki elektron aktarım mekanizmalarını inceler (Yılmaz, 2012).

Elektrokimyasal hücre bileşenleri

Destek elektrolit

Voltametrik analizler bir destek elektrolit-çözücü ortamında yapılır. Destek elektrot kullanmaktaki temel amaç elektroaktif maddenin elektrot yüzeyine sadece difüzyon ile taşınmasını sağlamaktır. Destek elektroliti bazı analizlerde ortam pH'ını ayarlayan bir tampon ya da ortamda bazı iyonları kompleksleştiren bir ligant görevini de görebilir. Deneyde kullanılan destek elektrodun oldukça saf olması önemlidir. Çözücünün elekrokimyasal inertlik, elektriksel iletkenlik, çözme gücü, kimyasal inertlik, vizkozite, dielektrik sabiti, kolay bulunabilirliği, ucuzluğu ve kolay saflaştırılabilir olması özelliklerinin bilinmesi gereklidir (Çekirdek, 2005).

Çalışma (İndikatör) elektrot

Potansiyeli zamanla değişen mikro elektrottur. İndirgenme-yükseltgenme bu elektrotta gerçekleşir. Çalışma elektrodunun iletken, çalışılan potansiyel aralığında inert, negatif potansiyel sınırı yüksek olması gerekmektedir.

Modifiye elektrot

Çalışma elektrotlarının elektron aktarım hızını artırmak ve analizi yapılacak olan analit için hassasiyet ve seçici özelliği kazandırmak için çeşitli organik ve inorganik modifiye edicilerin elektrot yüzeyine yerleştirilmesi ile analitik amaçlara uygun olacak şekilde kimyasal veya elektrokimyasal özellikleri değiştirilerek çeşitli modifiye elektrotlar hazırlanmaktadır. Çeşitli yöntemlerle hazırlanan modifiye edilmiş bir elektrot, sade çalışma elektrotla karşılaştırıldığında mekanik dayanıklılık, kimyasal kararlılık, tekrarlanabilirlik, elektrot yapımının basit ve güvenli olması, modifiye edici maddenin aktivitesinin uzun süreli olması gibi özelliklere sahip olmalıdır. Böylece

modifiye edilmemiş substrattan farklı özelliklere sahip hızlı cevap verebilen ve yeniden kullanılabilir olma özelliği olan elektrotlar elde edilir.

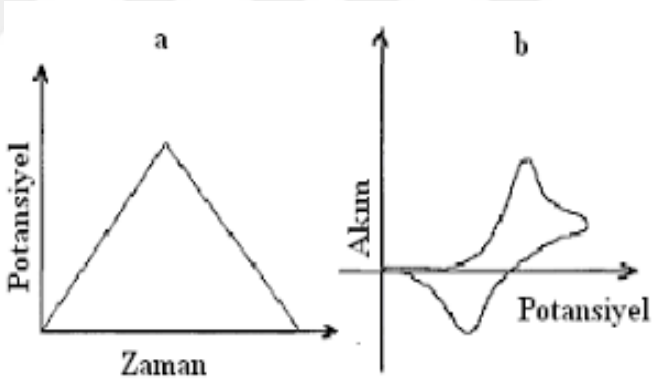
1.3.2 Voltametrik Teknikler

Voltametride en çok kullanılan uyarma sinyalleri doğrusal taramalı, diferansiyel puls, kare dalga ve üçgen dalgadır. Bu uyarma sinyallerine göre oluşan voltametrik yöntemler; doğrusal taramalı voltametri, diferansiyel puls voltametri, kare dalga voltametri ve dönüşümlü voltametridir.

Bu bölümde tez çalışmasında, deneylerde kullandığımız teknikler anlatılmıştır.

Dönüşümlü Voltametri

Bu yöntemde çalışma elektroduna önce doğrusal olarak artan sonra da aynı hızda başlangıç noktasına geri dönen üçgen dalga formunda potansiyel uygulanır (Şekil 1.4). Elde edilen voltamogram elektrot yüzeyi ile çözeltideki türler arasındaki elektron aktarımı sonucu olur. Dönüşümlü voltametri çözeltideki redoks reaksiyonlarının mekanizma ve hızlarının belirlenmesinde kullanılan bir yöntemdir.



Şekil 1.4 a) Dönüşümlü voltametri potansiyel-zaman eğrisi b) Dönüşümlü voltametri akım potansiyel grafiği

Sıyırma Voltametrisi

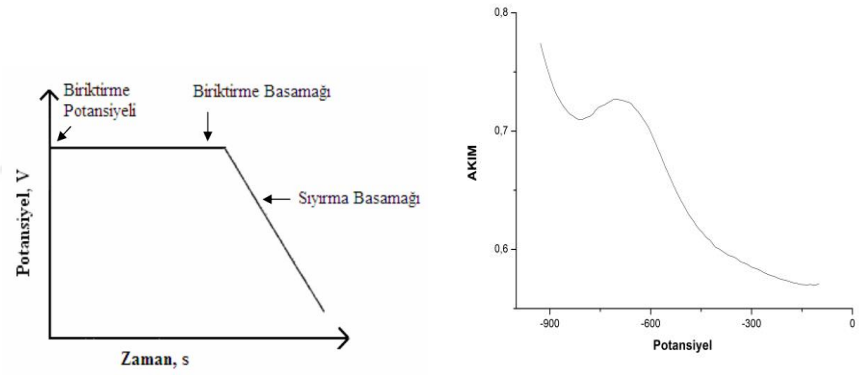
Jaroslav Heyrovsky'in Polarografiyi keşfinden sonra duyarlılığı artırmak amacıyla yeni voltametrik teknikler geliştirilmeye çalışılmıştır. Sıyırma teknikleri nano seviyesindeki çözeltilerin analizinde başvurulan voltametrik tekniktir.

Sıyırma analizi ile elde edilen belirtme sınırının çok düşük olması ön deriştirme aşamasında ön elektrolizle elektrot yüzeyinde gerçekleştirilen zenginleştirmeden kaynaklanır. Sıyırma voltametrisi cihazları ucuzdur. Karışım analizlerine uygulanabilir

ve ölçümleri kolay olması sebebiyle analizcilerin dikkatleri bu yöntem üzerinde yoğunlaşmaktadır.

Elektrokimyasal sıyırma teknikleri duyarlılığın 10^{-9}–10^{-12} M düzeyine kadar iyileştirilebildiği iki aşamalı tekniktir. İlk aşamada analit, genellikle karıştırılan bir çözeltide, uygun potansiyel altında bir mikroelekrolit üzerine biriktirilir. İkinci aşamada potansiyel anodik veya katodik yönde taranarak yüzeyde deriştirilen analite ilişkin akım potansiyel eğrilerinden gidilerek analiz gerçekleştirilir (Şekil1.5).

Biriktirme aşamasında genellikle karıştırılan çözeltilerde ve belli bir potansiyel altında çalışılır. Kullanılacak elektrot yüzeyinin olabildiğince küçük olması istenir. Böylece saptanacak tür küçük bir hacimde toplanarak istenen düzeyde deriştirilebilir. Biriktirme potansiyelinin uygun seçimi ile yalnızca belli başlı türler birikecek şekilde seçimlilik artırılabilir. Sıyırma aşamasında potansiyel anodik veya katodik yönde taranarak analit elektrot yüzeyinden çözülür ve voltametrik tekniklerden biri ile analiz edilir.



Şekil 1.5 Sıyırma voltametrisinde potansiyelin zamanla değişimi ve akım-potansiyel voltamogramı

Adsorptif Sıyırma Voltametrisi

Adsorptif sıyırma voltametrisi (*Ad*SV) ilk kez Joseph Wang tarafından keşfedilen, maddenin indikatör elektrot üzerine kısa sürede adsorbe edilmesi prensibine dayanan sıyırma tekniğidir. Voltametrik sinyal, maddenin yüzeyde adsorbe edilen derişime doğrudan bağlıdır.

Bu yöntemde ön deriştirme, maddenin karıştırılan bir çözeltiden elektrot yüzeyine kısa sürede fiziksel adsorpsiyonu ile sağlanır. Madde herhangi bir kimyasal reaksiyona tabi tutulmaz. Bu teknik ile elektro etkin olmayan yüzey etkin maddeler de hasas olarak analiz edilebilir.

Bu yöntemde çalışma elektrodu yüzeyindeki yükün sıfır olması için uygun biriktirme potansiyeli seçilir. Seçilen potansiyelde yeterli karıştırma yapılarak adsorpsiyon hızlandırılabilir (Yılmaz, 2012).

Adsorptif sıyırma voltametrisinin mekanizması:

Biriktirme basamağında çözelti ortamında kompleks oluşumu durumunda,

$$M^{n+} + n\ L \rightarrow ML_n^{n+}{}_{(çözelti)}$$

$$ML_n^{n+}{}_{(çözelti)} \rightarrow ML_n^{n+}{}_{(ads)}$$

Yüzeyde kompleks oluşumu durumunda,

$$n\ L_{(çözelti)} \rightarrow n\ L_{(ads)}$$

$$M^{n+} + n\ L_{(ads)} \rightarrow ML_n^{n+}{}_{(ads)}$$

Sıyırma basamağında,

$ML_n^{n+}{}_{(ads)} \rightarrow ML_n^{+n-1} + n\ L$ şeklindedir.

2. KAYNAK ARAŞTIRMASI

(Telsnig ve ark., 2012) tarafından bezelye fidesi amin oksidazın (PSAO) MnO_2 modifiyeli karbon pasta elektrotları (CPE'ler) üzerinde immobilize edilmesiyle biyojenik aminlerin (BA) tespiti için yeni, kararlı bir biyosensör tasarlamışlardır. Enzimatik reaksiyonun ürünlerinden biri olan hidrojen peroksit, elektrokimyasal olarak aktif ara maddedir. Diferansiyel puls voltametrisi (DPV) ile Ag / AgCl'ye karşı + 0,4 V'de tespit etmişlerdir. Biyosensör, kadaverin, putresin, tiramin ve histamin gibi farklı substratlarla test edilerek substrat özellikleri hakkında bilgi elde adilmiştir. Doğrusal çalışma aralığı Kadaverin için 30 - 88 µg / mL ve putresin için 24 - 67 µg / mL olarak belirlenmiştir. Kadaverin için gözlenebilme sınırı (LOD) 10 µg / mL ve putresin için 8 µg / mL olarak ve alt tayin sınırı (LOQ) sırasıyla 30 µg / mL ve 24 µg / mL olarak hesaplanmıştır. Sensör, ticari balık sosundaki BA'ları ölçmek için kullanımıştır.

(Apetrei ve Apetrei, 2016a) Voltametrik sensörlerin sırasıyla bisftalosiyanin ve polipirol ile modifiye edilmiş perde baskılı elektrotların algılama özelliklerini incelemişlerdir. Sensörlerin amonyak ve putresin dahil olmak üzere aminik bileşiklere elektrokimyasal tepkileri analiz edilmiştir. Modifiye perde baskılı elektrotlarda −1,0 V ila + 1,3 V arasındaki potansiyel alanda gözlenebilen pikler, modifiye edilmemiş perde baskılı elektrotlarda gözlenmemiştir. Sensörler amin bileşiklerine karşı çok duyarlıdır, en düşük tespit limitleri amonyak için 1,85 µM ve putresin için 0,34 µM olarak belirlenmiştir.

(Henao-Escobar ve ark., 2015) tarafından kare dalga voltametri ile bor katkılı elmas elektrot kullanılarak kadaverin, histamin, putresin ve tiramin eşzamanlı olarak belirlenmesi araştırılmıştır. Tüm ölçümler, oda sıcaklığında, pH'sı 10 olan 15 mL destekleyici elektrolit çözeltisi (10 mM Na_2C0_3 ve 100 mM $NaClO_4$) içeren bir hücrede yapılmıştır. Kare dalga voltagramlar, + 250 mV (başlangıç potansiyeli) ile + 1900 V (bitiş potansiyeli) arasında anodik tarama yapılarak elde edilmiştir. Deneysel parametreler: tarama hızı 0,12 V/s, genlik 20 mV, frekans 25 Hz. Put, His, Tyr ve Cad' in bir Bor katkılı elmas elektrodu kullanılarak elektrokimyasal tespiti, bu tür elektrotların geniş potansiyel penceresi sayesinde mümkün olmuştur. Cad, His ve Put için 22 ila 65 µM konsantrasyon aralığında en iyi sonuçlar elde edilmiştir.

(Tiwari1 ve ark., 2018) tarafından balın çiçek kökenini ayırt etmek için kimyasal olarak modifiye edilmiş bir elektrot kullanarak dönüşümsel voltametriye dayalı yeni bir metod geliştirilmiştir. Çinko oksit (ZnO) nanopartiküllerinin bir elektroaktif bağlayıcı madde olarak kullanıldığı karbon pasta (CPs) elektrotdan yapılan elektrokimyasal

sensör tasarlanmıştır. Modifiye edilmiş elektrodun elektrokimyasal yanıtı beş farklı çiçek tipi balın 50 örneğinde dönüşümlü voltametrik teknik ile analiz edilmiştir. Her bir numunenin dönüşümlü voltamogramları 10 döngü için $0,3Vs^{-1}$ tarama hızında -0,45 ila 0,7 V potansiyel aralığında kaydedilmiştir. Modifiye elektrodun tekrarlanabilirliği %2 olarak bulunmuştur.

