

**T.C.
HİTİT ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ
KİMYA ANABİLİM DALI**

**NANOİPET ÜRETİMİ VE ARAYÜZEY
UYGULAMALARI**

Yüksek Lisans Tezi

Şahime Gülşah PAK

Çorum 2021

NANOİPET ÜRETİMİ
VE
ARAYÜZEY UYGULAMALARI

Şahime Gülşah PAK

Lisansüstü Eğitim Enstitüsü

Kimya Anabilim Dalı

Yüksek Lisans Tezi

DANIŞMAN

Prof. Dr. Faruk GÖKMEŞE

Çorum 2021

Şahime Gülşah PAK tarafından hazırlanan “Nanopipet Üretimi ve Arayüzey Uygulamaları” adlı tez çalışması .../.../..... tarihinde aşağıdaki jüri üyeleri tarafından oy birliği ile Hitit Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı’nda Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Faruk GÖKMEŞE

Prof. Dr. Ebru GÖKMEŞE

Doç. Dr. Kaan KEÇECİ

Hitit Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Yönetim Kurulunun .../.../..... tarihli ve sayılı kararı ile Şahime Gülşah PAK’ın Kimya Anabilim Dalı’nda Yüksek Lisans derecesi alması onanmıştır.

Prof. Dr. Muhammed Asif YOLDAŞ

Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Müdürü

TEZ BEYANI

Tez içindeki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edilerek sunulduğunu, ayrıca tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiksiz atıf yapıldığını beyan ederim.

Şahime Gülşah PAK

NANOİPET ÜRETİMİ VE ARAYÜZEY UYGULAMALARI

Şahime Gülşah PAK

HİTİT ÜNİVERSİTESİ

LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

ŞUBAT 2021

ÖZET

Bu çalışmada, lazer tabanlı bir çekme cihazında uygun parametreler seçilerek nanopipet üretimi yapılmıştır. Üretilen nanopipetlerin optik mikroskopta görüntüleri alınmıştır. Dönüşümlü voltametri (CV) tekniği ile nanopipetlerin yarıçapları yaklaşık olarak hesaplanmıştır. Ayrıca nanopipetlerin yüzey görüntüleri taramalı elektron mikroskopyu (SEM) ile alınmıştır.

Nanopipetlerin, nanoskopik sıvı/sıvı arayüzeylerde iyon transferleri dönüşümlü voltametri (CV) tekniği ile elektrokimyasal olarak incelenmiştir. Silanlanmış ve silanlanmamış nanopipetlerin sıvı/sıvı arayüzeylerindeki iyon transferleri incelenmiş ve karşılaştırma yapılmıştır.

Anahtar Kelimeler: Nanopipet, dönüşümlü voltametri (CV), sıvı/sıvı arayüzey, iyon transferi, silanlama

NANOPIPETTE PRODUCTION AND INTERFACE APPLICATIONS

Şahime Gülşah PAK

HITIT UNIVERSITY

GRADUATE EDUCATION INSTITUTE

ŞUBAT 2021

ABSTRACT

In this study, nanopipette was produced by selecting suitable parameters in a laser based pulling device. Images of the produced nanopipettes were taken under optical microscope. The radii of the nanopipettes were calculated approximately using the cyclic voltammetry (CV) technique. In addition, surface images of the nanopipettes were taken with a scanning electron microscope (SEM).

Ion transfers of nanopipettes at nanoscopic liquid/liquid interfaces were electrochemically investigated using cyclic voltammetry (CV) technique. The ion transfers at the liquid/liquid interfaces of silanized and non-silanated nanopipettes were examined and compared.

Keywords: Nanopipette, cyclic voltammetry (CV), liquid/liquid interface, ion transfer, silanized.

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans çalışmamın danışmanlığını kabul eden ve çalışmamın her aşamasında değerli bilgilerini ve önerileri ile beni yönlendiren her konuda bana destek olup yardımlarını esirgemeyen Kimya Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Sayın Hocam Prof. Dr. Faruk GÖKMEŞE'ye sonsuz saygı ve şükranlarımı sunarım.

Yüksek lisans eğitimim boyunca, bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım ve tezin hazırlanmasında yardımlarını esirgemeyen, maddi ve manevi her zaman yanımda olan Kimya Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Sayın Hocam Prof. Dr. Ebru GÖKMEŞE'ye teşekkür ederim.

Bana karşı anlayışını hiç kaybetmeyen, hayatıma girdiği günden beri maddi ve manevi desteğini hiç esirgemeyen ve her daim yanımda olacağını bildiğim sevgili eşim Hakan PAK'a sonsuz teşekkür ederim.

Emeklerini hiçbir zaman ödeyemeyeceğim, bugünlere gelmemi sağlayan, beni her zaman seven, koruyan ve maddi manevi her daim arkamda duran sevgili aileme çok teşekkür ederim.

Bu tez çalışmasına, FEF19004.19.001 numaralı proje kapsamında vermiş oldukları destekten dolayı, Hitit Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü'ne teşekkür ederiz.

Annem ve Babam 'a

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET.....	iv
ABSTRACT.....	v
TEŞEKKÜR.....	vi
İÇİNDEKİLER.....	ix
ÇİZELGELER.....	xii
ŞEKİLLER.....	xiii
RESİMLER.....	xviii
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	xviii
1. GİRİŞ.....	1
2. KURAMSAL TEMELLER VE KAYNAK ARAŞTIRMASI.....	4
2.1. Nanoteknoloji.....	4
2.2. Elektrokimya.....	8
2.2.1. Voltametri.....	10
2.2.2. Çalışma Elektrotları.....	23
2.2.3. Voltametricde Kullanılan Çalışma Elektrotları.....	24
2.2.4. Referans Elektrot.....	26
2.2.5. Karşıt Elektrot.....	26
2.3. Mikroelektrotlar.....	27
2.4. Ultramikroelektrotlar (UME).....	29
2.5. Naoelektrotlar.....	30
2.6. Nanopipetler.....	32
2.7. Nano Destekli Birbirine Karışmayan İki Elektrolit Arasındaki Arayüz (ITIES)	33
2.8. Nanopipet Üretimi.....	36

2.8.1. Nanopipet Üretimini Etkileyen Faktörler	38
2.8.2. Nanopipetlerin Parlatılması	39
2.8.3. Nanopipetlerin Silanlanması.....	40
2.8.4. Nanopipetlerin Karakterizasyonu	41
2.9. Nanopipetlerin Elektrokimyası ve Elektrokimyasal Ölçümler.....	45
2.10. Nanopipetlerin Kullanım ve Uygulama Alanları	47
3. MATERYAL VE YÖNTEM	50
3.1. Materyal.....	50
3.1.1 Mikropipet Çekme Cihazı.....	50
3.1.2. Mikropipet Parlatma Cihazı.....	51
3.1.3. Mikroskop.....	52
3.1.4. Elektrokimyasal Ölçme Sistemi.....	53
3.1.5. Kullanılan Malzemeler ve Kimyasallar	53
3.1.6. Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM).....	53
3.2. Yöntem	55
4. ARAŞTIRMA SONUÇLARI VE TARTIŞMA	57
4.1. Borosilikat Cam Pipet Üretimi	57
4.2. Nanopipetlerin Optik Mikroskop Görüntüleri.....	61
4.2.1. Parlatılmamış Nanopipetlerin Optik Mikroskop Görüntüleri.....	61
4.2.2. Parlatılmış Nanopipetlerin Optik Mikroskop Görüntüleri.....	62
4.3. Parlatmanın Nanopipetler Üzerindeki Etkisi.....	63
4.4. Nanopipetlerin Dönüşümlü Voltametri Sonuçları.....	64
4.4.1. Silanlanmamış Nanopipetlerin Voltametrik Karakterizasyon Sonuçları ..	65
4.4.2. Silanlanmış Nanopipetlerin Voltametrik Karakterizasyon Sonuçları.....	71
4.4.3. Silanlanmamış ve Silanlanmış Nanopipetlerin Voltametrik Karakterizasyonu	78

4.5. Nanopipetlerin SEM Görüntüsü	81
5. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	84
KAYNAKLAR	87
ÖZGEÇMİŞ	92

ÇİZELGELER

Çizelge	Sayfa
Çizelge 4.1. Nanopipet üretimi için cihaz parametreleri.....	59
Çizelge 4.2. Silanlanmamış nanopipet (1) yarıçap hesaplamaları	67
Çizelge 4.3. Silanlanmamış nanopipet (2) yarıçap hesaplamaları	69
Çizelge 4.4. Silanlanmamış nanopipet (3) yarıçap hesaplamaları.	71
Çizelge 4.5. Silanlanmış nanopipet (1) yarıçap hesaplamaları.	74
Çizelge 4.6. Silanlanmış nanopipet (2) yarıçap hesaplamaları.	76
Çizelge 4.7. Silanlanmış nanopipet (3) yarıçap hesaplamaları.	78

ŞEKİLLER

Şekil	Sayfa
Şekil 2. 1. Elektroanalitik yöntemlerin sınıflandırılması	9
Şekil 2. 2. Voltametrik çalışmalar için sistem.....	11
Şekil 2. 3. Voltametri de kullanılan ve potansiyelin zamanla değişimini gösteren uyarma sinyalleri.....	12
Şekil 2. 4. Doğrusal taramalı voltamogram	13
Şekil 2. 5. a) Normal puls voltametri de uygulanan potansiyelin zamanla değişimi b) Normal puls voltametri de akım-potansiyel eğrisi.....	14
Şekil 2. 6. a) Zamanla artan bir doğru akım potansiyeline sabit genlikli pulsların uygulanması b) Diferansiyel puls polarografisinde elde edilen akım-potansiyel eğrisi.....	15
Şekil 2. 7. Kare dalga voltametrisinde basamaklı sinyal gösterimi.....	16
Şekil 2. 8. Dönüşümlü voltametri de potansiyelin zamanla değişimi	17
Şekil 2. 9. Dönüşümlü voltamogram, pik potansiyelleri ve pik akımları.....	18
Şekil 2. 10. CV’de akım potansiyel eğrisi.....	20
Şekil 2. 11. Dönüşümlü voltametri de pik akımının tarama hızının karekökü ile değişimi.....	22
Şekil 2. 12. Voltametrik çalışma elektrotlarının genel sınıflandırılması.....	24
Şekil 2. 13. Pt, Hg ve C elektrotları için farklı destek elektrolit ortamlarında çalışılan potansiyel aralıkları.....	25
Şekil 2. 14. a) Ag/AgCl elektrot b) Hg/Hg ₂ Cl ₂ kalomel elektrot.....	26
Şekil 2. 15. Platin karşıt elektrot.....	27
Şekil 2. 16. Yarı küresel, düzgünleştirilmiş disk ve aşındırılmış disk elektrotlar.....	31
Şekil 2. 17. Nanopipet destekli ITIES’de gerçekleşen elektrostatik etkileşimlerin çift tabaka üzerine etkisinin şematik olarak gösterimi.....	35
Şekil 2. 18. Lazer pipet çekme cihazı kullanarak nanopipet üretiminde yer alan adımların şematik gösterimi.....	36
Şekil 2. 19. Nanopipet geometrisinin şematik diyagramı.....	42
Şekil 2. 20. a) Bir nanopipet ucunun geometrik gösterimi ve b) Farklı yüzey yükleri ile nanopipetlerin akım düzeltilmesi gösterilmektedir.....	45
Şekil 3.1. Nanopipet üretiminin şematik gösterimi.....	55

- Şekil 4.1. Silanlanmamış nanopipet (1), su/DCM arayüzeyinden TEA⁺'nın aktarımının akım-potansiyel grafiği. $M_{Su}= 0,03mM$, $M_{DCM} = 3mM$, $v= 50 mV/s$ 66
- Şekil 4.2. Silanlanmamış nanopipet (2) su/DCM arayüzeyinden TEA⁺'nın aktarımının akım-potansiyel grafiği. $M_{Su}= 0,03mM$, $M_{DCM}= 3mM$, $v= 50 mV/s$ 68
- Şekil 4.3. Silanlanmamış nanopipet (3) su/DCM arayüzeyinden TEA⁺'nın aktarımının akım-potansiyel grafiği. $M_{Su}= 0,03mM$, $M_{DCM}= 3mM$, $v= 50 mV/s$ 70
- Şekil 4.4. Silanlanmış nanopipet (1) su/DCM arayüzeyinden TEA⁺'nın aktarımının akım-potansiyel grafiği. $M_{Su}= 0,03mM$, $M_{DCM}= 3mM$, $v= 50 mV/s$ 73
- Şekil 4.5. Silanlanmış nanopipet (2) su/DCM arayüzeyinden TEA⁺'nın aktarımının akım-potansiyel grafiği. $M_{Su}= 0,03mM$, $M_{DCM}= 3mM$, $v= 50 mV/s$ 75
- Şekil 4.6. Silanlanmış nanopipet (3) su/DCM arayüzeyinden TEA⁺'nın aktarımının akım-potansiyel grafiği. $M_{Su}= 0,03mM$, $M_{DCM}= 3mM$, $v= 50 mV/s$ 77
- Şekil 4.7. Silanlanmamış nanopipetin su/DCM arayüzeyinden TEA⁺'nın aktarımının akım-potansiyel grafiği. $M_{Su}= 0,03mM$, $M_{DCM}= 3mM$, $v= 50 mV/s$ 79
- Şekil 4.8. Silanlanmış nanopipetin su/DCM arayüzeyinden TEA⁺'nın aktarımının akım-potansiyel grafiği. $M_{Su}= 0,03mM$, $M_{DCM}= 3mM$, $v= 50 mV/s$ 80
- Şekil 4.9. Silanlanmış (kırmızı) silanlanmamış (mavi) nanopipetlerden elde edilen su/DCM arayüzeyinden TEA⁺'nın aktarımının akım-potansiyel grafiği. $M_{Su}= 0,03mM$, $M_{DCM}= 3mM$, $v= 50 mV/s$ 80

RESİMLER

Resim	Sayfa
Resim 2. 1. Nanopipetin tanımlanmış bölgeleri.....	32
Resim 2. 2. Bir nanopipet oluşturmak için cam kapilerin lazerle ısıtma ve çekme işlemi gösterilmektedir.....	37
Resim 2. 3. A) Parlatılmamış ve B) Parlatılmış nanopipetin SEM görüntüsü.....	39
Resim 2. 4. Aşırı silanlanmış bir nanopipetin SEM görüntüsü.....	40
Resim 2. 5. Sırasıyla silanlanmış ve silanlanmamış bir nanopipetin SEM görüntüsü.....	41
Resim 2. 6. Kuvars camdan üretilen bir nanopipetin TEM görüntüsü.....	43
Resim 3.1. P-2000 lazer tabanlı mikropipet çekme cihazı.....	50
Resim 3.2. BV-10 mikropipet parlatma cihazı.....	51
Resim 3.3. Mikroskop.....	52
Resim 3.4. Taramalı elektron mikroskobu.....	54
Resim 3.5. Akım-potansiyel ölçüm düzeneği.....	56
Resim 4.1. a) Filamentsiz ve b) Filamentli borosilikat cam (x4 optik büyütme).....	57
Resim 4.2. Lazer tabanlı mikropipet cihazına ortalanarak yerleştirilmiş borosilikat cam kapiler.....	58
Resim 4.3. Değişik parametrelerde elde edilen nanopipetlerin optik mikroskopta x4 büyütmedeki görüntüleri.....	60
Resim 4.4. Heat;420, Filament;4, Velocity;13, Delay;130, Pull;120 parametreleri kullanılarak çekilen nanopipetin parlatılmamış uç kısmının optik mikroskopta sırasıyla x4, x10, x40, x100 büyütmede görüntüleri.....	61
Resim 4.5. Heat;420, Filament;4, Velocity;13, Delay;130, Pull;120 parametreleri kullanılarak çekilen nanopipetin parlatılmış uç kısmının optik mikroskopta sırasıyla x4, x10, x40, x100 büyütmede görüntüleri.....	62
Resim 4.6. Düzgün parlatılmamış nanopipetin SEM görüntüsü.....	63
Resim 4.7. Düzgün parlatılmış nanopipetin SEM görüntüsü.....	63
Resim 4.8. Doldurulmuş ve metal tel yerleştirilmiş nanopipetin görüntüsü.....	64
Resim 4.9. Heat;420, Filament;4, Velocity;13, Delay;130, Pull;120 parametreleri kullanılarak çekilen parlatılmamış nanopipet (1) uç kısmının optik mikroskopta a)x40 ve b)x100 büyütmede görüntüleri.....	65

Resim 4.10. Heat;420, Filament;4, Velocity;13, Delay;130, Pull;120, parametreleri kullanılarak çekilen parlatılmış ve silanlanmamış nanopipet (1) uç kısmının optik mikroskopta a)x40 ve b)x100 büyütmede görüntüleri.	66
Resim 4.11. Parlatılmamış nanopipet (2) uç kısmının optik mikroskopta a)x40 ve b)x100 büyütmede görüntüleri.	67
Resim 4.12. Parlatılmış ve silanlanmamış nanopipet (2) uç kısmının optik mikroskopta a)x40 ve b)x100 büyütmede görüntüleri.	68
Resim 4.13. Parlatılmamış nanopipet (3) uç kısmının optik mikroskopta a)x40 ve b)x100 büyütmede görüntüleri.	69
Resim 4.14. Parlatılmış ve silanlanmamış nanopipet (3) uç kısmının optik mikroskopta a)x40 ve b)x100 büyütmede görüntüleri.	70
Resim 4.15. Heat;420, Filament;4, Velocity;13, Delay;130, Pull;120 parametreleri kullanılarak çekilen parlatılmamış nanopipet (1) uç kısmının optik mikroskopta a)x40 ve b)x100 büyütmede görüntüleri.	72
Resim 4.16. Heat;420, Filament;4, Velocity;13, Delay;130, Pull;120, parametreleri kullanılarak çekilen parlatılmış ve silanlanmış nanopipet (1) uç kısmının optik mikroskopta a)x40 ve b)x100 büyütmede görüntüleri.	73
Resim 4.17. Parlatılmamış nanopipet (2) uç kısmının optik mikroskopta a)x40 ve b)x100 büyütmede görüntüleri.	74
Resim 4.18. Parlatılmış ve silanlanmış nanopipet (2) uç kısmının optik mikroskopta a)x40 ve b)x100 büyütmede görüntüleri.	75
Resim 4.19. Parlatılmamış nanopipet (3) uç kısmının optik mikroskopta a)x40 ve b)x100 büyütmedeki görüntüleri.	76
Resim 4.20. Parlatılmış ve silanlanmış nanopipet (3) uç kısmının optik mikroskopta a)x40 ve b)x100 büyütmede görüntüleri.	77
Resim 4.21. Heat;420, Filament;4, Velocity;13, Delay;130, Pull;120, parametreleri kullanılarak çekilen nanopipetin parlatılmamış uç kısmının optik mikroskopta a)x40 ve b)x100 büyütmede görüntüleri.	78
Resim 4.22. Heat;420, Filament;4, Velocity;13, Delay;130, Pull;120, parametreleri kullanılarak çekilen parlatılmış ve silanlanmış nanopipetin uç kısmının optik mikroskopta a)x40 ve b)x100 büyütmede görüntüleri.	79
Resim 4.23. Nanopipet (1) SEM görüntüsü.	81

Resim 4.24. Yaklaşık 262,7 nm uç iç çapına sahip nanopipetin SEM görüntüsü.....	81
Resim 4.25. Nanopipet (2) SEM görüntüsü.....	82
Resim 4.26. Yaklaşık 725,3 nm uç iç çapına sahip nanopipetin SEM görüntüsü.....	82

SİMGELER VE KISALTMALAR**Simgeler**

A	Elektrot yüzey alanı
a	Nanopipet iç yarıçapı
Ag	Gümüş
AgCl	Gümüş klorür
AgNO ₃	Gümüş nitrat
AgTPBCl	Tetrakis (4-klorofenil) borat
C	Derişim
C	Karbon
cm	Santimetre
cm ²	Santimetrekare
cm ³	Santimetreküp
CO ₂	Karbondioksit
D	Difüzyon katsayısı
DCM	Diklorometan
E _{1/2}	Yarı dalga potansiyeli
E ^o	Standart elektrot potansiyeli
E _p ^a	Anodik pik potansiyeli
E _p ^k	Katodik pik potansiyeli
F	Faraday sabiti
H ₂ O ₂	Hidrojen peroksit

H_2SO_4	Sülfürik asit
Hg	Cıva
Hg_2Cl_2	Cıva (I) klorür
HgO	Cıva (II) oksit
$HgSO_4$	Cıva (II) sülfat
HNO_3	Nitrik asit
I_p	Pik akımı
I_p^k	Katodik pik akımı
I_p^a	Anodik pik akımı
i_d	Belirli bir elektrokimyasal yöntem için karakteristik kütle transfer akımı
i_s	Sınır akımı
i_{ss}	Kararlı durum akımı
k^0	Standart heterojen oran sabiti
KCl	Potasyum klorür
LiCl	Lityum klorür
M	Molar
mm	Milimetre
mM	Milimolar
ms	Milisaniye
mV	Milivolt
n	Aktarılan elektron sayısı

NaOH	Sodyum hidroksit
NB	Nitrobenzen
nm	Nanometre
NPOE	o-nitrofenil oktil eter
n_{α}	Hızı belirleyen basamakta aktarılan elektron sayısı
Pt	Platin
R	Düzeltilme katsayısı
r	Mikroelektrot yarıçapı
r_g	Nanopipet ucundaki cam kalınlığı
s	Saniye
SiO ₂	Silisyumdioksit
t	Zaman
TEACl	Tetraetilamonyumklorür
v	Tarama hızı
V	Volt
x	Disk şeklindeki arabirimler için ifade edilen r_g/a 'nın bir fonksiyonudur.
z	Aktarılan iyonun yükü
α_c	Elektrot reaksiyonun transfer katsayısı
θ	Pipet açısı
μm	Mikrometre
1,2-DCE	1,2-Dikloroetan

Kısaltmalar

AFM	Atomik Kuvvet Mikroskobu
CV	Dönüşümlü Voltametri
DCE	Damlayan Cıva Elektrot
DNA	Deoksiribo Nükleik Asit
FEM	Sonlu Elemanlar Metodu
FIT	Kolaylaştırılmış İyon Transferi
HPCL	Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografi
IR	Ohmik Düşüş
ITIES	Birbirine Karışmayan İki Elektrolit Arasındaki Arayüz
PEG	Polietilenglikol
SECCM	Taramalı Elektrokimyasal Hücre Mikroskopisi
SECM	Taramalı Elektrokimyasal Mikroskopisi
SEM	Taramalı Elektron Mikroskopisi
SICM	İyon İletkenlik Mikroskopisi
SPM	Tarama Sistemi Mikroskopi
STM	Taramalı Tünelleme Mikroskopu
TEM	İletim Elektron Mikroskopu
UME	Ultramikroelektrot

1. GİRİŞ

Bilim, belirli bir konuyu bilme isteğinden yola çıkarak bilgi edinme ve yöntemi araştırma sürecidir. Geçmişten günümüze kadar hayatın her alanında yer alan bilim, insanların daha iyi yaşam koşullarına kavuşmasına, bilinmeyen olguları bulmasına ve yeni bilgiler öğrenmesine önayak olmuştur. Bilimin her alanda gelişmesi kimya biliminin de büyümesine olanak sağlamıştır. Kimya, maddenin yapısını ve davranışlarını inceleyen bir bilim dalıdır ve çok çeşitli araştırma alanlarının sahibi olmuştur. Kimyanın önemli alt dallarından olan Analitik Kimya'nın amacı, maddenin kimyasal bileşenlerinin ya da kimyasal bileşenlerinden bir bölümünü nitelik ve nicelik bakımından incelemektir. Analitik Kimya, farklı maddeleri tanımak ve maddelerin bileşenlerini tayin etmek için gerekli olan kimyasal işlemlerin bilimsel veya teknik amaçla kullanıldığı bir alandır.

Sürekli değişen ve gelişen bilim dünyasında; bilim ve teknoloji terimleri bir arada kullanılmaya başlanmış ve bu kavramların birlikte değerlendirilmesi olumlu yaklaşımlar sağlamıştır. Nanoteknoloji hızla gelişen araştırma alanları içerisinde önemli bir yer kaplamaktadır. Nanoteknolojiye olan ilgi ise maddenin nano ölçekte gösterdiği kuantum ve yüzey olaylarından kaynaklanmaktadır. Gelişen bu teknoloji sayesinde mevcut teknolojiler ile elde edilen ürünlerin boyutları küçültülerek daha ileri düzeyde sistemlerin oluşmasına olanak sağlanmaktadır. Analitik Kimya alanındaki araştırmacılar, madde bileşenleri yapısı hakkındaki sorulara cevap bulmak ve eski analiz yöntemlerini değiştirmek ve yeni analiz yöntemleri bulmak için nanoteknolojiden yararlanmışlardır. Özellikle elektrokimya, nanoteknolojinin uygulama alanlarından biri olmuştur. Nanoboyutta küçültme ile araştırmacılar hayal edilemeyecek sonuçlara ulaşarak son on yılda mikro ve nanoteknolojiler ile birçok alanda gelişmeler kaydetmişlerdir. Elektrokimyasal tekniklerle mikroelektronik, sensörler, malzeme bilimi ve korozyon; ayrıca biyoloji, tıp ve mikroelektronik arasındaki etkileşimi teşvik etmek için yeni araştırma alanları oluşturulmuştur. Bu tür etkileşimler minyatürleşmeye yeni yaklaşımlar getirmiş ve yüksek yanıl ve dikey çözünürlüğe sahip yapılar üretme kabiliyetini artırmıştır (Osaka ve ark., 2010). Bu bilgilere dayanılarak nanoteknolojinin insanlık yararına, yaşamın anlaşılmasında ileriye doğru atılmış önemli bir adım olduğu söylenebilir.

Pipetler, laboratuvar çalışmalarında ve bilimsel araştırmalarda kullanılan önemli malzemelerdir. Pipetler sıvıların bir kaptan diğere keskin ve ölçülebilir miktarda aktarılmasını sağlar. 1800'lü yılların sonlarında bilimsel bir araç olarak laboratuvarlarda yerini alan pipetler, 1950'li yılların sonlarında ise gelişmiş modelleri ile kullanılmaya başlanmıştır. İlk olarak Fransız Biyolog Louis Pasteur, pastörizasyon süreci ile ilgili çalışmalarda pastör pipetleri (veya transfer pipetleri), bulaşma korkusu olmadan sıvıları emmek ve dağıtmak için kullanmıştır.

Pistonla çalışan plastik uçlu ilk mikropipet, 1957 yılında Marburg Üniversitesi'nde doktora sonrası Heinrich Schnitger tarafından icat edilmiş ve patentlenmiştir. 1961 yılında ise mikropipetlerin ticari üretimine başlanmıştır. Basit, ince ve kullanışlı mikropipetler, küçük sıvı hacimlerinin çekilmesinde devrim niteliği oluşturmuştur. Mikro hacim transferini hızlı sağlayarak biyokimyasal, tıbbi, moleküler ve hücre çalışmaları ve biyoloji biliminde en çok kullanılan araç haline gelmiştir. Nichiryō, Japonya'da "Justor" adlı mikropipetin yerli üretimini 1975 yılında piyasaya süren ilk şirkettir. Bu mikropipetleri Japonya tasarlamaya, üretmeye ve satmaya devam etmiştir.

Son zamanlarda bilim alanındaki gelişmeler sebebiyle çok küçük boyutlarda pipetlerin üretimine ihtiyaç duyulmuştur (Morris ve ark., 2010). Bu ihtiyacı karşılamak ve çok küçük hacimlerin kontrollü çekilmesi, elektrokimyasal ve optik sensörlerin geliştirilmesi için nanopipetler üretilmeye başlanmıştır. Nanopipetler, genellikle borosilikat ve kuvars cam kapilerden bir çekme cihazı ile imal edilirler. Uç çapları 200 nm'den az olan ve iğne benzeri geometriye sahip pipetler olarak tanımlanmaktadır.

Nanopipetler, hücre yüzeylerinin elektrokimyasal görüntülemesinin yanı sıra hücre altı seviyelerde biyomoleküllerin ölçümü, nanoenjeksiyon ve nanobiyopsi gibi uygulama alanlarına sahiptir. Nanopipetlerde doğrusal olmayan akım düzeltmesi ve iyon transferi kinetiğinin kararlı hal voltametri ölçümlerinin yapılmasından itibaren hücresel ve moleküler biyoloji ve biyokimya dahil olmak üzere çeşitli araştırma alanlarında yaygın olarak kullanılmıştır.

Nanopipetlerin, analitik kimya, nanofizyoloji, moleküler teşhis ve hücre biyoloji gibi farklı alanlarda uygulamaları olması nedeniyle bilimsel çalışmalarda ilgiyi artırmıştır. Nanopipetler, elektrokimyasal biyosensörlerin geliştirilmesinde de yaygın olarak kullanılmaktadır. Son zamanlarda teknoloji ve araştırma alanlarındaki gelişmeler sayesinde işlevsel hale getirilen nanopipetler, tek hücre içindeki değişikliklerin nicel ölçümlerini gerçekleştirmek için kullanmaya başlanmıştır. Ayrıca hücre içi seviyelerde pikolitre hacimleri aspire ve enjekte etmek için de kullanılmıştır. Nanopipetlerin, taramalı elektrokimyasal mikroskopi ve iyon iletkenlik mikroskobu gibi tarama sistemi mikroskobu (SPM) teknikleriyle yumuşak materyalleri görüntülemek için prob olarak kullanımı geniş çapta araştırılmıştır. Nanopipet teknolojisinin hem teknik hem de teorik yönlerindeki gelişmeler, kanser, diyabet ve Alzheimer hastalığı dahil çeşitli hastalıkların erken teşhisi ve tedavisi üzerinde derin bir etkiye sahiptir (Stanley ve Porumand, 2020).

Bu çalışmada amaç; öncelikle nanopipet üretimi yapılması ve su/diklorometan (DCM) nano arayüzeyinde üretilen nanopipetlerin dönüşümlü voltametri yöntemi kullanılarak iyon transferlerinin incelenmesidir. Nano arayüzeyi sahip olan nanopipetler, borosilikat cam kapilerden mikropipet çekme cihazı kullanılarak üretilmiştir. Nanopipetlerden daha iyi sonuçlar elde etmek için borosilikat cam kapiler piranha (H_2SO_4 : %30'luk H_2O_2 , 3:1) çözeltisi ile temizlenmiştir. Nanopipetlerin uç kısımlarının pürüzsüz hale getirmek için pipetler parlatma cihazında parlatılmış ve optik mikroskopta görüntüleri alınmıştır. Üretilen nanopipetler trimetilklorasilan çözeltisi ile silanlanmıştır. Uygun derişimde standart bir medyatör seçilerek, su ve organik çözücü ortamlarında hazırlanmıştır. Bu çalışmada medyatör olarak tetraetilamonyumiyodür seçilmiştir. Çalışma elektrodu görevi gören nanopipet, sulu çözelti ile doldurularak içerisine iletkenliği sağlamak için metal bir tel yerleştirilmiştir. Referans elektrot olarak ise Ag/AgCl elektrot kullanılmıştır. Su/diklorometan nano arayüzü, nanopipet elektrokimyasal hücreye yerleştirilerek oluşturulmuştur. Dönüşümlü voltametri (CV) tekniği kullanılarak nanopipetlerin yarıçapları yaklaşık olarak hesaplanmıştır. Son olarak üretilen nanopipetlerin yüzey görüntüleri taramalı elektron mikroskopisi (SEM) ile alınmıştır.

2. KURAMSAL TEMELLER VE KAYNAK ARAŞTIRMASI

2.1. Nanoteknoloji

"Nano" kelimesi Yunanca'da cüce anlamını taşımakta ve bilim çevreleri tarafından ise 'metrenin milyarda bir' ölçüsünün kısaltması olarak kullanılmaktadır. Matematiksel olarak ifade etmek gerekirse nanometre (nm) 10^{-9} metredir. Atomların büyüklüğü ise yaklaşık 0,1 nm (nanometrenin onda biri)'dir. Nanoölçeğinin ne kadar küçük bir ölçeği ifade ettiğini anlamak için, insan saç telinin çapının yaklaşık 100.000 nm civarında olduğu düşünülebilir. Nanoyapının büyüklüğünün 1-100 nanometre olduğu dikkate alınır ise nanoteknolojinin araştırma alanının atomlar ve moleküller düzeyinde olduğu açık bir şekilde görülmektedir.

Nanoteknoloji ise nanometre boyutuna inilerek maddenin kimyasal, fiziksel, biyolojik yapısının incelenip gerekli malzemenin üretilmesini hedeflemektedir. Maddenin atomik düzeyde işlenmesine, daha gelişmiş veya tamamen değişmiş malzemeler ve sistemler elde edilmesine olanak sağlamaktadır. Genel olarak nanoteknoloji, cihazların ve sistemlerin şekil ve büyüklüğünü nano boyutta tutarak yapıların tasarımı, karakterizasyonu, üretimi ve uygulamaları şeklinde tanımlanmaktadır. Nanoteknoloji; mühendislik, malzeme, kimya, fizik, elektrik-elektronik mühendisliği gibi birçok farklı alanları da ilgilendirmektedir.

Nanoteknoloji kavramını ilk kez Nobel ödüllü fizikçi Richard Feynman 1959 yılında, Amerikan Fizik Topluluğu'nun Kaliforniya Teknoloji Enstitüsünde (Caltech) gerçekleştirilen kongrede ortaya atmıştır. Kongredeki konuşmasında Feynman, "Atlarda kullanacak daha çok oda var" sözü ile nano boyuttaki gizeme değinmiştir. Feynman eğer atom ve molekül büyüklüklerinde imalat yapılabilirse birçok yeni keşiflerin ortaya çıkacağını bildirmiştir. Ayrıca, Feynman'ın bu konuşmasında böyle bir imalatın gerçekleşebilmesi için ilk başta nano ölçekte özel ölçme ve üretim yöntemlerinin geliştirilmesi gerektiğini belirtmiştir.

Atom ve moleküllerle oynayarak nano boyutta moleküler makinelerden bahseden ve yaptığı çalışmalarını Feynman'ın görüşlerine dayandıran diğer bir fizikçi ise Eric Drexler'dir. Drexler, moleküler imalata ait fikirlerini 1980 yılında yayınlanan "Moleküler imalata yönelik protein tasarımı" isimli makalesinde ortaya koymuştur.

1981’de “Engines of Creation: The Coming Era of Nanotechnology” isimli kitabı ile Drexler, moleküler yapılardan makinelere geçişi vurgularken, “atom ve moleküllerin kendiliğinden düzenlenen (self-assembly) mekanizmalar gibi davranarak nanoboyutta üretim görevlerini yerine getirmeleri” iddiasında bulunmuştur.

Nanoteknoloji terimini ise 1974 yılında Tokyo Bilim Üniversitesi’nden Norio Taniguchi kullanmıştır. 1981 yılında nanoteknolojinin gelişmesini sağlayan önemli bir buluş, iletken bir yüzeydeki atomların yerleri değiştirebilen Taramalı Tünelleme Mikroskopi (Scanning Tunneling Microscopy) olmuştur. Binnig G. ve Rohrer H. bu buluşlarıyla 1986’da Nobel Fizik Ödülleri kazanmışlardır. Aynı zamanlarda STM mikroskobunun bir türevi olan “Atomic Force Microscope” (AFM) geliştirilmiştir. Feynman’ın bahsetmiş olduğu cihazların 1980’lerde geliştirilmesi ve aynı zamanda gelişen bilgisayar kapasiteleri ile nano skalasında ölçüm ve modelleme yapılması mümkün olmuştur. Bu gelişmeyi 1986’da karbon nanotüplerin keşfi izlemiştir. Karbon nanotüpler, fullerene molekülünün esnetilmiş bir şekli olup benzer şekilde önemli özelliklere sahip, çelikten 100 kat daha güçlü ve ağırlığı çeliğin ağırlığının 6’da 1’i kadardır.

Birbirinden farklı yöntemler ile üretilen nano yapılar; tıp, sağlık, ilaç sanayisi, tekstil, elektronik, otomotiv, boya, gıda ve pil gibi alanlarda yaygın olarak kullanılmaktadır. Nano boyutlarda üretilen malzemelerin, daha hafif ve sağlam olması, programlanabilir olmaları, üretimlerinde daha az malzeme ve enerjiye ihtiyaç duymaları gibi önemli kazanımları dikkat çekmektedir. Son zamanlarda nanoelektronik, tıp, çevre, bilgisayar, uzay çalışmaları, biyoteknoloji, savunma alanlarında nano boyuttaki malzemeler üretilmeye başlanarak geniş kullanım alanı bulunmaktadır.

Nanoteknolojinin kullanım alanları;

- Tıpta, kanser hücreleri gibi belirli hücre tiplerine ilaç, ışık, ısı veya başka maddeler vermek için nanoparçacıklar kullanılmaktadır. Nanoparçacıklar, bu hücrelere doğrudan muamele ederek hastalıklı hücreleri tedavi edici şekilde tasarlanmaktadır. Bu teknik vücuttaki sağlıklı hücrelere verilen zararı azaltmakta ve hastalıkların daha erken teşhis edilmesini sağlamaktadır.

- Nanoteknolojinin, gıdaların yetiştirilmesinden paketlenmesine kadar olan aşamalarda gıda biliminin çeşitli yönleri üzerinde etkisi vardır. Gıda üretimi yapan şirketler sadece yemek değil aynı zamanda gıda güvenliğini ve gıdaların sağladığı faydalarda fark oluşturacak nanomalzemelere ihtiyaç duymaktadır.
- Malzemelerin nano ölçekte daha hafif ve sağlam ayrıca programlanabilir olması, daha az malzeme kullanılması, üretim aşamasında daha az enerji gereksinimi ve atık malzeme üretmemesi gibi avantajlar nano imalatta önemli hususlardır.
- Yakıt hücrelerinde, metanol gibi bir yakıttan katalizör yardımıyla hidrojen iyonlarını üretmek için maliyetini düşürmek ve yakıtların etkinliğini artırmak amacıyla nanoteknoloji kullanılmaktadır.
- Güneş enerjisinden elektrik enerji olarak yararlanabilmenin en bilinen yolu güneş pilleridir. Güneş pillerinde son yıllarda teknolojik olarak önemli ilerlemeler kat edilmesine rağmen maliyetler yüksek ve verim düşüktür. Nanoteknoloji ile daha düşük maliyette ve yüksek verimliliğe sahip güneş pilleri için çalışmalar yapılmaktadır. Nanoteknoloji ile yapılan pil çalışmalarında daha az yanıcı elektrot malzemesi, pillerin alev alma olasılığının azaltılması, bataryadan kullanılan güç ve bataryayı şarj etmek için gereken sürenin azalması gibi faydalar elektrot yüzeyinin nanopartiküller ile kaplanması sonucu elde edilir. Elektrodun yüzey alanını artırılarak elektrot ve akü içindeki kimyasallar arasında daha fazla akımın akmasına izin verilir.
- Nanoteknoloji, enerjinin verimli kullanılması, depolanması ve üretilmesinden dolayı uygulama alanlarını geliştirmektedir. Nanoteknolojiden yararlanarak üretilen otomobiller, hem az yakıt harcayacağı hemde çevreyi az kirleteceği için ekonomik olacaktır.
- Nanoteknoloji ile elektronik cihazların kapasitelerini artırma, ağırlıklarını ve güç tüketimini azaltma çalışmaları yapılmaktadır. Nanoölçekte elektronik devre elemanlarının üretilmesi ile bilgisayarların mimari olarak tasarımında büyük ölçüde gelişme sağlanacaktır. Nanoölçekteki devre elemanları daha az enerji ile üretildiği için bu bilgisayarlar daha küçük, daha hızlı ve kapasite bakımından daha üstün olacaklardır.

- Nano yapılı malzemeler daha hafif ve sağlam, sıcağa karşı da daha dayanıklı olmaları nedeniyle roket ve uzay istasyonlarının yapımında önemli rol oynamaktadır. Muhtemel uygulamalar; daha az enerji gerektiren, radyasyona karşı daha dayanıklı, yüksek verimli bilgisayarların yapımı, mikroölçekteki uzay araçlarında kullanılacak nanoölçekte aletler, nano yapılı algılayıcılar ve nano elektronik ile desteklenen uçuş sistemleri yapımı, ısıya dayanıklı nano yapılı kaplama malzemeleri olabilir.
- Biyosentezleme ve biyoişleme ile yeni kimyasal ve ecza malzemeleri üretilebilir. Biyolojik yapıtaşlarının, suni malzemelerin ve aygıtların içine yerleştirilmesi ile biyolojik işlev ve başka istenen özelliklere sahip malzemeler üretilebilir. Tarımda da nanoteknolojinin kullanım alanları vardır. Örneğin, bitkileri böceklere karşı korumak için moleküler seviyede kimyasalların geliştirilmesi; hayvanlar ve bitkilerin genlerinin, hayvanlar için ilaçların, DNA testleri için nanoölçekte kontrol yöntemlerinin geliştirilmesi sağlanabilir.
- Nanomalzemelerle yapılmış bazı aygıtlar daha hafif ve daha sağlam, daha uzun ömürlü olabilir, nano algılayıcılar ile zararlı gazlar ve radyoaktif sızıntı tespit edilebilir, nano ve mikro mekanik aygıtların birleştirilmesi ile nükleer savunma sistemleri kontrol edilebilir. Nanoteknoloji ürünü tekstil malzemeleri ile akıllı giyecekler yapılabilir.
- Nanoteknoloji disiplinler arası bir alandır. Fizik, Kimya, Biyoloji gibi temel bilimlerle Malzeme, Elektronik, Kimya, Makine ve Bilgisayar Mühendisliği gibi uygulamalı bilimlerin ortak alanına nanoteknoloji girmektedir. Bu nedenle, eğitim programlarında bu gelişmeye uygun olarak yeni düzenlemeler yapılması gerekmektedir.
- Nanoteknoloji yukarıda belirtilen uygulama alanları ile sınırlı değildir. Başka uygulama alanları da olabilir. Bunlardan bazıları; daha hafif ve daha emniyetli taşıma sistemleri geliştirilebilir; kirlilik ölçümleri, kontrolü, azaltıcı yöntemleri geliştirilebilir; güvenilir adli araştırmalar yapılabilir, kaliteli baskı işleri yapılabilir, kuantum özellikleri çeşitli işlerde, özellikle yeni ve devrimsel bilgisayar uygulamalarında kullanılabilir.

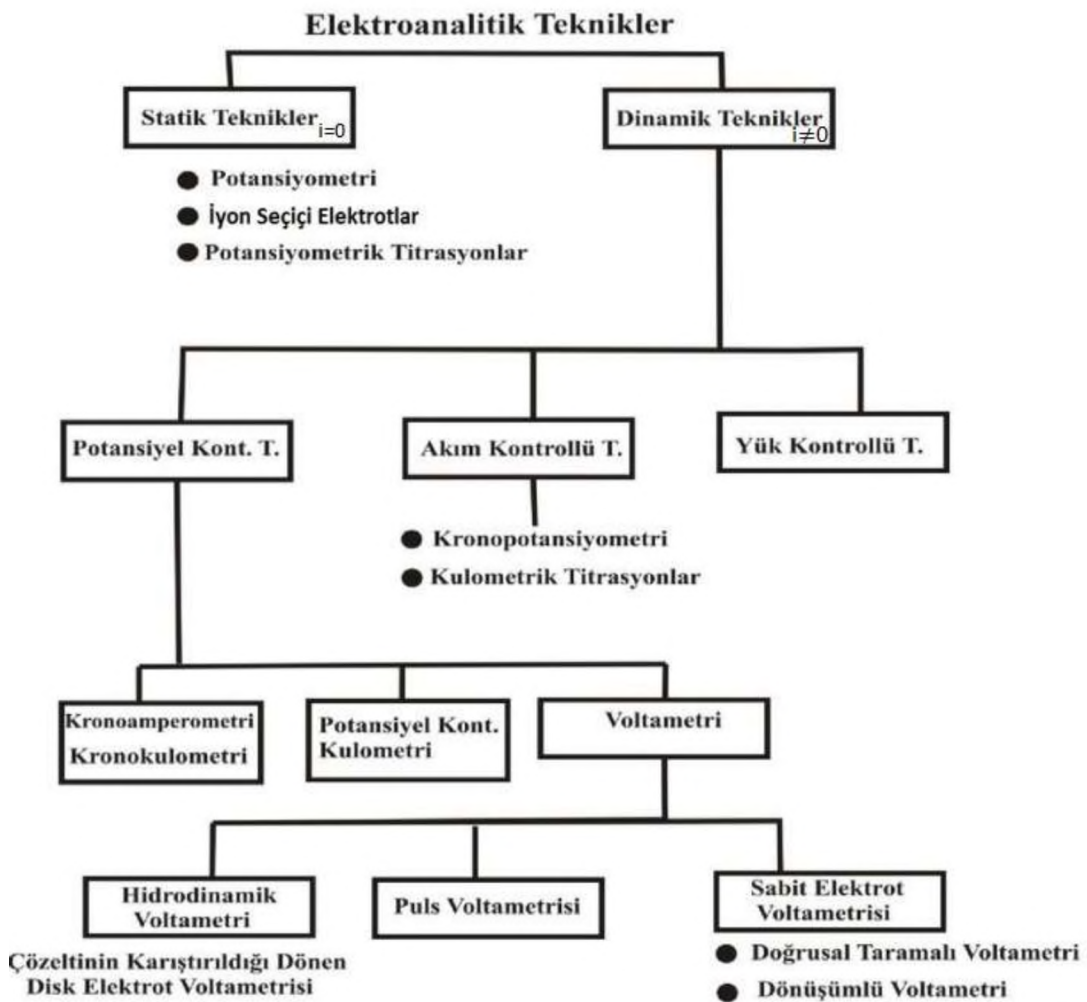
2.2. Elektrokimya

Elektrokimya, madde ile elektrik enerjisi arasındaki etkileşimi inceleyen bir bilim dalıdır. Maddenin elektrik enerjisinin kimyasal enerjiye dönüşmesi ve kimyasal enerjiden elektrik enerjisi üretebilmesi yükseltgenme ve indirgenme reaksiyonlarına bağlıdır. 1800 yılında Volta ilk kimyasal pili, tuz çözeltisine daldırılmış bez ya da kağıt parçalarını belirli sayıdaki gümüş ve çinko levhaların aralarına üst üste yerleştirmiştir. Gümüş ve çinko levhalara bağlanan tellerin birbirine değdirilmesi sırasında çıkan kıvılcıklardan, ilk kez sürtünme dışındaki bir olay ile elektriğin oluştuğu gözlenmiştir. Böylece elektriğin cansız varlıklar üzerinden ilerlediği anlaşılmıştır. Sonuçta, kimyasal enerji ilk defa elektriksel enerjiye dönüştürülmüştür (SarıkayaY., 2007).

Elektrokimyasal tepkimeler, yükseltgenme ve indirgenme türü tepkimeler olup elektron geçişi esasına bağlıdır. Elektrokimyasal işlemlerin gerçekleştiği hücre; analiz edilecek maddeyi içeren bir çözelti, bu maddenin kimyasal dönüşüme uğradığı elektrotlar ve bu elektrotları birbirine bağlayan bir dış devreden oluşur. Hücrede bulunan iyon veya molekül halindeki madde katotta elektron alarak indirgenir. Anot adı verilen elektrotta ise iyon veya molekül halindeki madde ya da elektrot malzemesinin kendisi elektron vererek yükseltgenir. Böylece elektrotlarda tepkimeye giren her bir tür, dış devrede belli sayıda elektronun iletilmesine neden olur. Elektrik akımı, elektrik yükünün iletilmesiyle oluşur. Elektrotları birbirine bağlayan devredeki metalik kısımlarda elektrik yükü elektronlar tarafından taşınır. Çözeltide ise elektrik yükünün taşınması iyonlar tarafından gerçekleştirilir.

Elektrokimyasal yöntemlerde, elektrot-çözelti sistemine bir elektriksel etki yapılarak sistemin verdiği cevap ölçülmektedir. Bu cevap sistemin özellikleri hakkında bilgi vermektedir. Elektroanalitik yöntemlerde; akım, potansiyel ve yük ile ilgili parametreler bulunmaktadır ve bu parametrelere tekniğin adında yer verilmektedir (Gökmeşe F., 2004). Bu yöntemlerde kullanılan çalışma elektrodunun türüne, akım veya potansiyelin sabit ya da değişken olmasına göre elektroanalitik yöntemler sınıflandırılabilir. Elektroanalitik yöntemlerle inorganik ve organik maddelerin kalitatif ve kantitatif tayinleri yapılmaktadır.

Elektroanalitik yöntemlerin çok çeşitli sınıflandırma yolları vardır. En yaygın olan elektroanalitik yöntemlerinin sınıflandırması Şekil 2.1’de şema halinde verilmiştir. Şemadan görüldüğü gibi elektroanalitik yöntemler genellikle net akımın sıfır olduğu denge durumundaki statik teknikler ve denge durumundan uzakta net akımın gözlemlendiği dinamik teknikler olmak üzere ikiye ayrılmaktadır. Dinamik teknikler çoğunlukla ya potansiyel kontrollü ya da akım kontrollüdür. Potansiyel veya akımın kontrol edildiği tekniklerde bu parametreler büyük genlikli veya küçük genlikli olarak uygulanır. Büyük genlikli teknikler diğerlerine göre daha yaygın olarak kullanılmaktadır (Gökmeşe F., 2004).



Şekil 2. 1. Elektroanalitik yöntemlerin sınıflandırılması (Yılmaz S., 2016).

Elektroanalitik yöntemler, diğer analitik yöntemlere göre bazı üstünlüklere sahiptirler:

- Diğer yöntemlerle analiz edilecek maddenin sadece toplam miktarı bulunurken, elektroanalitik yöntemlerle maddenin veya iyonun toplam miktarının yanı sıra yükseltgenme basamağı da tayin edilir.
- Elektroanalitik kimyada kullanılan cihazlar kromatografik ve spektroskopik cihazlara göre daha kullanışlı ve ekonomiktirler.
- Elektrokimyasal yöntemler, kimyasal türlerin derişimlerinden çok aktiflikleri hakkında bilgi verir.
- Elektroanalitik yöntemlerde numune hazırlama işlemi karmaşık değildir ve az miktarda numune ile çalışılabilir.

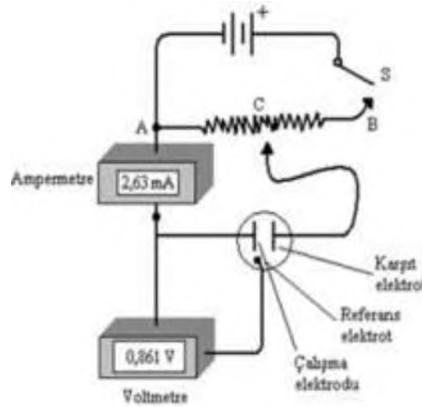
2.2.1. Voltametri

Çalışma elektrodunun polarize olduğu koşullarda (pozitif veya negatif olarak yüklendiği), uygulanan potansiyelin bir fonksiyonu olarak ölçülen akımdan faydalanarak, analit hakkında bilgi edinilen elektrokimyasal yöntemlere “voltametri” denir. Voltametricde çalışılan elektrotların yüzey alanları polarizasyonu sağlamak için birkaç milimetre kare olan mikroelektrotlar olarak seçilmiştir (Skoog ve ark., 2004). Voltametri, bir mikroelektroda uygulanan potansiyelin fonksiyonu olarak akımın ölçülmesine dayanan bir elektrokimyasal yöntemdir. Kullanılan elektrot katı elektrot veya asılı cıva damla elektrot ise yöntem voltametri, elde edilen akım potansiyel eğrisine ise voltamogram adını almaktadır. Kullanılan mikroelektrot damlayan cıva elektrot (DCE) ise yöntem polarografi ve elde edilen akım potansiyel eğrisine ise polarogram adını almaktadır. 1920’lerin başında Çekoslovak Kimyacı Heyrovsky özel bir teknik olan Polarografi’yi geliştirmiş ve 1959 yılında Nobel Kimya Ödülünü kazanmıştır.

Voltametri, çeşitli ortamlarda oluşan yükseltgenme ve indirgenme olaylarının incelenmesinde, yüzeydeki adsorpsiyon işlemlerinin ve kimyasal olarak modifiye edilmiş elektrot yüzeylerindeki elektron aktarım mekanizmaları gibi temel çalışmalar için yaygın olarak kullanılmaktadır (Skoog ve ark., 2004). Voltametri özellikle biyokimya, eczacılık, tıp ve çevre çalışmalarında önemli olan türlerin tayini için kullanılmaktadır.

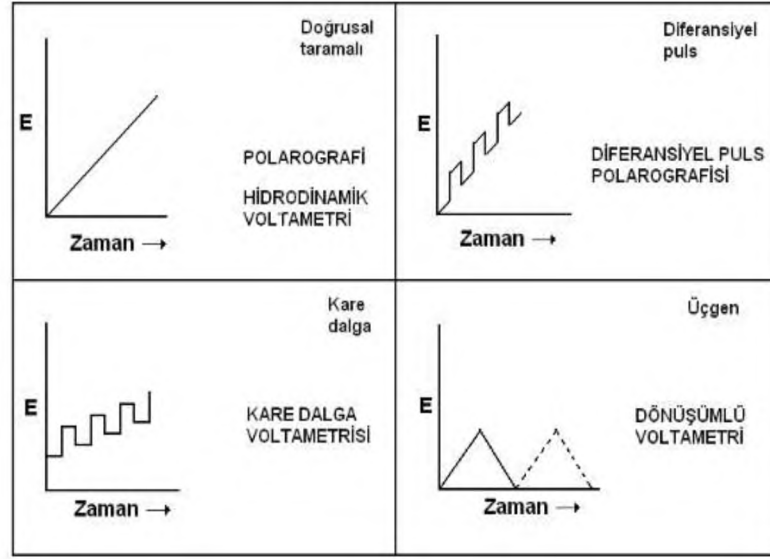
Voltametrik deneyler üçlü elektrot sisteminde gerçekleşmektedir (Şekil 2.2.). Potansiyeli zamanla değişen elektroda indikatör elektrot veya çalışma elektrodu denir. Çalışma elektrodu yüzeyinde analitin yükseltgendiği veya indirgendiği elektrottur. Voltametri de yaygın olarak karbon, platin, cıva, altın, paladyum elektrot gibi elektrotlar kullanılmaktadır. İkinci elektrot ise potansiyeli deney süresi boyunca sabit kalan referans elektrottur ve genellikle Ag/AgCl elektrotlar seçilir. Üçüncü elektrot ise elektriğin çözelti içinden çalışma elektroduna aktarılmasını sağlayan karşıt veya yardımcı elektrottur. Karşıt elektrot olarak genellikle Pt tel tercih edilmektedir.

Voltametride yöntem; çalışma elektrodu ile referans elektrot arasında belirli bir potansiyel uygulaması yapılırken, bu iki elektrot arasından geçen akımın ölçülmesi ve ölçülen potansiyel aralığında akımda meydana gelen değişimlerden yararlanarak analiz yapılması temeline dayanır. Kullanılan çalışma elektrodunun görevi, ara yüzeyde bulunan moleküllerin yükseltgenmesi ve indirgenmesi için elektron kaynağı olmaktır. Bu elektrotlar çalışılan çözeltiye karşı inert davranan maddeler olmalıdır.



Şekil 2. 2. Voltametrik çalışmalar için sistem.

Voltametride mikroeletrot içeren hücreye potansiyel uyarma sinyali şeklinde uygulanır. Voltametride en çok kullanılan dört uyarma sinyali vardır. Bunlar; doğrusal taramalı, diferansiyel puls, kare dalga ve üçgen dalgadır. Bu uyarma sinyallerine bağlı olarak oluşan voltametrik yöntemler ise; doğrusal taramalı voltametri, diferansiyel puls voltametrisi, kare dalga voltametrisi ve dönüşümlü voltametridir. Voltametride kullanılan en yaygın dört uyarma sinyali Şekil 2.3'te verilmiştir.



Şekil 2. 3. Voltametri de kullanılan ve potansiyelin zamanla değişimini gösteren uyarma sinyalleri.

Voltamogram, uygulanan potansiyele karşı ölçülen akımın ilişkisini gösteren eğrilere denilmektedir. Doğrusal taramalı voltamogramlar, çoğunlukla sigmoidal eğri şeklindedir ve voltametrik dalga adını alır. Voltametrik dalgada, dik artıştan sonra gelen sabit akıma sınır akımı adı verilir ve i_s ile gösterilir. Bu akım, analitin kütle aktarım işlemiyle elektrot yüzeyine taşınma hızı tarafından belirlenir ve genel olarak analitin derişimi ile doğru orantılıdır.

$$i_s = kc_A \quad (2.1)$$

Bir elektrodun elektrolit çözeltisine daldırılması ve negatif yüklenmesiyle, çözeltide bulunan pozitif yüklü iyonlar elektroda doğru çekilir. Böylelikle ara yüzeyde bir potansiyel farkı meydana gelir. Zıt işaretli yüklerin ara yüzeyin iki tarafında birikmesi sonucu bu bölgede bir elektriksel çift tabaka oluşur. Bu oluşan çift tabaka, bir kapasitör gibi davranır. Ortamda yükseltgenecek veya indirgenecek madde olmasa bile kapasitörü yüklemek için oluşan akıma kapasitif akım denir. Kapasitif akım ne kadar küçük olursa, o kadar doğru ölçüm yapılır. Elektrolit ile elektrot arasındaki yüzeyden akımın iletilmesi sırasında, elektrotlardan birinde yükseltgenme diğerinde indirgenme olayı meydana gelir ve elektrot yüzeyinde oluşan akıma faradaik akım denir.

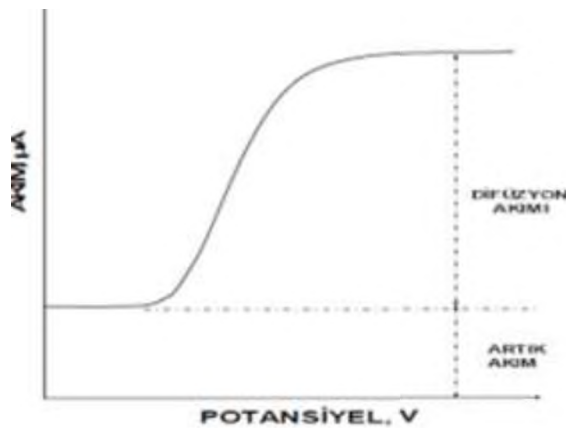
2.2.1.1. Doğrusal Taramalı Voltametri

Doğrusal taramalı voltametri, ilk bulunan ve en çok kullanılan voltametrik yöntemlerden biridir. Doğrusal taramalı voltametriye elektroaktif bir madde içeren durgun bir çözeltide bir çalışma elektrodu ile referans elektrodu arasına zamanla doğrusal olarak değişen bir potansiyel uygulanır. Elde edilen potansiyel-akım cevap eğrisine ise doğrusal voltammogram denilmektedir. Bu yöntemde çalışma elektrodunun potansiyeli saniyede 3-5 mV artırılır ve genellikle $0,01-1000 \text{ V/s}^{-1}$ potansiyel aralığında doğrusal potansiyel taraması yapılmaktadır. Ve çalışma elektrodu ile referans elektrot arasından geçen akım ölçülür.

Katodik akım çözeltideki iyon göçüne bağlıdır ve uygulanan potansiyel ise çözünen maddenin indirgenme potansiyeline yaklaştıkça katodik akım büyür. Uygulanan potansiyel indirgenme potansiyelini aştığında akım sınır değer olan plato bölgesine ulaşır. Sınır akımı türün molar derişimi ile orantılıdır. Hücrede oluşan akım, zaman ve uygulanan potansiyelin bir fonksiyonu olarak ölçülmektedir. Bu yöntemin duyarlılığı yaklaşık olarak 10^{-6} M civarındadır.

Doğrusal taramalı voltametri, polarografi ve hidrodinamik voltametri olmak üzere iki tiptir.

Şekil 2.4’de doğrusal taramalı voltamogramı görülmektedir.



Şekil 2. 4. Doğrusal taramalı voltamogram

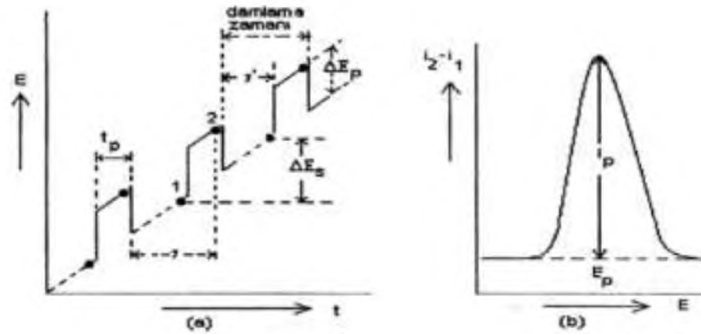
(Yıldız A. ve Genç Ö., 1993).

2.2.1.3. Diferansiyel Puls Voltametresi

Normal puls voltametrisinde pulsun sonunda tespit edilen az da olsa kapasitif akım içermektedir. Bu ölçülen akımdaki payını azaltmak ve seçiciliğini artırmak için pulsun başında ve sonundaki akımlar ölçülüp, farklarını alma yoluna gidilmiştir. Bu teknikle çalışılan metoda diferansiyel puls voltametresi denilir.

Diferansiyel puls voltametresi, düşük derişimlerdeki organik ve anorganik türlerin analizi için uygun bir yöntemdir. Bu yöntemde piklerin ayırım gücü fazladır ve düşük derişimlerde bile düzgün pikler elde edilebilir. Bu teknik normal puls voltametrisinde daha duyarlı olup ve duyarlılığı 10^{-7} – 10^{-8} M düzeyindedir. Ayrıca tekniğin seçimliliği de daha yüksektir.

Şekil 2.6'da görüldüğü gibi iki akım ölçümü yapılır ve bunlardan ölçülen birinci akım i_1 , ikinci akım ise i_2 'dir. Birinci akım, puls uygulamasından hemen önce ikinci akım ise puls uygulamasının sonuna doğru yani yükleme akımının yaklaşık olarak sıfır olduğu durumda ölçüm yapılır. Puls başına akımdaki fark (ΔI) ise potansiyelin fonksiyonu olarak kaydedilir. Böylece oluşan diferansiyel eğri pik şeklinde olup yüksekliği derişimle doğru orantılıdır. Puls şiddeti ve potansiyel tarama hızının seçimi yöntemde hassasiyet, hız ve kararlılığı etkilemektedir. Diferansiyel puls ölçümlerinde genellikle 25-50 mV arasında puls şiddetleri ve 5 mV/s tarama hızı yapılmaktadır.

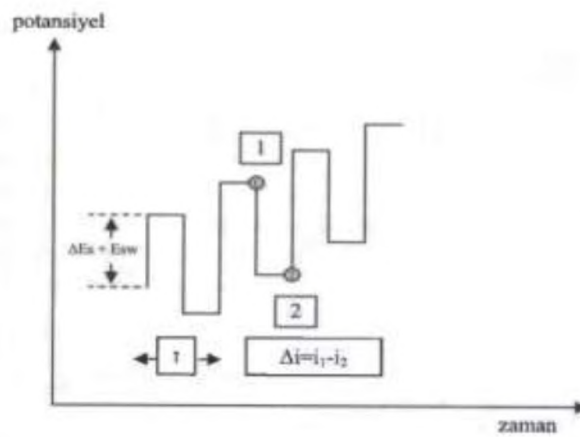


Şekil 2. 6. a) Zamanla artan bir doğru akım potansiyeline sabit genlikli pulsların uygulanması b) Diferansiyel puls polarografisinde elde edilen akım-potansiyel eğrisi.

2.2.1.4. Kare Dalga Voltametrisi

Kare dalga voltametrisi son derece hızlı ve duyarlı olan bir puls yöntemidir. Bu yöntemde voltamogramın tamamı 10 ms'den bile daha az sürede elde edilir. Tayin sınırları ise 10^{-7} - 10^{-8} M arasındadır. Kare dalga voltametrisi asılı cıva damla elektrodu ve kromatografik dedektörler ile kullanılmaktadır. Hızlı ve yüksek duyarlılığı oluşu nedeniyle, daha çok yüksek performanslı sıvı kromatografisinde (HPLC'de) dedektör olarak kullanılmaktadır.

Şekil 2.7'de kare dalga voltametrisi yönteminde elde edilen basamaklı sinyal görülmektedir. Basamaklı sinyalde her basamağın boyu ve puls periyodu eşittir ve bu yaklaşık olarak 5 ms civarındadır. Çalışma elektroduna uygulanan potansiyel simetrik dalgalar şeklindedir. Akım her bir kare dalga döngüsü boyunca iki kez ölçülür. Birinci ölçüm, ileri yöndeki pulsun sonunda ikinci ölçüm ise geri yöndeki pulsun sonundadır. Kare dalganın, anodik ve katodik bölgesindeki ait akım değerlerinin farkları alınarak akım saptanır ($\Delta I = i_1 - i_2$). Yani elektrot tepkimelerinde yükseltgenme ile indirgenmede oluşan akım farkları alınır. Bu fark derişim ile doğru orantılıdır ve pik potansiyeli de polarografik yarı dalga potansiyeline karşılık gelir. Ölçüm son derece hızlı yapıldığından analizin kesinliğini artırmak için birkaç voltametrik taramanın sinyal ortalaması alınır.



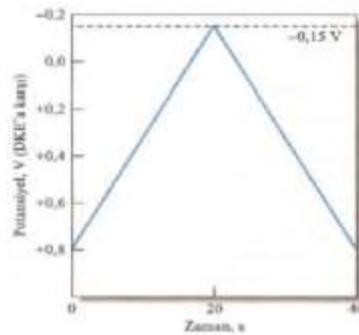
Şekil 2. 7. Kare dalga voltametrisinde basamaklı sinyal gösterimi.

2.2.1.5. Dönüşümlü Voltametri

Elektrokimyada en çok tercih edilen teknik dönüşümlü voltametridir (CV). Dönüşümlü voltametrimin başlıca kullanım alanları; yükseltgenme/indirgenme reaksiyonlarının incelenmesi, reaksiyon ara ürünlerinin takibi, elektrot reaksiyon kinetiklerinin ve mekanizmalarının incelenmesi, kantitatif analizler, yüzey modifikasyonu, çeşitli fizikokimyasal sabitlerin bulunması, adsorpsiyon olaylarının incelenmesi, kompleks yapıların belirlenmesidir.

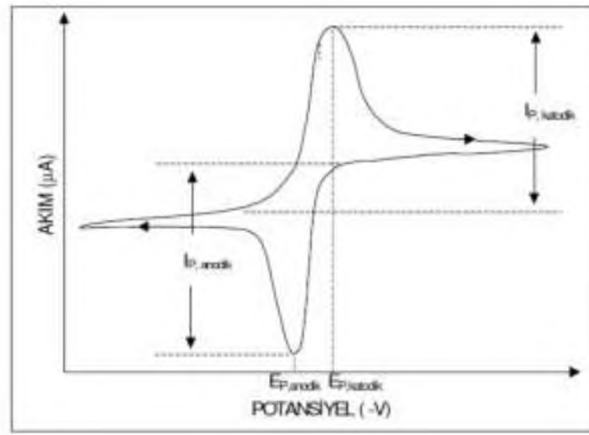
Dönüşümlü voltametri tekniğinde, uygulanan potansiyel ileri ve geri olmak üzere iki yönde taranırken akım ölçümü yapılarak potansiyel zamanla doğrusal olarak değiştirilir. Yöntemde potansiyelin zamanla değişimine tarama hızı denilmektedir. Negatif yöne doğru gidilerek tarama yapılırsa ileri tarama, diğer yöne doğru tarama yapılırsa geri tarama diye adlandırılır. Taramalar sonucu oluşan cevap eğrisine de dönüşümlü voltamogram denilmektedir.