(Zhuang ve ark., 2018) tarafından indirgenmiş grafen oksit nanoşitler (GNs) altın nanopartiküller (AuNP), CoS2 ve bir iyonik sıvı ile işlevselleştirilerek bir nano hibrid elektrot hazırlanmıştır. Geliştirirlen elektrodun dopaminin (DA) voltametrik tayinini sağladığı gösterilmiştir. AuNP'ler, iyi tanımlanmış 3 boyutlu ve gözenekli bir yapı elde etmek için ilk önce CoS_2 ve IL-GN'lerle modifiye edilen elektrot üzerinde biriktirilmiştir. Modifiye edilmiş elektrotların karakterizasyonu, 100 mM fosfat tamponunda (0.1 M, pH = 7.0) veya KCI (100 mM) içeren bir K3 [Fe (CN) 6] / K4 [Fe (CN) 6] (1: 1, 1 mM) çözeltisinde CV ölçümleri ile belirlendi. DPV sinyalleri −0.2 ila 0.4 V aralığında kaydedildi. Pik akımı (Ag / AgCl'ye karşı 0,17 V çalışma voltajında en iyi ölçülen) , 40 nM algılama sınırı ile, DA konsantrasyonu 0,1 ila 400 µM aralığında doğrusal olarak artmaktadır (S / N = 3'te). Geliştirilen elektrot ile, alkollü serum numunelerinde DA tayini başarıyla uygulanmıştır. Elektrot, alkollü serum örneklerinde DA tayinine başarıyla uygulanmıştır.

(Luong ve ark., 2005) tarafından γ-aminopropiltrietoksisilan (APTES) ile modifiye edilmiş carbon nanotüpleri ile bir amperometrik biyosensörü tasarlanmıştır. Modifiye edilmiş GC elektrotların dönüşümlü voltamogramlar incelendiğinde (destek elektrolit olarak 20 mM $Fe(CN)_6^{-4}$ ve 0,2 M KCl' de) immobilize POx ile APTES / CNT modifiye elektrotlar, eşit indirgenme ve yükseltgenme akımına sahip neredeyse simetrik bir CV sergilemiştir. POx tabanlı biyosensörün performansı düşük tarama hızında (10 mVs^{-1}) doğrusal tarama voltametresi ile incelendiğinde 100 µM putresin ilavesiyle -0,48 V'de en yüksek akım yanıtını göstermektedirr. Biyosensör 250 µM'ye kadar mükemmel bir doğrusal aralık sergilemiştir. Alt tayin sınırı 0,5 µM, tekrarlanabilirlik %10 olarak hesaplanmıştır.

(Rochette ve ark., 2005) putresin oksidaz (PuO) ve çok duvarlu karbon nanotüpler (MWCNT) kullanılarak putresin için etkili bir aracısız biyosensör tasarlanmıştır. Analiz, 10 ml 0.05 mM (pH 7) fosfat tamponu içinde gerçekleştirilmiştir. Biyosensör, putresin oksidazın elektrot yüzeyindeki doğrudan elektroaktivitesini etkin bir şekilde izleyebilmiştir. Direkt elektron transferi, putresinin negatif potansiyellerde tespit edilmesine izin verir ve çoğu zaman plazmada önemli bileşiklerin analizini

zorlaştıran endojen askorbik ve ürik asitlerin girişimini önler. Sensörün putresin için alt tespit sınır 5 µM, doğrusal çalışma aralığı 5-200 µM olarak belirlenmiştir.

(Henao-Escobar ve ark., 2016) tarafından histamin (His) ve putresininin (Put) eşzamanlı olarak belirlenmesi için sıra ile bağlanmış iki çalışma elektrodundan oluşan tek kullanımlık bir elektrot sistemi geliştirilmiştir. Histamin dehidrojenaz ve putresin oksidaz enzimlerinin her ikisi de sırasıyla tetratiafulvalen ile modifiye edilmiş perde baskılı elektroda çapraz bağlanma ile sabitlenmiştir. İkili sistem, her bir çalışma elektrodundaki temperleyicinin yükseltgenme akımını ölçerek, her iki türün de aynı anda amperometrik olarak saptanmasına izin vermiştir. Potansiyel olarak girişim yapan diğer biyojenik aminlerin etkisi de ayrıca değerlendirilmiştir. Tespit kapasitesi His için 8,1 ± 0,7 ve Put için 10 ± 0,6 µM olarak belirlenmiştir. Duyarlılık, His ve Put için sırasıyla % 3,5 ve % 6,7olarak bulunmuştur.

(Di Fusco ve ark., 2011) tarafından bu çalışmada, Lathyrus sativus'tan bir diamin oksidaz (DAO) karakterize edilerek ve ilk kez şarap ve bira örneklerinde biyojenik aminler indeksinin belirlenmesi için bir elektrokimyasal biyosensörün biyokatalitik bileşeni olarak kullanımını değerlendirilmiştir. Bunun için DAO temelli çift altn baskılı elektrot geliştirildi Amperometrik ölçümler fosfat tamponu çözeltisinde (0,1 mol 1, pH = 7,4) sahte gümüş referans elektrot içeren +600 mV sabit potansiyelde bir akış sistemi kullanılarak yapıldı. Substrat olarak dual-Au-SPE ile putresin tayini 11,2±0,4 nA mg^{-1} duyarlılıkta, 0,7–20,0 mg L^{-1} doğrusal çalışma aralığına sahip, 0.2 mg L^{-1} alt tayin sınırında gerçekleşmektedir.

(Shanmugam ve ark., 2011) Bu çalışmada ornitinin dekarboksilasyonu ile üretilen putresin miktarını ölçmek için demir oksit nanoparçacıkları üzerinde diamin oksidaz bağlayarak sensör geliştirmişlerdir. Dönüşümlü voltammogramlar (CV), 25° C'de DAO/nano-Fe3O4 modifiyeli camsı karbon elektrot ile pH 7,2 fosfat tamponu içinde 0.1 V s^{-1} tarama hızında kaydedilmiştir. Bu sensörün putresin için düşük tayin sınırına sahip 0,65 nM ve 2-8 nM doğrusal çalışma aralığına sahip olduğu hesaplanmıştır.

3. MATERYAL METOD

3.1. Kullanılan Cihazlar ve Elektrotlar

Elektrokimyasal ölçümlerde Selçuk Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projesinden (BAP) sağlanan bilgisayar kontrollü CHI 6032 D marka elektrokimyasal analizör ve C4 hücre standı kullanıldı. Deneylerde çalışma elektrodu olarak camsı karbon elektrot (MF-2012), referans elektrot olarak Ag/AgCl elektrot (CHI111) ve karşıt elektrot olarak da platin tel elektrot (CHI115) kullanıldı.

Deneyler sırasında çözeltilerin hazırlanması için 0,1 mg hassasiyette tartım yapan ACCULAB marka hassas terazi kullanıldı. Çözelti hazırlamada kullanılan kimyasalları çözmek için Çalışkan (LAB. UNIT 4010) marka ultrasonik banyo kullanıldı. Hazırlanmış karışımlar Dragonlab (MX-S) marka vorteks karıştırıcı ile homojenize edildi. Tampon çözeltilerin pH sı VWR pH1100L marka pH-iyon metre ile ayarlandı.

Çözeltiler ELGA marka saf su cihazından elde edilen ultra saf su ile hazırlandı. . Çözeltileri karıştırılmasında Isolab marka manyetik karıştırıcıdan yararlanıldı. Gıda örneklerinden putresin özütlenmesi işleminde ISOLAB santrifüj kullanıldı. GCE yüzeylerini temizlemek için BASI marka temizleme kitleri (MF-2060 PK-4) kullanıldı.

CoS, TiO_2 ve CoS/TiO_2 nanokompozit malzemelerinin X-ray difraksiyon (XRD) ölçümleri için Cu Kα radyasyonu ile (l= 1.54056 °A) Bruker D8 Advance difraktometre cihazı kullanıldı.

Nanokompozitlerin yüzey karakterizasyonu için EVO-LS 10 (Carl Zeiss, Germany) taramalı elektron mikroskobu (SEM) ve elementel içeriği EDX analizörü ile belirlenmiştir. Renishaw-inVia spektrometre (514 nm lazer) ile oda sıcaklığında RAMAN ölçümleri yapıldı.

3.2. Kullanılan Kimyasallar

Çizelge 3. 1 Kullanılan kimyasallar, saflık dereceleri ve temin edildiği firmalar.

Kimyasal Adı	Saflık Derecesi	Temin Edildiği Firma
Tiramin	% 99,0	Sigma-Aldrich
Histamin	≥ % 97,0	Sigma-Aldrich
Putresin diklorit	≥ % 98,0	Sigma-Aldrich
Kadaverin	% 95,0	Sigma-Aldrich
Nafyon	%5,0	Sigma-Aldrich
Jelatin Tip A	…	Sigma-Aldrich
Disodyum hidrojen fosfat dihidrat ($Na_2HPO_4.2H_2O$)	% 99,5	Merck
Sodyum dihidrojen fosfat monohidrat ($NaH_2PO_4.H_2O$)	% 99,5	Merck
Sodyum hidroksit (NaOH)	% 99,0-102,0	Merck
Hidroklorik asit (HCl)	% 98,0	Merck
Potasyum hekzasiyonoferrit(II) trihidrat ($K_4[Fe(CN)_6].3H_2O$)	% 37	Merck
Potasyum hekzasiyonoferrat(III) ($K_4[Fe(CN)_6]$)	% 99	Merck
Potasyum klorür (KCl)	% 99	Merck
Etil Alkol (C_2H_5OH)	% 99,0	Panreac

3.3. Kullanılan Çözeltiler

3.3.1. Putresin Çözeltisi

1×10^{-2} M stok putresin çözelti hazırlayabilmek için putresinden 0,0161 g tartılarak 10 mL lik balon jojede bir miktar saf suda çözündü ve hacmi saf su ile 10 mL'ye tamamlandı**.** Hazırlanan stok çözelti kullanılmadığı durumlarda +4℃ de muhafaza edildi.

3.3.2. Jelatin Çözeltisi

30 mg jelatin 3 mL saf suda manyetik karıştırıcı yardımıyla çözünmesi sağlandı. Kullanılmayan jelatin çözeltisi +4℃ sıcaklıkta muhafaza edildi.

3.3.3. Nafyon Çözeltisi

% 0,25' lik nafyon çözeltisi için % 5' lik alkollü Nafyon çözeltisinden uygun miktarda alındı ve hacimce %50 alkol-su karışımı ile seyreltilerek hazırlandı. Kullanılmadığı durumlarda +4℃ sıcaklıkta saklandı.

3.3.4. Fosfat Tampon Çözeltisi

0,1 M Fosfat tampon çözeltisi hazırlamak için gerekli miktarlarda Sodyum dihidrojenfosfat monohidrat ve disodyum hidrojenfosfat dihidrat tartıldı ve ultra saf suda çözülmesi sağlandı. 0,1 M NaOH ve 0,1 M HCl kullanılarak tampon çözeltinin pH'sı 5,0 olacak şekilde ayarlandı.

3.3.5. Redoks Probu Çözeltisi

5 mM çözelti hazırlamak için potasyum hekzasiyonoferrat(III) ($K_3[Fe(CN)_6]$) ve potasyum hekzasiyanoferrat(II) ($K_4[Fe(CN)_6]$) gerekli miktarlarda tartıldı. Üzerine KCl derişimi 0,1 M olacak şekilde katı KCl ilave edildi. Ölçülü balonda uygun hacme tamamlandı. Çözeltinin kullanılmayan kısmı +4˚C de saklandı.

3.3.6. Girişim Yapan Türlerin Çözeltileri

Girişim çalışmaları için tiramin, histamin, kadaverinin 1×10^{-2} M stok çözeltilerini hazırlamak amacıyla gerekli miktarda tartılıp ultra saf suda çözünerek uygun hacme seyreltildi.

3.4. TiO_2-CoS Sentez ve Karakterizasyonu

Elektrot modifikasyonunda kullandığımız TiO_2, CoS nanopartül ve TiO_2-CoS, TiO_2-In_2S_3, TiO_2-In_2S_3-Ag, TiO_2-In_2S_3-CoS nanokompozit malzemeleri Selçuk Üniversitesi Fen Fakültesi Kimya Bölümü Araştırma Laboratuvarlarında litaratür ve yeni geliştirilen metodlara göre sentezlenmiştir (Feldmann ve Metzmacher, 2001). Bu bölümde putresin tayininde kullandığımız TiO_2-CoS nanokompozit malzemesinin sentez ve karakterizasyonu anlatıldı.

CoS nanopartiküllerin sentezi: Tipik bir sentez işlemi olarak, kuvvetli bir şekilde karıştırılarak homojen bir çözelti oluşturmak üzere dağılan belirli bir miktarda damıtılmış su ve dietilen glikole (DEG) 0,59 g $CoCl_2.6H_2O$ ve 0,37 g tiyoasetamid (TAA) ilave edildi. Hem reaksiyon ortamı hem de dispersiyon ortamı olarak DEG, partiküllerin yüzeyini etkili bir şekilde adsorbe edip stabilize eder ve iyi dağılma özelliğine sahip monodispers CoS kristalleri üretmeyi sağalar (Feldmann ve

Metzmacher, 2001). Daha sonra koyu mavi çözelti, 100 mL'lik üç boyunlu, yuvarlak dipli bir balona doldurulduu ve 24 saat 140 °C'de bir azot atmosferi altında ısıtıldı. Siyah katı ürün, oda sıcaklığına soğumaya bırakıldı, reaksiyona girmemiş maddeleri çıkarmak için birkaç kez etanol ve deiyonize su ile yıkandı. Elde edilen ürünler, 70 °C'de 24 saat süreyle kurutuldu.