Doğrusal voltametri yönteminde sadece yükseltgenme veya indirgenme incelenirken dönüşümlü voltametri ise yükseltgenme ve indirgenme beraber görülebilir. İleri yönde yapılan taramada yükseltgenme gözlemlenirken geriye doğru yapılan taramada indirgenme gözlenir. İleri ve geri taramalardan yararlanarak tersinir, yarı tersinir veya tersinmez olup olmadığı anlaşılabilir. Dönüşümlü voltametri tarama pulsu üçgen şeklindedir ve potansiyel doğrusal olarak pik noktasına kadar önce artırılır ve sonra aynı hızda başlangıç noktasına kadar düşürülür. Şekil 2.8'de dönüşümlü voltametri potansiyelin zamanla değişimi gösterilmiştir.



Şekil 2. 8. Dönüşümlü voltametri potansiyelin zamanla değişimi (Skoog ve ark., 2004).

Şekil 2.8'deki örnekte potansiyel önce + 0,8 V'dan -0,15 V'a değiştirilmiş ve sonra tarama yönü ters çevrilip potansiyel başlangıçtaki +0,8 V değerine geldiğinde tarama durdurulmuştur. Tarama hızı 50 mV/s'dir. Taramanın ters döndüğü potansiyeli dönüş potansiyeli denir. Farklı tarama hızlarında bu işlem yapılabilir ve ilk taramanın yönü ve aralığı numunenin bileşimine bağlı olarak seçilir. Tarama negatif yönde veya bunun tersi yönde de olabilir. Tarama süresi 1 ms çok kısa sürede de başlayabilir, 100 s gibi uzun sürelerle de çıkabilir (Skoog ve ark., 2004).



Şekil 2. 9. Dönüşümlü voltamogram, pik potansiyelleri ve pik akımları.

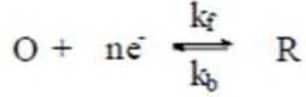
Bu voltamogramda; E_p^k : Katodik pik potansiyeli, E_p^a : Anodik pik potansiyeli, i_p^k : Katodik pik akımı, i_p^a : Anodik pik akımını göstermektedir.

Tersinir elektrokimyasal reaksiyonlar için katodik pik akımı ile anodik pik akımı mutlak değerce birbirine eşittir ve zıt işaretlidir. Katodik pik potansiyeli ile anodik pik potansiyelinin farkı ($E_p^k - E_p^a$) $0,059/n$ 'dir. Burada n yarı elektrokimyasal reaksiyondaki aktarılan elektron sayısıdır (Yılmaz S., 2016).

Bu yöntemin duyarlılığı 10^{-5} M ile sınırlıdır. Ancak organik ve anorganik sistemlerde, yükseltgenme ve indirgenme işlemlerinin hız ve mekanizma çalışmaları için önemli bilgiler sağlamaktadır. Dönüşümlü voltametri yönteminde genellikle platin elektrotlar kullanılır. Cıva film elektrotlar ise negatif potansiyel bölgesinde tercih edilebilir.

2.2.1.6. Tersinir Reaksiyonlar

Dönüşümlü voltametri tersinir bir reaksiyonda elektrot reaksiyonunun;



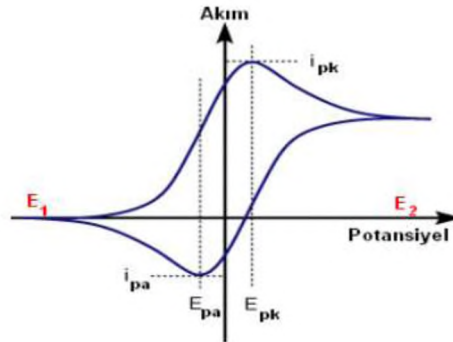
şeklinde gerçekleşen tersinir bir reaksiyon olduğunu ve başlangıçta çözelti ortamında sadece “O” maddesinin bulunduğunu kabul edelim. Ayrıca elektrokimyasal olayın öncesinde ve sonrasında, elektron aktarımı dışında herhangi bir kimyasal reaksiyonun gerçekleşmediğini ve elektrot yüzeyinde adsorpsiyon olayının da meydana gelmediğini varsayalım. Böylelikle potansiyel tarama hızı yavaş olması durumunda *i*-E grafiği belirli bir potansiyelden sonra sınır akımına ulaşır ve akım ise potansiyelden bağımsız hale gelir. Potansiyel tarama hızı artırılırsa *i*-E grafiği pik şeklinde oluşur ve tarama hızı arttıkça pik yüksekliği artar.

Geriye doğru tarama yapıldığında ise hızlı taramada elektrot yüzeyinde yeterince bulunan R molekülleri yükseltgenmeye başlar ve böylelikle bir akım oluşur. E^0 değerine kadar O molekülleri R'ye indirgenir. Ters yöndeki taramada pozitif potansiyellere doğru gidildikçe R'nin yüzeydeki derişimi azalır ve yeterince pozitif bölgede sıfıra kadar azalma görülür. İleri taramada katodik akım, geri taramada da anodik akım meydana gelir. Deney esnasında yüzeyde oluşan R türünün çözeltiye doğru difüzyonundan dolayı anodik akım katodik akımdan biraz daha düşük olur (Gökmeşe E., 2004).

Sabit koşullar altında ve tarama hızının yavaş olduğu durumda, elektrokimyasal sistemde bulunan çözeltide, elektrot yüzeyinden belli uzaklıktaki analit derişimi sabit olur. Nernst Difüzyon Tabakası'nda derişimde meydana gelen değişme doğrusal olur. Tersinir reaksiyonlarda, [R]/[O] oranı Nernst eşitliği ile potansiyele bağlıdır.

$$E = E^0 - \frac{RT}{nF} \ln \frac{[R]}{[O]} \quad (2.2)$$

Şekil 2.10'da tersinir bir reaksiyonun dönüşümlü voltametri voltamogramı gösterilmektedir.



Şekil 2. 10. CV' de akım potansiyel eğrisi.

Tersinir reaksiyonlarda 25°C'deki pik akımı, *Randles-Sevcik* eşitliği ile ifade edilir.

$$i_p = (2,69 \times 10^5) n^{3/2} A C_0 D_0^{1/2} \nu^{1/2} \quad (2.3)$$

Bu eşitlikte; i_p : pik akımı (A), n : aktarılan elektron sayısı; A : elektrodun alanı (cm^2), C : derişim (mol/cm^3), D : difüzyon katsayısı (cm^2/s) ve ν : tarama hızıdır (V/s). *Randles-Sevcik* eşitliğinin en önemli göstergesinden biri, pik akımı, elektroaktif maddenin derişimi ve tarama hızının kareköküyle doğru orantılıdır. Eğer kullanılan elektrot ultramikroelektrot olursa bu eşitlik aşağıdaki şekle dönüşür.

$$i_{ss} = 4 r n F C_0 D_0 \quad (2.4)$$

burada r , ultramikroelektrodun yarıçapıdır.

Dönüşümlü voltametri verileri ile reaksiyonların tersinirliği incelenebilir. Eğer, $i_p - \nu^{1/2}$ grafiği doğrusal ve orjinden geçiyor ise sistem tersinir. Ayrıca tersinir sistemin, tersinir olması için bazı özelliklerin bulunması gerekmektedir (Greef ve ark., 1990). Dönüşümlü voltamogram aşağıdaki özellikleri sağlıyorsa, tersinirdir.

- $i_p - \nu^{1/2}$ grafiği doğrusal olmalı,
- $E_p^k - E_p^a = 59/n$ mV veya $E_p - E_{p/2} = 57/n$ mV olmalı,
- E_p , tarama hızı ile değişmemeli,
- $i_p^a / i_p^k = 1$ olmalı ve bu oran tarama hızı ile değişmemeli,
- E_p 'ten daha negatif potansiyellerde akım, $t^{-1/2}$ ile orantılı olmalıdır.

Bir sistemin tersinir olabilmesi için yukarıda belirtilen özelliklerin tamamını sağlaması gerekmektedir. Bir ya da birkaç özelliği sağlamıyor ise sistem tersinir değildir. Geniş bir tarama hızı aralığında i_p ve E_p 'nin v ile ilişkisi kontrol edilmelidir. Yukarıda ki özelliklerden bir veya bir kaç geçeri değil ise elektrot reaksiyonu tersinmezdir ya da kabul edilenden daha kompleks bir mekanizmaya sahiptir.

2.2.1.7. Tersinmez Reaksiyonlar

Tersinir sistemlerde bütün potansiyel değerlerinde elektron aktarım hızının kütle aktarım hızından büyük ve Nernst eşitliğinin elektrot yüzeyi için geçerli olması gerekmektedir. Tersinmez sistemlerde ise elektron aktarım hızı büyük olmadığından Nernst eşitliği geçerli olmamaktadır. Bu durumda voltamogramın şekli tersinir durumdan farklı olur. Tarama hızı düşük, elektron aktarım hızı kütle aktarım hızından yüksek olduğunda sistem tersinir gibi gözlenebilir.

Tersinmez sistemlerde katodik pikin tersi olan anodik pik gözlenmemektedir. Anodik pikin olmayışı çoğunlukla tersinmez reaksiyon olduğunun kanıtıdır. Fakat indirgenen türün elektron aktarım basamağından hemen sonra kimyasal bir reaksiyona girmesi de anodik pikin gözlenmesini engelleyebilir. Tarama hızı arttıkça kütle aktarım hızı da artar ve elektron aktarım hızı ile aynı seviyeye gelir. Bu durum tarama hızı arttıkça anodik ve katodik pik potansiyellerinin birbirinden uzaklaşması ile oluşmaktadır.

Tersinmez işlemler için pik akımı ise;

$$i_p = (2,99 \times 10^5) n (\alpha_c n_\alpha)^{1/2} A C_0 D_0^{1/2} v^{1/2} \quad (2.5)$$

eşitliği ile verilmektedir.

Bu eşitlikte; α_c ; elektrot reaksiyonunun transfer katsayısı, n_α ; hızı belirleyen basamakta aktarılan elektron sayısı, A ; elektrot yüzey alanı (cm^2), C ; derişim (mol/cm^3), D ; difüzyon katsayısı (cm^2/s), v ; tarama hızı (V/s)'dir.

Tamamen tersinmez bir sistemde aşağıdaki özelliklerin sağlanması gerekmektedir.

- Voltamogramlarda ters tarama piki (anodik pik) gözlenmez.

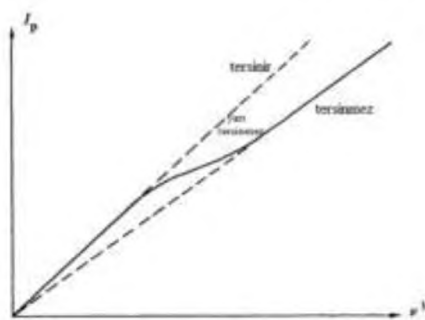
- $i_p/C v^{1/2}$, tarama hızı ile değişmez.
- E_{pc} kayması, tarama hızını 10 kat artmasında $30/\alpha_c n_\alpha$ kadardır (25°C 'de).
- Tarama hızı 10 kat arttırıldığında, $|E_p - E_{p/2}| = 48/\alpha_c n_\alpha \text{ mV}$ 'dur (25°C 'de).

2.2.1.8 Yarı tersinir reaksiyonlar

Sistem eğer yarı tersinir ise akım, difüzyon hızı ve elektron aktarım hızı ile birlikte kontrol edilir.

Bir reaksiyonun yarı tersinir olabilmesi için aşağıdaki özellikleri sağlaması gerekmektedir (Greef ve ark., 1990).

- i_p , $v^{1/2}$ ile artar ancak doğrusal şekilde artmamaktadır.
- E_p^k , tarama hızı ile değişir ve bu değişim genellikle tarama hızının artması ile negatif değerlere kayma yönündedir.
- $\alpha_c = \alpha_a = 0,5$ ise, $i_{pa} / i_{pk} = 1$ olmalıdır.
- $E_p^k - E_p^a$ farkı düşük tarama hızlarında $59/n \text{ mV}$ 'a yaklaşır. Yüksek tarama hızlarında bu değerden büyüktür ve tarama hızı ile artmaktadır.
- Tarama hızı arttıkça pik genişlemesi olur.



Şekil 2. 11. Dönüşümlü voltametri de pik akımının tarama hızının karekökü ile değişimi (Greef ve ark., 1990).

Şekil 2.11'de tarama hızının artması ile tersinir durumdan tersinmez duruma doğru sistemin geçişi gözlemlenmektedir.

2.2.2. Çalışma Elektrotları

Çalışma elektrodu, bir elektrokimyasal hücrenin en önemli bileşenidir. Çalışma elektrodu, üzerinde analitin yükseltgendiği veya indirgendiği elektrottur. Analitin indirgenmesinden dolayı oluşan akıma katodik akım, yükseltgenmesinden dolayı oluşan akıma ise anodik akım denir. Genellikle katodik akımlar pozitif, anodik akımlar ise negatif işaretlerle gösterilirler.

Voltametri de kullanılan çalışma elektrotlar, voltametrik yöntemlerde en önemli araçtır. Çalışma elektrotlarının özelliklerinin iyi olması voltametrik yöntemlerin başarısını artırmaktadır. Çalışma elektrotlarının polarize edilmesi için yüzey alanları küçük ve çok az miktarda elektroaktif tür ile reaksiyona girmesi gerekmektedir. Böyle bir çalışma elektrodu ile yapılan voltametrik yöntemlerde, aynı çözeltide birden fazla voltamogram alınabilir.

Voltametrik çalışmalarında kullanılacak çalışma elektrodunun çalışma potansiyel aralığı önemlidir. Genellikle pozitif potansiyel yönünde yapılan çalışmalarda platin, altın ve karbon elektrotlar kullanılır iken, negatif potansiyel yönünde ise cıva elektrot yaygın olarak kullanılmaktadır. Hem negatif hem pozitif potansiyel yönü taramalar da ise karbon temelli elektrotlar tercih edilmektedir.

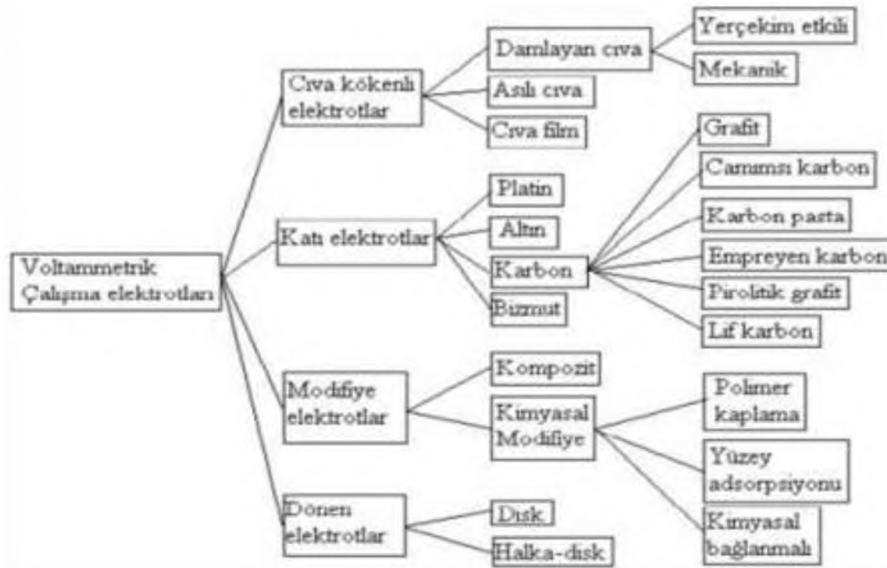
Çalışma elektrodunun hem kimyasal hem de elektrokimyasal özellikleri önemlidir. Kullanılan çalışma elektrodun yanıtının yüksek ve bu yanıtın tekrarlanabilir olması gerekmektedir. Bu nedenle voltametriye sınırlı sayıda polarize olan elektrotlar kullanılır.

Çalışma elektrodu;

- İletken özellikte olmalı,
- Çalışan potansiyel aralığında inert olmalı,
- Negatif potansiyel sınırı yüksek olmalı ve
- İstenilen geometrik şekle kolayca dönüştürülebilir ve kolay işlenebilir özellikte olmalıdır (Öztekin Y., 2008).

2.2.3. Voltametrinde Kullanılan Çalışma Elektrotları

Voltametrinde kullanılan çalışma elektrotları; cıva, altın, platin, bizmut, grafit, camısı karbon, pirolitik karbon, lif karbon ve modifiye elektrotlardır. Bu elektrotların polarize olması için küçük yüzey alanına sahip olması gerekmektedir. Küçük yüzey alanına sahip olan bu tür elektrotlara mikroelektrotlarda denilmektedir. Voltametrinde kullanılan elektrotların sınıflandırılması Şekil 2.12’de verilmektedir.



Şekil 2. 12. Voltammetrik çalışma elektrotlarının genel sınıflandırılması (Tural H. ve ark., 2003).

Cıva elektrotlar; voltametrinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Cıvanın, elektrotta kullanılabilir negatif potansiyel sınırının yüksek olması, birçok metal iyonunun cıva elektrodu yüzeyinde amalgam oluşturması ile tersinir olarak indirgenmesi gibi nedenlerden dolayı sıklıkla kullanılmaktadır (Skoog ve ark., 1998). Fakat voltametrinde kullanılacak cıvanın saf olması, safsızlığının ppm düzeyinden de daha düşük olması gerekmektedir. Cıva buharlarının zehirli olması sebebiyle, bu saflıkta olmayan cıvalar %10'luk HNO_3 ile çalkalandıktan sonra saf su ile yıkanıp kurulanır. Bu işlem ise dikkatli bir şekilde yapılmalıdır.

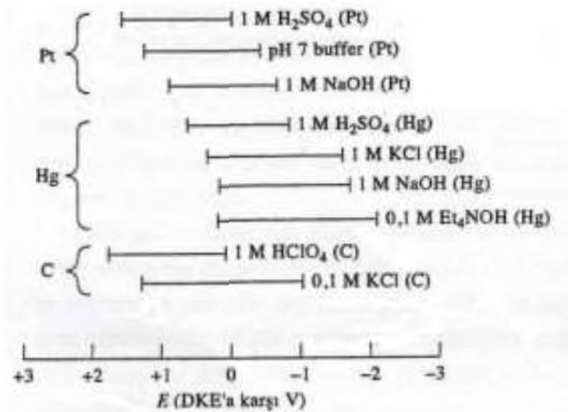
Katı elektrotlar, cıva kökenli elektrotların anodik potansiyel çalışma bölgesi dar olmasından dolayı, daha geniş anodik potansiyelle çalışma imkanı sunan katı

elektrotlar kullanılmaktadır. En çok kullanılan katı elektrotlar; platin, altın ve karbon elektrotlardır. Bazı durumlarda ise gümüş, nikel ve bakır da çalışma elektrodu olarak kullanılabilir. Fakat bu katı elektrotlar maliyetinin ve iletkenliğinin yüksek olmasından dolayı çok fazla tercih edilmemektedir.

Modifiye elektrotlar, elektrot yüzeyinde molekül ve iyonların toplanmalarını sağlayacak bir tabakanın yer alması ile oluşurlar. Modifikasyon işlemi elektrodun yüzeyinde değişiklik yapar, iç kısmında hiçbir değişikliğe neden olmamaktadır. Modifiye edilmiş elektrotların, analitik uygulamalarda önemli biri yeri bulunmaktadır. Elektrokimyasal uygulamalarda, duyarlılığı, kararlılığı ve seçiciliği artırmaktadır.

Dönen elektrotlar, platin ve camsi karbondan yapılıdır ve bir motor sistemi ile hızları kontrol edilmektedir. Dönen disk ve halka-disk elektrot olmak üzere iki çeşittir.

Voltametik yöntemlerde sabit ya da döndürülerek kullanılan bu elektrotların potansiyel çalışma aralığı farklıdır. Potansiyel çalışma aralığı, elektrot türüne, çözücüye, kullanılan elektrolit türüne ve pH'a bağlıdır. Bu aralığın katodik sınırını, hidrojenin oluşumu veya destek elektrolitinin indirgenmesi, anodik sınırını ise elektrot materyalinin veya çözücünün yükseltgenmesi belirler. Şekil 2.13'de voltametricde en çok kullanılan elektrotların farklı destek elektrolit ortamlarında çalışılan potansiyel aralıkları gösterilmektedir.



Şekil 2. 13. Pt, Hg ve C elektrotları için, farklı destek elektrolit ortamlarında çalışılan potansiyel aralıkları.

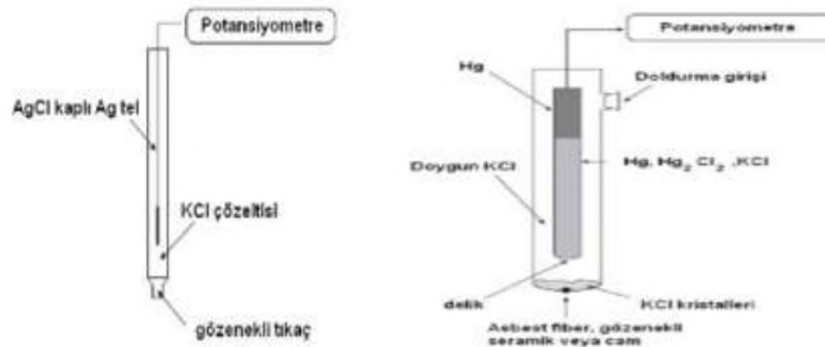
2.2.4. Referans Elektrot

Deney süresince potansiyeli sabit kalan elektroda referans elektrot denir. Bu elektrotların yarı elektrot tepkimeleri tersinirdir ve deney sırasında elektrot küçük bir akıma maruz kalsa bile potansiyeli ilk değerine dönmektedir.

Referans elektrot olarak polarize olmayan metal-metal iyonu elektrotlar kullanılır. Referans elektrot olarak en çok kalomel ve Ag/AgCl referans elektrotlar tercih edilmektedir. Ayrıca Hg/Hg₂Cl₂, Hg/HgO, Hg/HgSO₄ ve Ag/AgNO₃ elektrotları da referans elektrot olarak kullanılmaktadır.

İdeal bir referans elektrot;

- Polarize edilmeyen bir elektrot olmalı,
- Kolay hazırlanabilmeli,
- Tersinir olmalı ve Nernst eşitliğine uymalıdır,
- Zaman ile bağımsız olmalı ve sabit bir potansiyel vermelidir,
- Potansiyelin sıcaklık ile değişim katsayısı küçük olmalıdır.



Şekil 2. 14. a) Ag/AgCl elektrot

b) Hg/Hg₂Cl₂ kalomel elektrot

2.2.5. Karşıt Elektrot

İkili elektrot sistemlerinde karşıt elektrot, polarize olmayan ve potansiyeli sabit olan referans elektrot üzerinden akım geçtiği için, yüksek akımlarda polarize olurlar. Çözeltinin direnci yüksek olması durumunda, bu direnci yenmek için gerekli olan potansiyel (IR) artış gösterir. Bu sebeplerden dolayı çalışma elektrodunun polarizasyon potansiyeli doğru ölçülmeyebilir. Bunun sonucunda $i=f(E)$ eğrileri yatıklaşır ve belirli bir noktadan sonra pikler kaybolur.

İkili elektrot sistemlerde karşılaşılan bu sorunlardan dolayı sistemde üçüncü bir elektrodun yani yardımcı elektrodun gerekli olduğu ortaya çıkmıştır. Sistemde akım, yardımcı ve çalışma elektrodun üzerinden geçirilerek referans elektrodun polarize edilmesi önlenirken, çalışma elektrodun potansiyeli ise sıfır akım altında okunmuş olur (Tural H. ve ark., 2003).

Yardımcı elektrotlar ticari olarak sarmal ya da platin tel şeklinde bulunurlar. Yardımcı elektrot olarak genellikle platin elektrotlar kullanılır ve çalışma elektroduna uygulanan yüzey parlatma gibi özel bakım tekniklerine ihtiyaç duyulmaz. Yardımcı elektrodun çalışma elektrodu üzerinde oluşan akımı desteklemesi için, yüzey alanı çalışma elektrodunun yüzey alanına eşit ya da ondan daha büyük olmalıdır.



Şekil 2. 15. Platin karşıt elektrot

2.3. Mikroelektrotlar

Mikroelektrotlar, elektrot çapları 25 μm 'den daha büyük olmayan elektrotlar için kullanılmaktadır. Bu tür elektrotları normal elektrotlardan ayırmak için mikroskopik elektrotlar ya da ultramikroelektrotlar olarak adlandırılır. Mikroelektrotlar çeşitli şekillerde olabilir. En yaygın olanı, yarıçapı 5 μm olan bir karbon fiberin veya 0,3 ila 20,0 μm boyutlarına sahip bir altın veya platin telin ince bir kılcal tüpe kapatılmasıyla oluşturulan düzlemsel bir elektrottur; fiber veya teller daha sonra tüplerin uçları ile aynı hizada kesilir. Telin küçük bir kısmının tüpün ucundan uzandığı silindirik elektrotlar da kullanılır (Gökmeşe F. ve Gökmeşe E., 2016).

Mikroelektrot boyutlarının giderek küçülmesi analitik kimyada gelişen bir eğilimdedir. Birçok araştırma grupları 30 yıldan fazladır mikroelektrotları

geliştirmektedir. Mikroelektrotlar; başta tıp alanında olmak üzere kimya, farmakoloji, nörobilim ve hücre biyolojisi gibi çeşitli alanlarda kullanılmaktadır. Son zamanlarda ise dikkat çekici araştırmalar; tek hücrelerde dinamik prosesin zamana bağlı uygulanmasını, nörokimyasal olayların hücre içerisinde izlenmesini, tek molekül dedeksiyonu için nano boyutta elektrot uçlarının boyutları veya yüzeylerin yüksek çözünürlükte uzaysal karakterizasyonunun belirlenmesi amaçlıdır (Wang, 2000).

Çalışılan elektrotların küçülmesi sadece belirgin avantajları sağlamaz aynı zamanda bazı temel yeni olanakları da sağlamaktadır (Wang, 2000). Mikroelektrotlar özgün özellikleri ile elektrokimyaya farklılıklar katmış ve elektrokimyanın olanaklarını geliştirmiştir. Önemli uygulama ve araştırma çalışmaları ise;

1. Mikroelektrotlardaki çok küçük akımdan dolayı, büyük ohmik (IR) düşmeleri geliştiren ve oldukça yüksek dirençli çözeltilerde çalışmak mümkündür. Azalan ohmik bozulmalar makroskopik elektrotlara uygun olmayan yeni ve benzersiz kimyasal ortamlarda elektrokimyasal ölçümlerin yapılmasını sağlar.
2. Mikroelektrotların büyük ölçüde azaltılmış çift tabaka kapasitansı elektronların küçük alanlarıyla orantılı olarak küçük RC zaman sabitleriyle elektrokimyasal hücreler oluşturur. Örneğin; mikrodisk için zaman sabiti olan RC, elektrodun yarıçapı ile orantılıdır. Küçük RC sabitleri mikrosaniye zaman ölçeğinde yüksek hızlı voltametrik deneylerin (10^6 V/s'den daha büyük tarama hızlarında) yapılmasına izin verir ve böylece çok hızlı elektron transferi ve kimyasal reaksiyonların kinetiğini veya ekzositoz gibi işlemlerin dinamiğini araştırır.
3. Elektroaktif türlerin kütle transferinin gelişmiş oranı mikroelektrotların kenarlarına doğru düzlemsel olmayan difüzyondan dolayı artar. Bu tür "kenar etkileri" genel difüzyon akımına önemli ölçüde katkıda bulunur. Elektrodun boyutu azalırken elektrot yüzeyinden çözeltilere ve çözeltiden elektrot yüzeyine kütle transferi (dolayısıyla akım yoğunluğu) artar. Kütle transfer oranlarındaki artmanın ve azalma ile yükleme akımlarının bir sonucu olarak, mikroelektrotlar benzerleri ile karşılaştırıldığında daha faydalı arka plan sinyali özellikleri gösterir (Wang, 2000).

2.4. Ultramikroelektrotlar (UME)

Ultramikroelektrotlar (UME), mikrometre veya mikrometreden daha küçük karakteristik boyutları olan elektrotlardır. Genel bir ifadeyle ultramikroelektrotlar çapları 50 μm 'den daha küçük olan elektrotlara denilmektedir. Bu elektrotların amacı öncelikle hızlı reaksiyon kinetiğinin belirlenmesini sağlayan kütle aktarım hızını arttırmak ve susuz çözeltilerde ohmik kayıpları önemsiz hale getiren elektrik akımını azaltmaktır.

Ultramikroelektrotlar üçlü elektrot sisteminde çalışma elektrodu olarak kullanılmaktadır. En yaygın olarak kullanılan ultramikroelektrotlar ince kapiler boru içine 5 μm çapında bir karbon fiber veya 0,3–20 μm boyutlarına sahip altın veya platin tel yerleştirilip kapatılması ile oluşturulmuş disk elektrottur. Disk elektrotta kritik boyut yarıçapları 25 μm 'den daha küçük olan boyuttur. Bu elektrotlardan geçen akım, nanoamper veya pikoamper bazen de femtoamper seviyesindedir.

Küresel veya yarı küresel UME, disk şeklindeki elektrotlara benzer birçok davranışları vardır. Fakat küresel veya yarı küresel UME'lerle çalışmak daha kolaydır. Bant şeklindeki UME'ler ise metalik bir folyonun ya da buharlaştırılabilir filmin cam tabakaları arasında veya plastik reçine içinde gömülerek üretilirler. Üretilen elektrotlar daha sonra uç kısımları parlatılarak açığa çıkartılır. Diğer bir çeşit UME ise telin küçük bir kısmının kapiler borunun ucundan çıktığı silindirik elektrottur.

Mikroelektrotların kullanılmasındaki sebeplerden birisi memelilerin beyinlerindeki gibi, canlıların iç organlarında oluşan kimyasal olayları incelemektir. Organın işlevinde herhangi bir değişikliğe yol açmayacak kadar küçük elektrotların kullanılması istenilen amaçlar için uygundur. Bu çok küçük elektrotlar klasik elektrotlardan farklıdır ve elektroanalitik uygulamalarda üstünlükleri olduğu görülmüştür. Touloukian gibi düşük dielektrik sabitli çözücülerde kullanılmasına sağlayan çok küçük IR düşüşüne sahiptirler. Ayrıca normal voltametrik elektrotlarla çalışırken gözlenebilme sınırını etkileyen yükleme akımları elektrot boyutu küçülürken azalır (Skoog ve ark., 2004).

2.5. Nanoelektrotlar

Nanoelektrotlar, nanometre aralığında kritik bir boyuta sahip elektrotlar olarak tanımlanabilir; burada kritik boyut, elektrokimyasal tepkiyi kontrol eden boyut anlamına gelmektedir. Bu nedenle, herhangi bir mikrometre altı elektrot, bir nanoelektrot olarak görülebilir (Arrigan, 2004). Nanoteknolojinin ve nanobilimin ilgilendiği boyut aralığı 1-100 nm arasındadır ve nanoelektrotların kritik boyutları bu aralıkta olması gerekmektedir.

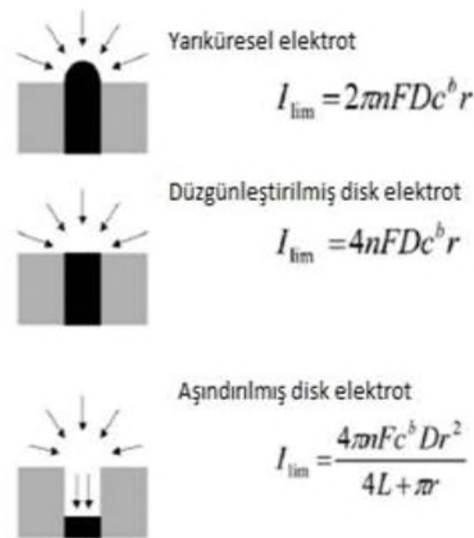
Nanoelektrotlar ilk olarak 1980 yılının ortalarında elektrokimyasal deneylerde kullanılmaya başlanmıştır. Bant şeklindeki nanoelektrotlar Wightman, Bond ve White gibi çeşitli araştırma grupları tarafından geliştirilmiştir. Bu alanda, farklı boyutta ve geometrilere nanoelektrotların üretilmesi ile o zamandan itibaren hızlı bir şekilde büyüme göstermiştir. Çalışma elektrodunun nano ölçeğe küçültülmesinin avantajı, elektrokimya alanında gittikçe daha küçük boyutlarda çalışmayı sağlamaktır. Örneğin; taramalı elektrokimyasal mikroskopi (SECM) ve atomik kuvvet mikroskopunda (AFM) yaygın olarak kullanılmış ve yeni tekniklerin gelişmesini sağlamıştır (Stephen ve ark., 2012).

Voltametrik çalışmalarda kullanılan ilk nanoelektrot, cam slayt üzerine ince bir elektrot malzemesi filmi yerleştirilerek ve ince filmi yalıtılarak ardından da elektrodu açığa çıkarmak için slaytın kenarını parlatarak yapılan nanobant elektrottur. İnce metal filmin kalınlığı elektrodun kritik boyutunu belirlemektedir. Farklı üretim tekniklerinden yararlanılarak çeşitli nanoelektrot çeşitleri geliştirilmiştir. Disk, yarım küre, halka ve konik dahil olmak üzere çeşitli geometrilere sahip birçok nanoelektrot türü kullanılmaya başlanmıştır.