CoS / TiO_2 nanokompozit malzemelerin hazırlanması: 0,1 g TiO_2, 15 dakika boyunca ultrasonik banyo ile 15 mL deiyonize su içinde dağıtıldı. Sonra, belirli bir miktarda damıtılmış suya 0,59 g $CoCl_2.6H_2O$ ve 0,37 g tiyoasetamid (TAA) eklendi ve bu çözeltiye kuvvetlice karıştırılarak bir homojen çözelti oluşturmak üzere dağıtılmış dietilen glikol eklendi. Elde edilen çözelti, 100 mL'lik üç boyunlu, yuvarlak dipli bir balona aktarıldı ve N_2 atmosferi altında 140 °C' de 24 saat ısıtıldı. Siyah katı ürün, oda sıcaklığına soğumaya bırakıldı, reaksiyona girmemiş maddeleri çıkarmak için birkaç kez etanol ve deiyonize su ile yıkandı. Bu ürünler 70 °C'de 24 saat kurutuldu.

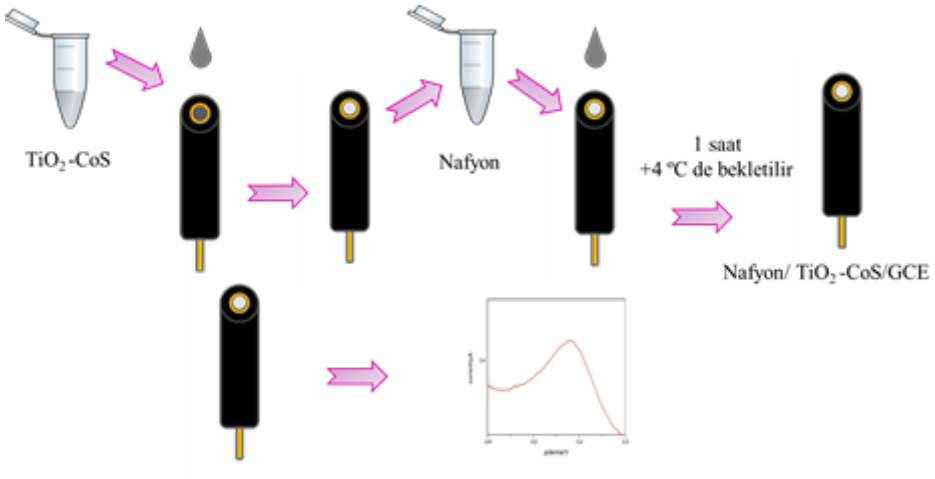
Modifiye elektrotların hazırlanmasında kullanılan TiO_2-CoS nanokompozitin karakterizasyon deneyleri yapıldı ve bölüm 4.1' de sonuçları verildi.

3.5. Camsı Karbon Elektrot Temizlenmesi

Voltametrik çalışmalarda elektrot yüzeyinin temizliği oldukça önemlidir. Elektrot yüzeylerini temizlemek için temizleme pedine 0,05 µM boyutunda alümina karışımı damlatıldı ve dairesel hareketlerle çizilerek yüzeyin temizlenmesi sağlandı. Elektrot yüzeyi ultra saf suyla temizlenerek yüzeyden giderilemeyen safsızlıkları uzaklaştırmak ve alüminadan arındırmak için saf su ile yıkandı ve 5 dakika süreyle etilalkolde daldırılarak yüzeyin tamamen temizlenmesi sağlandı.

3.6. Modifiye Elektrotların Hazırlanması

Her biri 1 mg mL^{-1} olacak şekilde TiO_2, CoS, TiO_2-CoS, TiO_2-In_2S_3, TiO_2-In_2S_3-Ag, TiO_2-In_2S_3-CoS nanomalzemeler jelatin içerisinde vorteks karıştırıcıda dağıtıldı ve sonikatörde homojenize edildi. Her bir karışımdan 6 µL alınarak temizlenmiş GCE yüzeylerine ayrı ayrı damlatıldı ve oda sıcaklığında kurumaya bırakıldı. Kurutulmuş modifiye elektrot üzerine bölüm 3.3.3'de belirtilen şekilde hazırlanan nafyon çözeltisinden 6 µL ilave edilip kuruması için beklendi ve +4 ˚C de 1 saat süre ile yüzeye sabitlenmesi sağlandı (Şekil 3.1).



Şekil 3.1 TiO_2-CoS/GCE elektrot hazırlanışı

3.7. Elektrotların Yüzey Karakterizasyonlarının İncelenmesi

3.7.1. Dönüşümlü Voltametri (CV)

Bölüm 3.6. da belirtildiği gibi hazırlanan modifiye olmuş ve modifiye olmamış elektrotların 0,1 M KCI içeren $Fe(CN)_6^{3-/4-}$ redoks probunda 100 mV/s tarama hızında dönüşümlü voltamogramları ölçüldü.

3.7.2. Elektrokimyasal İmpedans Spektroskopisi (EIS)

Hazırlanan modifiye elektrotların EIS ölçümleri Bölüm 3.3.5'de belirtildiği şekilde hazırlanan redoks probunda 0,18 V açık devre potansiyeli ve 1×10^{5}-5×10^{-2} Hz frekans aralığında alındı. Her bir elektrot için ölçüm verilerinden yararlanarak Nyquist eğrileri çizilerek elektrot-çözelti ara yüzeyinde meydana gelen dirençleri kaydedildi ve karşılaştırıldı.

3.8. TiO_2-CoS Modifiye Elektrodun Putresin Yanıtı

TiO_2-CoS/GCE ile putresinin kantitatif tayini için oldukça hassas ve düşük tayin sınırına ulaşılabilen diferansiyel puls adsorptif sıyırma voltametrisi (DP*Ad*SV)

yönteminden yararlanıldı. Çalışmada referans elektrot olarak Ag/AgCl, karşıt elektrot olarak platin tel kullanıldı. Elektrokimyasal hücreye 6 mL pH değeri 5,0 olan 0,1 M fosfat tamponundan eklendi. Ölçümlerden önce elektrokimyasal hücreden çözeltide çözünmüş halde bulunan gazların uzaklaştırılması için 5 dakika süre boyunca saf azot gazı geçirildi. Analit içermeyen tanık çözeltide kararlı hal akımı elde edilinceye kadar elektrotların ölçümleri alınarak potansiyel tanık taraması yapıldı. Bu çözeltiye $1x10^{-4}$ M putresin çözeltisinden ilaveler yapılarak 0,0 V potansiyel değerinde analit elektrot yüzeyinde optimize edilen sürede belli bir hızla karıştırılarak biriktirildi. Bu sürenin sonunda çözelti ile elektrot 5 saniye kadar bir dengeleme süresince karıştırılmadan bekletildi. Analiti elektrot yüzeyinden sıyırmak için diferansiyel puls adsorptif sıyırma (DP*Ad*SV) voltamogramları 0,0 V- 1,0 V potansiyel değerleri arasında alındı.

Bölüm 3.6 da hazırlanan modifiye elektrotlardan en iyi iletkenliğe sahip olan TiO_2-CoS/GCE ile putresin tayini deneylerine devam edilmiştir.

3.9. Optimum Çalışma Koşullarının Belirlenmesi

3.9.1. TiO_2-CoS Miktarı

TiO_2-CoS/GCE' ye TiO_2-CoS miktarının akım cevabına etkisini belirlemek için; 0,5; 1,0; 1,5; 2,0 mg TiO_2-CoS bulunacak şekilde 1 mL jelatin içinde dağıtılarak 4 farklı elektrot hazırlandı. Her bir elektrodun sabit putresin derişiminde akım cevabı DP*Ad*SV yöntemiyle kaydedildi.

3.9.2. pH

pH değerlerinin modifiye elektrodun putresin cevabına etkisini belirlemek amacı ile 0,1 M fosfat tamponu kullanılarak; pH' sı 4,0; 4,5; 5,0; 5,5; 6,0; 7,0; 8,0 olan çözeltiler hazırlandı. Her biri 3 kere tekrarlanmak üzere bu pH değerindeki tampon çözeltilere uygun miktarda $1x10^{-4}$ M putresin çözeltisi eklenerek akım değerleri kaydedildi. En yüksek akım cevabının elde edildiği pH değeri en uygun pH olarak seçildi.

3.9.3. Biriktirme Potansiyeli

Hazırlanan modifiye TiO_2-CoS/GCE için optimum biriktirme potansiyelini tayin etmek amacıyla 6 mL pH sı 5,0 olan fosfat tamponuna putresin derişimi $0,0104x10^{-3}$ M olacak şekilde stok putresin çözeltisinden ilave edildi. -0,4; -0,2; -0,1; 0,0; 0,1; 0,2;

0,4V olacak şekilde 7 farklı potansiyelde voltamogramlar çizilerek en uygun biriktirme potansiyeli belirlendi.

3.9.4. Biriktirme Süresi

Adsoptif sıyırma voltametrisinin ilk basamağı olan yüzeyde analiti biriktirme için kullanılacak süreyi seçmek amacıyla TiO_2-CoS/GCE ile 30, 60, 90, 120, 150 saniyelerde biriktirilerek elde edilen voltamogramlardaki akım değerleri karşılaştırıldı. En yüksek akım cevabını elde ettiğimiz biriktirme süresi bundan sonraki deneylerde optimum değer olarak seçildi.

3.10. Modifiye Elektrodun Performans Faktörlerinin Belirlenmesi

3.10.1. Doğrusal Çalışma Aralığı ve Gözlenebilme Sınırı

Bölüm 3.9.1'de belirlenen miktarda optimum bileşimde hazırlanan TiO_2-CoS/GCE nin doğrusal çalışma aralığı ve gözlenebilme sınırının tayini amacı ile; biriktirme süresi 60 s, biriktirme potansiyeli 0,0 V ve uygun çalışma pH' sı pH 5,0 de 0,32 µM ile 16,66 µM derişim aralığında olacak şekilde stok putresin çözeltisinden standart eklemeler yapıldı. Ölçülen akım değerleri putresin derişimlerine karşı grafiğe geçirilerek kalibrasyon eğrileri oluşturuldu. Bu eğrilerden yararlanarak modifiye elektrodun doğrusal çalışma aralığı, kalibrasyon eğrisinin eğiminden elektrodun duyarlılığı belirlendi. Gözlenebilme sınırı (LOD) ve alt tayin sınırı (LOQ) değerleri aşağıda gösterilen eşitlikler yardımıyla hesaplandı.

$LOQ=10s/m$

$LOD=3s/m$

s: Standart sapma, m: Elektrot duyarlılığı

3.10.2. Tekrarlanabilirlik ve Tekrar Üretilebilirlik

Tekrarlanabiliriği belirlemek için bölüm 3.6'da belirtilen şekilde hazırlanan modifiye elektrot ile optimum şartlarda biriktirme yapılarak aynı gün elektrot değiştirilmeden art arda 6 kez sıyırma voltamogramları alındı. Pik akımları belirlenerek bunların bağıl standart sapması (BSS) hesaplanması ile elektrodun tekrarlanabilirliği incelendi.

Tekrar üretilebilirliği belirlemek için ise; farklı üç elektrot hazırlandı ve 60 s biriktirme süresi, 0,0 V potansiyel ve pH 5,0 de DP*Ad*SV cevapları ölçüldü. Bu değerlerden elde edilen BSS ile tekrar üretilebilirlik hesaplandı.

3.10.3. Raf Ömrü

Putresin tayini için optimum bileşimde hazırlanan TiO_2-CoS/GCE modifiye elektrodun kararlılığının belirlenmesi için farklı günlerde putresin cevapları ölçüldü. İlk gün ölçülen akım cevapları ile 3. 7. ve 11. gün akım cevapları karşılaştırıldı. Ölçüm alınmadığı zamanlarda elektrot +4°C'de muhafaza edildi.

3.10.4. Girişim Yapan Maddelerin Elektrot Cevabı Üzerine Etkisi

Tampon çözelti bulunan elektrokimyasal hücreye, 1000 µL $1x10^{-4}$ M putresin ilave edildi ve akım değerleri kaydedildi. Ardından gıda numunelerinde bulunan ve girişim yapabileceği düşünülen histamin, tiramin ve kadeverin çözeltilerinden uygun miktarlarda eklenerek akım cevapları kaydedildi. Daha sonra girişim etkisi yaptığı düşünülen türler için derişim 1/10 oranında seyreltilerek putresin akım cevapları alınarak girişim etkisi % olarak hesaplandı.

$$\% \text{ girişim} = (i\text{-}i_0) \times 100 / i_0$$

Bu eşitlikte: i_0 putresinin akım cevabı; i_x ise girişim yapabileceği düşünülen türün toplam akım cevabıdır.

3.11. Numune Analizi

3.11.1. Numunelerin Analize Hazırlanması

Numune analizinde yerel pazarlardan tedarik edilen alabalık, limon ve greyfurt kullanıldı. Alabalık blender ile homojenize edilerek 6,0 g tartıldı ve üzerine 0,10 M 8,0 mL fosfat tampon çözeltisinden ilave edildi. Numune içerisindeki putresinin tampon çözeltisine geçmesini sağlamak için yaklaşık 2 saat manyetik boyunca karıştırıcıda karıştırıldı. Ardından 5 dakika da vorteks karıştırıcıda karıştırılarak işlem tamamlandı. Limon ve greyfurtun suyu sıkılarak kaba süzgeç kağıdı yardımıyla süzüldü. Alabalık, limon ve greyfurt numuneleri 4000 rpm de 20 dakika boyunca santrifüj edildi. Santrifügat kısmı balon jojeye alınarak deiyonize suyla istenilen hacme tamamlandı.