Son yirmi yılda ise nanoelektrotlar; tek hücre analizi, tek molekül tespiti, tek partiküllerin karakterizasyonu ve yüksek çözünürlüklü görüntüleme gibi çeşitli alanlarda ilgi görmeye başlamıştır. Nanoelektrotların üretimi, karakterizasyonu ve elektrokimyasal yöntemlerin hızla gelişmesi, elektroanalitik yöntemlerde uygulanmasını önemli ölçüde artırmış ve bu alanda yeni fırsatların oluşmasına olanak sağlamıştır.

Bir nanoelektrodun karakterizasyonunda elektrot geometrisini ve etkili yarıçapını, çözeltiliye maruz kalan gerçek yüzey alanının ve yalıtım malzemesinin kalınlığı belirlemektedir. Yayınlanmış birçok çalışmada, elektrot yarıçapı, yarı küresel, konik veya düzlemsel disk geometrisi kararlı hal difüzyon sınırlama akımından değerlendirilmiştir. Kararlı hal voltametri, nanoelektrotları karakterize etmek için kullanılan en kolay ve en kullanışlı tekniktir. Tersine çevrilebilir sabit hal voltamogramının şekli elektrot geometrisinden bağımsızdır. Nanoelektrotların boyutu ve şeklini değerlendirmek için SEM kullanılmaktadır (Mirkin ve Amemiya, 2015).

Nanoelektrotların küçük boyutu sebebiyle hızlı üç boyutlu bir difüzyon alanına sahiptir. Kararlı hal voltamogramlarını sigmoidal şekilde verir ve voltamogramların şekli nanoelektrotların geometrisinden bağımsızdır. Genel olarak nanoelektrotların önemli bir parametresi olan disk çapı, kararlı hal akımı için önemli bir değişkendir. Şekil 2.16'da nanoelektrotların geometrileri; yarı küresel elektrot, düzleştirilmiş disk elektrot ve aşındırılmış disk elektrotların difüzyon şekilleri ve kararlı-hal akım denklemleri gösterilmektedir (Arrigan, 2004).

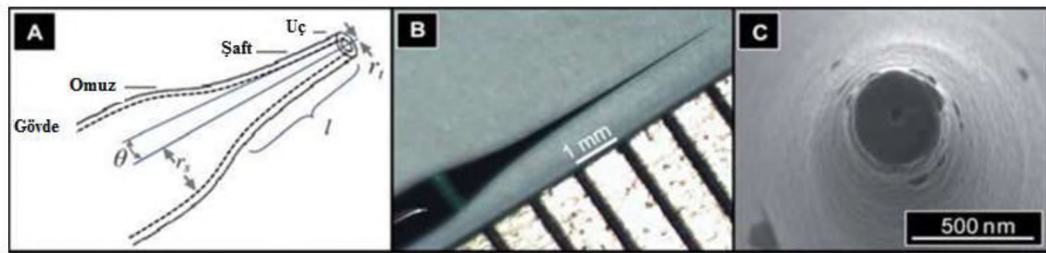


Şekil 2. 16. Yarı küresel, düzleştirilmiş disk ve aşındırılmış disk elektrotlar.

2.6. Nanopipetler

Barber, 1902 yılında hücre içi mikroelektrot olarak cam mikropipet kullanmış ve o zamandan beri mikropipetler, biyoloji alanında özellikle hücre fizyoloji için yararlı bir araç olmuştur. 1976'da ise Neher ve Sakmann tarafından patch-clamp deneyleri sırasında mikropipet kullanmış ve iyon kanallarından akım geçtiğini gözlenmiştir. Son zamanlarda ise özellikle nanoteknolojinin hızla gelişmesi ile biyonanoteknolojide hassas analitik uygulamalar için nano boyutta pipetlerin üretilmesine başlanmıştır. Nanopipetler, mikrolitreden daha az miktardaki sıvıları ve ayrıca nanoparçacıklar, kimyasal bileşikler ve proteinler gibi maddeleri aktarabilirler. Böylelikle nanopipetler küçük miktarlardaki numunelerin uygulamaları için basit ama güçlü bir araç olarak kullanılmaktadırlar (Takami ve ark., 2012).

Nanopipetler genellikle borosilikat ve kuvars kapilerden imal edilen ve uç çapları nano boyutta olan pipetler olarak tanımlanmış ve bir lazer çekme cihazı kullanılarak üretilirler. Bu cihaz ile kapiler tüp iki ucundan çekilerek lazer ışınıyla aynı yarıçapa sahip iki nanopipet elde edilir. Çekme parametreleri ayarlanarak farklı yarıçaplara sahip nanopipetler elde etmek mümkündür. Nanopipetler; uç, shaft, omuz ve gövdeden oluşmaktadır.



Resim 2. 1. Nanopipetin tanımlanmış bölgeleri.

Resim 2.1 A'da nanopipetlerin uç, shaft, omuz ve gövde kısımları gösterilmektedir. Resim 2.1 B'de bir nanopipetin birkaç milimetre uzunluğundaki gövde kısmı gösterilmektedir. Resim 2.1 C'de ise, 335 nm'lik bir dış uç çapına ve 50 nm'lik bir iç uç çapına sahip nanopipetin TEM görüntüsü gösterilmektedir (Morris ve ark., 2010).

2.7. Nano Destekli Birbirine Karışmayan İki Elektrolit Arasındaki Arayüz (ITIES)

Elektrokimyada geniş bir uygulama alanı olan ITIES, birbirine karışmayan iki elektrolit çözelti arasındaki arayüzü simgelemektedir. ITIES ayrıca ideal olarak hiç karışmayan veya oldukça düşük karışabilirliğe sahip elektrolit içeren iki çözeltinin birbirine temas ettirilmesiyle oluşan arayüz olarak da tanımlanabilir. Kullanılan iki elektrolit çözeltisinden biri genellikle su, diğeri ise orta veya nispeten yüksek dielektrik sabiti olan organik çözücüdür. Organik çözücülerin bu özellikte olmasının nedeni ise çözücü içerisinde çözünmüş olan elektrolitlerin kısmi olarak ayrışması ve sıvı fazın elektrik iletmesidir (Samec ve ark., 2004). Sıvı/sıvı arayüzdeki elektrokimyasal ölçümlerde en yaygın kullanılan organik çözücüler; 1,2-dikloroetan (1,2-DCE), 1,6-diklorheksan, 2-oktanol, nitrobenzen (NB), o-nitrofenil oktil eter (NPOE) ve benzonitrildir.

Katı/sıvı elektrokimyaya benzer şekilde, birbiri ile karışmayan iki elektrolit çözeltisi (ITIES) arasındaki makroskopik arayüz, bir sıvı/sıvı nano arayüz ile değiştirilerek önemli avantajlar elde edilebilir. ITIES'in nanoboyutta incelenmesi, modern elektrokimyada ohmik düşüş ve kapasitif akımın etkisini azaltmak ve daha mekanik olarak kararlı bir ITIES'nin oluşturulmasını sağlamak gibi birçok faydaya sahiptir. Nanoelektrokimyasal teknikler hızlı kütle aktarım hızı ve kararlı hal durumlarında elde edilen verilerin kolaylaştırılmış analizleri gibi birçok avantaj sunmaktadır.

Son on yılda, birçok araştırma grubu nanopipet destekli nano-ITIES'nin elektrokimyasal özelliklerini ve uygulamalarını araştırmıştır. Örneğin; Laforge ve arkadaşları, 300 nm yarıçaplı nanopipet ucunda oluşan nano-ITIES'i elektrokimyasal olarak tarif etmişler (Laforge ve ark., 2007) ve nanopipet içindeki sıvı hareketini elektrokimyasal olarak kontrol ederek insan memesinde bulunan epitel doku hücrelerine flüorısil boyalar enjekte etmek için kullanmışlardır. Li ve arkadaşları, nanopipet kararlı hal voltametriyi kullanarak su/1,2-DCE arayüzünde iyon transferinin kinetiklerini incelemiş ve nano-ITIES'deki iyon çıkış reaksiyonu için kararlı hal akımını iki teorik model kullanarak yorumlamışlardır (Li ve ark., 2009). Nanopipet destekli ITIES, taramalı elektrokimyasal mikroskop (SECM) kullanıldığında yüksek çözünürlüklü elektrokimyasal görüntüleme olanağı da

sunmaktadır. Shen ve arkadaşları, bir silikon membran içindeki nanogözenek yardımıyla iyon taşınmasının kantitatif görüntüsünü, 17 nm uç yarıçapına sahip nanopipet destekli ITIES'i yüksek çözünürlüklü SECM'de kullanarak görüntülemişlerdir (Shen ve ark., 2012). Bunlar taramalı elektrokimyasal mikroskop (SECM) metodunda oldukça kullanışlı uçlardır. Bu uygulama ile nanogözeneklerin yoğunluk, şekil ve büyüklükleri gibi yapısal özelliklerinin belirlenmesi ve nanogözenekli zarların geçirgenliğinin anlaşılması için bir metot sağlanmıştır.

Heterojen iyon transfer süreçlerinin kinetik parametrelerinin nanoelektrokimyasal yöntemlerle belirlenmesi ile standart heterojen oran sabiti (k°) ve transfer katsayısına (α) yaklaşılmıştır. Butler-Volmer denklemi, ITIES'deki iyon transfer oranlarını nispeten düşük potansiyellerle ifade etmek için yaygın olarak kullanılır. İyon transfer hızı sabiti, ancak kütle aktarım katsayısından (m) daha küçük veya karşılaştırılabilirse ölçülebilir. Düzgün sıvı/sıvı arayüzler için kütle aktarım katsayısı aşağıdaki eşitlik ile tanımlanabilir.

$$m = i_d / (nFAc^*) \quad (2.6)$$

burada, i_d , belirli bir elektrokimyasal yöntem için karakteristik kütle transfer akımıdır, n ; transfer edilen yük, F ; Faraday sabiti, A ; arayüzey alanı, c^* ; çözeltinin kütle derişimidir.

ITIES'deki yük transfer reaksiyonları, metal/çözelti arayüzlerinde elektron transfer reaksiyonlarına ek olarak, basit ve kolaylaştırılmış iyon transfer prosesleri de içerir (Yuan ve Shao, 2002). Makroskopik ITIES'de ortaya çıkan tüm yük transfer işlemleri, basit yük transfer, kolaylaştırılmış iyon transfer ve elektron transfer reaksiyonları da dahil olmak üzere bir nanopipet destekli ITIES'de de gözlemlenebilir. Basit bir iyon transfer süreci, bir katyon I^{n+} (veya bir anyon) doğrudan bir fazdan (örneğin; su) ikinci faza (örneğin; organik) transfer edilen tek aşamalı bir reaksiyondur.



Kolaylaştırılmış iyon transfer reaksiyonları organik fazda bir ligand (L^{m-}) gereklidir (örneğin; 1,2-dikloroetan) ve I^{n+} ile tepkimeye girerek kompleks oluşturabilir.

I^{n+} transferinin sonuçlanması;

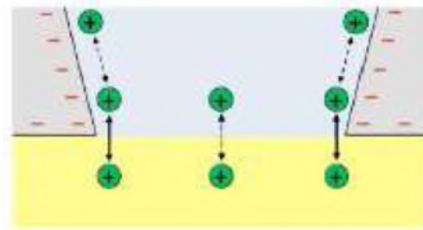


Redoks molekülleri arasındaki, iki karışmayan sıvı faz ile sınırlı olan elektron transfer reaksiyonu ise,



şeklindedir.

Nanopipet destekli ITIES'in dezavantajı ise pipet iç duvarının negatif olarak yüklenmesiyle oluşan elektrostatik etkilerden dolayı voltamogramların kinetik analizlerinin güçleşmesidir. Pipet duvarındaki bu yükler pipet duvarı boyunca, pipet yüzeyine yakın olan iyonların taşınmasını etkileyebilir (Şekil 2.17'deki kesikli çizgili oklar). Buna ek olarak arayüze çok yakın olan negatif yükler pipet duvarına bitişik olan ve arayüzün kenarlarındaki transfer olan iyonlarla etkileşebilirler (Şekil 2.17'deki düz çizgili oklar) ve bu da transfer olan iyonların oranını etkiler. Her iki elektrostatik etki de daha küçük boyuttaki pipetlerde (yaklaşık 10 nm ya da daha küçük) daha da önemli bir etki oluşturmaktadır. Aynı zamanda nano boyutlardaki ITIES'de difüzyon tabakası kalınlığı difüzyon çift tabakası ile karşılaştırıldığında, çift tabaka etkisi geleneksel elektrokimyasal teoriye göre sapma gösterebilir (Smith ve White, 1993).

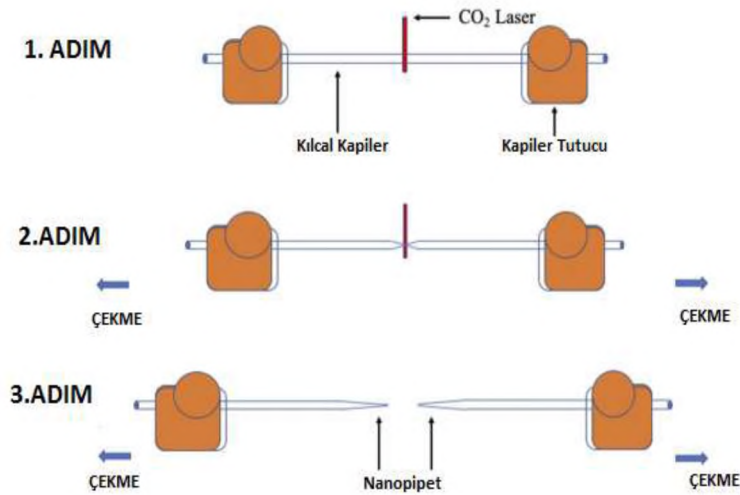


Şekil 2. 17. Nanopipet destekli ITIES'de gerçekleşen elektrostatik etkileşimlerin çift tabaka üzerine etkisinin şematik olarak gösterimi.

Ayrıca sayısal simülasyonlar da nano boyutlardaki arayüzde nanopipetin kenarlarındaki aşırı yük yoğunluğunun oluştuğunu göstermiştir. Bu sebeple pipetin iç yüzeyinin negatif yüklenerek iyon transfer sürecinde elektrostatik etkilerin önemi artmıştır (Rodgers, 2004).

2.8. Nanopipet Üretimi

Genellikle borosilikat veya kuvars kılcal kapilerden elde edilen nanopipetler, lazer bazlı bir pipet çekme (P-2000, Sutter Instrument Co.) cihazı ile kapilerin iki ucuna bir çekme kuvveti uygulanarak üretilirler. Nanopipet uygulamalarında daha iyi sonuçlar elde etmek için kılcal kapiler çekme işlemi uygulanmadan önce piranha çözeltisi ile temizlenmesi gerekmektedir. Yapılacak deneyler için uygun kılcal kapiler seçmek gerekir ve kapilerin filamentli veya filamentsiz olması, duvar kalınlığı gibi bazı faktörlerin düşünülmesi gerekmektedir.



Şekil 2. 18. Lazer pipet çekme cihazı kullanarak nanopipet üretiminde yer alan adımların şematik gösterimi (Gao ve ark., 2019).

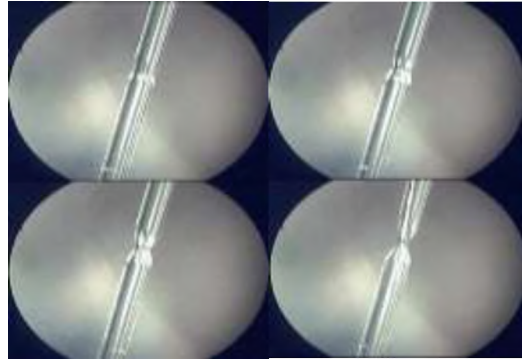
Borosilikat kapiler ile çalışmak kuvars kapilere göre daha kolaydır çünkü cam özellikleri sıcaklıkla kademeli olarak değişir. Aynı zamanda borosilikat düşük erime noktasına sahiptir ve 300-400 °C arasında ısıtma gerektirir. Malzemenin yumuşaklığı nedeniyle nispeten kısa koniklik (nispeten küçük bir dirence ulaşmak için) ultra-küçük nanopipetlerin üretilmesi zordur.

Kuvars kapiler 550-900 °C arasında ısıtma gerektirir. Kuvars kapiler çoğu durumda tercih edilir, çünkü çok küçük pipetler yapmak daha kolaydır. Kuvarsın dezavantajı, değişken olmayan ısıtmaya karşı çok hassas olduğu için simetrik olmayan pipetlere neden olabilir. Bu durumda, daha kalın duvarlı ($\geq 0,5$ mm) kuvars kılcal kapilerin kullanılması uygun olacaktır (Piper ve ark., 2006).

Tüm deneyler için, nanopipetlerin tek bir çözelti ile tamamen doldurulması gerekmektedir. Bu işlem sırasında nanopipet içerisindeki filament, sulu çözeltinin nanopipetin uç kısmına kadar ulaşmasına yardımcı olur, aksi takdirde nanopipetin uç kısmındaki havayı veya kabarcıkları uzaklaştırmak ve nanopipetleri tamamen doldurmak çok zor olur. Bu nedenle çoğu nanopipet uygulamalarında filamentli kılcal kapiler seçilir. Organik çözeltiyi pipet içerisine doldurmak daha kolaydır ve aynı zamanda pipetteki buharlaşma hızını yavaşlatmadığından filamentsiz kılcal kapiler de kullanılabilir.

Çekme işlemi; sıcaklık, filament, hız, gecikme ve çekme olmak üzere beş çekme parametre ayarlanarak kontrol edilir. Çekme parametrelerini ayarlamak karmaşık bir işlemdir. Genel olarak, daha küçük ipuçları elde etmek için, sıcaklık, hız veya çekme değerini artırılabilir veya filament ya da gecikme değerini düşürebilir. Nanometre boyutunu korurken konik kısmın uzunluğunu kontrol etmek için hız değeri sabit tutulup sınırlamaya çalışılabilir ve çekme değerini aynı anda artırılabilir. Daha iyi sonuçlar elde etmek için birden fazla programlama aşaması kullanılabilir (Nadappuram ve ark., 2013).

Çekme parametrelerini ayarlayarak, prob geometrisi istenildiği şekilde düzenlenebilir. On nanometre kadar düşük çaplarda proplar üretmek mümkündür (Nadappuram ve ark., 2013). En basit nanopipetler sadece tek bir kanalı içeriyor olsa da, nanosistem uygulamaları için nanopipetlerin çok yönlülüğünü artıran çok kanallı cihazlar da mümkündür.



Resim 2. 2. Bir nanopipet oluşturmak için cam kapilerin lazerle ısıtma ve çekme işlemi gösterilmektedir.

2.8.1. Nanopipet Üretimini Etkileyen Faktörler

2.8.1.1. Sıcaklık

Sıcaklık parametresi lazerin çıkış gücünü ve cam kapilere uygulanan enerji miktarını belirlemektedir. Ayrıca sıcaklık parametresi, nanopipetlerin uzunluğunu ve uç boyutunu etkilemektedir. Genellikle yüksek sıcaklık ayarlarında daha uzun ve ince uç nanopipetler elde edilmektedir. Önerilen başlama sıcaklığı değeri 225 °C'dir. Eğer programda veya kullanılan cam kapilerde 350 °C'den daha yüksek bir sıcaklık ayarı gerektirirse, bir sorun olduğu anlamına gelir. Genel olarak sıcaklık değişimleri yaklaşık 10 birimlik adımlarla yapılmalıdır çünkü çoğu durumda küçük değişikliklerin etkisi az olacaktır.

2.8.1.2. Filament

Filament, cama ısıtma sağlamak için kullanılan lazer ışınının tarama modelini belirtir. Filament ayrıca tarama uzunluğu içindeki ısının dağılımını tanımlamaktadır. Seçilen filament değeri nanopipet elde etmek için gerekli süreyi de belirlemektedir. "0" filamenti genellikle elektrosprey uçları çekmek için kullanılmalıdır. Bir lazer taraması, küçük şerit uzunluğu ve uç çapı elde etmek için gerekli değildir.

2.8.1.3. Hız

Önerilen aralık 15-35 arasındadır. Eğer sıcaklık ayarı çok yüksekse, camda incelme meydana gelebilir. Cam çok fazla inceltirse, oluşan uçlar geniş ve kırılmış görünebilir. Bu durumda, cam uç döngüden ayrılana kadar, ısı on birim azaltılır ve hız iki birim artırılır. Eğer ısı ayarı çok düşükse, oluşan uçlar kırılmış olarak gözükülebilir, fakat uç duvarları çok kalın olacaktır. Isı ayarının on birim artırılması ve hızın iki birim düşürülmesi camın ince duvarları için yardımcı olacaktır ve düzgün uç oluşumunu sağlayacaktır.

2.8.1.4. Gecikme

Gecikme parametresi, sıcaklığın kapanması ve çekme işleminin başlamasındaki arasındaki süreyi kontrol etmektedir. Gecikme değeri ne kadar yüksek olursa, çekme uygulandığında cam o kadar soğuk olacaktır. Bu nedenle gecikme değeri nanopipet uzunluğunu ve uç çapını etkilemektedir. Sabit çekim sıfıra ayarlandığında, gecikme

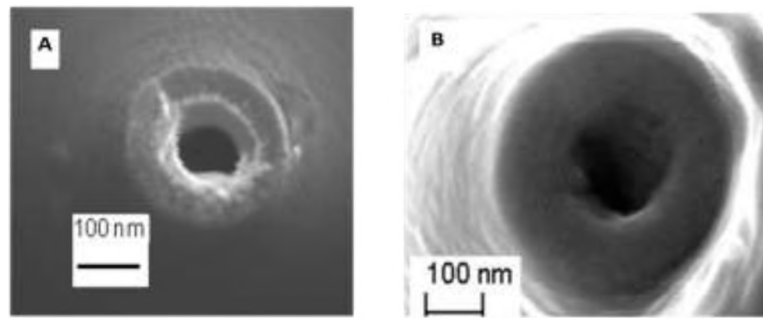
(eğer tek satır programı ise) programdan veya tekrarlanan döngülerden önce camın soğutulması için gerekli süreyi kontrol eder çoklu satır programı kullanıyor ise bir sonraki satırı başlatır.

2.8.1.5. Çekme

Elektrosprey uçlar çekilirken, camın ayrılması için genellikle sabit çekim gerekli değildir. Camınız için etkili bir program geliştirirken, ihtiyacınız olan küçük çaplı ucu yukarıdaki programı oluşturarak bulabilirsiniz. Uç çapını azaltmak için bir seçenek, programın birinci satırını ikinci ve üçüncü satırlara kopyalarak üç satır programını oluşturmaktır. Daha sonra, istenen geometri elde edilene kadar, üçüncü satırdaki çekme ayarım 10 birim artırılır (Sutter, 2012).

2.8.2. Nanopipetlerin Parlatılması

Nanopipetlerde parlatma işlemi, parlatma cihazında nanopipetler mikromanipülator, pipete eğim vermede ve aşındırıcı yüzey üzerindeki kontrollü ilerlemeyi sağlayan cihaz ile tutturulup yavaşça dönen diske doğru hareket ettirilerek yapılır. Nanoelektrotlardan farklı olarak, nanopipetin yarıçapında önemli bir artış olmaması için, nanopipet üç dakikadan daha fazla parlatılmamalıdır. Bir nanopipet metal bir nanoelektrotdan daha kırılğan olduğu için ucu kolaylıkla kırılabilir. Bu nedenle, nanopipet parlatma diskine mesafesi ayarlanarak yüzeye dokunmadan ve bir nanoelektroda göre daha uzak yerleştirilmelidir. Resim 2.3 A'da görülen sert pürüzlülük parlatma ile büyük ölçüde azaltılmıştır.

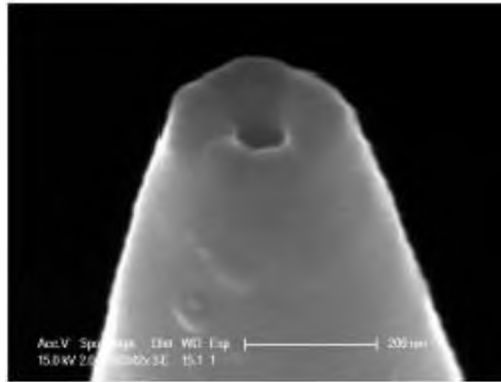


Resim 2.3. A) Parlatılmamış ve B) Parlatılmış nanopipetin SEM görüntüsü.

2.8.3. Nanopipetlerin Silanlanması

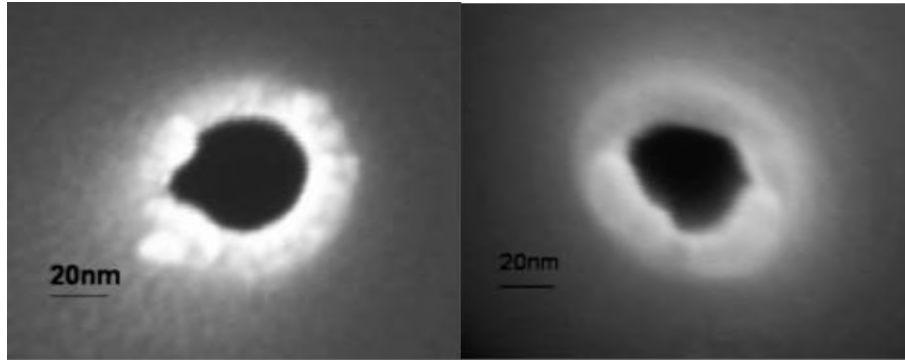
2.8.3.1. Dış duvarın silanlanması

Suyla doldurulmuş bir nanopipet organik bir çözeltiliye daldırıldığında hidrofilik dış duvarında sıvı/sıvı arayüzünün gerçek alanı bulunur. Pipet ağzının geometrik alanından daha büyük olmasının sebebi ince bir sulu film tabakasıdır (Nadappuram ve ark., 2013). Filmin oluşumunu önlemek için dış duvar silanlanarak hidrofobik hale getirilir. Bunu sağlamak için ise iç duvarın silanlanması önlenir. Silanlama, mikrometre boyutundaki pipetlerde, pipet ucunun trimetilklorosilan içine batırılması ve argon gazı geçirilerek yapılabilir ancak nanopipetler için bu işlem çok kolay değildir (Brown ve Flaming, 1986; Takami ve ark., 2012).



Resim 2. 4. Aşırı silanlanmış bir nanopipetin SEM görüntüsü (Wang ve ark., 2010).

Resim 2.4'de aşırı silanlanmış bir nanopipetin SEM görüntüsü gösterilmektedir. Nanopipetlerin aşırı silanlanması durumunda nanopipetin iç uç yarıçapına azalma ve aynı zamanda pipet shaftı da daralma olmaktadır. Bu da dış çözeltideki iyon difüzyonunu zorlaştırır ve veri analizini bozabilir. Nanopipetlerde aşırı silanlamaktan kaçınmak için, pipet yaklaşık 1 dakika süreyle sıvı trimetilklorosilan yüzeyinin 1-2 cm üzerine tutularak ve ayrıca iç pipet duvarının silanlanmasını önlemek için de argon gazı pipetin arka kısmından verilerek işlem yapılır. Silanlama süresi, trimetilklorosilan yüzeyi ile pipet arasındaki mesafeye, pipetin yarıçapına ve oda sıcaklığına bağlıdır.



Resim 2. 5. Sırasıyla silanlanmış ve silanlanmamış bir nanopipetin SEM görüntüsü.

Silanlanmış ve silanlanmamış aynı yarıçapa sahip nanopipetlerin SEM görüntüleri Resim 2.5’de gösterilmektedir. Resim 2.5’de gösterilen silanlanmış nanopipetin uç açıklığında aşırı silanlanmadan kaynaklanan tıkanma meydana gelmemiştir. Silanlanmış nanopipetin uç açıklığının boyutu ve şekli, silanlanmamış nanopipet ile çok benzerdir. Sonuç olarak, silanlanma işlemi sonrasında nanopipet ucundaki hidrofobik yüzey tabakasının kalınlığının pipet duvar kalınlığından çok daha küçüktür.

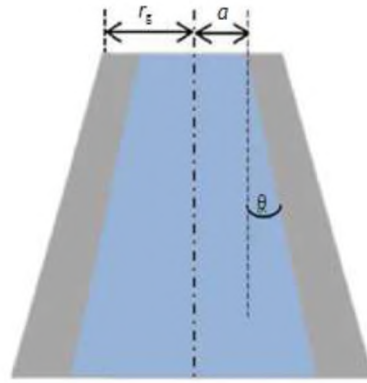
Tipik olarak böyle bir film uç yarıçapı 100 nm’den küçük olan nanopipetlerin cevabını etkilemez. İç duvarda, kısmen pipet ucu bloke edebilen ve çözücünün nanopipetin dar gövdesine çözelti sızmasına neden olan filmin oluşmasını önlemek için, daha küçük pipetlerin silanlanması dikkatle yapılmalıdır. Buhar fazındaki pipetlerin silanlanması için, çok küçük pipetlerle ilgili olarak, örneğin; 10 nm yarıçaplı pipetlerin fazla silanlanma işleminden kaçınmak gerekir. Bununla beraber, 10 nm’den daha küçük pipetlerin silanlanma ihtimali kesin değildir.

2.8.3.2. İç duvarın silanlanması

Pipet uçları 5-7 saniye süreyle trimetilchlorosilan içine daldırılır ve böylelikle pipetin iç ve dış duvarı silanlanmış olur ancak sulu çözeltinin aksine, organik çözelti dış duvarda bir film tabakası oluşturmaya yatkın değildir (Shevchuk ve ark., 2006; Ebejer ve ark., 2013). İç duvarının silanlanması için daha kontrollü bir yöntem ise şöyle açıklanabilir; Pipetler ilk önce pompa tarafından boşaltılan bir mini vakum desikatörde sabitlenir ve daha sonra silan buharı şişeden desikatöre verilir, burada pipetler yaklaşık 15 dakika boyunca silan buharına maruz bırakılır.

2.8.4. Nanopipetlerin Karakterizasyonu

Elektrokimyasal ve analitik tekniklerdeki uygulamalar için bir nanopipetin cevabı, geometrisinden ve yüzey kimyasından çok etkilenmiştir. Nanopipetlerin boyu küçüldükçe, özellikle nanopipet problemler için kullanılacak ise geometrik karakterizasyon daha fazla önem kazanır. Nanopipetlerin uç kısımlarının düz veya yamuk, kırılmış veya kırılmamış ve uç çapının büyüklüğü gibi özelliklerinin optik mikroskopta kontrol edilmesi nanopipetlerin ilk değerlendirmesinde yararlıdır. Fakat 1 μm 'den daha küçük yarıçapa sahip nanopipetlerin ucu optik mikroskop ile açıkça görülemediğinden, nanopipetlerin geometrik bilgilerini elde etmek için elektrokimyasal yöntemler kullanılır.



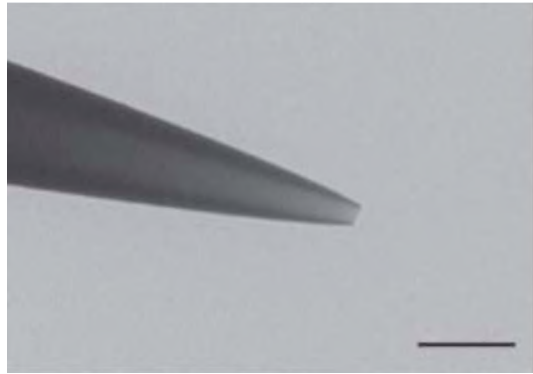
Şekil 2. 19. Nanopipet geometrisinin şematik diyagramı.

Pipet geometrisini tanımlayan ana parametreler; a ; yarıçap, r_g ; uçtaki cam kalınlığı, θ ; pipet açısıdır.

Potansiyel taramalı iyon iletkenlik deneylerinden elde edilen veriler, geçirgenlik elektron mikroskobu (TEM) ve sonlu elemanlar metodu (FEM) ile elde edilen verilerin mevcut yaklaşımlar kullanarak elde edilemeyen doğrulukla nanopipet geometrisini ve yüzey yük özelliklerini tam olarak karakterize eden bir bileşimin altını çizer. Nitekim günümüzde nanopipet karakterizasyonu için kullanılan yöntemler hatalı bilgiye yol açabilir. Karakterizasyona yönelik yeni yaklaşım, bir tarama iyonu iletkenlik mikroskobu (SICM) kurulumu için, elektrokimyasal sistemlerde nanopipetlerin davranışının yüksek seviyede incelenmesini kolaylaştırır.

Nanopipetlerin karakterize edilmesi için en yaygın kullanılan yöntemler elektron mikroskopisi ve elektrokimyasal tekniklerdir. SEM, pipet geometrisini görselleştirmenin doğrudan bir yoludur, ancak cihazın çözünürlüğü ile sınırlıdır. Çapları 50 nm'den küçük pipetler için, pipet ucunu tam görmek zordur. Bununla birlikte, SEM, pipet boyutu ve geometrisi hakkında önemli bilgiler sağlamaktadır. TEM, SEM kadar yaygın olarak kullanılmasa da, nanopipetlerin karakterizasyonu için çok yararlı olabilir.

Metal nanoelektrotlara benzer şekilde, bir nanopipet boyutu ve geometrisi AFM tarafından incelenebilir. Bununla birlikte, stabilite sorunları nedeniyle $RG < 2$ olan ve keskin pipetlerin yüksek kaliteli görüntülerinin elde edilmesi zor olabilir. Karakterizasyona yönelik yeni yaklaşım da ise, nanopipetlerin davranışının yüksek seviyede incelenmesini, taramalı iyon iletkenlik mikroskopu kolaylaştırır.