3.11.2. Numunelerde Putresin Tayini

Bölüm 3.11.1'de belirtildiği gibi hazırlanan numunelerde putresin tayini aşağıda belirtildiği şekilde yapıldı.

100 µL ***balık numunesi*** 6 mL pH sı 5,0 olan fosfat tamponuna ilave edildi. Ardından optimum şartlar olan 60 s biriktirme süresi, 5 s bekleme süresi, 0,0 V potansiyel de DP*Ad*SV yöntemiyle akım cevabı ölçüldü. Üzerine standart putresin

çözeltisinden eklemeler yapılarak standart ekleme eğrileri çizildi ve bu eğrilerden numunedeki putresin derişimi hesaplandı.

Hazırlanan ***greyfurt numunesi***nden belirli bir miktar alınarak 6 mL pH sı 5,0 olan fosfat tamponuna ilave edildi. Optimum şartlarda DP*Ad*SV yöntemiyle akım cevabı ölçülerek üzerine putresin çözeltisinden standart eklemeler yapılarak numune miktarı hesaplandı.

Hazırlanan ***limon numunes***inden belirli bir miktar alınarak 6 mL pH sı 5,0 olan fosfat tamponuna ilave edildi. Optimum şartlarda DP*Ad*SV yöntemiyle akım cevabı ölçülerek üzerine putresin çözeltisinden standart eklemeler yapılarak numune miktarı hesaplandı.

Geri kazanım çalışmaları için, pH sı 5,0 olan fosfat tamponu çözeltisine önce numune daha sonra üzerine hesaplanan numune miktarının %20 ve/veya %40 fazlası olacak şekilde $1x10^{-4}$ M putresin çözeltisinden ilave edildi ve akım değeri ölçüldü. Bu çözeltiye art arda standart putresin çözeltilerinden ekleme yapılarak standart ekleme grafiği elde edildi. Oluşturulan grafikten numunedeki ilave ettiğimiz putresin derişimi belirlenerek bu numunelerdeki % geri kazanımları hesaplandı.

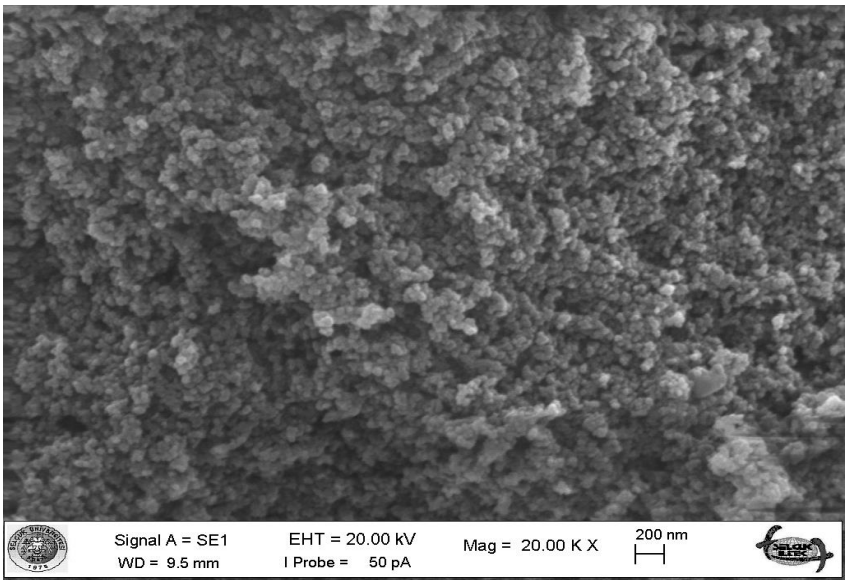
4. ARAŞTIRMA SONUÇLARI VE TARTIŞMA

Bu tez çalışmasında, gıdalarda putresin tayini için TiO_2, CoS, TiO_2-CoS, TiO_2-In_2S_3, TiO_2-In_2S_3-Ag, TiO_2-In_2S_3-CoS nanokompozitler ile modifiye edilmiş camsı karbon elektrotlar hazırlanması amaçlandı. Elektrokimyasal impedans spektroskopisi ve dönüşümlü voltametri yöntemi ile putresin sensörü için uygun modifiye elektrodun TiO_2-CoS/GCE olduğuna karar verildi. Seçilen TiO_2-CoS/GCE nin putresin duyarlılığına pH nın, biriktirme süresinin, biriktirme potansiyelinin ve modifiye madde miktarının etkisi incelenerek optimum çalışma şartları belirlendi. Optimum bileşimdeki TiO_2-CoS/GCE nin optimum şartlardaki performans faktörleri incelendi ve gıda numunelerinde putresin analizi yapılabilirliği gösterildi. Bu çalışmalar kapsamında elde edilen verilerin incelemesi ve yorumları aşağıda sunulmaktadır.

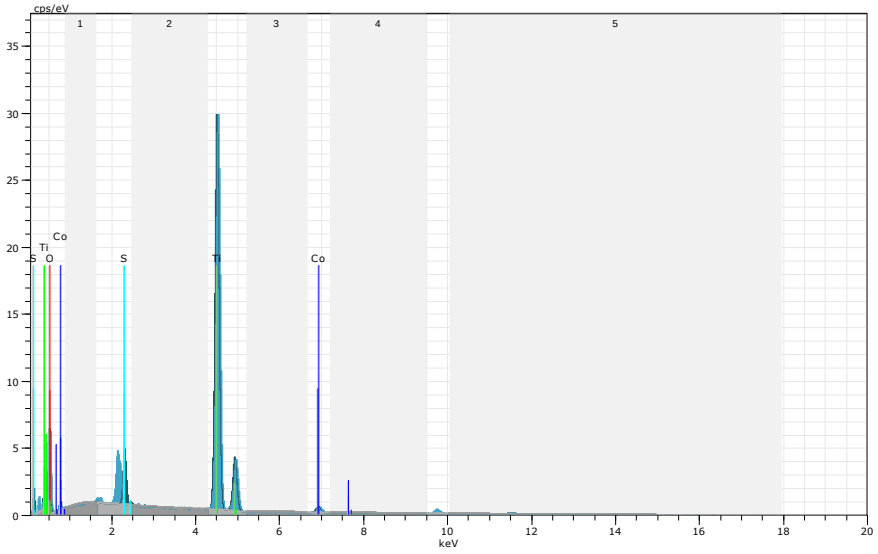
4.1. TiO_2-CoS Nanokompozit Karekterizasyonu

4.1.1. Taramalı Elektron Mikroskopu (SEM)

TiO_2 bazlı katalizör destek malzemelerinin, TiO_2 nano partiküllerinin yüksek kimyasal ve termal stabiliteye sahip olması nedeniyle mükemmel özelliklere sahip oldukları bilinmektedir (Bamwenda ve ark., 1997). TiO_2 elektrokimyasal ortamda dengeyi ve ticari kullanılabilirliği garanti eden heterojen katalizörler için bir destek olarak kabul edilebilir (Tauster ve ark., 1981). Katalitik parçacıklar ve gözenekli TiO_2 arasında güçlü etkileşimler katalitik stabilite ve aktiviteyi sağlar. Aynı zamanda katalizör destek maddesi olarak TiO_2, katalitik reaksiyonlar için üçlü faz sınırının rejimini potansiyel olarak artırabilecek belli bir proton iletkenlik derecesini gösterir. (Tauster ve ark., 1981; Bamwenda ve ark., 1997). Şekil 4.1' de sentezlenen TiO_2-CoS nanokompozitin SEM görüntüsü incelendiğinde parçacıkların küresel şekli olduğu ve düzgün bir şekilde dağıldığı ve litaratürlerle de uyumlu olduğu görülmektedir (Zhuang ve ark., 2018). Şekil 4.2' de ise sentezlenen kompozitin elementel bileşimini gösteren enerji dağılımlı X ışınları spekrometre yöntemi (EDX) ile elde edilen spekrum ve element bileşimi çizelgesi verildi. Bu şekil ve çizelge incelendiğinde nanokompozitte Ti, O, Co, S pikleri ve kompozit içindeki % miktarlarının uyumlu olduğu görülmektedir.



Şekil 4.1 TiO_2-CoS nanokompozitin SEM görüntüsü



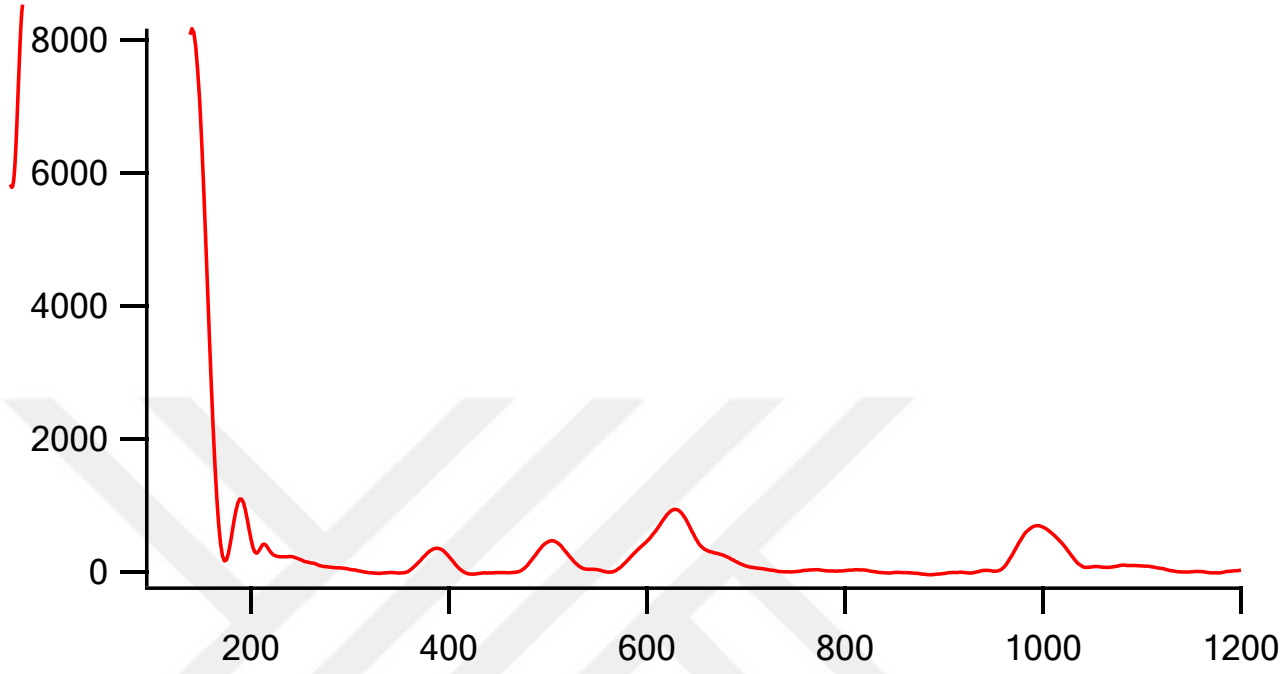
Spectrum: Objects

Element	Series	unn. C [wt.%]	norm. C [wt.%]	Atom. C [at.%]	Error [%]
Oxygen	K-series	35.94	40.61	66.79	43.4
Titanium	K-series	48.32	54.61	30.01	1.4
Cobalt	K-series	1.70	1.92	0.86	0.1
Sulfur	K-series	2.53	2.86	2.35	0.1
	Total:	88.48	100.00	100.00	

Şekil 4.2 TiO_2/CoS nanokompozit için EDX spektrumu ve elementel bileşim çizelgesi

4.1.2. RAMAN Spekrometresi

TiO_2-CoS nanokompoziti için 145, 198, 399, 516 ve 664 cm^{-1}' de 5 Raman piki gösterilmiştir (Şekil 4.3.).



Şekil 4.3 TiO_2-CoS nanokompozitin RAMAN spektrometresi

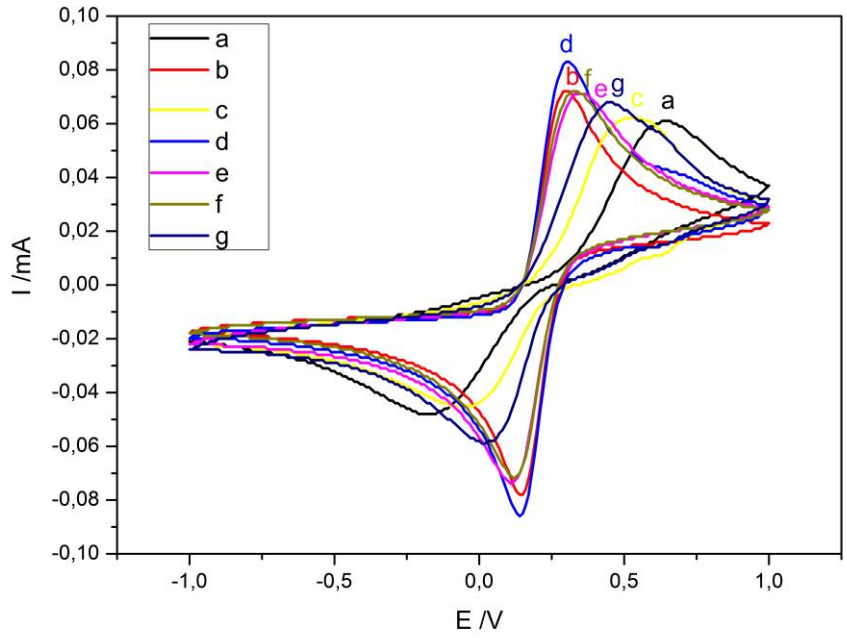
4.2. Elektrodun Yüzey Karakterizasyonlarının İncelenmesi

Bu tez çalışmasında hazırlanan modifiye elektrodun karakterizasyonu için dönüşümlü voltametri ve elektrokimyasal impedans spektroskopi yöntemi kullanıldı. Bu yöntem ile elde edilen sonuçlar ve yorumları aşağıda verildi.

4.2.1. Dönüşümlü Voltametri (CV)

Bölüm 3.6' da belirtilen şekilde hazırlanan TiO_2/GCE, CoS/GCE, TiO_2-CoS/GCE, TiO_2-In_2S_3/GCE, TiO_2-In_2S_3-Ag/GCE, TiO_2-In_2S_3-CoS/GCE modifiye elektrotlar ile modifiye olmamış GCE nin 0,1 M KCl içeren redoks prob çözeltisinde ($Fe(CN)_6^{3-/4-}$) dönüşümlü voltamogramları (CV) alınarak modifikasyon ile değişimi incelendi. TiO_2-CoS/GCE nin pik akımının diğer elektrotlardan daha yüksek olduğu gözlendi (Şekil 4.4). Buda metal nanokompozitlerin elektrokimyasal reaksiyonları arttırmak için katalizör olarak görev yaptığını göstermektedir (Xiliang Luo, 2006).

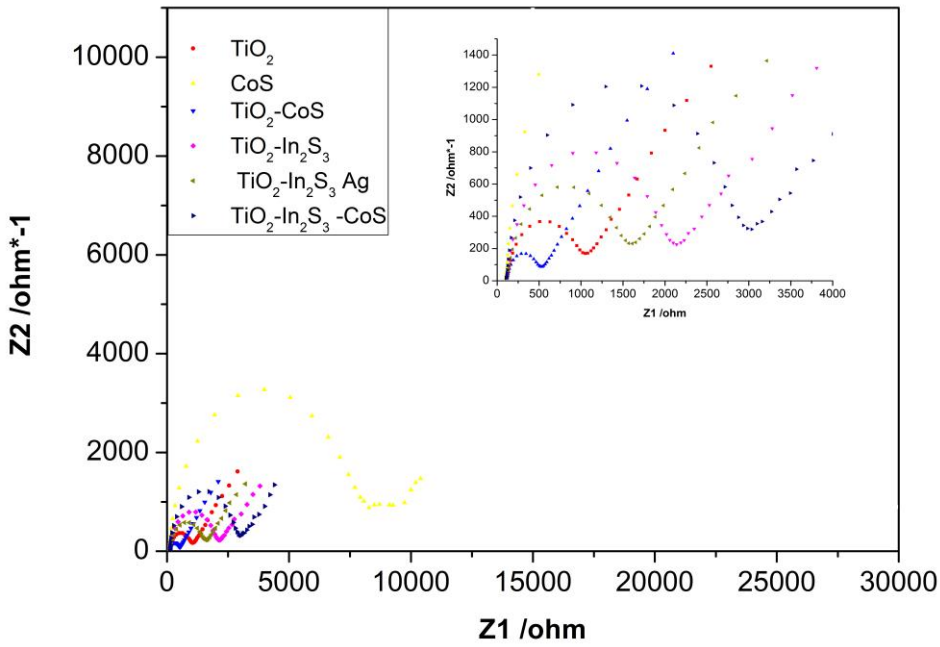
Sonuç olarak tasarlanan TiO_2-CoS/GCE 'nin putresin tayininde kullanılabileceği görüldü.



Şekil 4.4 Modifikasyonda kullanılan nanokompozitlerin dönüşümlü voltamogram cevapları: a) GCE, b) TiO_2/GCE, c) CoS/GCE, d) TiO_2-CoS/GCE, e) TiO_2-In_2S_3/GCE, f) TiO_2-In2S3-Ag/GCE, g) TiO_2-In_2S_3-CoS/GCE (0,1 M KCl içeren $Fe(CN)_6^{3-/4-}$ redoks probunda)

4.2.2. Elektrokimyasal İmpedans Spektroskopisi (EIS)

Elektrokimyasal İmpedans Spektroskopisi (EIS) yöntemi ile elektrot çözelti ara yüzeyinde gerçekleşen elektron aktarım hızı ölçülebilmektedir. Böylece sistemlerin elektriksel dirençleri hakkında bilgi sahibi olunabilmektedir. Bölüm 3.6' da anlatıldığı gibi hazırlanan modifiye elektrotların (TiO_2/GCE, CoS/GCE, TiO_2-CoS/GCE, TiO_2-In_2S_3/GCE, TiO_2-In2S3-Ag/GCE, TiO_2-In_2S_3-CoS/GCE) 0,1 M KCl içeren redoks probunda ($Fe(CN)_6^{3-/4-}$) impedans ölçümleri yapılarak Nyquist eğrileri çizildi (şekil 4.5). Nyquist eğrileri incelendiğinde sade GCE elektrodun en yüksek direnci yani en düşük iletkenliği gösterdiği, TiO_2-CoS/GCE ise en yüksek iletkenliğe sahip olduğu görülmektedir.



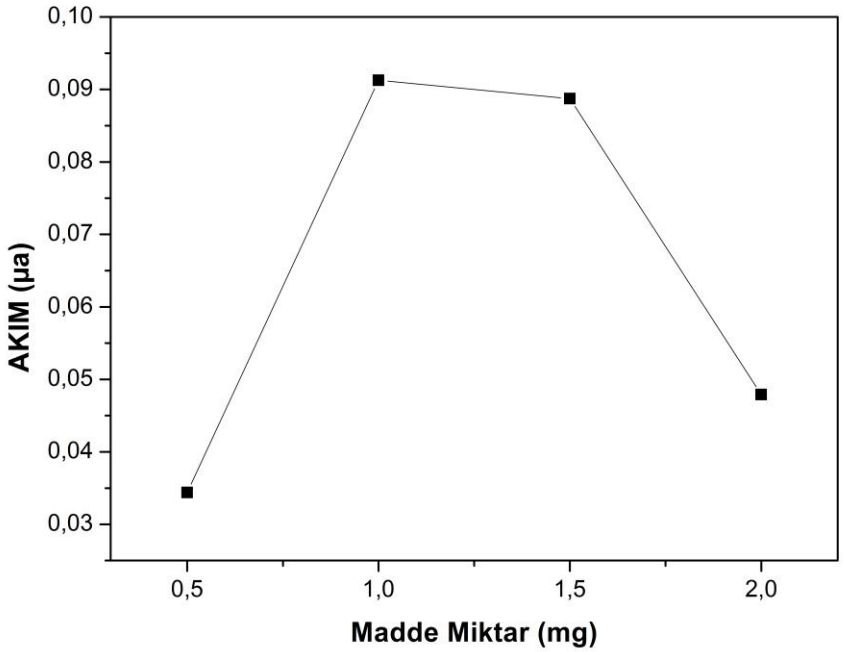
Şekil 4.5 Modifikasyonda kullanılan nanokompozitlerin Nyquist eğrileri (0,1 M KCl içeren $Fe(CN)_6^{3-/4-}$ redoks probunda)

4.3. Optimizasyon Çalışmaları

Hazırlanan TiO_2-CoS/GCE' nin putresin tayininde kullanırken etki eden çalışma koşullarına belirlemek için yapılan çalışımalar ile ilgili ayrıntılar aşağıda anlatıldı.

4.3.1. TiO_2-CoS Miktarı

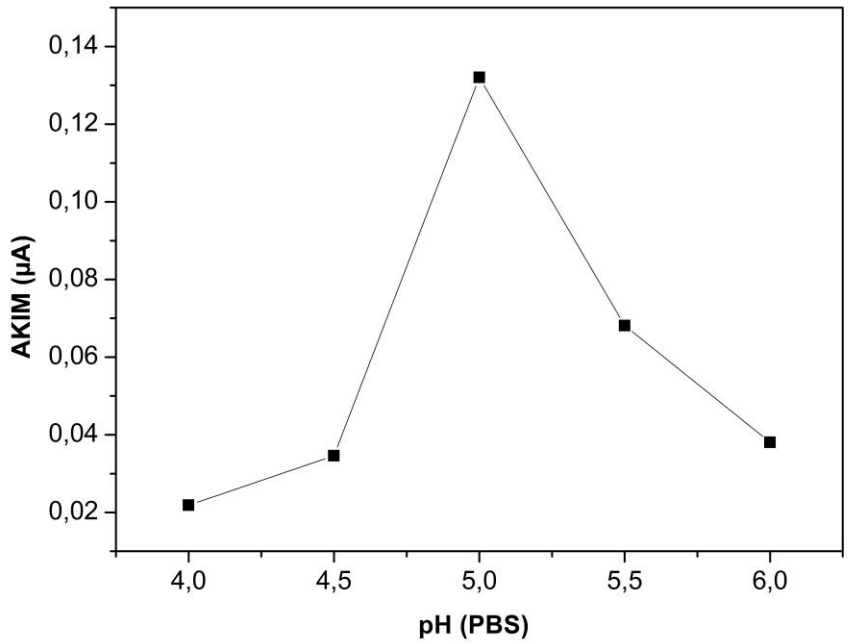
GCE yüzeyi en yüksek iletkenlik cevabını veren TiO2-CoS nanokompozit ile modifiye edilirken kullanılan nanokompozit miktarını belirlemek için bölüm 3.9.1 de anlatıldığı gibi 4 farklı nanokompozit miktarı ile elektrotlar hazırlandı. Şekil 4.6' da görüldüğü gibi en yüksek pik akımı, TiO2-CoS miktarı 1 mg olarak hazırlanmış yüzeyden elde edildi. 1 mg TiO2-CoS nanokompozitin elektrot yüzeyi ile elektroaktif tür arasında elektron transferini kolaylaştırdığı düşünüldüğünden optimum modifiye miktarı olarak seçildi.



Şekil 4.6 TiO_2-CoS putresin cevabına etkisi (0,1 M PBS; 0,0104 mM putresin; 25ºC)

4.3.2. pH

Elektrokimyasal yüzey karakterizasyonu yapılan ve optimum bileşimde hazırlanan TiO_2-CoS/GCE için en uygun çalışma pH' sı bölüm 3.9.1 de anlatıldığı gibi belirlendi. Optimum pH belirlemek için 0,1 M fosfat tamponu çözeltisinde putresin derişimi $0{,}0104 \times 10^{-3}$ M olacak şekilde stok putresin çözeltisinden ilave edildi ve pH 4-8 aralığında modifiye elektrodun akım değerleri kaydedildi. pH-akım grafiği Şekil 4.7 verildi. Grafik incelendiğinde akım değerlerinin pH 5,0 e kadar arttığı ve pH 5,0 ten sonra azaldığı gözlendi. Sonuç olarak pH 5,0'in optimum çalışma pH'sı olmasına karar verildi.



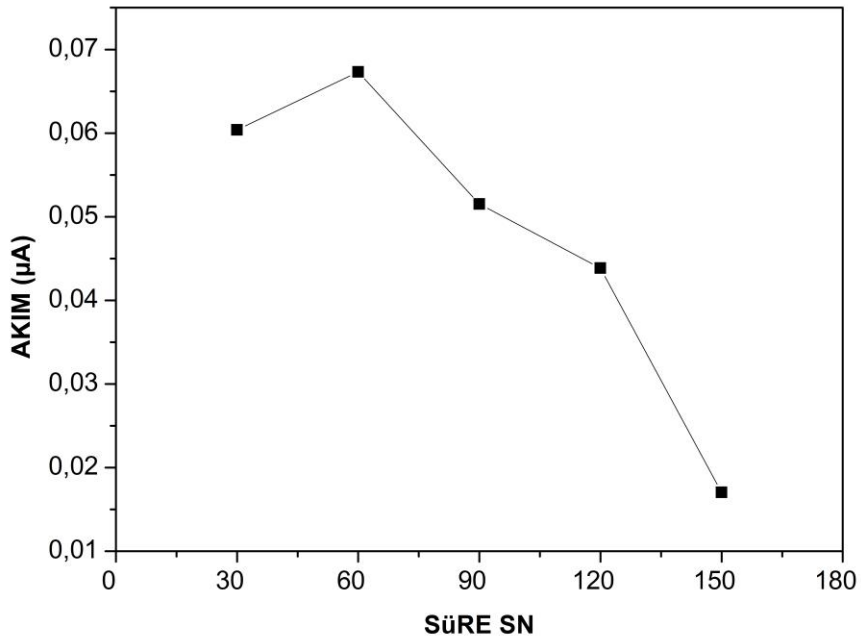
Şekil 4.7 TiO_2-CoS/GCE' nin putresin cevabına pH' nın etkisi (0,1 M PBS; 0,0104 mM putresin; 25ºC)

4.3.3. Biriktirme Potansiyeli

TiO_2-CoS/GCE için en uygun biriktirme potansiyelini belirlemek amacıyla ile bölüm 3.9.3 te anlatıldığı gibi -0,4; -0,2; -0,1; 0,0; 0,1; 0,2; 0,4 V olacak şekilde 7 farklı potansiyelde voltamogramlar elde edildi. Herbir potansiyelde kalibrasyon grafikleri çizildi. 0,0 V biriktirme potansiyelinden elde edilen kalibrasyonun eğimi yani duyarlılığı yüksek olduğu için bu potansiyel seçildi ve differansiyel puls adsorptif sıyırma voltametrisi kullanılmasına karar verildi.