Resim 2. 6. Kuvars camdan üretilen bir nanopipetin TEM görüntüsü.

Dış sulu fazdan dolmuş çözeltisine iyon transferinin kararlı hal voltametri, difüzyon sınırlayıcı akımdan a değerini hesaplamak için genellikle kullanılır. Silanlanmamış nanopipetlerde, nanopipetlerin iç kısmını su fazı ile doldurulurken bir basınç uygulanır. Uygulanan bu basınçtan dolayı pipet ucunun dış yüzeyinde dışarı çıkan su fazının pipet dış duvarında ince bir tabaka oluşturması nedeniyle difüzyon sınırlı akımda artış olur. Silanlanmamış nanopipetlerin yarıçapı, Beattie tarafından önerilen eşitlik ile bulunabilir (Beattie ve ark., 1995).

$$i_2 = 3.35\pi zFD_2c_2*a \quad (2.10)$$

Burada; z ; aktarılan iyonun yükü, F ; Faraday sabiti, D_2 ; difüzyon katsayısı, a ; iç pipet yarıçapı ve c_2^* ; dış çözeltideki hacim derişimidir. Denklemin, mikrometre boyutlu pipetler için deneysel olarak elde edilen yaklaşık bir denklem olduğunu da akılda tutmak gerekir.

Eşitlikte verilen 3.35π değeri nanopipet ucunun dış yüzeyinden dışarı çıkan su fazının, nanopipetin dış duvarında ince bir sulu film tabaka oluşturmasından dolayı akıma olan katkıyı ifade etmektedir. Oluşan bu ince sulu film tabakadan dolayı arayüzün etki alanı, pipet ucunun geometrik alanından çok daha büyük olur ve bundan dolayı difüzyon akımında önemli bir artış gözlenir.

Nanopipet su/organik faz arayüzü düz bir haldedir ve bu durumda voltametrik cevaplar mikrodisk için bilinen teoriye uyar. Silanlanmış bir nanopipetin uç kısmında difüzyon akım için aşağıdaki denklem daha uygundur (Mirkin ve Amemiya, 2015).

$$i_2 = 4xzFD_2c_2^*a \quad (2.11)$$

Burada, z ; aktarılan iyonun yükü, F ; faraday sabiti, D_2 ; difüzyon katsayısı, c_2^* ; dış çözeltideki hacim derişimi, a ; iç pipet yarıçapı ve x ; disk şeklindeki arabirimler için ifade edilen rg/a 'nın bir fonksiyonudur (Zoski ve Mirkin, 2002). İkinci parametre biliniyorsa a veya RG denklemden bulunabilir.

Dolum çözeltisinde başlangıçta aktarılabilir bir iyon varsa, iyon transfer akımı pipet içindeki difüzyonla belirlenir. İçerideki pipetin geometrisi, iyon çıkışının sabit hal sınırlayıcı akımından değerlendirilebilen, a ve θ_p olmak üzere iki parametre ile yaklaşık olarak tanımlanabilir.

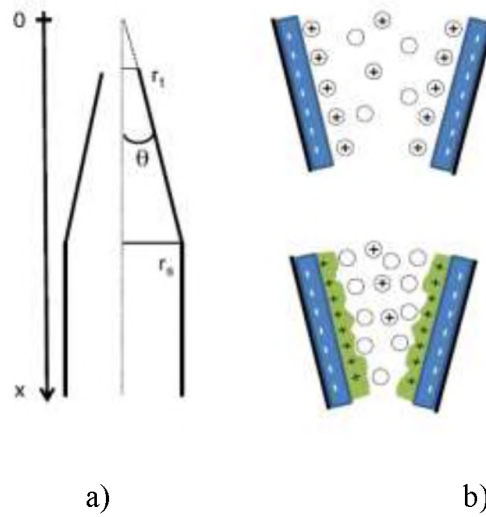
$$i_1 = 4f(\theta_p)zFD_1c_1^*a \quad (2.12)$$

Burada, z ; aktarılan iyonun yükü, F ; faraday sabiti, D_1 ; difüzyon katsayısı, c_1^* ; dış çözeltideki hacim derişimi, a ; iç pipet yarıçap, $f(\theta_p)$, aşağıdaki şekilde verildiği gibi, uç iç açısının bir fonksiyonudur (Rodgers ve ark., 2010).

$$f(\theta_p) = 0,0023113912 + 0,013191803\theta_p + 0,00031738596\theta_p^{1,5} - 5,8554625 \times 10^{-5}\theta_p^2 \quad (2.13)$$

2.9. Nanopipetlerin Elektrokimyası ve Elektrokimyasal Ölçümler

Nanopipetlerin elektrokimyasal davranışı, geleneksel mikroelektrotlardan önemli ölçüde sapma göstermektedir. Örneğin, cam nanopipetler asimetrik bir çıkış akımı sergileyerek simetrik bir potansiyel girişine tepki verir, bu da akım düzeltme olarak tanımlanır (Shoup ve Szabo, 1984). Bu olay, uç kısmının içinde dağınık bir elektriksel çift tabaka oluşumuna neden olur. Çift tabaka kalınlığı nanopipet çapıyla karşılaştırılabilir, iyonik türler ve yüzey yükleri arasındaki elektrostatik etkileşim, iyon taşıma özelliklerini etkiler.



Şekil 2. 20. a) Bir nanopipet ucunun geometrik gösterimi ve b) Farklı yüzey yükleri ile nanopipetlerin akım düzeltmesini göstermektedir.

Akım düzeltmenin, elektrolit derişimi, pH ve uygulanan voltajdan etkilendiği gösterilmiştir (Shoup ve Szabo., 1984). Akım düzeltme sadece 100 mM veya daha düşük elektrolit derişimlerinde gözlenir. Yüksek elektrolit derişimlerinde önemli bir akım düzeltme bildirilmemiştir. Mevcut elektrokimyasal literatürle uyumlu olarak, çift tabaka kalınlığı, elektrolit derişiminin artmasıyla azaltılır. Örneğin, 0,01 M, 0,1 M ve 1 M KCl çözeltilerinde karakteristik çift tabaka kalınlıkları sırasıyla yaklaşık olarak 3,1 ve 0,3 nm'dir. Yüksek tuz derişimlerinde, iyon akışı yüzey yükleri için duyarsız hale gelir (Umehara ve ark., 2006). Bu nedenle, sistemdeki elektrolit derişimi, nanopipet deneyleri için çok önemlidir.

Akım düzeltme işlemi, nanopipet açma bölgesine çöktürülmüş veya kovalent bağlanmış fonksiyonel gruplarla yapılabilir. Pozitif yüklü amino grupları olan bir poli-l-lisin, negatif yüklü nanopipet yüzey üzerinde fiziksel olarak soğurulmuş olabilir. Protonlanmış amino grupları akım yönünü tersine çevirir. Katyonik dendrimer ile modifiye edilmiş nanopipet ve polietilenglikol (PEG) ile modifiye edilmiş nanopipet benzeri yapıları kullanarak protein bağlayıcı bir çalışmada benzer sonuçlar gözlemlenmiştir. Düzeltme derecesi ve düzeltme katsayısı (R), verilen negatif ve pozitif potansiyelde kaydedilen akımın mutlak değerlerinin oranı olarak tanımlanır.

$$R = \left| \frac{I_-}{I_+} \right| \quad (2.14)$$

Düzeltme katsayısı, nanopipet uçlarına işlevsel hale getirilmiş bir katmanın yerleştirilmesiyle nanopipetin elektriksel tepki değişiminin izlenmesi için yararlı bir parametredir. Kaplanmamış cam nanopipet yüzeyleri (örneğin; kuvars veya borosilikat), negatif bir akım doğrultusunu ($r > 1$) indükler. Poli-l-lisin gibi pozitif yüklü polielektrolitler ile nanopipet kuvars yüzeyinin işlevsel hale getirilmesi akım doğrultusunu ters çevirir ($r < 1$). Genel olarak, nanopipet ucunda yakalanan yüklü bir molekülün, nanopipette yüzey yük yoğunluğunu değiştirir ve zamanla düzeltme katsayısının değişimine bağlı olarak bağlanması izlenebilir. Bu veriler ile nanopipet ucunda oluşan bağlanma veya adsorpsiyon olaylarının ayrıntıları sağlar.

Makroskopik ITIES'in aksine, nanopipet voltametrisinde ara yüzlerdeki elektron transfer veya iyon transfer akımları çok küçüktür. Voltametrik deneyler oda sıcaklığında (23 ± 2 °C) iki elektrotlu bir hücrede gerçekleştirilmiştir.

Ag/AgTPBCl/cDCE mM TEATPBCl + 9.4 mM THATPBCl/cw mM TEACl + 0.1 M LiCl/AgCl/Ag

dış DCE çözeltisi

pipette

Pipetler, küçük (10 μ L) bir şırınga kullanılarak sulu çözelti ile doldurulmuştur. Potansiyel, ya AgCl (bir pipet içindeki sulu referans) ya da AgTPBCl (dış organik referans) ile kaplanmış 0,25 mm çaplı iki Ag tel arasında uygulanmıştır. Dış DCE fazından iç sulu faza katyon transferi ile üretilen akım pozitif olarak belirlenmiştir.

Pipet voltametrisinde doğru potansiyel tarama hızı seçmek, kararlı hal ve yeterince düşük akım elde etmek için gereklidir. Bilgisayar simülasyonları ve deneyleri, nano-ITIES'in her iki tarafındaki iyon difüzyonunun potansiyeli, bir döngüde orta düzeyde sabit bir duruma geldiğini göstermiştir.

2.10. Nanopipetlerin Kullanım ve Uygulama Alanları

Nanopipetler birçok alanda yaygın olarak kullanılmaktadır. Nanopipetler, analitik kimya, biyomedikal uygulamalarda, nanofizyoloji, moleküler teşhis ve hücresel biyoloji gibi çeşitli alanlarda uygulamaları nedeniyle bilimsel çalışmalarda ilgiyi artırmıştır.

Nanopipetler, katı hal biyosensörlerinin seçiciliği ve hassasiyeti ile nano ölçekli boyutların avantajını sunduğundan, elektrokimyasal biyosensörlerin geliştirilmesinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Nanopipetler, örneğin; pH (Nadappuram ve ark., 2013), sodyum (Piper ve ark., 2006), potasyum (Takami ve ark., 2012) ve diğer iyonların yanı sıra dopamin (Rees ve ark., 2015) ve DNA (Steinbock ve ark., 2010) moleküllerini tespit eden kimyasal sensörler olarak yaygın şekilde kullanılmaktadır.

Nanopipet uygulamaları, tek partiküllerin veya moleküllerin belirlenmesi, sayılması ve dizilimi gibi farklı kullanım alanlarını içerir (Brown ve Flaming, 1986; Klingenberg, 2005). Bu uygulamalarda, nanopipetin uç kısmına kadar olan iyonik akımdaki değişikliklerden yararlanılır. Bu problemler ilaçlar ve diğer uyarıcılar, yüzeyler ve ara yüzler de dahil olmak üzere moleküllerin taşınması için güçlü araçlar oluşturmaktadır.

Nanopipetler elektrokimyasal ve analitik tekniklerde belirleme, sıralama, algılama, taşıma ve görüntüleme için araç olarak yaygın şekilde kullanılmaktadır. Ayrıca, hücre içi seviyelerde pikolitre hacimleri aspire etmek veya enjekte etmek için de kullanılmışlardır. Nanopipetler, moleküler ve hücre biyolojisinde en son araştırmalar için araçlar haline gelmiştir.

Teknolojideki gelişmeler ve araştırma alanlarının genişlemesi ile işlevselleştirilmiş nanopipetler, tek bir hücre içindeki değişikliklerin nicel ölçümünü gerçekleştirmek için başarıyla kullanılmıştır.

Farklı tarama sistemi mikroskopisi (SPM), tekniklerinde kullanılan nanopipet propları, elektrotlar ve canlı hücreler de dahil olmak üzere bir dizi malzeme arasındaki ara yüzey özelliklerinin incelenmesi için giderek daha fazla kullanılmaktadır (Ebejer ve ark., 2013) (Shevchuk ve ark., 2006). Nanopipet kullanılabilen SPM tekniklerine örnek olarak, taramalı elektrokimyasal mikroskopi (SECM) (Amemiya ve ark., 2008), iyon iletkenlik mikroskopisi (SICM) (McKelvey ve ark., 2014) ve taramalı elektrokimyasal hücre mikroskopisi (SECCM) (Ebejer ve ark., 2013) sayılabilir. İncelenen yüzeyin veya ara yüzeyin ötesinde, nanopipetin büyüklüğü, şekli ve yüzey özellikleri SPM cevabını da büyük oranda etkiler. Böylece nicel analiz için tam nanopipet özelliklerine bağlı olarak sağlam teorik modellerle ihtiyaç duyulabilir. Nanopipetler, işlevsel çok yönlülüğü ve kolay üretim özelliği nedeniyle, nanobilim içerisinde giderek daha önemli hale gelmektedir.

Nanopipet teknolojisinin hem teknik hem de teorik yönlerindeki gelişmeler, kanser, diyabet ve Alzheimer hastalığı dahil çeşitli hastalıkların erken teşhisi ve tedavisi üzerinde derin bir etkiye sahiptir.

Wei ve arkadaşları, lazer destekli çekme cihazı kullanarak 20 nm kadar küçük nanopipetler elde etmişler ve onları amperometrik deneylerde kullanmışlardır. Daha da küçük pipetler (3 nm ve daha düşük yarıçaplı) kolaylaştırılmış iyon transfer (FIT) kinetiğini ölçmek için kullanılmıştır (Wei ve ark., 1997).

Umehara ve arkadaşları, nanopipetin uç yüzeyindeki elektrostatik, biotin-streptavidin ve antikor-antijen etkileşimlerinin bir nanopipet gözeneginden geçen iyonik akımı etkilediğini göstermişlerdir. Ayrıca, cam nanopipet yüzeyiyle etkileşime giren yüksek yüklü polimerlerin nanopipet elektrodunun düzeltme özelliğini modüle ettiğininde bulmuşlardır. Yüzeğe bağlı problemler ile hedef proteinler arasındaki afiniteye dayalı bağlanma, kısmi bir kuşatma veya değiştirilmiş yüzey yükü nedeniyle iyonik akımda bir değişikliğe neden olmuştur. Bu nedenle, uygun moleküler tanıma unsurları ile işlevsel hale gelen nanopipetlerin biyomedikal ve biyolojik araştırmalarda nanosensörler olarak kullanılabileceğini göstermişlerdir (Umehara ve ark., 2009).

Sa ve arkadaşları, dihidroimidazol ile modifiye edilmiş kuvars nanopipetleri ve bu nanopipetlerdeki pH değişimlerine ve iki değerlikli metal iyonlarına karşı akım-potansiyel yanıtını incelemişlerdir. Nanopipetlerin ICR (iyon akımını düzeltme) yanıtını inceleyerek, nanopipetler üzerindeki yüzey yükünün niteliksel bir resmini gözlemlenmişlerdir. Kobalt bağlanmasının ve bağlanma bölgelerinin yenilenmesinin gözlemlendiğini bildirmişlerdir. Ayrıca, ICR ve dendrimer ile modifiye edilmiş nanopipetler kullanarak spesifik DNA dizilerini tespit etmişlerdir (Sa ve ark., 2010).

Zhang ve arkadaşları, nanopipetlerin kimyasal analizlerdeki uygulamaların görüntüleme alanındaki gelişmelerle beraber birçok alanda odak noktası haline geldiğini söylemişler ve bu konuda araştırma yapmışlardır. Tek moleküllerin, nanoparçacıkların ve tekli hücrelerin incelenmesinde, sıvı/sıvı arayüzlerdeki yük transferleri (iyon ve elektron) reaksiyonlarının araştırmalarında, karmaşık elektrokimyasal reaksiyonlarının mekanizmalarını incelemede ve biyoanalizler yapmak için nanopipetleri araç olarak kullanmışlardır (Zhang ve ark., 2018).

Jing ve arkadaşları, mikro ve nanopipet destekli sıvı/sıvı arayüzdeki yük transfer reaksiyonlarının dopamin gibi küçük, biyolojik olarak öneme sahip moleküllerin belirlenmesinde de kullanılabileceğini belirtmişlerdir. Buna benzer moleküllerin transfer davranışlarının anlaşılmasının biyosensörlerin oluşturulmasında önemli bir yardımcı olacağını savunmuşlardır (Jing ve ark., 2006).

Vilozny ve arkadaşları, kalsiyum iyonlarına karşı artan bir tepki gösteren, bağlanmayı hızla tersine çevrilebilen kalmodulin ile modifiye edilmiş bir nanopipet üretimi yapmışlardır. Tek bir nanopipetten birden fazla ölçüm yapılmasını, oldukça kararlı sinyaller elde edilmesini ve böylece bağlanma sabitlerinin belirlenmesini sağlamışlardır. Yukarıda bahsedilen yöntemlerin geliştirilmesiyle, nano kanallarda hapsedilmiş proteinlerin karakterizasyonunun yanı sıra nanogözenek sensörleri kullanılarak protein-protein etkileşimlerinin ölçülmesini sağlamışlardır (Vilozny ve ark., 2011).

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Materyal

3.1.1 Mikropipet Çekme Cihazı

P-2000 mikropipet çekme cihazı ile mikropipet üretimi, optik fiber prob ve nanosprey uç teknolojisindeki önemli gelişmeleri temsil etmektedir. Bu cihaz aynı zamanda lazer tabanlı CO₂ ısı kaynağıyla bütünleşmektedir. P-2000, çoğu cam kapiler ile çalışmaya uygundur fakat kuvars cam kapilerle çalışması cihaz için bir avantajdır. Cihaz en fazla 8 ayrı komut satırından oluşan 100 farklı programı depolayabilir. Ayrıca cihazın; sıcaklık, filament, hız, gecikme ve çekme parametreleri bulunmaktadır. Bu cihazın kullanımı için önemli bir faktör ise kullanılan camın çapıdır. Dış çapı 1,2 mm'ye kadar olan camların bile ısıtılması amacıyla bu cihaz tasarlanmıştır.

P-2000 mikropipet çekme cihazında CO₂ lazer ısı kaynağının seçilmesinin bazı sebepleri vardır. Bunlar;

- Lazerin nominal emisyon dalga boyu, camın içerisindeki SiO₂ kafesinin rezonans frekansına yaklaşır ve uygun lazer gücü sağlandığında kuvars veya diğer cam kapiler eritilebilir.
- Geleneksel ısıtma filamentlerinde metal kalıntısı oluşur fakat lazer kullanıldığında metal kalıntısı bırakmaz.
- Pipet çekiminde kullanılan cama, ısı miktarı programlanabilir (Sutter, 2012).



Resim 3.1. P-2000 lazer tabanlı mikropipet çekme cihazı.

3.1.2. Mikropipet Parlatma Cihazı

Parlatma işlemi ise seçkin ve kullanımı kolay BV-10 mikropipet parlatma cihazı ile yapılmaktadır. Bu cihaz 0,1-100 μm arasındaki mikropipet uçlarında hassas bir parlatma sağlamaktadır. Özgün zımpara levhası tur sistemi, parlatma işleminin daha fazla kontrolü için serbest titreşim yapar.

Bu sistem, ağır bir taban plakası üzerine monte edilmiş yarım dalgaya (250 nm) optik olarak düz bir sistemdir. Düz aşındırıcı plaka, titreşimsiz düz bir parlatma yüzeyi sağlamak için düşük titreşimli ve düşük hızlı bir motora bağlanır. A_2 eksenli mikromanipülator, zımparalama yüzeyine kontrollü ilerleme sağlar ve parlatılacak pipeti tutar. Eğim açısı ve ilerleme hızı ayarlanabilir. Bir kaz boynuna sahip olan LED lamba zımparalama levha ve pipetin keskin aydınlatılmasını sağlayarak parlatma işlemini gerçekleştirir. Parlatma işleminin kontrolü ise 80X stereo mikroskop veya bir elektrot empedans metrenin ile yapılabilir.

Mikroelektrot uygulamaları için, empedans (direnç) ölçer, eğim verme işlemi sırasında uç direncini izlemek için kullanılır. Ölçüm cihazı, üç direnç aralığı (0-10, 0-100, 0-500 MOhm) sunan analog bir tasarımdır. Ölçülen direnç, kapasitif katkılarını en aza indirmek ve neredeyse gerçek bir DC direnç değeri sağlamak için ölçümler 12 Hz'de yapılır (Sutter, 2010).



Resim 3.2. BV-10 mikropipet parlatma cihazı.

3.1.3. Mikroskop

Yaşamımızı sürdürmekte olduğumuz ekosistem içerisinde, canlı ya da cansız birçok varlık vardır. Canlı ve cansız varlıklarda insan gözü ile algılanamayanlar mikroskop adı verilen aletler ile görüntülenirler.

İnsan gözünün algılaması mümkün olmadığı varlıkları oldukça gelişmiş mercekler sayesinde görünür hale getiren ve bunu bilgisayar ortamına da taşıma özelliğine sahip olan mikroskoplar, bilimin çoğu alanında kullanılır. Gelişen teknolojiyle birlikte tasarımı ve özellikleri daha da geliştirilen yeni nesil mikroskoplar, metrenin milyonda bir büyüklüğünde olan ve mikron adı verilen boyuttaki cisimleri dahi oldukça net bir şekilde gösterebilme özelliğine sahiptir.

Araştırılan konuya ve cisme göre kullanılan mikroskopların, türleri farklılıklar gösterir. Örneğin, görüntülenmesi oldukça zor cisimler için faz kontrastlı mikroskoplar kullanılmaktadır. Bu türdeki mikroskoplarda ışık incelenen cisim neyse onun içinden geçer ve de cisim içinden geçen ışık kırılmalara uğrar. Bu kırılmalara göre farklı birimlerin ayırt edilmesi kolaylaşır ve incelenen cisim hakkında bilgiler edinilir. Günümüz bilim ve teknoloji dünyasında araştırılan konular, olgular ya da cisimler oldukça farklılık gösterir. Bu farklılığa göre, incelenmekte olan nesne ilgili daha farklı mikroskoplar da geliştirilmektedir. İhtiyaca göre de geliştirilmeye devam etmektedir (Anonim, 2008).



Resim 3.3. Mikroskop

3.1.4. Elektrokimyasal Ölçme Sistemi

Nanopipetlerde elektrokimyasal çalışmalar, bilgisayar kontrollü CHI Instruments-Model 660C Electrochemical Analyzer cihazında dönüşümlü voltametri (CV) tekniği kullanılarak yapılmıştır.

Bu çalışmada, deneyler iki elektrotlu bir düzenek kullanılarak yapılmıştır. Bu düzende çalışma elektrodu olarak nanopipet içerisine iletkenliği sağlamak için bir metal tel yerleştirilmiştir ve referans elektrot olarak ise Ag/AgCl kullanılmıştır.

3.1.5. Kullanılan Malzemeler ve Kimyasallar

Nanopipetleri üretmek için, borosilikat (O.D.: 1,00 mm, I.D.: 0,58 mm, 10 cm-Filamentli) cam kullanılmıştır.

Nanopipetlerin temizlenmesi için piranha çözeltisi, % 98'lik H₂SO₄ (Merck) ve % 30'luk H₂O₂ (Merck) ile hazırlanmıştır. Piranha çözeltisi, 3:1, H₂SO₄: H₂O₂ oranında hazırlanmıştır.

Nanopipetlerin iç kısmını silanlamak için, trimetilklorasilan (Aldrich) çözeltisi etil alkol (Merck) ile seyreltilerek %1'lik hazırlanmıştır. Dış kısmının silanlanmasında trimetilklorasilan (Aldrich) çözeltisi kullanılmıştır.

Nano arayüzü oluşturmak için, su/diklorometan (DCM-Merck) ortak iyon olarak TEA⁺ (tetraetilenamonyumiyodür- Fluka AG) içeren, sulu fazda 0,3 mM ve organik fazda 3 mM derişimlerde hazırlanmıştır.

Kullanılan saf su ise TKA Zenner Power-Water Purification System cihazı ile elde edilmiştir.

3.1.6. Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM)

İnsan gözünün, çok küçük nesnelere göre bilme olanağı sınırlıdır. Bu nedenle görüntüyü sağlamak için ışık yolları merceklerle değiştirilerek, çok küçük nesnelere görme olanağı sağlayan optik cihazlar geliştirilmiştir. Yalnız bu cihazların, büyütme miktarlarının sınırlı olması ve elde edilen görüntü üzerinde işlem yapma imkanının olmayışı sebebiyle araştırmacıları yeni sistemler geliştirmeye doğru yönlendirmiştir.

Manfred Von Ardenne, 1930'lu yıllarda Taramalı Elektron Mikroskobu, SEM'in bulunmasına öncülük etmiştir. SEM, çok küçük bir alana odaklanan yüksek enerjili elektronlarla yüzeyin taranması prensibiyle çalışır. Temel olarak cihaz; elektron tabancası, manyetik lensler ve detektörler olmak üzere üç bölümden oluşur. Elektron tabancasından çıkan hızlandırılmış elektronlar manyetik lensler vasıtasıyla odaklanarak numune üzerine gönderilir. Elektron-numune etkileşmesi sonucu saçılan elektronlar çeşitli detektörler vasıtasıyla analiz edilir. Bu saçılan elektronların dedekte edilmesiyle malzeme içerisindeki yapıların mikro ve nano mertebesinde görüntüleme analizi yapılabilmektedir. Standart SEM cihazları yüksek vakumda, kuru ve iletken yüzeyleri incelemek için uygundur. SEM ile yapılan ölçümler, klasik yapılan yöntemler ile karşılaştırıldığında doğruluk yüzdesinin yüksek olduğu bulunmuştur.

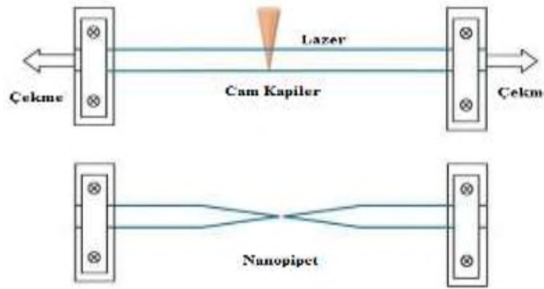


Resim 3.4. Taramalı elektron mikroskobu.

3.2. Yöntem

Nanopipet üretimi için, borosilikat (O.D.: 1,00 mm, I.D.: 0,58 mm, 10 cm-Filamentli) cam kılcal borular öncelikle piranha çözeltisi ile temizlenmiş ve saf su ile durulanmıştır. Temizlenen nanopipetlerin kuruması için bir gece 105 °C’de etüvde bekletilmiştir. Daha sonra borosilikat cam boru, mikropipet çekme cihazına yerleştirilmiştir.

Cihazda parametre seçimi önemlidir ve parametreler kullanılan cam malzemeye göre ayarlanır. Bu çalışmada nanopipet üretiminde filamentli borosilikat cam kullanılmış ve parametre seçimi camın özelliklerine göre seçilmiştir. Cihazın parametreleri olan; HEAT (Sıcaklık), FİLAMENT (Filament), VELOCITY (Hız), DELAY (Gecikme), PULL (Çekme) sırasıyla 420, 4, 13, 130, 120 ayarlanarak nanopipet üretimi yapılmıştır. Nanopipet üretiminin şematik gösterimi Şekil 3.26’da gösterilmiştir.



Şekil 3.1. Nanopipet üretiminin şematik gösterimi (Simonis ve Hennig, 2017).

Elde edilen nanopipetlerin uç kısımlarının kırık olup olmadığını ve uç yarıçaplarını ilk değerlendirmek için optik mikroskopta kontrol edilmiş ve görüntüler kaydedilmiştir. Düzgün çekilmeyen nanopipetler için işlem tekrar edilir.

Üretilen nanopipetlerde parlatma işlemi, nanopipetlerin mikropipet parlatma cihazına yerleştirilip ve 90° açı ile dikkatli bir şekilde yapılmıştır. Parlatma işleminde nanopipetler parlatma diskinde mesafesi ayarlanarak ve yüzeye dokundurulmadan yapılmıştır. Ayrıca nanopipetlerin yarıçapında fazla artış olmaması için üç dakikadan fazla parlatma işlemi yapılmamıştır. Nanopipetlerin uç kısmı kırılabilir olduğu için uç kısmının parlatma işleminin düzgün olup olmadığı optik mikroskopta kontrol edilmiş

ve görüntüleri kaydedilmiştir. Eğer parlatma işlemi düzgün değil ise işlem tekrar edilir.

Nanopipetlerde silanlama işlemi ise trimetilklorasilan çözelti ile yapılmaktadır. Nanopipetlerin iç kısmını silanlamak için, etil alkol ile %1'lik silan çözeltisi hazırlanmıştır ve petri kabı bu çözelti ile doldurularak pipetler içine konulmuştur. Silanlanan pipetlerin kurumaması için pipetler petri kabında bir gece oda sıcaklığında bekletilmiştir. Kurutulan silanlı nanopipetler ertesi gün iç kısmı etil alkolle temizlenmiştir. Böylece nanopipetin iç duvarında ince bir silanlama yapılmıştır. Nanopipetlerin dış kısmı ise yaklaşık 1 dakika süreyle sıvı trimetilklorosilan yüzeyinin 1-2 cm üzerine tutularak yapılmıştır.

Üretilen, yüzeyleri parlatılan, silansız veya silanlı nanopipetlerin yaklaşık yarıçap büyüklüklerini hesaplamak için dönüşümlü voltametri tekniği kullanılmıştır. Deneyle iki elektrotlu sistemde gerçekleştirilmiştir. Çalışma elektrodu olarak görev yapan nanopipet, hazırlanan uygun derişimde TEA⁺ içeren sulu çözelti ile doldurularak içerisine iletkenliği sağlamak için metal tel yerleştirilmiştir. Referans elektrot olarak ise Ag/AgCl elektrot kullanılmıştır. Su/diklorometan (DCM) nano arayüzü, nanopipet elektrokimyasal hücreye yerleştirilerek oluşturulmuştur.



Resim 3.5. Akım-potansiyel ölçüm düzeneği.

Dönüşümlü voltametri (CV) tekniği kullanılarak elde edilen voltamogramlarda okunan akım değerleri ile nanopipetlerin yarıçapları yaklaşık olarak hesaplanmıştır. Son olarak elde edilen nanopipetlerin, taramalı elektron mikroskopu (SEM) yardımıyla görüntüleri alınmıştır.

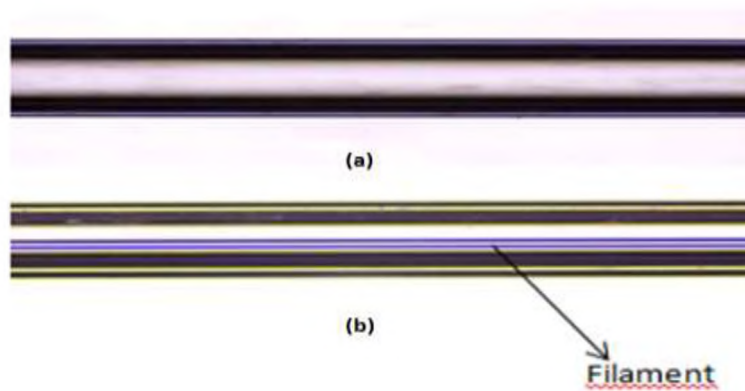
4. ARAŞTIRMA SONUÇLARI VE TARTIŞMA

Bu çalışmada, yöntem bölümünde açıkladığımız yöntem ile nanopipet üretimi, nanopipetlerin karakterizasyonu, arayüzey uygulamaları yapılmış ve deney sonuçları verilmiştir. İlk önce borosilikat cam ile pipet üretimi denemeleri yapılmıştır. Daha sonra üretilen nanopipetlerin deney sonuçları olarak; optik mikroskop görüntüleri, parlatma işlemi sonrası optik mikroskop görüntüleri, voltametrik akım-potansiyel kararlı durum grafikleri, grafiklerden okunan akım değerleri, akım değerleri ile nanopipetlerin yaklaşık yarıçap değerlerinin hesaplanması ve nanopipetlerin SEM görüntüleri verilmiştir. Son olarakta silansız ve silanlı nanopipetlerin akım-potansiyel grafikleri karşılaştırılmıştır.

4.1. Borosilikat Cam Pipet Üretimi

Nanopipetlerin elde edilmesinde kullanılan çekme cihazında pipet çekimleri belirli parametreler ile sağlanmaktadır. Ayrıca borosilikat cam kapilerin iç ve dış çapı yani camın duvar kalınlığı önemlidir. Çalışmalarımızda 1,00 mm x 0.58 mm x 10 cm (dış çap x iç çap x uzunluk) boyutlarına sahip borosilikat cam kapiler kullanılmıştır.

Borosilikat cam kapiler filamentsiz ve filamentli olmak üzere iki çeşittir. Nanopipet üretimi için kullanılan borosilikat kapiler camı filamentsiz ve filamentli olmak üzere iki çeşit olması başlangıç pipetlerinin seçimine etki eden bir faktör olmuştur. Filament cam kapiler içinde bulunan 160 mikronluk bir cam çubuğu ifade etmektedir. Bu çubuk borunun iç duvarına Şekil 4.1 b'de görüldüğü gibi yapışık şekildedir.

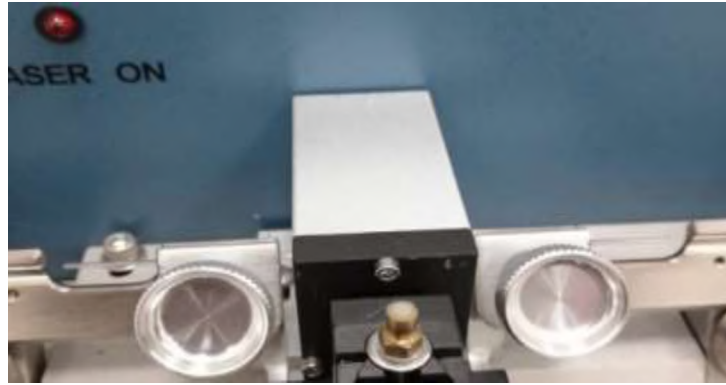


Resim 4.1. a) Filamentsiz ve b) Filamentli borosilikat cam (x4 optik büyütme).

Filamentli cam kapilerin avantajı, pipetler arkadan şırınga ile dolduruldukları zaman içinde bulunan sıvıyı filament yardımıyla kolaylıkla uç kısımlara kadar aktarılmasını sağlamaktadır. Ayrıca filament, pipet ucundaki hava kabarcıklarının oluşmasını azaltmaya yardımcı olmaktadır. Filamentli camların doldurulması kolay ve kullanımını avantajlı olarak görünse de pipetleri doldururken karşılaşılan bir sorun ise; pipet içerisini doldurmak için kullanılan şırınganın uç kısmı pipet içinde bulunan filamentin kırılmasına ve aynı zamanda filamentin pipetin uç kısmına doğru itilmesine neden olmaktadır. Bu durumlarda ise kırılan filament pipet ucunun kapanmasına veya pipetin uç kısmının kırılmasına neden olmaktadır. Bu yüzden pipetlerin içini doldurma işlemi sırasında çok dikkat edilmeli ve kullanılan şırınga filamentte değdirilmeden doldurma işlemi yapılmalıdır.

Nanopipet uygulamalarında daha iyi sonuçlar elde etmek için kılcal kapiler çekme işlemi yapılmadan önce piranha çözeltisi ile temizlenmesi gerekmektedir. Piranha çözeltisi ile temizlenmiş cam kapiler daha sonra saf su ile durulanmalıdır.

Kullanılacak camı seçtikten ve temizledikten sonra pipet üretimini belirleyen diğer önemli bir basamak ise cihazın parametreleridir. Öncelikle borosilikat cam kapiler, lazer tabanlı mikropipet çekme cihazına Resim 4.2’de görüldüğü gibi ortalanarak yerleştirilmiştir. Daha sonra cihaz parametreleri olan; sıcaklık, hız, filament, çekme ve gecikme parametreleri ayarlanarak ve değiştirilerek farklı yarıçap ve geometrilere sahip nanopipetler elde edilmiştir.



Resim 4.2. Lazer tabanlı mikropipet cihazına ortalanarak yerleştirilmiş borosilikat cam kapiler.

Pipet üretiminde camın özelliklerinin yanı sıra, çekme cihazındaki parametrelerin de önemi vardır. Bu parametrelerin her birinin ayrı ve birbirine bağlı etkisi vardır. Örneğin; sıcaklık ile filament parametresi birbirine bağlıdır. Filamentin camı eritecek kadar ısınması gerekmektedir. Bu da sıcaklık parametresi ile sağlanmaktadır. Filament değeri ise nanopipet elde etmek için gerekli süreyi de belirlemektedir. Aynı zamanda hız, gecikme ve çekme parametreleri de birbirine bağlıdır. Hız parametresi çekmenin ne zaman uygulanacağına karar verir. Nanopipet ucunun yarıçapını etkileyen en önemli parametre hız parametresidir. Çekme hızını ayarlayan bu parametrenin değeri arttırılırsa uç çap küçülmektedir, azaltılırsa uç çap büyümektedir. Gecikme parametresi, sıcaklığın kapanmasını ve çekme işleminin başlamasındaki arasındaki süreyi kontrol etmektedir. Çekme parametresi ise sert çekmenin kuvvetini kontrol eder.

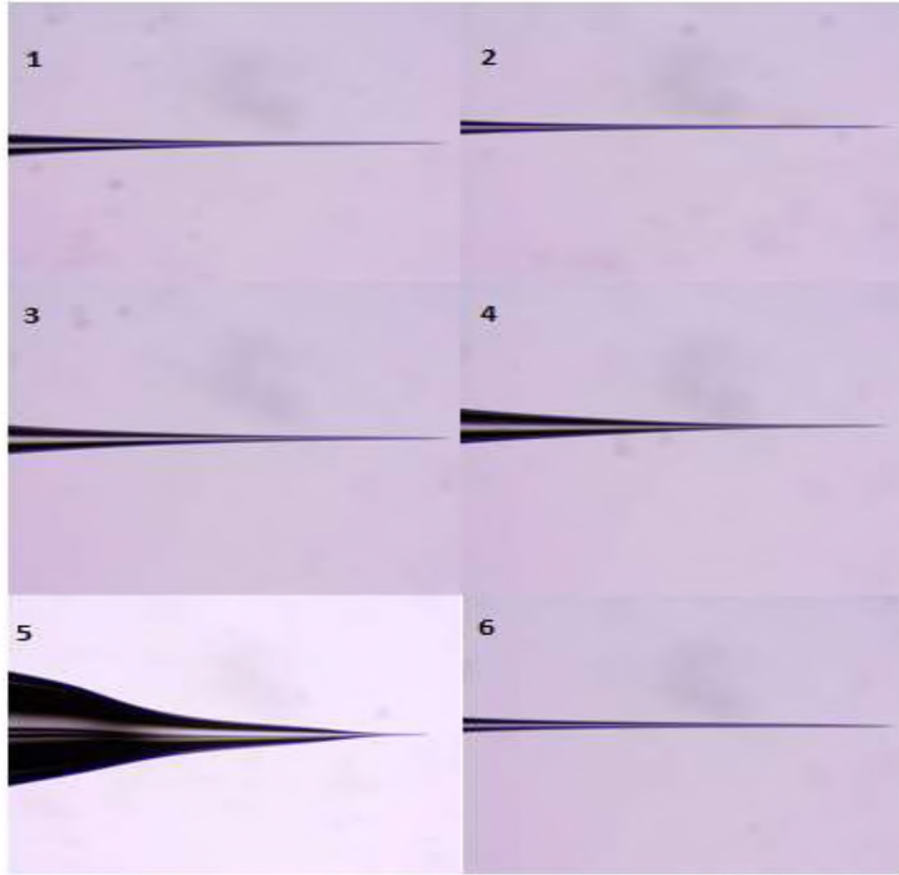
Parametre ayarlama işlemi oldukça zor bir işlemdir. Pipet çekme sırasında ufak değişiklikler bazen bozuk pipetler elde edilmesine neden olmaktadır.

Çizelge 4. 1. Nanopipet üretimi için cihaz parametreleri.

Protokol No	Sıcaklık	Hız	Filament	Çekme	Gecikme
1	450	5	15	150	120
2	330	3	40	180	120
3	350	4	15	120	100
4	450	4	13	140	120
5	430	3	7	130	130
6	420	4	13	130	120

Yaptığımız çalışmada, Çizelge 4.1’de gösterilen cihazın 5 parametresi değiştirerek farklı boyutlara ve yarıçaplara sahip nanopipet üretimi için denemeler yapılmıştır. Uyguladığımız protokol denemelerinin Resim 4.3’de optik mikroskopta (x4 büyütmede) görüntüleri gösterilmiştir.

Protokollerdeki denemelerde elde ettiğimiz nanopipetlerin optik mikroskopta farklı büyütmelerde görüntülerinden yola çıkarak, 6. protokol olan cihaz parametreleri; Sıcaklık:420, Hız:5, Filament:13, Çekme:130, Gecikme:120 seçilmiş ve çalışmalarımızda bu parametrelerle elde ettiğimiz nanopipetler kullanılmıştır. 6. protokol denemesindeki nanopipetin diğer denemelerde elde edilen nanopipetlere göre, nanopipetin boğum kısmından uç kısmına kadar daha uzun, daha homojen, uç yarıçapı daha küçük optimum özelliğe sahip olduğu için çalışmalarımızda bu parametreler kullanılmıştır.

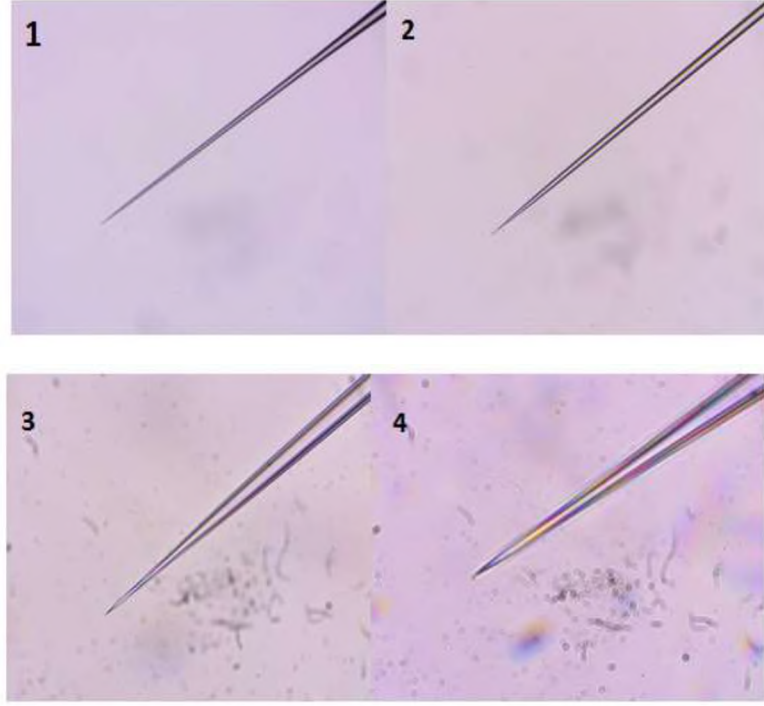


Resim 4.3. Değişik parametrelerde elde edilen nanopipetlerin optik mikroskopta x4 büyütmedeki görüntüleri.

4.2. Nanopipetlerin Optik Mikroskop Görüntüleri

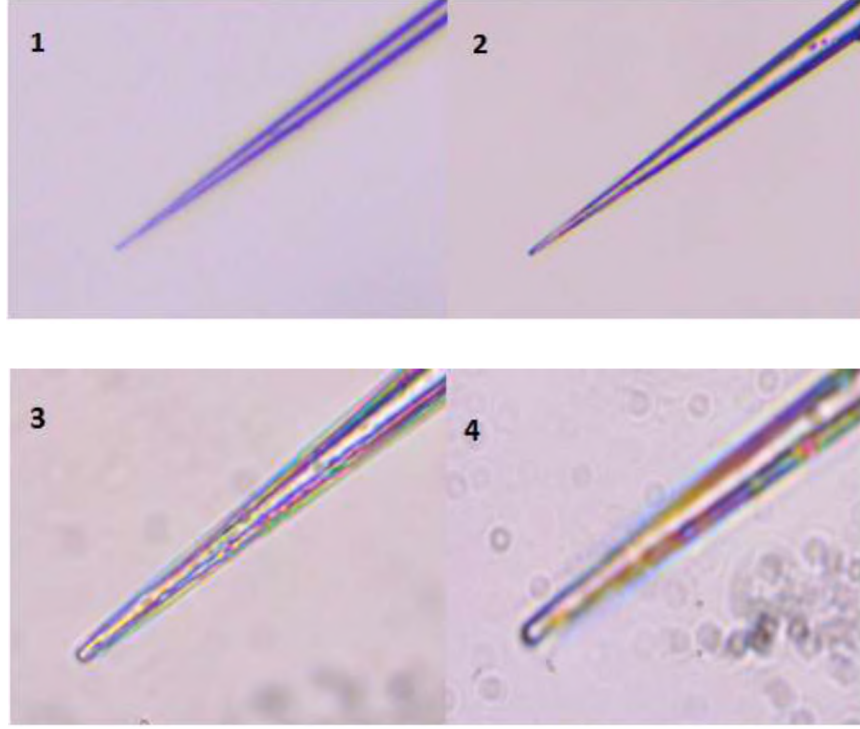
4.2.1. Parlatılmamış Nanopipetlerin Optik Mikroskop Görüntüleri

Lazer çekme cihazında borosilikat cam ile yapılan parametre denemelerinde, sıcaklık, filament, hız, gecikme, çekme parametreleri sırasıyla 420, 4, 13, 130, 120 seçilmiş ve farklı optik büyütmelerde görüntüleri aşağıda gösterilmiştir.



Resim 4.4. Heat; 420, Filament; 4, Velocity; 13, Delay; 130, Pull; 120 parametreleri kullanılarak çekilen nanopipetin parlatılmamış uç kısmının optik mikroskopta sırasıyla x4, x10, x40, x100 büyütmede görüntüleri.

4.2.2. Parlatılmış Nanopipetlerin Optik Mikroskop Görüntüleri



Resim 4.5. Heat; 420, Filament; 4, Velocity; 13, Delay; 130, Pull; 120 parametreleri kullanılarak çekilen nanopipetin parlatılmış uç kısmının optik mikroskopta sırasıyla x4, x10, x40, x100 büyütmede görüntüleri.

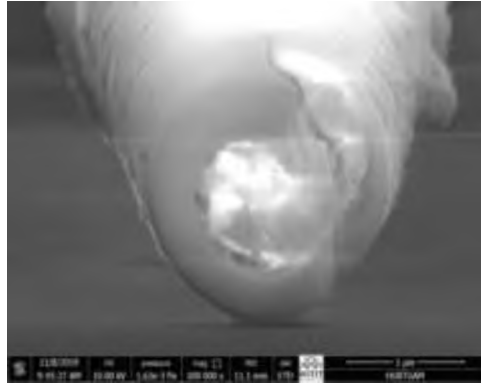
Nanopipetler çekildikten ve parlatma işlemi yapıldıktan sonra uçlarının kırık olup olmadığı ve parlatma işleminin düzgün yapıp yapılmadığını kontrol etmek için her zaman optik mikroskop altında pipet uçlarına bakılması gerekmektedir. Çalışmalarımızda her nanopipet üretimi ve parlatma işlemi sonrasında optik mikroskopta farklı büyütmelerde kontrol edilmiş ve görüntüleri kaydedilmiştir.

Resim 4.4'de seçtiğimiz parametreler sonucu elde edilen nanopipetin parlatılmamış ve Resim 4.5'de ise parlatılmış uç kısmının optik mikroskopta farklı büyütmede görüntüleri gösterilmektedir.

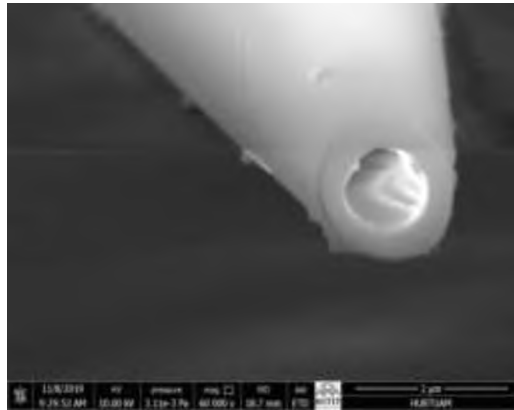
4.3. Parlatmanın Nanopipetler Üzerindeki Etkisi

Nanopipetlerin üretim aşamalarından biri olan parlatma işlemi, pipetin yarıçapındaki etkisi oldukça önemlidir. Bu yüzden nanopipetler üretildikten sonra uç kısımlarının yüzeyinin daha düzgün hale getirmek ve uç açıklığını bir üst tabakaya taşımak için parlatılırlar. Parlatma işlemi son derece dikkatli yapılmalıdır. Nanopipetin yarıçapında önemli bir artış olmaması için pipetler cihaz yüzeyine değdirilmemeli ve üç dakikadan fazla parlatma işlemi yapılmamalıdır.

Resim 4.6'da parlatma işleminin düzgün yapılmayan ve Resim 4.7'de ise parlatma işlemi düzgün yapılan nanopipetin uç kısmının SEM görüntüsü gösterilmektedir. Ayrıca Resim 4.6'da parlatma işlemi fazla yapıldığından dolayı nanopipetin iç uç çapı Resim 4.7'ye göre fazladır. Resim 4.6'da SEM'de 60.000 büyütmede yarıçap değeri 526,5 nm ve Resim 4.7'de SEM'de 30.000 büyütmede yarıçap değeri 460,5 nm olarak ölçülmüştür.



Resim 4.6. Düzgün parlatılmamış nanopipetin SEM görüntüsü.



Resim 4.7. Düzgün parlatılmış nanopipetin SEM görüntüsü.

4.4. Nanopipetlerin Dönüştürümlü Voltametri Sonuçları

Üretilen nanopipetlerin voltametrik karakterizasyonu dönüştürümlü voltametri (CV) yöntemi kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Uygun derişimde standart bir medyatör seçilerek, sulu ve organik çözeltileri hazırlanarak kullanılmıştır. Çalışmalarımızda medyatör olarak tetraetilamonyumiyodür ve organik çözeltiler için ise diklorometan (DCM) seçilmiştir. Ortak iyon olan TEA⁺'ın sulu fazda 0,3 mM, diklorometan yani organik fazda ise 3mM derişimde hazırlanmıştır.

Nanopipetlerden geçen akım bir referans elektrodu polarize etmek için çok küçük olduğundan, deneyler iki elektrotlu bir düzenek kullanılarak yapılmıştır. Yaptığımız düzenekte çalışma elektrodu olarak nanopipet, referans elektrot olarakta Ag/AgCl elektrot kullanılmıştır. Çalışma elektrodu olan nanopipetin içine su fazı enjekte edilmiş ve iletkenliği sağlamak için ise metal bir tel yerleştirilmiştir. Resim 4.8'de içine su fazı enjekte edilmiş ve metal tel yerleştirilmiş nanopipetin görüntüsü gösterilmektedir. Nanopipet organik faz olan diklorometan içine yerleştirilmiş ve akım-potansiyel grafikleri dönüştürümlü voltametri yöntemi elde edilmiştir.



Resim 4.8. Doldurulmuş ve metal tel yerleştirilmiş nanopipet.

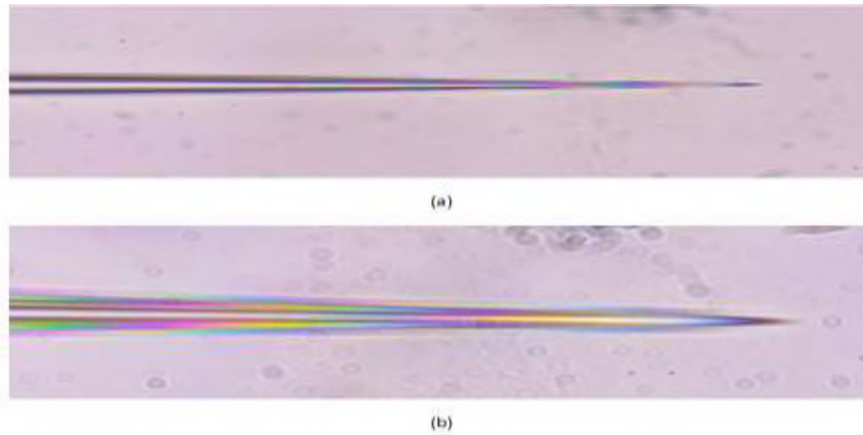
4.4.1. Silanlanmamış Nanopipetlerin Voltametrik Karakterizasyon Sonuçları

Çalışmamızda, öncelikle silanlanmamış üç nanopipetin parlatılmamış ve parlatılmış uç kısımlarının optik mikroskopta farklı büyütmelerdeki görüntüleri alınmıştır. Daha sonra bu nanopipetlerin dönüşümlü voltametri yöntemi ile akım-potansiyel grafikleri elde edilmiştir. Akım-potansiyel grafiklerinden okunan akım değerleri ile nanopipetlerin yaklaşık yarıçap değerleri hesaplanmıştır. Silanlanmamış üç nanopipetin yaklaşık yarıçapları 65,521, 64,035 ve 65,529 nm olarak bulunmuştur.

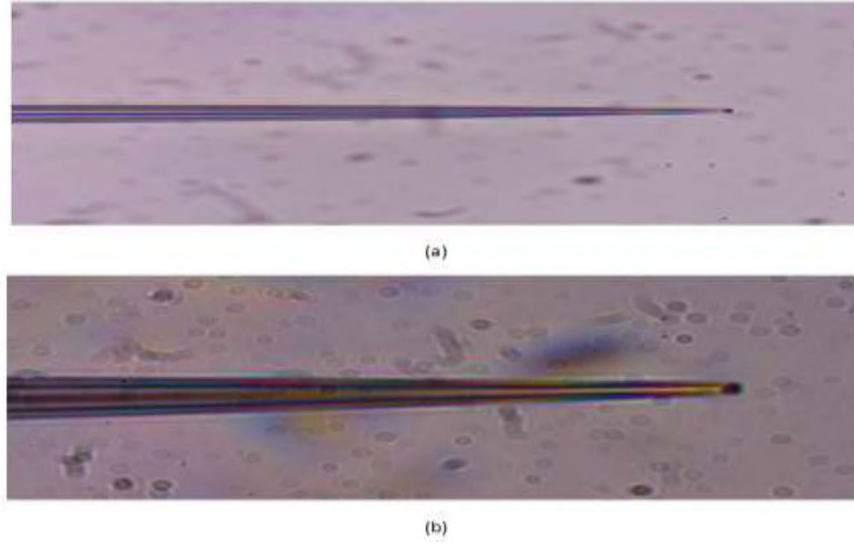
Silanlanmamış nanopipetlerin yarıçapları; Beattie tarafından önerilen eşitlik ile hesaplanmıştır (Beattie ve ark., 1995).

$$i_2 = 3.35\pi zFD_2c_2^*a \quad (2.15)$$

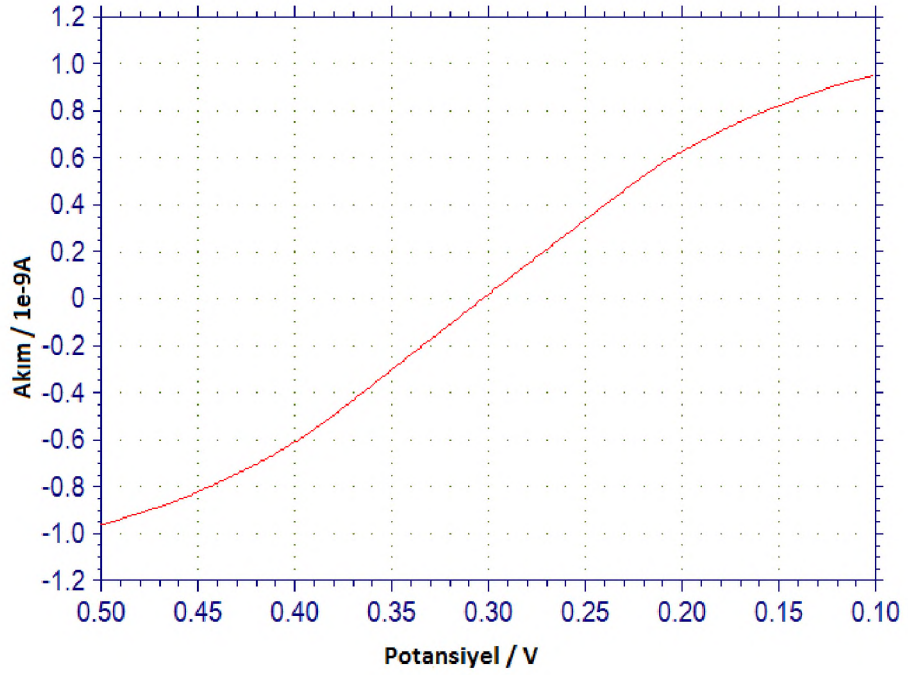
Bu eşitlikte, i_2 ; kararlı durum akımı (A), n ; aktarılan iyon yükü, F ; faraday sabiti (96487 C/mol.e⁻), D_2 ; difüzyon katsayısı (TEA⁺'nın diklorometan içindeki değeri 1x10⁻⁵ cm²/s), c_2^* ; dış çözeltideki derişim (TEA⁺ için 3,00x10⁻³ mol/cm³) ve a (nm) nanopipetin yarıçap değerini göstermektedir.



Resim 4.9. Heat; 420, Filament; 4, Velocity; 13, Delay; 130, Pull; 120 parametreleri kullanılarak çekilen parlatılmamış nanopipet (1) uç kısmının optik mikroskopta a)x40 ve b)x100 büyütmede görüntüleri.



Resim 4.10. Heat; 420, Filament; 4, Velocity; 13, Delay; 130, Pull; 120, parametreleri kullanılarak çekilen parlatılmış ve silanlanmamış nanopipet (1) uç kısmının optik mikroskopta a)x40 ve b)x100 büyütmede görüntüleri.



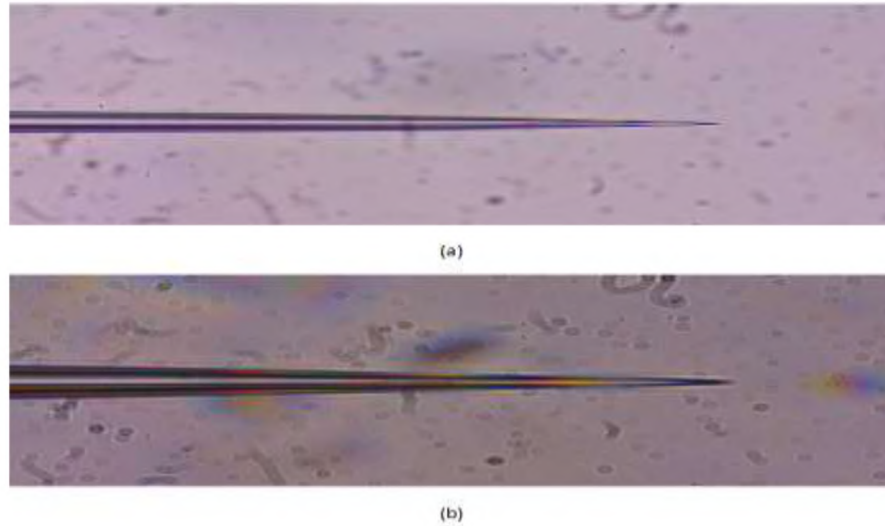
Şekil 4.1. Silanlanmamış nanopipet (1), su/diklorometan arayüzeyinden TEA^{+} 'nın aktarımının akım-potansiyel grafiği. $M_{Su} = 0,03mM$, $M_{DCM} = 3mM$, $v = 50 mV/s$.

Çizelge 4.2. Silanlanmamış nanopipet (1) yarıçap hesaplamaları.

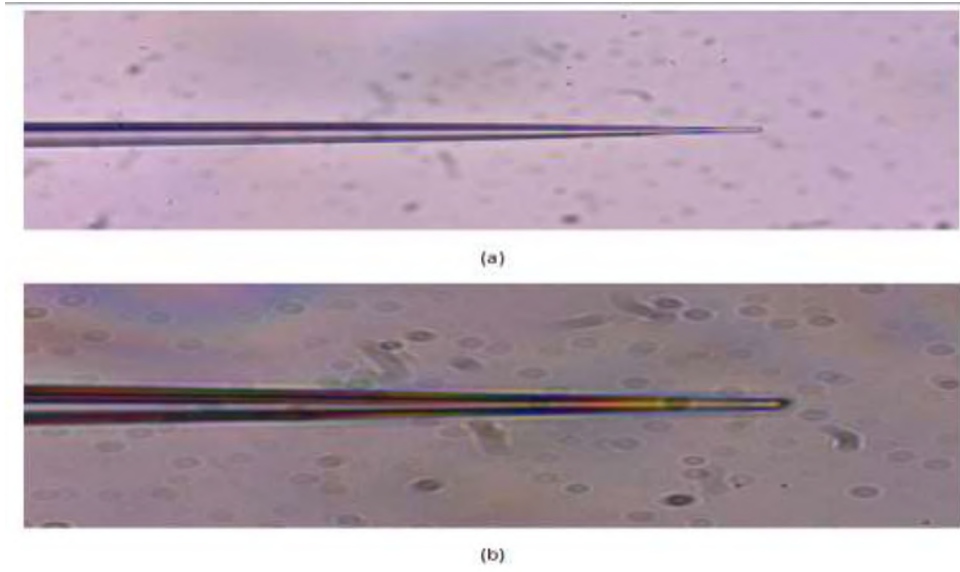
Ölçüm No	Akım / (nA)	Yarıçap (r) / nm
1	1,996	65,553
2	1,992	65,422
3	1,994	65,488
4	1,998	65,619
Ortalama	1,995±0,003	65,521±0,085

Formülde $\pi = 3,14$ alınmıştır.

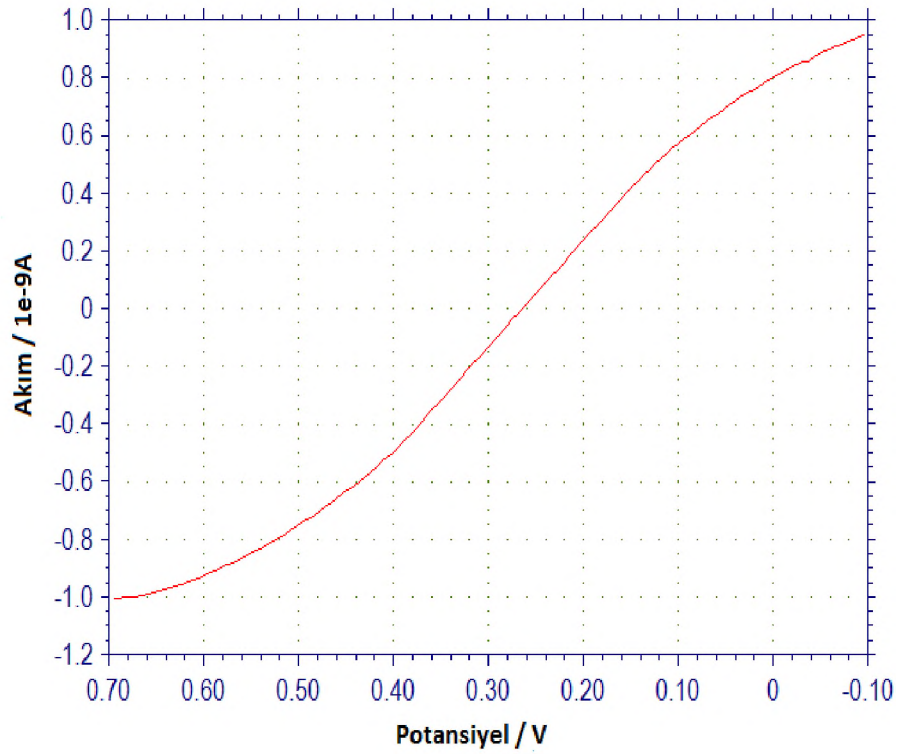
Silanlanmamış nanopipet (1) için 4 ölçüm yapılmıştır. Çizelge 4.2’de ölçümler sonucu elde edilen akım değerleri ve bu akım değerleri ile hesaplanan nanopipetlerin yaklaşık yarıçap değerleri gösterilmektedir. Sonuç olarak, akım ortalaması 1,995 nA ve standart sapması 0,003 ve yarıçap ortalaması 65,521 nm ve standart sapması ise 0,085 olarak hesaplanmıştır.



Resim 4.11. Parlatılmamış nanopipet (2) uç kısmının optik mikroskopta a)x40 ve b)x100 büyütmede görüntüleri.



Resim 4.12. Parlatılmış ve silanlanmamış nanopipet (2) uç kısmının optik mikroskopta a)x40 ve b)x100 büyütmede görüntüleri.



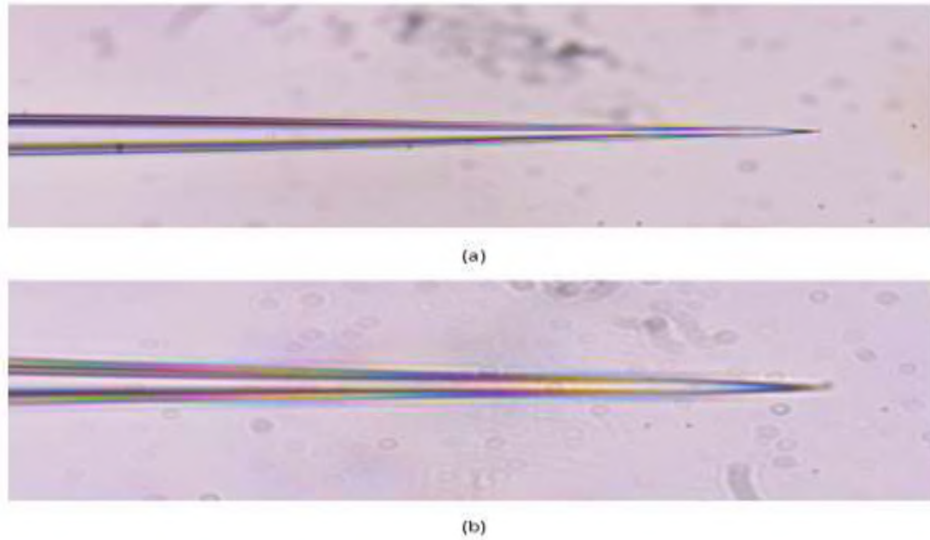
Şekil 4.2. Silanlanmamış nanopipet (2) su/diklorometan arayüzeyinden TEA^{+} 'nın aktarımının akım-potansiyel grafiği. $M_{Su} = 0,03mM$, $M_{DCM} = 3mM$, $v = 50 mV/s$.