4.3.4. Biriktirme Süresi

TiO_2-CoS/GCE için optimum biriktirme süresini belirlemek amacıyla sırasıyla 30, 60, 90, 120, 150 saniyelerde biriktirme yapılarak akım cevapları ölçüldü. Her bir süre için pH değeri 5,0 olan 0,1 M fosfat tampon çözeltisinde çalışıldı. Her bir süre için ölçülen akım değerlerinden en yüksek akım 60 s biriktirme ile elde edilmiştir (Şekil 4.8). Bu sebeple 60 s çalışmalarda optimum biriktirme süresi olarak belirlenmiştir.



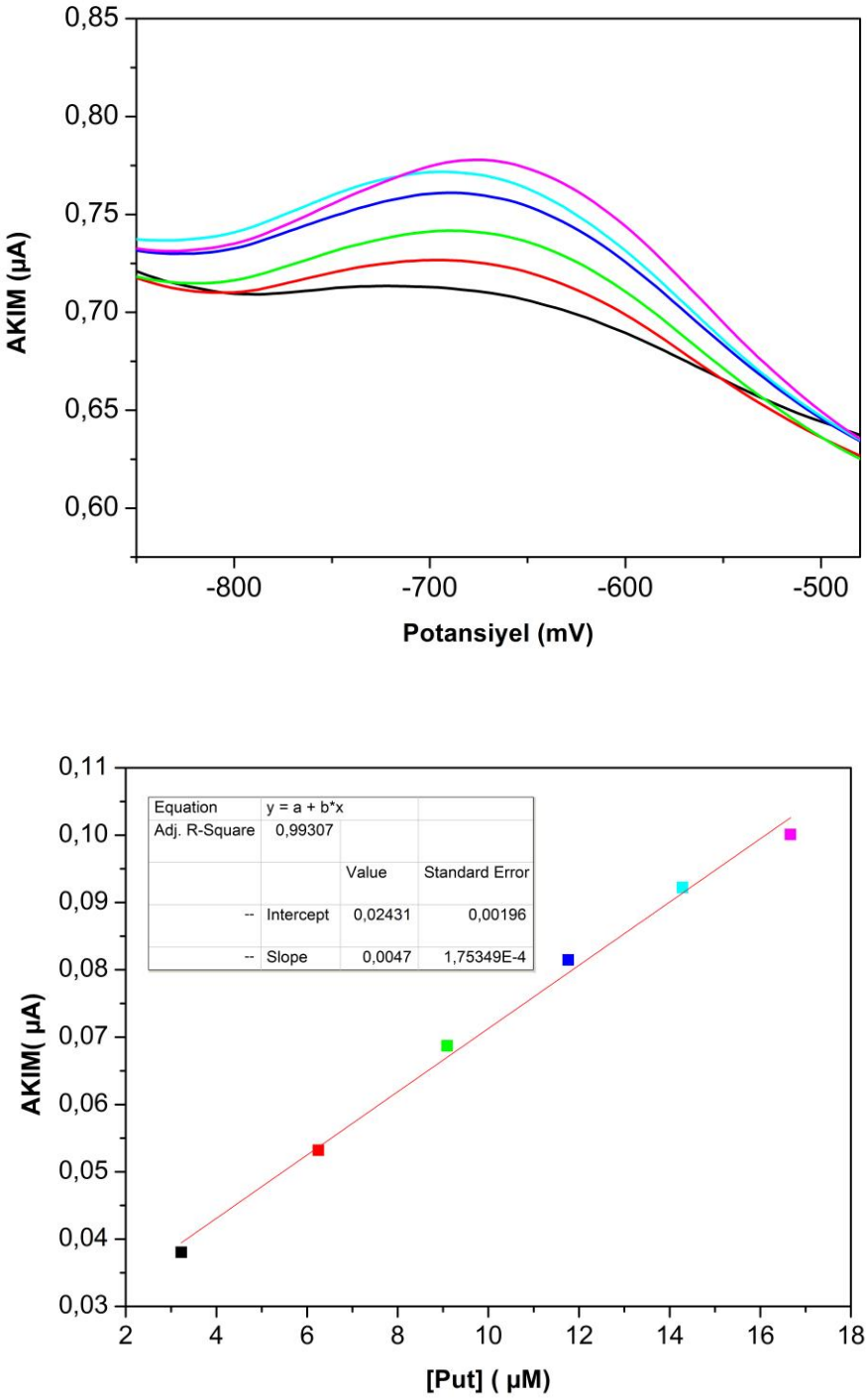
Şekil 4.8 TiO_2-CoS/GCE' nin putresin cevabına biriktirme süresinin etkisi (0,1 M PBS pH 5,0; 25ºC; 0,0V)

4.4. Performans Faktörlerinin Belirlenmesi

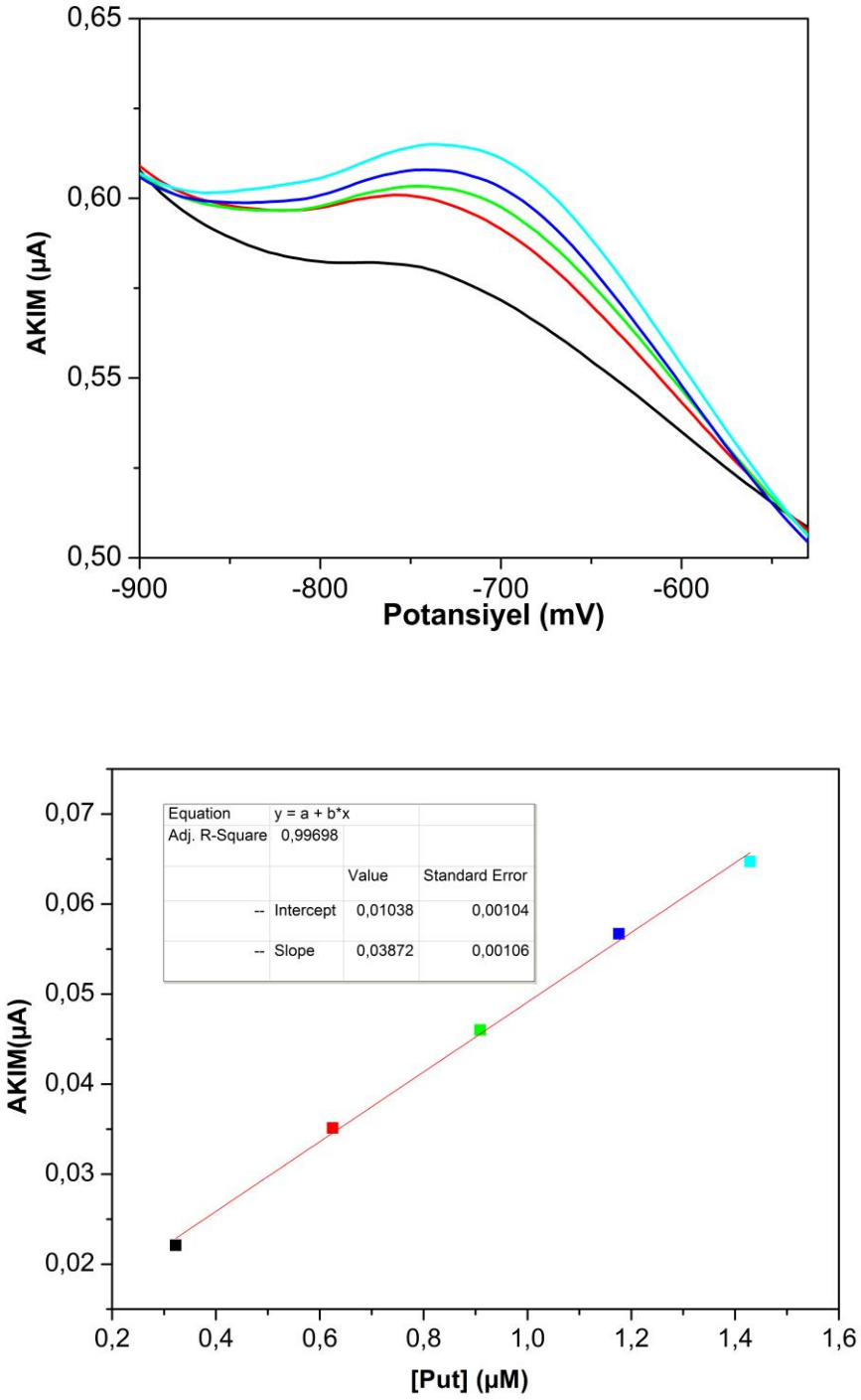
Hazırlanan modifiye putresin elektrodunun çalışma koşulları belirlendikten sonra bu koşullarda doğrusal çalışma aralığı ve duyarlığı, tekrarlanabilirlik, tekrar kullanılabilirlik, ömür ve girişim yapan türlerin etkisi gibi performans faktörleri incelendi.

4.4.1. Doğrusal Çalışma Aralığı ve Duyarlık

TiO_2-CoS/GCE'nin putresine cevabı optimum çalışma koşullarında Bölüm 3.10.1 de anlatıldığı gibi belirlendi. Bunun için farklı putresin derişimine karşı akım değerleri grafiğe geçirilerek kalibrasyon eğrileri oluşturuldu (Şekil 4.9.- 4.10.). Bu eğrilerden yararlanarak tasarlanan modifiye elektrodun doğrusal çalışma aralığı 0,32-1,43 µM ve 3,2-16,66 µM olarak bulundu. Aynı zamanda bu eğrilerden geliştirilen TiO_2-CoS/GCE'nin duyarlılığı, gözlenebilme sınırı ve tayin sınırı hesaplandı (çizelge 4.1).



Şekil 4.9 TiO_2-CoS/GCE' nin putresin cevabı için çizilen adsorptif sıyırma voltamogram grafiği ve kalibrasyon eğrisi (0,1 M PBS pH 5,0, biriktirme süresi 60 s) [Put]: 3,2-16,66 µM

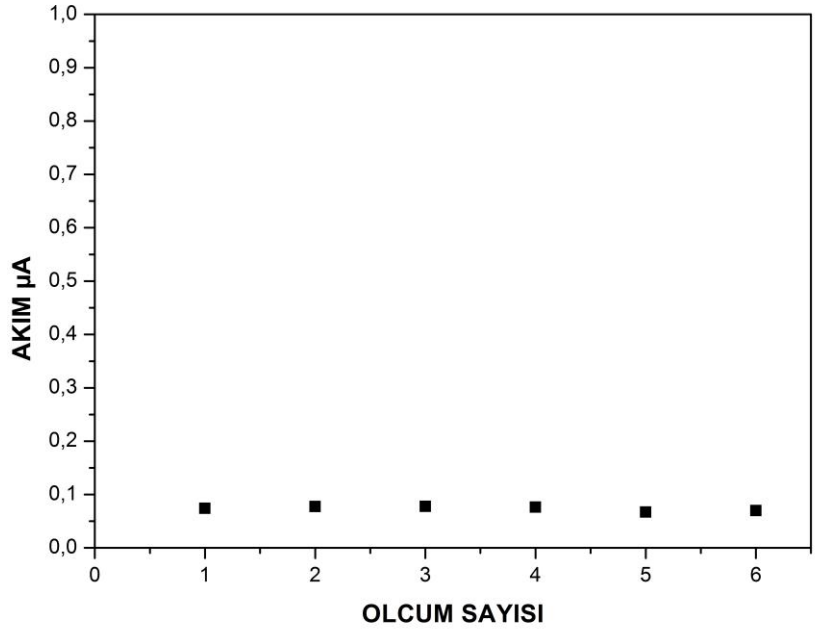


Şekil 4.10 TiO_2-CoS/GCE' nin putresin cevabı için çizilen adsorptif sıyırma voltamogram grafiği ve kalibrasyon eğrisi (0,1 M PBS pH 5,0, biriktirme süresi 60 s) [Put]: 0,32-1,42 µM

Optimum koşullarda hazırlanan TiO_2-CoS/GCE nin putresin analizi için gözlenebilme sınırı (LOD) ve alt tayin sınırı (LOQ) sırası ile 0,09 µM ve 0,27 µM olarak belirlendi ve literatürde verilen pek çok poliamin elektrodundan daha düşük olduğu görüldü (Telsnig ve ark., 2012; Henao-Escobar ve ark., 2016).

4.4.2. Tekrarlanabilirlik ve Tekrar Üretilebilirlik

TiO_2-CoS/GCE nin tekrar kullanılabilirliği aynı gün içinde art arda 6 kez ölçüm alınarak akım cevapları belirlendi (Şekil 4.11). Akım cevaplarının bağıl standart sapması %4,7 olarak hesaplandı. Tekrar üretilebilirliği belirlemek için Bölüm 3.10.2 de anlatıldığı gibi aynı gün aynı koşullarda hazırlanan üç farklı TiO_2-CoS/GCE ile putresin akım cevabı ölçüldü. Akım değerlerinin bağıl standart sapması %3,3 olarak hesaplandı. Litaratürler incelendiğinde geliştirilen sensörlerin kullanılabilir olduğunun söylenebilmesi için bağıl standart sapma değerinin %5'ten küçük olması gerektiği vurgulanmıştır (Akyüz, 2011). Bağıl standart sapmanın %5'ten küçük olması TiO_2-CoS/GCE'nin tekrar üretilebilir ve tekrarlanabilir olduğunu göstermektedir.



Şekil 4.11 TiO_2-CoS/GCE nin kararlılığı

4.4.3. Raf Ömrü

Putresin tayini için optimum şartlarda hazırlanan TiO_2-CoS/GCE'nin kararlılığı bölüm 3.10.3 de açıklanan şekilde belirlendi. TiO_2-CoS/GCE nin kararlılığı ilk gün ölçülen akım değeri %100 olarak kabul edildiğinde 3. gün %89, 7. gün %72, 11. gün %57 oranında olduğu görülmüştür. Elektrot kararlığındaki azalma yüzeyin zamanla aşınması ile açıklanabilir.