Çizelge 4.3. Silanlanmamış nanopipet (2) yarıçap hesaplamaları

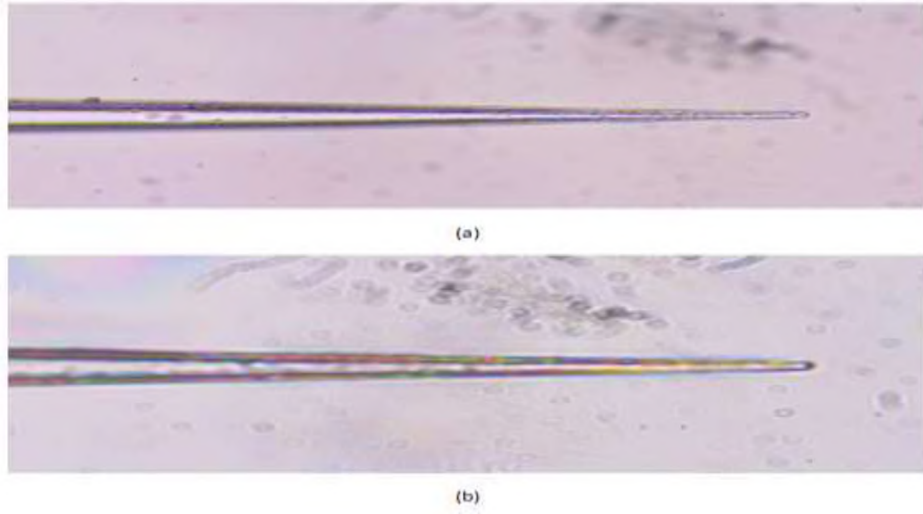
Ölçüm No	Akım / (nA)	Yarıçap (r) / nm
1	1,946	63,911
2	1,955	64,207
3	1,950	64,043
4	1,948	63,977
Ortalama	1,950±0,004	64,035±0,127

Formülde $\pi = 3,14$ alınmıştır.

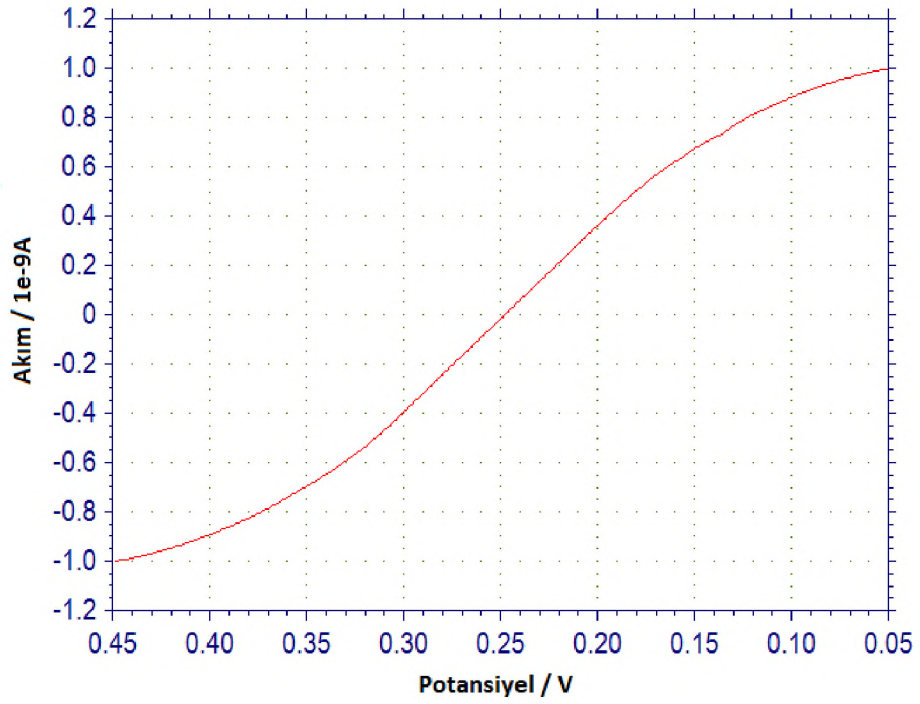
Silanlanmamış nanopipet (2) için 4 ölçüm yapılmıştır. Çizelge 4.3’de ölçümler sonucu elde edilen akım değerleri ve bu akım değerleri ile hesaplanan nanopipetlerin yaklaşık yarıçap değerleri gösterilmektedir. Sonuç olarak, akım ortalaması 1,950 nA ve standart sapması 0,004 ve yarıçap ortalaması 64,035 nm ve standart sapması ise 0,127 olarak hesaplanmıştır.



Resim 4.13. Parlatılmamış nanopipet (3) uç kısmının optik mikroskopta a)x40 ve b)x100 büyütmede görüntüleri.



Resim 4.14. Parlatılmış ve silanlanmamış nanopipet (3) uç kısmının optik mikroskopta a)x40 ve b)x100 büyütmede görüntüleri.



Şekil 4.3. Silanlanmamış nanopipet (3) su/DCM arayüzeyinden TEA⁺'nin aktarımının akım-potansiyel grafiği. $M_{Su} = 0,03\text{mM}$, $M_{DCM} = 3\text{mM}$, $v = 50\text{ mV/s}$.

Çizelge 4.4. Silanlanmamış nanopipet (3) yarıçap hesaplamaları.

Ölçüm No	Akım / (nA)	Yarıçap (r) / nm
1	2,005	65,849
2	1,993	65,455
3	1,981	65,061
4	2,002	65,751
Ortalama	1,995±0,011	65,529±0,354

Formülde $\pi = 3,14$ alınmıştır.

Silanlanmamış nanopipet (3) için 4 ölçüm yapılmıştır. Çizelge 4.4’de ölçümler sonucu elde edilen akım değerleri ve bu akım değerleri ile hesaplanan nanopipetlerin yaklaşık yarıçap değerleri gösterilmektedir. Sonuç olarak, akım ortalaması 1,995 nA ve standart sapması 0,011 ve yarıçap ortalaması 65,529 nm ve standart sapması ise 0,354 olarak hesaplanmıştır.

4.4.2. Silanlanmış Nanopipetlerin Voltametrik Karakterizasyon Sonuçları

Nanopipetlerin önemli diğer bir basamağı ise silanlama ve doldurma işlemidir. Yaptığımız çalışmada iyon transferi su/DCM arayüzeyinde gerçekleşmektedir. Pipet içerisinde yani iç faz su fazı dış faz ise organik fazdır. Doldurma işleminde su fazı pipet içerisine doldurulduktan sonra dış yüzeye dağılmaması ve arayüzün nanopipet yarıçapında olması ayrıca pipetlerin dış yüzeyinin hidrofobik hale gelmesi için silanlanır.

Çalışmalarımızda nanopipetlerin iç ve dış yüzeyini silanlamak için trimetilklorasilan çözeltisi kullanılmıştır. İç duvarını aşırı silanlamadan kaçınmak için trimetilklorasilan çözeltisi etil alkol ile %1’lik hazırlanmış ve pipetlerin iç kısmı bu çözelti ile silanlanmıştır. Silanlanan pipetler bir gece kuruması için oda sıcaklığında bekletilmiştir. Dış duvarını silanlanması ise, nanopipetlerin dış kısmı yaklaşık 1 dakika süreyle sıvı trimetilklorosilan yüzeyinin 1-2 cm üzerine tutularak yapılmıştır.

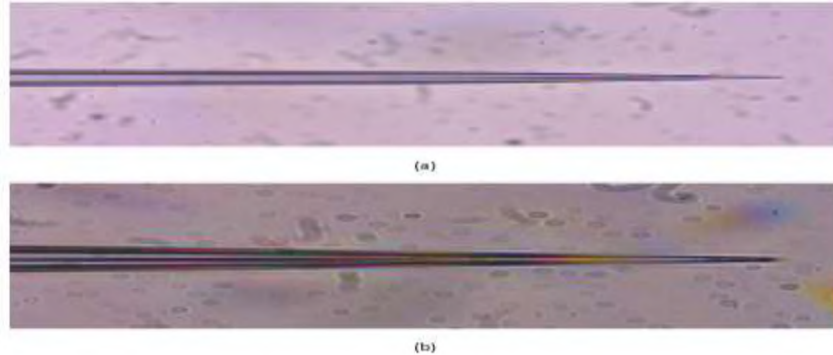
Nanopipetler de doldurma işlemi, pipetin arka kısmından pipet içerisine 10 µL'lik şırınga ile su fazı enjekte edilerek yapılmıştır. Burada önemli olan enjekte edilen su fazının pipet ucuna kadar ulaşmasıdır. Pipet ucunda kabarcık oluşması veya pipetin tam doldurulmaması ölçümleri etkileyen durumlar olmuştur. Bu yüzden nanopipetleri doldurmak zor ve oldukça dikkat isteyen bir işlemdir.

Çalışmamızda silanlanmamış nanopipetlerden sonra, silanlanmış üç nanopipetin parlatılmamış ve parlatılmış uç kısımlarının optik mikroskopta farklı büyütmelerdeki görüntüleri alınmıştır. Daha sonra bu nanopipetlerin dönüşümlü voltametri yöntemi ile akım-potansiyel grafikleri elde edilmiştir. Akım-potansiyel grafiklerinden okunan akım değerleri ile nanopipetlerin yaklaşık yarıçap değerleri hesaplanmıştır. Silanlanmış üç nanopipetin yaklaşık yarıçapları 149,543, 149,449 ve 147,848 nm olarak bulunmuştur.

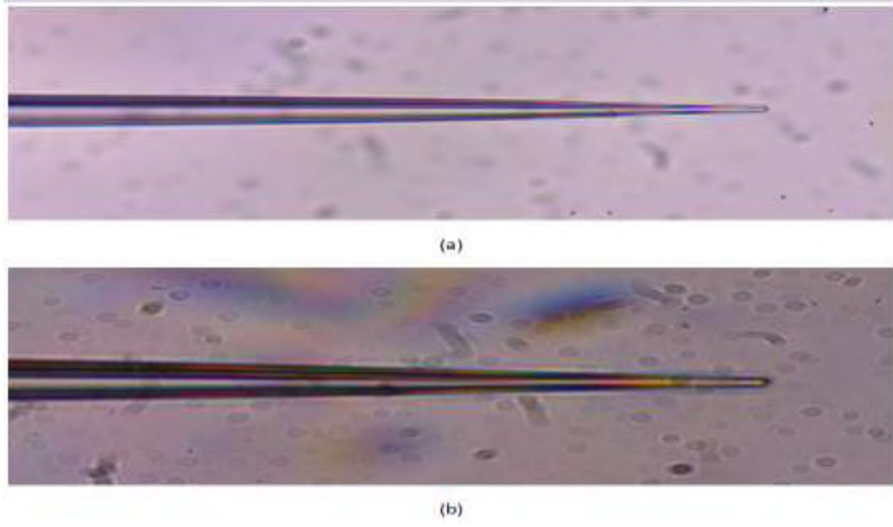
Silanlanan nanopipetlerin yarıçapları aşağıdaki eşitlik ile hesaplanmıştır (Mirkin ve Amemiya, 2015).

$$i_2 = 4xzFD_2c_2^*a \quad (2.16)$$

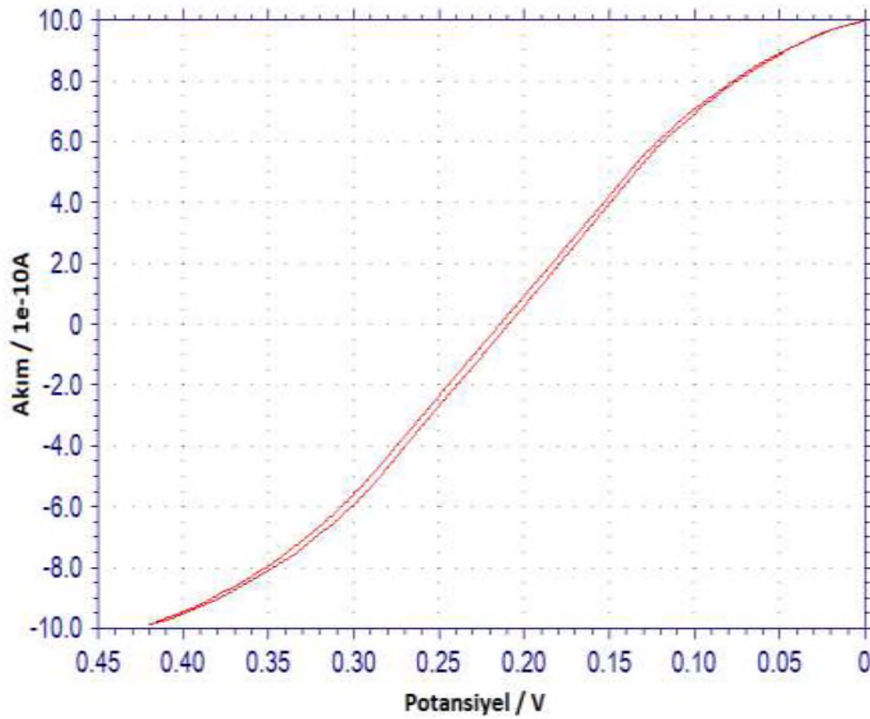
Bu eşitlikte, i_2 ; kararlı durum akımı (A), ve x ; disk şeklindeki arabirimler için ifade edilen rg/a 'nın bir fonksiyon ($x=1.16$), z ; aktarılan iyonun yükü, F ; faraday sabiti (96487 C/mol.e⁻), D ; difüzyon katsayısı (TEA⁺'nın diklorometan içindeki değeri 1×10^{-5} cm²/s), c_2^* ; dış çözeltideki derişim (TEA⁺ için $3,00 \times 10^{-3}$ mol/cm³) ve a (nm) nanopipetin yarıçap değerini göstermektedir.



Resim 4.15. Heat; 420, Filament; 4, Velocity; 13, Delay; 130, Pull; 120 parametreleri kullanılarak çekilen parlatılmamış nanopipet (1) uç kısmının optik mikroskopta a)x40 ve b)x100 büyütmede görüntüleri.



Resim 4.16. Heat; 420, Filament; 4, Velocity; 13, Delay; 130, Pull; 120, parametreleri kullanılarak çekilen parlatılmış ve silanlanmış nanopipet (1) uç kısmının optik mikroskopta a)x40 ve b)x100 büyütmede görüntüleri.

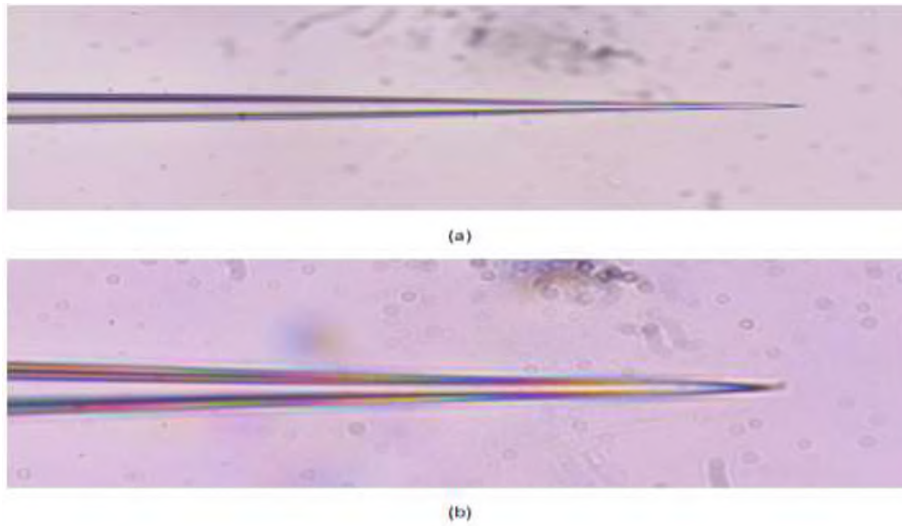


Şekil 4.4. Silanlanmış nanopipet (1) su/DCM arayüzeyinden TEA^{+} 'nin aktarımının akım-potansiyel grafiği. $M_{Su}= 0,03mM$, $M_{DCM}= 3mM$, $v= 50 mV/s$.

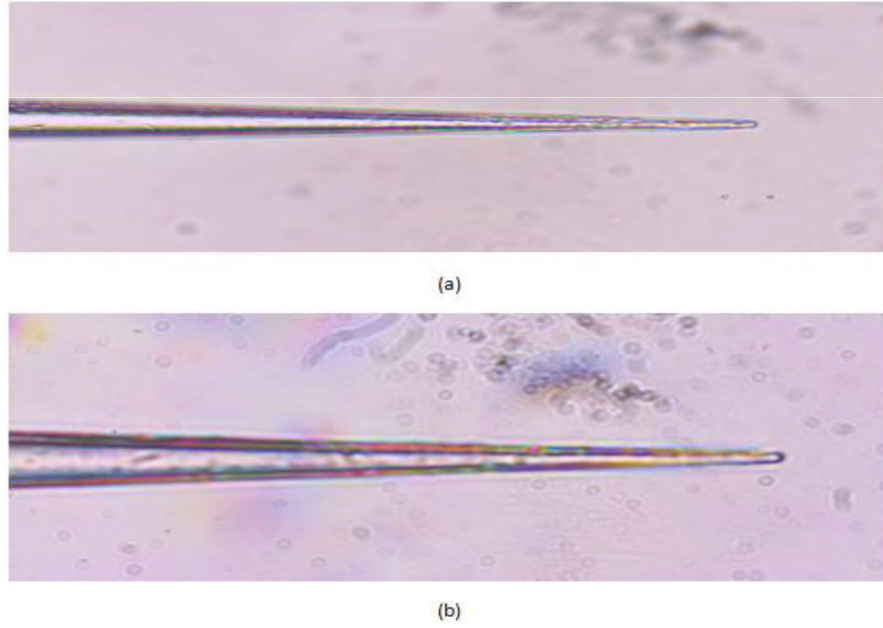
Çizelge 4.5. Silanlanmış nanopipet (1) yarıçap hesaplamaları.

Ölçüm No	Akım / (nA)	Yarıçap (r) / nm
1	2,003	149,133
2	2,010	149,654
3	2,014	149,952
4	2,007	149,431
Ortalama	2,009±0,005	149,543±0,347

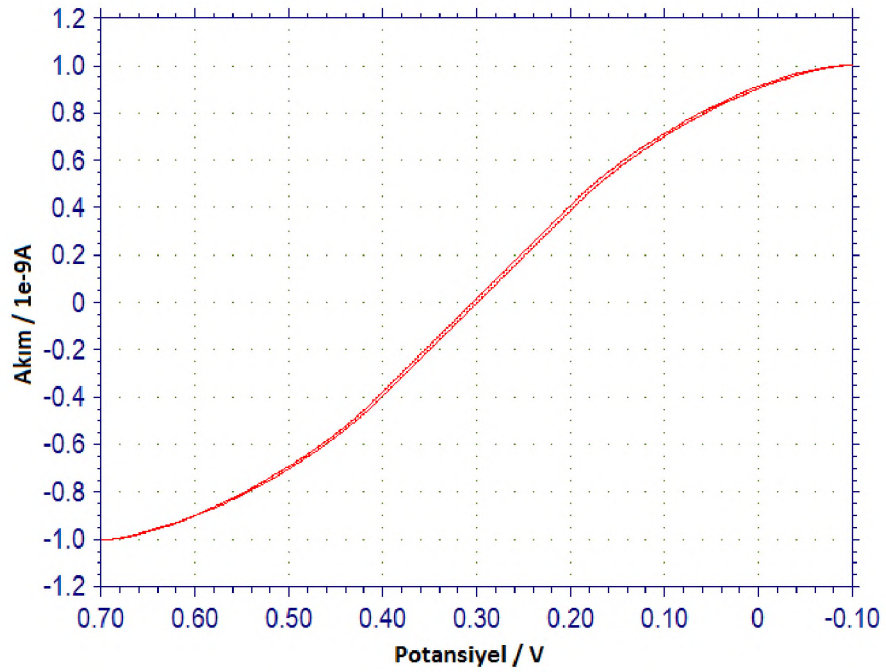
Silanlanmış nanopipet (1) için 4 ölçüm yapılmıştır. Çizelge 4.5’de ölçümler sonucu elde edilen akım değerleri ve bu akım değerleri ile hesaplanan nanopipetlerin yaklaşık yarıçap değerleri gösterilmektedir. Sonuç olarak, akım ortalaması 2,009 nA ve standart sapması 0,005 ve yarıçap ortalaması 149,543 nm ve standart sapması ise 0,347 olarak hesaplanmıştır.



Resim 4.17. Parlatılmamış nanopipet (2) uç kısımlarının optik mikroskopta a)x40 ve b)x100 büyütmede görüntüleri.



Resim 4.18. Parlatılmış ve silanlanmış nanopipet (2) uç kısmının optik mikroskopta a)x40 ve b)x100 büyütmede görüntüleri.



Şekil 4.5. Silanlanmış nanopipet (2) su/DCM arayüzeyinden TEA^{+} 'nin aktarımının akım-potansiyel grafiği. $M_{Su} = 0,03mM$, $M_{DCM} = 3mM$, $v = 50 mV/s$.

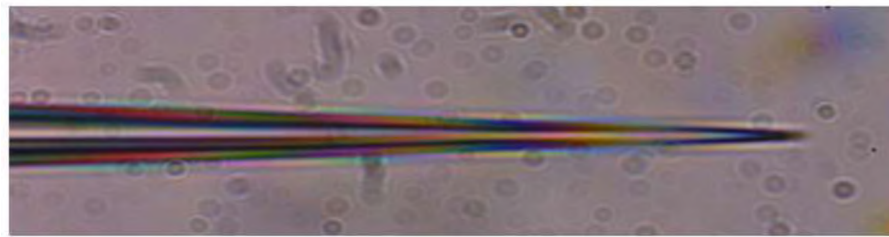
Çizelge 4.6. Silanlanmış nanopipet (2) yarıçap hesaplamaları.

Ölçüm No	Akım / (nA)	Yarıçap (r) / nm
1	2,014	149,952
2	2,009	149,579
3	1,998	148,760
4	2,008	149,505
Ortalama	2,007±0,007	149,449±0,499

Silanlanmış nanopipet (2) için 4 ölçüm yapılmıştır. Çizelge 4.6'da ölçümler sonucu elde edilen akım değerleri ve bu akım değerleri ile hesaplanan nanopipetlerin yaklaşık yarıçap değerleri gösterilmektedir. Sonuç olarak, akım ortalaması 2,007 nA ve standart sapması 0,007 ve yarıçap ortalaması 149,449 nm ve standart sapması ise 0,499 olarak hesaplanmıştır.

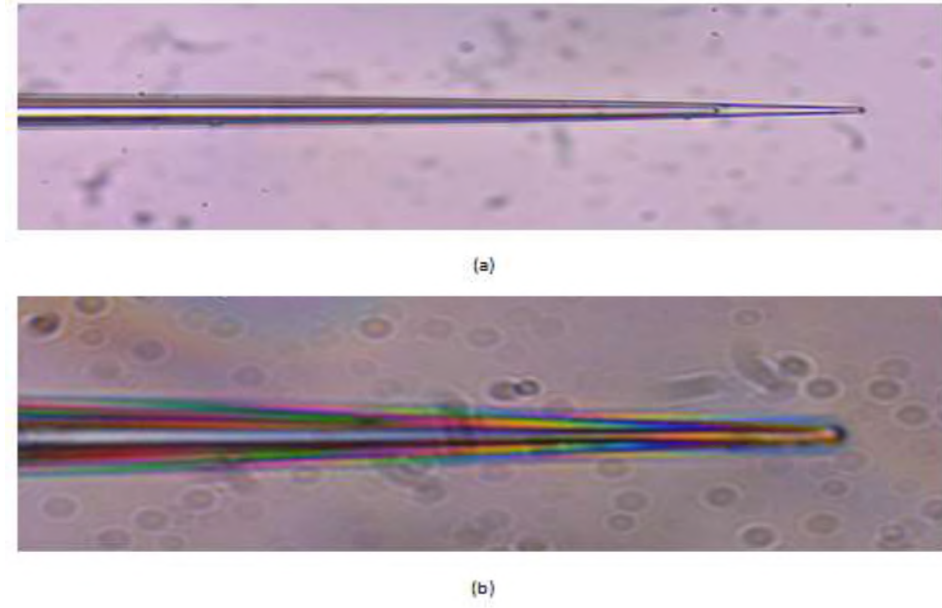


(a)

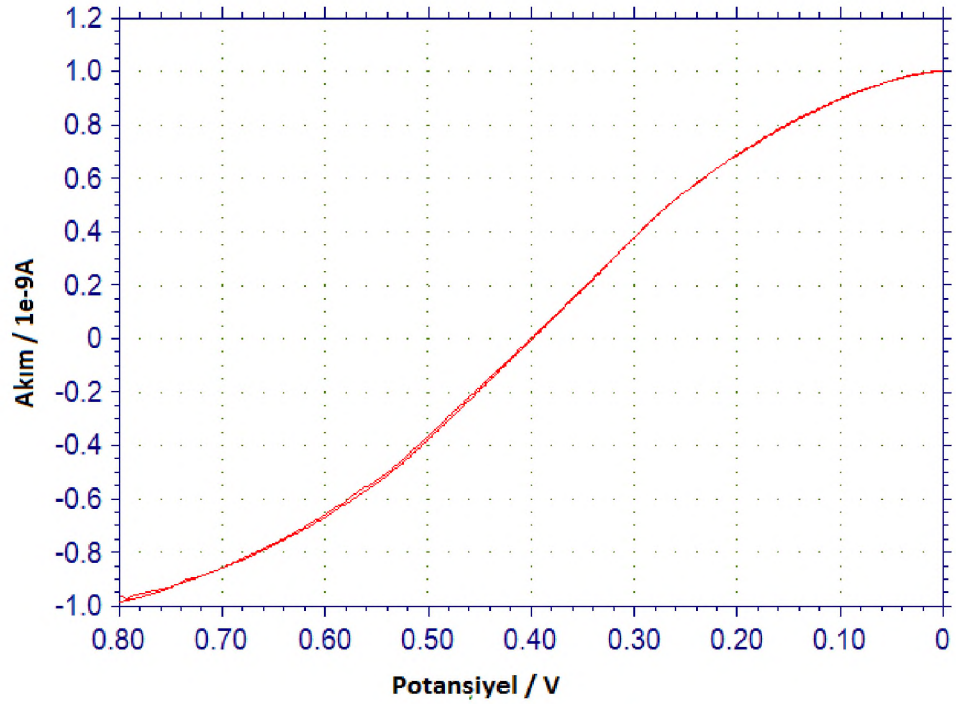


(b)

Resim 4.19. Parlatılmamış nanopipet (3) uç kısmının optik mikroskopta a)x40 ve b)x100 büyütmedeki görüntüleri.



Resim 4.20. Parlatılmış ve silanlanmış nanopipet (3) uç kısmının optik mikroskopta a)x40 ve b)x100 büyütmede görüntüleri.



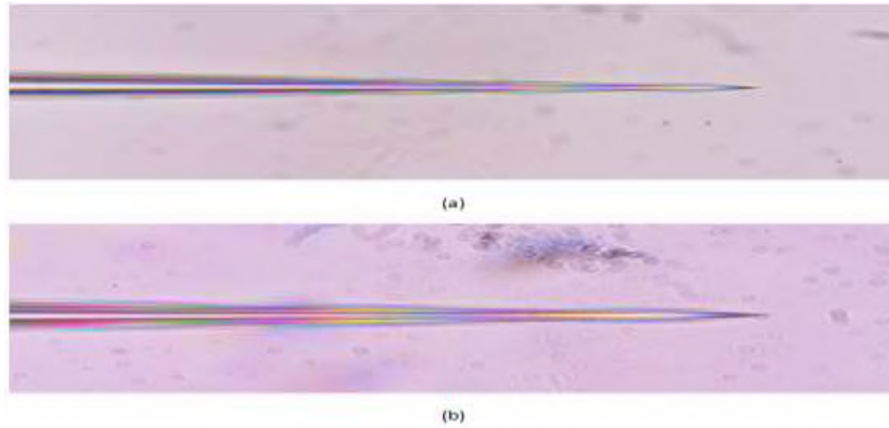
Şekil 4.6. Silanlanmış nanopipet (3) elde edilen su/DCM arayüzeyinden TEA⁺'nın aktarımının akım-potansiyel grafiği. $M_{Su} = 0,03\text{mM}$, $M_{DCM} = 3\text{mM}$, $\nu = 50\text{ mV/s}$.

Çizelge 4.7. Silanlanmış nanopipet (3) yarıçap hesaplamaları.

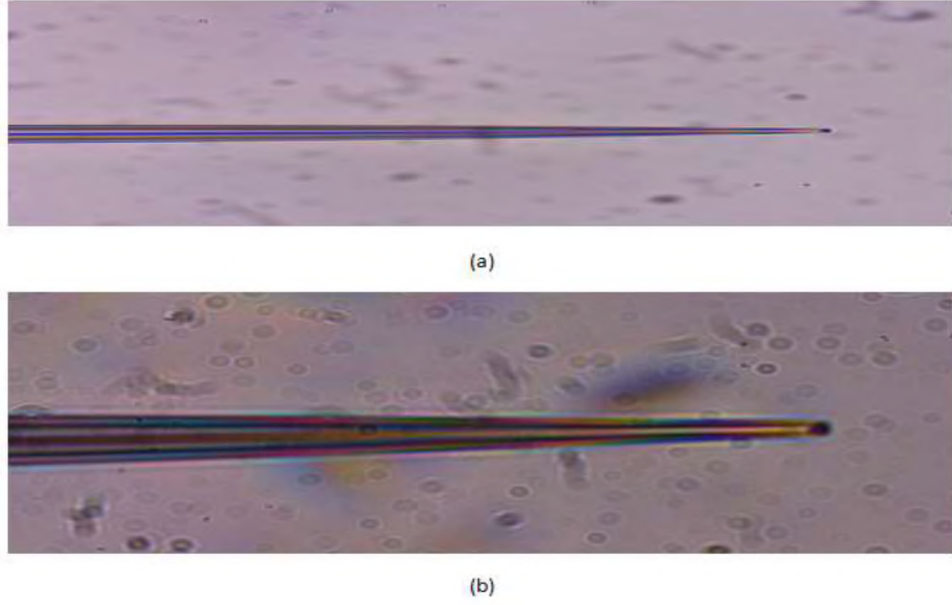
Ölçüm No	Akım / (nA)	Yarıçap (r) / nm
1	1,981	147,495
2	1,986	147,867
3	1,989	148,090
4	1,987	147,941
Ortalama	1,986±0,003	147,848±0,253

Silanlanmış nanopipet (3) için 4 ölçüm yapılmıştır. Çizelge 4.7’de ölçümler sonucu elde edilen akım değerleri ve bu akım değerleri ile hesaplanan nanopipetlerin yaklaşık yarıçap değerleri gösterilmektedir. Sonuç olarak, akım ortalaması 1,986 nA ve standart sapması 0,003 ve yarıçap ortalaması 147,848 nm ve standart sapması ise 0,253 olarak hesaplanmıştır.

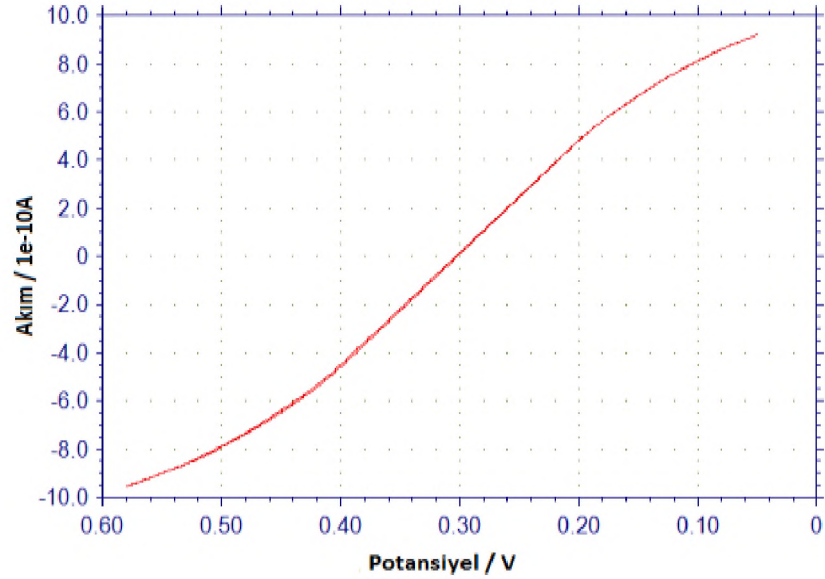
4.4.3. Silanlanmamış ve Silanlanmış Nanopipetlerin Voltametrik Karakterizasyonu



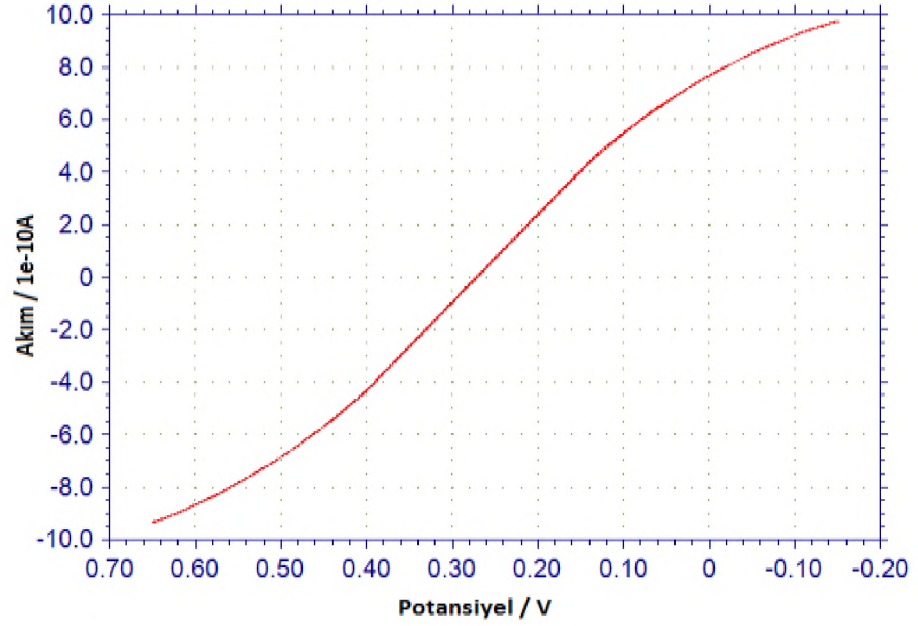
Resim 4.21. Heat; 420, Filament; 4, Velocity; 13, Delay; 130, Pull; 120, parametreleri kullanılarak çekilen nanopipetin parlatılmamış uç kısmının optik mikroskopta a)x40 ve b)x100 büyütmede görüntüleri.