4.4.4. Girişim Yapan Maddelerin Elektrot Cevabı Üzerine Etkisi

Gıdalarda bulunabilecek ve putresin tayini için hazırlanan modifiye elektrot üzerinde bozucu etki oluşturabileceği düşünülen tiramin, histanin, kadaverinin etkisi 3.10.4 belirtildiği gibi araştırıldı. Böylece TiO_2-CoS/GCE ile putresin tayininde girişim yapabilecek türlerin akım değerleri kaydedildi.

Histamin, kadeverin ve tiraminin TiO_2-CoS/GCE ile putresin akım cevabına etki değerleri sırasıyla %14,2, %2,4, %2,6 olarak hesaplandı. Girişim etkisinin olduğu düşünülen histamin maddesinin derişimi 10 kat seyreltilerek aynı ölçümler tekrarlandı ve etkisinin düştüğü gözlendi.

Bu tez çalışmasında hazırlanan modifiye elektrodun optimum çalışma koşuları ve performans faktörleri çizelge 4.1' de özetlendi.

Çizelge 4.1 Hazırlanan modifiye elektrot için en uygun çalışma koşulları ve performans faktörleri

Modifiye Elektrot	**TiO_2-CoS/GCE**
TiO_2-CoS miktarı (mg)	1
pH	5,0
Biriktirme Potansiyeli (V)	0,0
Doğrusal Çalışma Aralığı (µM)	0,32 ile 16,66
Kesim Noktası (µA)	0,01038
Duyarlık (µA/µM)	0,038 ±0,00104
Tekrarlanabilirlik (%)	4,7
Tekrar Üretilebilirlik (%)	3,3
LOD (µM)	0,09
LOQ (µM)	0,27

4.4.5. Numune Analizi

Bu tez çalışmasında TiO_2-CoS/GCE modifiye elektrodun numunelerde putresin analizinde kullanılabilirliğini belirlemek için, yerel pazardan alınan alabalık, limon ve greyfurt kullanıldı. Bölüm 3.11.1 de belirtiği gibi hazırlanan numunelerden belirli bir miktar alınarak tanık çözeltisine eklendi ve akım değerleri ölçüldü. Üzerine standart putresin çözeltisinden art arda eklemeler yapılarak standart katma eğrileri oluşturuldu. Standart katma eğrilerinden yararlanarak numunede bulunan putresin miktarı balık 3,69 µg/kg, greyfurt için 3,35 µg/L, limon için 3,59 µg/L olarak tespit edildi.

Geri kazanım çalışmaları için ise miktarı hesaplanan numune üzerine belirli miktarda standart putresin ilave edildi ve standart katma eğrileri çizildi. Çizelge 4.2' de balık ve greyfurt numunesinde bulunan geri kazanım değerleri verildi. Bu değerlerin % 100'e yakın olması bu numunelerde geliştirilen elektrot ile putresin tayini yapılabileceğini göstermektedir.

Çizelge 4. 2 TiO_2-CoS elektrodu kullanılarak numunelerde katma yöntemi ile elde edilen geri kazanım sonuçları

Numune	Alınan Putresin (µm)	Eklenen Putresin (µm)	Bulunan Putresin (µm)	Geri Kazanım (%)
Alabalık	2,45	0,49	2,99	102
Greyfurt	3,8	1,56	5,31	99

5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

5.1. Sonuçlar

Bu çalışmada, poliaminlerin öncüsü olan putresin tayini için TiO_2-CoS nanokompoiti ile modifiye elektrot hazırlandı. TiO_2-CoS/GCE için elde edilen sonuçlar aşağıda özetlendi:

- Geniş bir derişim aralığında (0,32 µM ile 16,66 µM) çalışılabilmektedir.
- Gözlenebilme sınırı (0,09 µM) literatürde bildirilen pek çok çalışmaya göre düşüktür (Çizelge 5.1).
- Tekrarlanabilirlik ve tekrar üretilebilirlik değerleri kabul edilen seviyededir. (sırasıyla % 4,7 ve %3,3)
- Balık ve greyfurt numunelerinde putresin tayini yüksek doğrulukla yapılabilmektedir ve geri kazanım değerleri %100' e yakındır.

Literatürde bildirilen ve Çizelge 5.1'te verilen ve biyojen amin tayini için geliştirilen çeşitli elektrotlar ile kıyaslandığında hazırladığımız TiO_2-CoS modifiye elektrodun gözlenebilme sınırının oldukça düşük olması, yöntemin seçici ve duyarlılığının iyi olması ile rutin analizlerde alternatif metot olabileceğini göstermektedir.

5.2. Öneriler

Bu çalışma ile nanokompozitlerin yüksek yüzey alanı oluşturmalarından yararlanılarak gıdalarda putresin tayini için elektrokimyasal sensör geliştirildi ve gerçek numunelerde başarı ile uygulandı. Hazırlanan modifiye elektrodun hazırlama işleminin kolay olması, analizin kısa sürede yapılabilmesi, çok sayıda analiz olduğu durumlarda önemli bir avantajdır. Tüm sonuçlar göz önüne alındığında kullanılan nanokompozit malzemesinin geniş bir yüzey alanı sağlayarak aynı zamanda elektron aktarımını kolaylaştırarak yeni bir putresin sensörü geliştirilmesine katkı sağladığı görülmektedir.

İleriki çalışmalarda vücut sıvılarının poliamin analizinde kullanılmak üzere fizyopatolojinin belirmesi için ve diğer gıda numunelerinde poliamin analizi için enzimli modifiye elektrotlar geliştirilebilir.

Çizelge 5.1 Literatürde putresin tayini için tasarlanan elektrotlar

ELEKTROT	YÖNTEM	pH	ÇALIŞMA POTANSİYELİ	DOĞRUSAL ÇALIŞMA ARALIĞI	LOD	NUMUNE	KAYNAK
PSAO	DPV	7,5	-	24 - 67 µg / mL	8 µg / mL	Balık Sosu	(Telsnig ve ark., 2012)
Ppy-FeCN/CSPE	CV	-	-	1–100 µM	0,34 µM	Sığır Eti	(Apetrei ve Apetrei, 2016a)
PUO//TTF/SPCE	CA	8,0	0,30 V	6-8 µM	16 mg/kg	Ahtapot	(Henao-Escobar ve ark., 2016)
PDDA/APTES/NaWon/MWCNT/PuO	CV	7,0	-	5–200 µM	5 µM	Fare Plazması	(Rochette ve ark., 2005)
DualAu-SPE	CA	7,4	0,60 V	0,7-20 mM	0,2 mg/L	Şarap, bira	(Di Fusco ve ark., 2011)
DAO/nano-Fe_3O_4/GC	CA	7,2	0,40 V	0,95 nM – 4,75 nM	0,95 nM	-	(Shanmugam ve ark., 2011)
APTES/MWCNT/GCE	CA	8,35	-0,25 V	0,5 µM–250 µM	0,5 µM		(Luong ve ark., 2005)
Önerilen sensör TiO_2-CoS/GCE	DP*Ad*SV	5,0	-	0,32 µM - 16,66 µM	0,09 µM	Balık, greyfurt	Bu çalışma

KAYNAKLAR

Akan, S. ve Demirağ, M. K., 2018, GIDALARDA BULUNAN BİYOJEN AMİNLERİN ÖNEMİ VE DETOKSİFİKASYON MEKANİZMALARI, *FOOD and HEALTH*, 4 (3), 166-175.

Akyüz, E., 2011, Ürik asit tayini için yeni bir biyosensör geliştirilmesi.

Amprayn, K.-o., Rose, M. T., Kecskés, M., Pereg, L., Nguyen, H. T. ve Kennedy, I. R., 2012, Plant growth promoting characteristics of soil yeast (Candida tropicalis HY) and its effectiveness for promoting rice growth, *Applied Soil Ecology*, 61, 295-299.

Apetrei, I. ve Apetrei, C., 2016a, Application of voltammetric e-tongue for the detection of ammonia and putrescine in beef products, *Sensors and Actuators B: Chemical*, 234, 371-379.

Apetrei, I. M. ve Apetrei, C., 2016b, Application of voltammetric e-tongue for the detection of ammonia and putrescine in beef products, *Sensors and Actuators B: Chemical*, 234, 371-379.

Askar, A. ve Treptow, H., 1986, Biogene Amine in Lebensmitteln: Vorkommen, Bedeutung und Bestimmung, Ulmer, p.

Atiya Ali, M., Poortvliet, E., Strömberg, R. ve Yngve, A., 2011, Polyamines in foods: development of a food database, *Food & nutrition research*, 55 (1), 5572.

Bamwenda, G. R., Tsubota, S., Nakamura, T. ve Haruta, M., 1997, The influence of the preparation methods on the catalytic activity of platinum and gold supported on TiO 2 for CO oxidation, *Catalysis Letters*, 44 (1-2), 83-87.

Bardocz, S., Grant, G., Hughes, E., Duguid, T., Brown, D. ve Pusztai, A., 1998, Uptake, distribution and metabolism of dietary putrescine, spermidine and spermine in rats, *COST 917 Workshop on Biogenically Active Amines in Food-Metabolic Effects of Biologically Active Amines in Food*.

Bardócz, S., 1995, Polyamines in food and their consequences for food quality and human health, *Trends in Food Science & Technology*, 6 (10), 341-346.

Büyükuslu, N., 2014, Besinlerin poliamin içerikleri.

Büyükuslu, N. ve Erdoğdu Eröz, S., 2015, Poliaminler ve kanser; Kanserli hastaların beslenmesinde poliaminlerin rolleri.

Cipolla, B. G., Havouis, R. ve Moulinoux, J.-P., 2010, Polyamine reduced diet (PRD) nutrition therapy in hormone refractory prostate cancer patients, *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 64 (5), 363-368.

Coronado, E., Galán-Mascarós, J. R., Gómez-García, C. J. ve Laukhin, V., 2000, Coexistence of ferromagnetism and metallic conductivity in a molecule-based layered compound, *Nature*, 408, 447.

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

Çolak, H. ve Aksu, H., 2002, Gıdalarda biyojen aminlerin varlığı ve amin oluşumunu etkileyen faktörler, *YYÜ. Vet. Fak. Derg*, 13 (1-2), 35-40.

Di Fusco, M., Federico, R., Boffi, A., Macone, A., Favero, G. ve Mazzei, F., 2011, Characterization and application of a diamine oxidase from Lathyrus sativus as component of an electrochemical biosensor for the determination of biogenic amines in wine and beer, *Analytical and bioanalytical chemistry*, 401 (2), 707-716.

DOĞAN, A., OTLU, S., BÜYÜK, F., Aksu, P., Tazegül, E. ve Erdağ, D., 2012, Sisteamin, putresin ve sisteamin-putresin kombinasyonunun bazı bakteriler üzerine etkileri, *Kafkas Üniv Vet Fak Derg*, 18, 1015-1019.

Douki, T., Bretonniere, Y. ve Cadet, J., 2000, Protection against radiation-induced degradation of DNA bases by polyamines, *Radiation research*, 153 (1), 29-35.

Ercan, S. Ş., Soysal, Ç. ve Bozkurt, H., 2017, Gıdalarda bulunan biyojen aminlerin insan sağlığı üzerine etkileri.

Feldmann, C. ve Metzmacher, C., 2001, Polyol mediated synthesis of nanoscale MS particles (M= Zn, Cd, Hg), *Journal of Materials Chemistry*, 11 (10), 2603-2606.

Frydman, B. ve Valasinas, A., 1999, Polyamine-based chemotherapy of cancer, *Expert Opinion on Therapeutic Patents*, 9 (8), 1055-1068.

Fukumoto, G. H. ve Byus, C. V., 1997, Putrescine export in Xenopuslaevis oocytes occurs against a concentration gradient: evidence for a non-diffusional export process, *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Biomembranes*, 1324 (2), 215-222.

Guo, Y. Y., Yang, Y. P., Peng, Q. ve Han, Y., 2015, Biogenic amines in wine: a review, *International Journal of Food Science & Technology*, 50 (7), 1523-1532.

Gürbüz, O., 2002, Şarapta biyojen aminler, *GIDA*, 27 (2).

Halász, A., Barath, A., Simon-Sarkadi, L. ve Holzapfel, W., 1994, Biogenic amines and their production by microorganisms in food, *Trends in Food Science & Technology*, 5 (2), 42-49.

Hazards, E. P. o. B., 2011, Scientific opinion on risk based control of biogenic amine formation in fermented foods, *Efsa Journal*, 9 (10), 2393.

He, M., Bao, L., Sun, K., Zhao, D., Li, W., Xia, J. ve Li, H., 2014, Synthesis of molecularly imprinted polypyrrole/titanium dioxide nanocomposites and its selective photocatalytic degradation of rhodamine B under visible light irradiation, *Express Polymer Letters*, 8 (11).

Henao-Escobar, W., Domínguez-Renedo, O., Alonso-Lomillo, M. ve Arcos-Martínez, M., 2015, Resolution of quaternary mixtures of cadaverine, histamine, putrescine and tyramine by the square wave voltammetry and partial least squares method, *Talanta*, 143, 97-100.

Henao-Escobar, W., Del Torno-de Roman, L., Domínguez-Renedo, O., Alonso-Lomillo, M. ve Arcos-Martínez, M., 2016, Dual enzymatic biosensor for simultaneous amperometric determination of histamine and putrescine, *Food Chemistry*, 190, 818-823.

Hornero-Mendez, D. ve Garrido-Fernandez, A., 1997, Rapid high-performance liquid chromatography analysis of biogenic amines in fermented vegetable brines, *Journal of Food Protection*, 60 (4), 414-419.

İnce, A., 2008, Ferrosen bulunduran bazı tiyofasfanat türevlerinin elektrokimyasal davranışlarının ve yüzey adsorbsiyonlarının incelenmesi, *Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*.

Ioannidis, N. E., Sfichi, L. ve Kotzabasis, K., 2006, Putrescine stimulates chemiosmotic ATP synthesis, *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Bioenergetics*, 1757 (7), 821-828.

Kalač, P. ve Krausová, P., 2005, A review of dietary polyamines: formation, implications for growth and health and occurrence in foods, *Food Chemistry*, 90 (1-2), 219-230.

Karovičová, J., 2005, a Z. KOHAJDOVÁ, *Biogenic amines in food. Chemical Papers*, 59 (1), 70-79.

Kim, T. S., Stiehl, J. D., Reeves, C. T., Meyer, R. J. ve Mullins, C. B., 2003, Cryogenic CO oxidation on TiO2-supported gold nanoclusters precovered with atomic oxygen, *Journal of the American Chemical Society*, 125 (8), 2018-2019.

Landete, J., Arena, M. E., Pardo, I., de Nadra, M. M. ve Ferrer, S., 2008, Comparative survey of putrescine production from agmatine deamination in different bacteria, *Food microbiology*, 25 (7), 882-887.

Lange, J. ve Wittmann, C., 2002, Enzyme sensor array for the determination of biogenic amines in food samples, *Analytical and bioanalytical chemistry*, 372 (2), 276-283.

Leonardo, S. ve Campàs, M., 2016, Electrochemical enzyme sensor arrays for the detection of the biogenic amines histamine, putrescine and cadaverine using magnetic beads as immobilisation supports, *Microchimica Acta*, 183 (6), 1881-1890.

Lonvaud-Funel, A., 2001, Biogenic amines in wines: role of lactic acid bacteria, *FEMS Microbiology Letters*, 199 (1), 9-13.

Luo, X., Morrin, A., Killard, A. J. ve Smyth, M. R., 2006, Application of nanoparticles in electrochemical sensors and biosensors, *Electroanalysis*, 18 (4), 319-326.

Luong, J. H., Hrapovic, S. ve Wang, D., 2005, Multiwall carbon nanotube (MWCNT) based electrochemical biosensors for mediatorless detection of putrescine, *Electroanalysis: An International Journal Devoted to Fundamental and Practical Aspects of Electroanalysis*, 17 (1), 47-53.

Melgarejo, E., Urdiales, J. L., Sánchez-Jiménez, F. ve Medina, M. Á., 2010, Targeting polyamines and biogenic amines by green tea epigallocatechin-3-gallate, *Amino acids*, 38 (2), 519-523.

Milovic, V., 2001, Polyamines in the gut lumen: bioavailability and biodistribution, *European journal of gastroenterology & hepatology*, 13 (9), 1021-1025.

Muti Erdem, M., 2010, Elektrokimyasal DNA sensörü için nanomalzemelere dayalı elektrot materyallerinin geliştirilmesi ve uygulamaları.

Önal, A., 2007, A review: Current analytical methods for the determination of biogenic amines in foods, *Food Chemistry*, 103 (4), 1475-1486.

ÖZDOĞAN, E., Demir, A. ve SEVENTEKİN, N., 2006, Nanoteknolojİ Ve Tekstİl Uygulamalari, *Tekstil ve Konfeksiyon*, 16 (3), 159-168.

Penn, S. G., He, L. ve Natan, M. J., 2003, Nanoparticles for bioanalysis, *Current opinion in chemical biology*, 7 (5), 609-615.

Qian, L. ve Hinestroza, J. P., 2004, Application of nanotechnology for high performance textiles, *Journal of textile and apparel, technology and management*, 4 (1), 1-7.

Rauscher-Gabernig, E., Gabernig, R., Brueller, W., Grossgut, R., Bauer, F. ve Paulsen, P., 2012, Dietary exposure assessment of putrescine and cadaverine and derivation of tolerable levels in selected foods consumed in Austria, *European Food Research and Technology*, 235 (2), 209-220.

Renedo, O. D. ve Martínez, M. J. A., 2007, A novel method for the anodic stripping voltammetry determination of Sb (III) using silver nanoparticle-modified screen-printed electrodes, *Electrochemistry communications*, 9 (4), 820-826.

Rochette, J.-F., Sacher, E., Meunier, M. ve Luong, J., 2005, A mediatorless biosensor for putrescine using multiwalled carbon nanotubes, *Analytical biochemistry*, 336 (2), 305-311.

Rodriguez, M. B. R., da Silva Carneiro, C., da Silva Feijó, M. B., Júnior, C. A. C. ve Mano, S. B., 2014, Bioactive amines: aspects of quality and safety in food, *Food and Nutrition Sciences*, 5 (02), 138.

Ruiz-Capillas, C. ve Jimenez-Colmenero, F., 2005, Biogenic amines in meat and meat products, *Critical Reviews in food Scince and Nutrition*, 44 (7-8), 489-599.

Scalabrino, G. ve Ferioli, M. E., 1984, Polyamines in mammalian ageing: an oncological problem, too? A review, *Mechanisms of ageing and development*, 26 (2-3), 149-164.

Shalaby, A. R., 1996, Significance of biogenic amines to food safety and human health, *Food research international*, 29 (7), 675-690.

Shanmugam, S., Thandavan, K., Gandhi, S., Sethuraman, S., Rayappan, J. B. B. ve Krishnan, U. M., 2011, Development and evaluation of a highly sensitive rapid response enzymatic nanointerfaced biosensor for detection of putrescine, *Analyst*, 136 (24), 5234-5240.

Skoog, W. ve West, D., 1997, Holler, *Fundamentals of analytical Chemistry*.

Smith, T., 1981, Amines in food, *Food Chemistry*, 6 (3), 169-200.

Spano, G., Russo, P., Lonvaud-Funel, A., Lucas, P., Alexandre, H., Grandvalet, C., Coton, E., Coton, M., Barnavon, L. ve Bach, B., 2010, Biogenic amines in fermented foods, *European journal of clinical nutrition*, 64 (S3), S95.

Tauster, S., Fung, S., Baker, R. ve Horsley, J., 1981, Strong interactions in supported-metal catalysts, *Science*, 211 (4487), 1121-1125.

Telsnig, D., Terzic, A., Krenn, T., Kassarnig, V., Kalcher, K. ve Ortner, A., 2012, Development of a voltammetric amine oxidase-modified biosensor for the determination of biogenic amines in food, *Int J Electrochem Sci*, 7 (8), 6893-6903.

ten Brink, B., Damink, C., Joosten, H. ve In't Veld, J. H., 1990, Occurrence and formation of biologically active amines in foods, *International journal of food microbiology*, 11 (1), 73-84.

Til, H. P., Falke, H. E., Prinsen, M. K. ve Willems, M. I., 1997, Acute and subacute toxicity of tyramine, spermidine, spermine, putrescine and cadaverine in rats, *Food and Chemical Toxicology*, 35 (3), 337-348.

Tiwari1, K., , B. T., , R. B., 2, , A. C., , a. ve Pramanik3, P., 2018, Voltammetric sensor for electrochemical determination
of the floral origin of honey based on a zinc oxide
nanoparticle modified carbon paste electrode, *J. Sens. Sens. Syst.*, 7, 319–329.

UYLAŞER, V. ve KONAK, A., GIDALARDAKİ BİYOJEN AMİNLER ve İNSAN SAĞLIĞI AÇISINDAN ÖNEMİ, *Gıda ve Yem Bilimi Teknolojisi Dergisi* (6).

Wang, H.-E., Cheng, H., Liu, C., Chen, X., Jiang, Q., Lu, Z., Li, Y. Y., Chung, C. Y., Zhang, W., Zapien, J. A., Martinu, L. ve Bello, I., 2011, Facile synthesis and electrochemical characterization of porous and dense TiO2 nanospheres for lithium-ion battery applications, *Journal of Power Sources*, 196 (15), 6394-6399.

Wunderlichová, L., Buňková, L., Koutný, M., Jančová, P. ve Buňka, F., 2014, Formation, degradation, and detoxification of putrescine by foodborne bacteria: a review, *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 13 (5), 1012-1030.

Xiliang Luo, A. M., Anthony J. Killard, Malcolm R. Smyth, 2006, Application of Nanoparticles in Electrochemical Sensors andBiosensors, *Electroanalysis 18*, 4, 319 – 326.

Yalçın, K. A., 2010, Nanoteknoloji ve gıda sanayiinde uygulama alanları, *Namık Kemal Üniversitesi*.

Yang, Q., Long, M., Tan, L., Zhang, Y., Ouyang, J., Liu, P. ve Tang, A., 2015, Helical TiO2 nanotube arrays modified by Cu–Cu2O with ultrahigh sensitivity for the

nonenzymatic electro-oxidation of glucose, *ACS applied materials & interfaces*, 7 (23), 12719-12730.

Yeğin1, S. ve *, A. Ü., 2008, Gıdalarda Biyojen Amin Oluşumunu Etkileyen Faktörler, *Türkiye 10. Gıda Kongresi*.

Yılmaz, S., 2012, Elektroanalitik Kimya, p.

Yoon, H., 2013, Current Trends in Sensors Based on Conducting Polymer Nanomaterials, *Nanomaterials*, 3 (3).

Yoshinaga, K., Ishizuka, J., Evers, B. M., Townsend Jr, C. M. ve Thompson, J. C., 1993, Age-related changes in polyamine biosynthesis after fasting and refeeding, *Experimental gerontology*, 28 (6), 565-572.

Zhuang, X., Chen, D., Zhang, S., Luan, F. ve Chen, L., 2018, Reduced graphene oxide functionalized with a CoS 2/ionic liquid composite and decorated with gold nanoparticles for voltammetric sensing of dopamine, *Microchimica Acta*, 185 (3), 166.

Zomkowski, A. D., Santos, A. R. S. ve Rodrigues, A. L. S., 2006, Putrescine produces antidepressant-like effects in the forced swimming test and in the tail suspension test in mice, *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*, 30 (8), 1419-1425.

Zoumas-Morse, C., Rock, C. L., Quintana, E. L., Neuhouser, M. L., Gerner, E. W. ve Meyskens Jr, F. L., 2007, Development of a polyamine database for assessing dietary intake, *Journal of the American Dietetic Association*, 107 (6), 1024-1027.

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı : Ayşe Betül ALTUN
Uyruğu : T.C.
Doğum Yeri ve Tarihi : ILGIN/ 29.08.1988
Telefon :
Faks :
e-mail : abetul88@hotmail.com

EĞİTİM

Derece		Adı, İlçe, İl	Bitirme Yılı
Lise	:	Özel Güventaş Lisesi Selçuklu, Konya	2005
Üniversite	:	Afyon Kocatepe Üniversitesi Afyonkarahisar	2009
Yüksek Lisans	:	Selçuk Üniversitesi, Selçuklu, Konya	
Doktora	:		

İŞ DENEYİMLERİ

Yıl	Kurum	Görevi

UZMANLIK ALANI

YABANCI DİLLER

Ingilizce

BELİRTMEK İSTEĞİNİZ DİĞER ÖZELLİKLER

YAYINLAR

ULUSLARARASI BİLİMSEL TOPLANTILARDA SUNULAN BİLDİRİLER

Ayşe Betul ALTUN, Zehra Ozden ERDOGAN, Semahat KUCUKKOLBAŞI (2019) A Highly Sensitive Putrescine Sensor Based on CoS/TiO2 Modified Glassy Carbon Electrode in Food Samples. 4th International Congress on Biosensors-2019 (Özet Bildiri/Poster)

Ayse Betul Altun, Zehra Ozden Erdogan, Semahat Kucukkolbası (2019) Dırect Electrochemıcal Sensıng And Detectıon Of Carnosıc Acıde In Rosemary Extract As A Food Addıtıve. 2nd Internatıonal Conference On Lıfe And Engıneerıng Scıences, İstanbul, Turkey Icoles 2019 (Özet Bildiri/Sözlü Sunum)

Erdogan Zehra Özden,Altun Ayse Betül,Yazıcıgıl Zafer,Küçükkolbası Semahat (2018). A joint analysis of electrochemical impedance, cyclic voltammetry and pulse voltammetry data. NANO-2018 (Özet Bildiri/Poster)(Yayın No:5026242)

ULUSAL BİLİMSEL TOPLANTILARDA SUNULAN BİLDİRİLER

Altun Ayse Betül, Erdogan Zehra Özden,Akın Ilker,Küçükkolbası Semahat (2018). Nanomalzemelere Dayalı Elektrot Materyallerinin Gelistirilmesi Ve Elektrokimyasal Putresin Sensörü Olarak Kullanılabilirliginin Arastırılması. 9. Ulusal Analitik Kimya Kongresi (Özet Bildiri/Poster)(Yayın No:5026314)

E.,Karakurt, A.,B.,Altun, Z., Ö., Erdoğan**,** S.,Küçükkolbaşı, "Ondansetron Hidroklorür İçeren İlaçlarda UV Spektrofotometri Metodu ile Miktar Tayini" 8.Ulusal Kimya Öğrenci Kongresi, **poster sunum**,pa.2, 16-18 Mayıs 2017, İstanbul