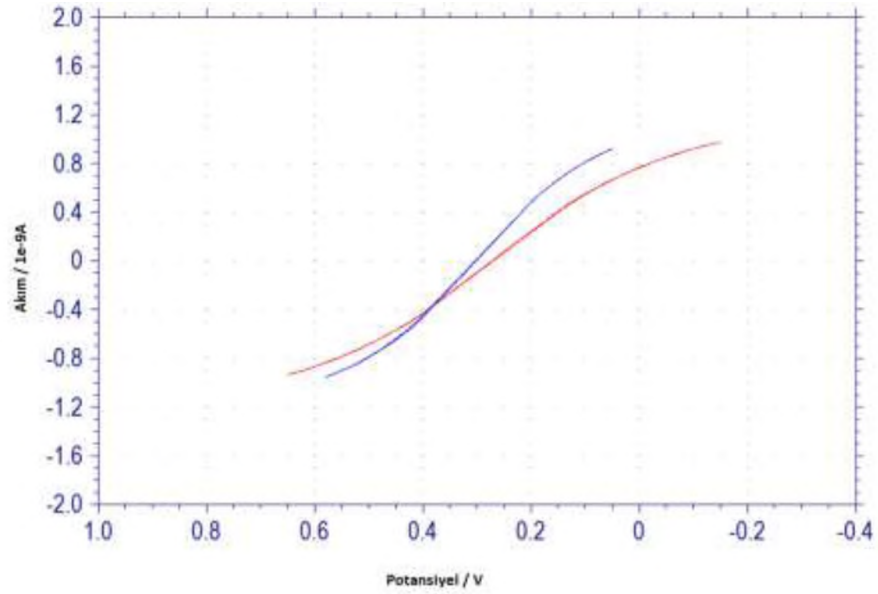
Resim 4.22. Heat; 420, Filament; 4, Velocity; 13, Delay; 130, Pull; 120, parametreleri kullanılarak çekilen parlatılmış ve silanlanmış nanopipetin uç kısmının optik mikroskopta a)x40 ve b)x100 büyütmede görüntüleri.



Şekil 4.7. Silanlanmamış nanopipetin su/DCM arayüzeyinde TEA^{+} 'nin aktarımının akım-potansiyel grafiği. $M_{\text{Su}} = 0,03\text{mM}$, $M_{\text{DCM}} = 3\text{mM}$, $v = 50\text{ mV/s}$.



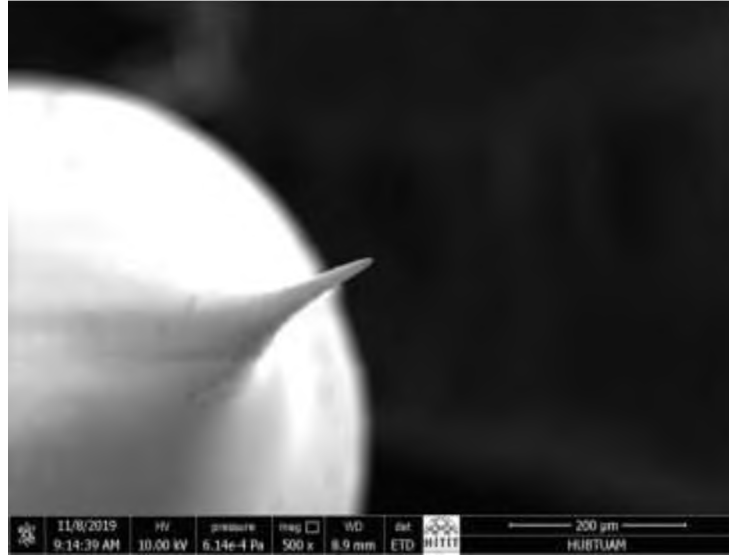
Şekil 4.8. Silanlanmış nanopipetin su/DCM arayüzeyinde TEA^+ 'nın aktarımının akım-potansiyel grafiği. $M_{\text{Su}} = 0,03\text{mM}$, $M_{\text{DCM}} = 3\text{mM}$, $v = 50\text{ mV/s}$.



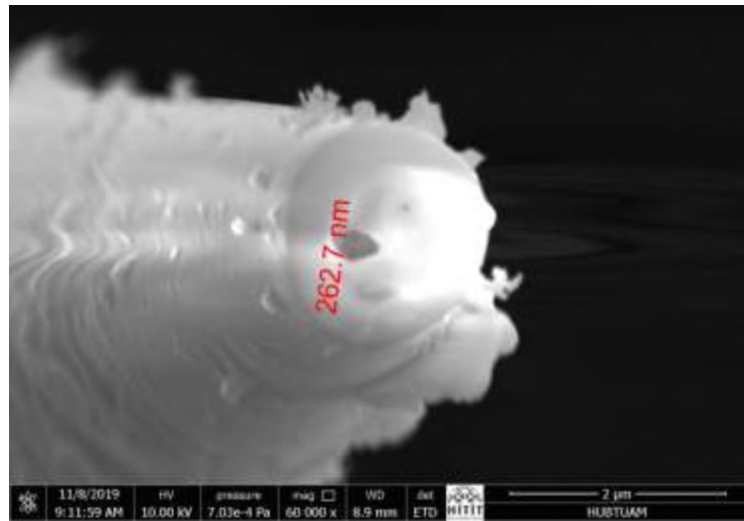
Şekil 4.9. Silanlanmış (kırmızı) silanlanmamış (mavi) nanopipetlerden elde edilen su/DCM arayüzeyinden TEA^+ 'nın aktarımının akım-potansiyel grafiği. $M_{\text{Su}} = 0,03\text{mM}$, $M_{\text{DCM}} = 3\text{mM}$, $v = 50\text{ mV/s}$.

Silanlanmış ve silanlanmamış aynı nanopipetin voltametrik ölçümleri karşılaştırılmıştır. Nanopipet sulu TEA⁺ çözeltisi ile doldurulmuştur ve TEA⁺ içeren organik çözeltiye daldırılmıştır. Çalışmalarımızda CV'leri alınan pipetlerin voltamogramları sigmoidal şeklindedir. Sonuç olarak silanlanmış pipetlerde TEA⁺ girişiyle elde edilen akımın silanlanmamış nanopipetlerden daha büyük olduğu hesaplanmıştır.

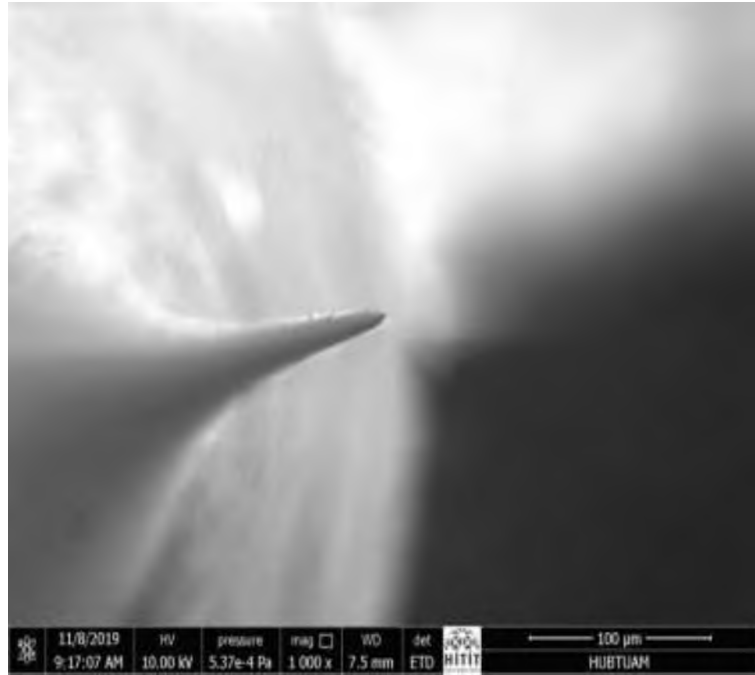
4.5. Nanopipetlerin SEM Görüntüsü



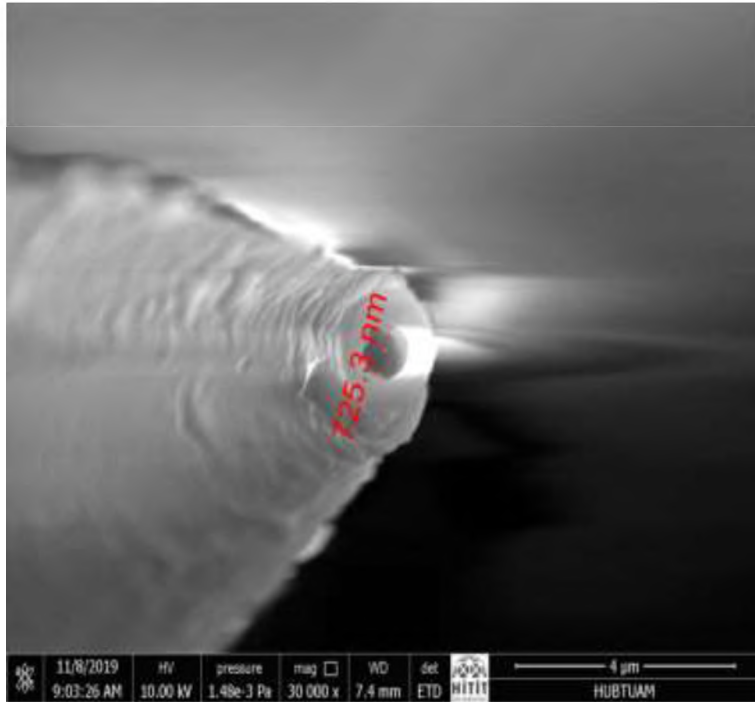
Resim 4.23. Nanopipet (1) SEM görüntüsü.



Resim 4.24. Yaklaşık 262,7 nm uç iç çapına sahip nanopipetin SEM görüntüsü.



Resim 4.25. Nanopipet (2) SEM görüntüsü.



Resim 4.26. Yaklaşık 725,3 nm uç iç çapına sahip nanopipetin SEM görüntüsü.

Nanopipetlerin uç yarıçapı optik mikroskop ile ölçülemediğinden, pipetlerin uç yarıçap ile ilgili bilgilerini elde etmek için elektrokimyasal yöntemler kullanılır. Elektrokimyasal yöntemlerin yanı sıra nanopipetlerin karakterizasyonu için kullanılan yöntemlerden biri de elektron mikroskopisidir.

SEM, pipet geometrisini görselleştirmenin bir yoludur fakat cihazın çözünürlüğü ile sınırlığı olduğundan çapları 50 nm'den küçük pipetler için pipet ucunu tam görmek zordur. Daha büyük çaplara sahip pipetler için SEM, pipetin boyutu ve geometrisi hakkında önemli bilgiler sağlamaktadır.

Resim 4.23'de nanopipet (1) ve Resim 4.25'de nanopipet (2) SEM görüntüleri gösterilmektedir.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Nanopipet üretimi için öncelikle önemli olan, uygun kılcal kapiler seçmek ve seçtiğimiz kapilerin filamentsiz veya filamentli olması, duvar kalınlığı gibi bazı faktörlerin düşünülmesi gerekmektedir. Nanopipet üretimi için kullanılacak olan cam kapilerden borosilikat cam tercih edilmiştir. Borosilikat cam kuvars cama göre daha kullanışlı ve cam özellikleri sıcaklıkla kademeli olarak değiştiğinden dolayı bu camı tercih ettik. Cam pipet ebatları olarakta $1\text{mm} \times 0.58\text{mm} \times 10\text{cm}$ (dış çap, iç çap, uzunluk) ve filamentli cam kullanılmıştır. Filamentli cam kullanılmasının sebebi ise pipet içerisini doldurduğumuz sulu çözeltinin uç kısma kadar ulaşmasına yardımcı olmasıdır. Bu kılcal cam kapilerden daha iyi sonuçlar elde etmek için pipetler çekilmeden önce piranha çözeltisi ile temizlenmiştir. Bazı literatür kaynaklarında ise cam kapilerin içini temizlemek için etil alkollün de kullanılabileceği yazmaktadır. Nanopipetlerde düzgün bir arayüz oluşturabilmek için nanopipet ucunun kırılmış olmaması gerekmektedir. Nanopipetin uç kısmının ilk değerlendirilmesi için optik mikroskopla kontrol edilmesi önemlidir. Bu yüzden çektiğimiz her pipetin uç kısımlarını kontrol etmek için her zaman optik mikroskopta farklı büyütmelerde görüntülerine bakıldı ve düzgün olmayan uçlara sahip nanopipetler kullanılmamıştır. Mikropipet çekme cihazında nanopipet üretimi için parametre seçimi denemeleri yapılmıştır ve bu denemeler uzun zaman alan bir aşama olmuştur. Parametre denemeleri sonucu çalışmamız için en uygun parametreler olan; Sıcaklık: 420, Filament: 4, Hız: 13, Gecikme: 130, Çekme: 120 seçilmiştir. Yapılan deneysel çalışmalar sonucunda nanopipetler başarılı bir şekilde üretilmiştir.

Elde edilen nanopipetlerin uç kısımların da parlatma işlemi yapılmıştır. Parlatma işlemi, pipet yarıçaplarında artış olmaması için nanopipetler en kısa sürede parlatılmıştır. Ayrıca pipet parlatmada dikkat edilmesi gereken diğer bir konu ise nanopipetlerin video mikroskopik parlatma düzeneğinin yüzeyine değdirilmeden yapılmasıdır. Bu işlem oldukça zordur ve dikkatli yapılması gerekmektedir. Yaptığımız parlatma işleminde yaklaşık olarak yarıçapları 64 nm ile 149 nm arasında pipetler üretilmiştir.

Diğer önemli bir basamak ise pipetlerin doldurma işlemidir. Nanopipetlerin sulu faz ile doldurulması esnasında bazı zorluklar ile karşılaşmıştır. Nanopipetlerin sulu bir

çözelti ile doldurulması ve doldurma çözeltisi ile karışmayan başka bir sıvıya daldırılmasıyla hızlı bir şekilde yapılmalıdır. Yaptığımız çalışmada pipet içerisine sulu faz, pipet dışına ise organik faz kullanılmıştır. Organik faz olarak çalışmamızda DCM kullanılmıştır. Ortak iyon olan tersinir karaktere sahip TEA⁺ seçilmiş ve sulu fazda 0,3mM, DCM (organik fazda) 3 mM derişimde hazırlanmıştır. Nanopipetlerde doldurma işlem ise pipetin arka kısmında 10 µL'lik şırınga ile enjekte edilmiştir. Burada dikkat edilmesi gereken sulu fazın nanopipetin uç kısmına kadar ulaşmasıdır. Pipet ucunda kabarcık olması durumunda hatalı okumalara neden olmuştur. Bu yüzden pipetlerde doldurma işlemi yapıldıktan sonra her zaman optik mikroskopta pipetlerin tam dolup dolmadığı, hava kabarcığının olup olmadığı ve su fazının uç kısmına kadar ulaşp ulaşmadığını kontrol edilmiştir.

Yaptığımız çalışmada öncelikle silanlanmamış pipetlerle çalışılmıştır. Silanlanmamış nanopipetlere doldurma işlemi yapıldıktan sonra elektrokimyasal hücre hazırlanarak dönüşümlü voltametri yöntemi ile sıvı/sıvı arayüzeyinden iyon transfer çalışmaları gerçekleştirilmiştir. Hazırlanan hücre iki elektrotlu bir sistem olarak hazırlanmıştır. Burada çalışma elektrodu olarak nanopipet görev yaparken iletkenliği sağlamak içinse nanopipet içerisine metal bir tel yerleştirilmiştir. Referans elektrot ise Ag/AgCl elektrot kullanılmıştır. Burada dikkat edilmesi gereken bir konu ise metal teli pipet içine yerleştirirken dikkatli olunmasıdır. Pipet içerisinde bulunan filamente değdirilmeden yerleştirilmelidir. Bu işlem oldukça dikkatli yapılmalı dikkat edilmez ise nanopipet içinde bulunan filamentin telin ittirilmesiyle pipet uçlarının kırılmasına sebep olmaktadır. Böyle durumda okunan ölçümler hatalı olacaktır. Çalışmamızda silanlanmamış üç nanopipetin yarıçapları yaklaşık olarak 65,521; 64,035 ve 65,529 nm olarak bulunmuştur.

Daha sonra pipetler silanlanlanarak aynı işlemler yapılmıştır. Silanlama işleminin amacı ise, nanopipetlerin dış yüzeyinin hidrofobik hale gelmesini sağlamaktır. Burada dikkat edilmesi gereken bir konu nanopipetlerin uç kısımlarında tıkanma olmaması için pipetleri aşırı silanlamaktan kaçınmaktır. Çalışmamızda silanlama işlemini trimetilklorasilan çözeltisi ile yapılmıştır fakat aşırı silanlamaktan kaçınmak için silan çözeltisi etil alkol ile %1'lik hazırlanmıştır. Hazırlanan %1'lik trimetilklorasilan çözeltisi bir petri kabına aktarılmıştır ve pipetler petri kabına

konulmuştur. Nanopipetlerin iç kısmını silanlama için pipetler petri kabında bir gece bekletilmiştir. İçi silanlanan pipetler etil alkolden geçirilmiştir. Nanopipetlerin dış duvarını silanlanması ise, nanopipetlerin dış kısmı yaklaşık 1 dakika süreyle sıvı trimetilklorosilan yüzeyinin 1-2 cm üzerine tutularak yapılmıştır. Bazı literatür kaynaklarında ise silanlama işlemi trimetilklorosilan çözeltisi buharına tutularak ve pipet arkasından argon gazı geçirilerek yapılmaktadır. Çalışmamızda silanlanmış üç nanopipetlerin yarıçapları yaklaşık olarak 149,543; 149,449 ve 147,848 nm olarak bulunmuştur. Sonuç olarak, silanlanmanın aşırı yapılması pipetin iç uç yarıçapında tıkanmaya, pipetin dar gövdesindeki alanı daraltmaya ve aynı zamanda iyon transferini zorlaştırarak sonuçların hatalı çıkmasına neden olmaktadır.

Silanlanmış ve silanlanmamış aynı nanopipetin voltametrik ölçümleri karşılaştırılmıştır. Nanopipet sulu TEA⁺ çözeltisi ile doldurulmuştur ve TEA⁺ içeren DCM çözeltisine daldırılmıştır. Akım potansiyel ölçümleri $v= 0,05$ V/s tarama hızıyla okunmuştur. Oluşan grafikler sigmoidal şeklinde görülmüştür. Sonuç olarak silanlanmış pipetlerde TEA⁺ girişiyle elde edilen akımın silanlanmamış nanopipetlerden daha büyük olduğu hesaplanmıştır.

Yaptığımız çalışmada, elektrokimyasal yöntemlerle ve ayrıca SEM ile de nanopipet karakterizasyonu yapılmıştır. Sonuçlar kısmında Resim 4.23 ve Resim 4.25’de nanopipetlerin SEM cihazındaki uç ve uzunluk kısmı gösterilmektedir. Nanopipet (1)’in uzunluğu 8,9 mm ve nanopipet (2)’nin uzunluğu ise 7,5 mm olarak ölçülmüştür. Resim 4.24’de nanopipet (1)’in yaklaşık iç uç çapı 267,2 nm, yarıçapı ise 133,6 nm olarak ve Resim 4.26’da nanopipet (2)’in yaklaşık iç uç çapı 725,3 nm, yarıçapı ise 362,7 nm olarak ölçülmüştür.

Yirmi yıldan uzun bir süredir nanopipetler tekli hücreleri inceleme, görüntüleme ve algılama gibi çok çeşitli uygulamalarda kullanılmaktadır. Nanopipet teknolojisinde malzeme ve yöntemlerin geliştirilmesiyle bu teknolojinin kullanımının genişlemesine büyük ölçüde katkı sağlayacaktır. Nanomalzemelerin geliştirilmesi, malzeme bilimi ve teknolojisindeki ilerlemeler, gelişmiş elektrik ve kimyasal özelliklere sahip nanopipetlerin üretilmesi ile kullanım alanlarının gün geçtikçe artacağı öngörülmektedir. Özellikle bu gelişmeler sonucunda biyoanaliz ve tıbbi teknoloji gibi alanlarda çok yönlü araştırma alanlarında önemli ölçüde artış olacaktır.

KAYNAKLAR

- Amemiya, S., Bard, Allen J., Fan, Fu-Ren F., Mirkin, Michael V. and Unwin, Patrick R.** (2008). Scanning Electrochemical Microscopy. Annual Review of Analytical Chemistry. doi: 1.031207.112938.
- Anonim,** (2008). Mikroskop Nedir? <https://biyologlar.com/mikroskop-nedir-mikroskop-cesitleri-nelerdir/> (08.12.2020).
- Arrigan, Damien W. M.** (2004). Nanoelectrodes, nanoelectrode arrays and their applications. The Analyst. doi: 10.1039/b415395m.
- Beattie, P. D., Delay, A. and Girault, H. H.** (1995). Investigation of the kinetics of assisted potassium ion transfer by dibenzo-18-crown-6 at the micro-ITIES by means of steady-state voltammetry. Journal of Electroanalytical Chemistry. Sayfalar: 167-175. doi: 10.1016/0022-0728(94)03541-A.
- Brown, K. T. and Flaming, D. G.** (1986). Advanced Micropipette Techniques for Cell Physiology. New York. Books by Alumni. Sayfa: 2257.
- Ebejer, N., Güell, A. G., Lai, S. C. S., McKelvey, K., Snowden, M. E., Unwin, P. R. Annu.** (2013). Scanning Electrochemical Cell Microscopy: A Versatile Technique for Nanoscale Electrochemistry and Functional Imaging. Annual Review of Analytical Chemistry. doi: 062012-092650.
- Gao, R., L. F. Cui, L.-Q. Ruan, Y. L. Ying ve Y. T. Uzun, J. Vis. Tecrübe.** (2019). A Closed-Type Wireless Nanopore Electrode for Analyzing Single Nanoparticles. J. Vis. Exp. doi:10.3791/59003.
- Gökmeşe, E.** (2014). Bazı Bis-İmino-Taç eterlerin çeşitli voltametrik tekniklerle elektrokimyasal davranışlarının incelenmesi. Doktora Tezi. Ankara Üniversitesi.
- Gökmeşe, F.** (2014). Bazı naftaldimin ve salisilaldiminlerin çeşitli voltametrik tekniklerle elektrokimyasal davranışlarının incelenmesi. Doktora Tezi. Ankara Üniversitesi.
- Gökmeşe, F. Gökmeşe, E. ve Emire, Z.,** (2016). A simple and rapid method for preparing carbon nanopore electrode ensemble (CNEE) by coating a commercial glassy carbon (GC) electrode with chromate. Hittite Journal of Science and Engineering. doi: 10.17350/HJSE19030000025.
- Greef, R., Peat, R., Pether L.M., Pletcher, D., Robinson, J.** (1990). Instrumental Methods In Electrochemistry by Ellis Horwood Limited. Books. Sayfalar: 229-251.

- Jing, P., He, S., Liang, Z., Shao, Y.** (2006). Charge-transfer reactions at liquid/liquid interfaces and their applications in bioassays. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*. doi:10.1007/S00216-006-0399-0.
- Klingenberg, M.** (2005). When a common problem meets an ingenious mind. *EMBO Reports*. doi: 10.1038/sj.embor.7400520.
- Laforge, F. O., Carpino, J., Rotenberg, S. A., Mirkin, M. V.** (2007). Electrochemical attosyringe. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. doi: 10.1073/pnas.0705102104.
- Li, Q., Xie, S. B., Liang, Z. W., Meng, X., Liu, S. J., Girault, H. H. et al.** (2009). Fast Ion-Transfer Processes at Nanoscopic Liquid/Liquid Interfaces. *Angew Chem Int Ed Engl*. doi: 10.1002/anie.200903143.
- McKelvey, K.; Perry, D.; Byers, J. C.; Colburn, A. W. Unwin, P.R.** (2014). Bias Modulated Scanning Ion Conductance Microscopy. doi: 10.1021/ac5003118.
- Mirkin, Michael V. and Amemiya Shigeru (Eds.)** (2015). *Nanoelectrochemistry*. Books. Sayfalar: 540-565.
- Morris, Celeste A., Alicia, K. Friedman and Lane, A.** (2010). Applications of Nanopipettes in the Analytical Sciences. *Analyst*. doi: 10.1039/C0AN00156B.
- Nadappuram, B. P. McKelvey, K., Al Botros, R., Colburn, A. W., Unwin, P. R.** (2013). Fabrication and Characterization of Dual Function Nanoscale pH-Scanning Ion Conductance Microscopy (SICM) Probes for High Resolution pH Mapping. *Anal. Chem*. doi: 10.1021/ac401883n.
- Osaka, T. et al. (eds).** (2010). *Electrochemical Nanotechnologies. Nanostructure Science and technology*. doi: 10.1007/978-1-4419-1424-8, 14.
- Öztekin, Y.** (2008). Camsı Karbon Elektrot Yüzeyine Çeşitli Fenantrolin Türevlerinin Modifikasyonu, Yüzey Karakterizasyonu, Elektrokimyasal ve Spektroskopik Özelliklerinin İncelenmesi. Doktora Tezi. Selçuk Üniversitesi.
- Piper, J. D. Clarke, R. W., Korchev, Y. E., Ying, L., Klenerman, D. J. J.** (2006). A renewable nanosensor based on a glass nanopipette. *Am. Chem. Soc*. doi: 10.1021/ja0650899.
- Rees, H. R.; Anderson, S. E.; Privman, E.; Bau, H. H.; Venton, B. J.** (2015). Carbon nanopipette electrodes for dopamine detection in *Drosophila*. *Anal. Chem*. doi: 10.1021/ac504596y.

- Rodgers, P.J.** (2004). Electrochemical recognition and transport of ions at liquid/liquid interfaces as a principle for environmental and biomedical analysis and beyond. Bachelor of Science, University of Maryland Eastern Shore. Doktora Tezi. doi: 10.1021/ac0711642.
- Rodgers, P.J., Amemiya, S., Wang, Y., and Mirkin, M. V.** (2010). Nanopipette voltammetry of common ion across a liquid-liquid interface. Theory and limitations in kinetic analysis of nanoelectrode voltammograms. *Anal. Chem.* doi: 10.1021/ac9022428.
- Sa, N., Fu Y., Baker L. A.** (2010). Reversible Cobalt Ion Binding to Imidazole-Modified Nanopipettes. *Anal. Chem.* doi: 10.1021/ac102619j.
- Samec, Z., Samcova, E., Girault, H. H.** (2004). Ion Amperometry at the Interface between Two Immiscible Electrolyte Solutions in View of Realizing the Amperometric Ion-Selective Electrode. *Talanta*. doi: 10.1016/j.talanta.2003.11.023.
- Sarıkaya, Y.** (2007). Fizikokimya. Gazi Kitapevi. Ankara. Sayfalar: 499-500.
- Shen, M., Ishimatsu, R., Kim, J., Amemiya, S.** (2012). Quantitative Imaging of Ion Transport through Single Nanopores by High-Resolution Scanning Electrochemical Microscopy. *Journal of the American Chemical Society*. doi: 10.1021/ja3023785.
- Shevchuk, A. I., Frolenkov, G. I., Sánchez, D., James, P. S., Freedman, N., Lab, M. J., Jones, R., Klenerman, D., Korchev, Y. E.** (2006). Imaging proteins in membranes of living cells by high-resolution scanning ion conductance microscopy. *Angew. Chem.* doi: 10.1002/anie.200503915.
- Shoup, D. and Szabo, A.** (1984). Influence of insulation geometry on the current at microdisk electrodes. *J. Electroanal. Chem.* doi: 10.1016/S0022-0728(84)80112-6.
- Simonis, Matthias and Hennig Simon.** (2017). Preparation and Loading of Nanopipettes Tips & Tricks for Nano-injection, Nanodeposition and SICM. doi: 10.13140/RG.2.2.35563.69928.
- Skoog, D. A., Holler, F. J., Nieman, T. A.** (1998). Enstrümental Analiz ilkeleri. Bilim Yayıncılık. Ankara. Sayfalar: 300-700.
- Skoog, D.A., West, D.M., Holler, F.J., Crouch, S.R.** (2004). Voltametri. *Analitik Kimya Temel İlkeler*, Editörler: Kılıç, E., Yılmaz, H., Bilim Yayınları. Ankara. Sayfalar: 655-704.

- Smith, C.P., White, H.S.** (1993). Theory of the voltammetric response of electrodes of submicron dimensions. Violation of electroneutrality in the presence of excess supporting electrolyte. *Anal. Chem.* doi:10.1021/ac00071a002.
- Stanley, J. and Nader Pourmand.** (2020). Nanopipettes The past and the present. *APL Mater.* doi: 10.1063/5.0020011.
- Steinbock, L. J., Otto, O., Chimere, C., Gornall, J., Keyser, U. F.** (2010). Detecting DNA Folding with Nanocapillaries. *Nano Lett.* doi: 10.1021/nl100997s.
- Stephen, M., Oja, Marissa Wood, and Bo Zhang.** (2012). Nanoscale Electrochemistry. *Anal. Chem.* doi: 10.1021/ac3031702
- Sutter,** (2010). BV-10 Micropipette Beveler Operation Manual. Rev.2.10. 415-883-0128.
- Sutter,** (2012). P-2000 Laser-Based Micropipette Puller System Operation Manual. Rev.2.4. 415-883-0128.
- Takami, T.; Iwata, F.; Yamazaki, K.; Son, J. W.; Lee, J.-K.; Park, B. H.; Kawai, T. J. Appl. Phys.** (2012). Direct observation of potassium ions in HeLa cell with ion-selective nano-pipette probe. doi: 10.1063/1.3688770.
- Tural, H., Gökçel, H., Ertas, F. N.** (2003). Enstrümental Analiz I Elektroanalitik Yöntemler, Ege Üniversitesi Fen Fakültesi Yayınları. Bornava İzmir. Sayfalar: 10-50.
- Umehara, S., Pourmand, N., Webb, C. D., Davis, R. W., Yasuda, K., Karhanek, M.** (2006). Current rectification with poly-L-lysine-coated quartz nanopipettes. *Nano Lett.* doi: 10.1021/nl061681k.
- Umehara, S., Karhanek M, Davis RW, Pourmand N. Proc. Natl. Am. Sci.** (2009). Label-free biosensing with functionalized nanopipette probes. doi: 10.1073.pnas.0900306106.
- Wang, J.** (2000). Analytical Electrochemistry. Second Edition, John Wiley and Sons, Inc. New York. 203 p. Sayfalar: 30-163.
- Wang, Y., Velmurugan J., and Michael V. Mirkin.** (2010). Kinetic Study of Rapid Transfer of Tetraethylammonium at the 1,2-Dichloroethane/ Water Interface by Nanopipet Voltammetry of Common Ions. *Anal. Chem.* doi: 10.1021/ac902244s.
- Wei, C., Bard, A.J., Feldberg, S.W.** (1997). Current Rectification at Quartz Nanopipet Electrodes, *Anal. Chem.* doi: 10.1021/ac970551g.

- Vilozny, B., Actis P, Seger RA, Pourmand N. Dynamic Control of Nanoprecipitation in a Nanopipette. (2011).** ACS Nano. doi: 10.1021/nn200320b.
- Yıldız, A. ve Genç, Ö. (1993).** Enstrumental Analiz. Hacettepe Üniversitesi Yayınları.1.Baskı. Sayfa: 352.
- Yılmaz, S. (2016).** Uygulama Örnekleriyle Elektroanalitik Kimya. Gazi Kitabevi. Ankara. Sayfalar: 73-153.
- Yuan, Y. and Shao, Y. H. (2002).** Systematic investigation of alkali metal ion transfer across the micro- and nano-water/1,2-dichloroethane interfaces facilitated by dibenzo-18-crown-6. J. Phys. Chem. B. doi:10.1021/jp015548m
- Zhang S., Li, M., Su, B. and Yuanhua Shao. (2018).** Fabrication and Use of Nanopipettes in Chemical Analysis. Annual Review of Analytical Chemistry. doi:061417-125840
- Zoski, C. G. and Mirkin, M. V. (2002).** Steady-state limiting currents at finite conical microelectrodes. Anal. Chem. doi:10.1021/ac015669i.

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Soyadı, Adı : PAK, Şahime Gülşah

Eğitim

Derece	Eğitim Birimi	Mezuniyet Tarihi
Lisans	Adnan Menderes Üniversitesi-Kimya Bölümü	2010
Lise	T.E.B. Ataşehir Lisesi/ İstanbul	2003

İş Deneyimi

2010-2014 : Çorum Ziraat Odası; Toprak, Su ve Bitki Laboratuvarı-KİMYAGER

2014-2016 : Benli Yem Gıda Tarım Hay. Nak. İnş. San. Tic. A.Ş.-KİMYAGER

2016- : Alapala Yem San. Tic. LTD. ŞTİ.-KİMYAGER

Yabancı Dil : İngilizce

