

T.C.
YILDIZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

MEDİKAL UYGULAMALAR İÇİN MİKRO REFERANS ELEKTROT
GELİŞTİRİLMESİ

Mustafa NİĞDE

DOKTORA TEZİ

Biyomühendislik Anabilim Dalı

Biyomühendislik Programı

Danışman

Prof. Dr. İbrahim IŞILDAK

Temmuz, 2022

T.C.
YILDIZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**MEDİKAL UYGULAMALAR İÇİN MİKRO REFERANS ELEKTROT
GELİŞTİRİLMESİ**

Mustafa NİĞDE tarafından hazırlanan tez çalışması 05.07.2022 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Yıldız Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyomühendislik Anabilim Dalı, Biyomühendislik Programı'nda **DOKTORA TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Prof. Dr. İbrahim İŞILDAK
Yıldız Teknik Üniversitesi
Danışman

Jüri Üyeleri

Prof. Dr. İbrahim İŞILDAK, Danışman
Yıldız Teknik Üniversitesi

Prof. Dr. Barbaros NALBANTOĞLU, Üye
Yıldız Teknik Üniversitesi

Prof. Dr. Melda ALTIKATOĞLU YAPAÖZ, Üye
Yıldız Teknik Üniversitesi

Dr. Öğr. Üye. Mithat ÇELEBİ, Üye
Yalova Üniversitesi

Dr. Özlem TAVUKÇUOĞLU, Üye
İst. Gelişim Üniversitesi

Danışmanım Prof. Dr. İbrahim İŞILDAK sorumluluğunda tarafımca hazırlanan Medikal Uygulamalar İçin Mikro-Referans Elektrot Geliştirilmesi başlıklı çalışmada veri toplama ve veri kullanımında gerekli yasal izinleri aldığımı, diğer kaynaklardan aldığım bilgileri ana metin ve referanslarda eksiksiz gösterdiğimi, araştırma verilerine ve sonuçlarına ilişkin çarpıtma ve/veya sahtecilik yapmadığımı, çalışmam süresince bilimsel araştırma ve etik ilkelerine uygun davrandığımı beyan ederim. Beyanımın aksinin ispatı halinde her türlü yasal sonucu kabul ederim.

Mustafa NİĞDE

İmza



Ailem ve sevdiklerime

TEŞEKKÜR

Doktora çalışmalarımda bilgi ve tecrübesiyle bana yol gösteren danışman hocam Prof. Dr. İbrahim IŞILDAK'a çok teşekkür ederim. Çalışmalarımda bana yardım eden değerli arkadaşlarım Dr. İsmail AĞIR ve Dr. Rıdvan YILDIRIM'a da en samimi teşekkürlerimi sunarım. Son olarak her zaman sabırlı ve anlayışlı olan, tüm eğitim sürecimde maddi-manevi çok yardımlarını gördüğüm tüm aileme gönülden teşekkürlerimi sunarım.



Mustafa NİĞDE

İÇİNDEKİLER

SİMGE LİSTESİ	vii
KISALTMA LİSTESİ	viii
ŞEKİL LİSTESİ	ix
TABLO LİSTESİ	xi
ÖZET	xii
ABSTRACT	xiv
1 GİRİŞ	1
1.1 Literatür Özeti.....	1
1.2 Tezin Amacı	7
1.3 Hipotez	8
2 TEMEL BİLGİLER	9
2.1 Potansiyometrik Yöntem	9
2.1.1 Potansiyometrinin Esasları.....	9
2.1.2 İyon Seçici Elektrotlara Kısa Bir Bakış.....	13
2.2 Referans Elektrotlar	16
2.2.1 Referans Elektrotların Genel Çalışma Prensibi ve Önemi	16
2.2.2 Referans Elektrot Türleri	17
2.2.3 Referans Elektrotların Genel Performans Parametreleri.....	26
3 MATERYAL VE METOT	29
3.1 Kullanılan Kimyasal ve Cihazlar	29
3.2 Elektrotların Hazırlanması	31
3.2.1 İyon Seçici Elektrotların (İSE) Hazırlanması.....	31
3.2.2 Referans Elektrotların (RE) Hazırlanması.....	32
3.3 Referans Elektrotların Karakterizasyonu ve Uygulamaları.....	40
3.3.1 Elektrot Çapı ve Tabaka Yüksekliğinin Etkisi	40
3.3.2 Stabilizasyon Zamanı.....	41
3.3.3 Potansiyometrik Davranış	41
3.3.4 Uzun Dönem Stabilité.....	42
3.3.5 pH Etkisi.....	42
3.3.6 Oksijen Etkisi.....	42
3.3.7 Kullanım Ömrü – Liç Testi ve EDS Analizi	42

3.3.8 SEM.....	43
3.3.9 Sitotoksisite	43
3.3.10 Otoklav Sterilizasyonu ve Yapay Tükürük Etkisi	44
3.3.11 Farklı İSE'ler Kullanılarak Ticari RE ile Karşılaştırma.....	45
4 BULGULAR VE TARTIŞMA	46
4.1 Katı Hal Çubuk Şekilli Referans Elektrotlar	46
4.1.1 Stabilizasyon Zamanı.....	46
4.1.2 Potansiyometrik Davranış	47
4.1.3 Uzun Dönem Stabilite.....	49
4.2 Katı Hal Mini Referans Elektrotlar.....	52
4.2.1 Elektrot Çapı ve Tabaka Yüksekliğinin Etkisi	52
4.2.2 Stabilizasyon Zamanı.....	54
4.2.3 Potansiyometrik Davranış	55
4.2.4 Uzun Dönem Stabilite.....	58
4.2.5 pH Etkisi.....	59
4.2.6 Oksijen Etkisi.....	60
4.2.7 Kullanım Ömrü – Liç Testi ve EDS Analizi	61
4.2.8 SEM.....	63
4.2.9 Sitotoksisite	65
4.2.10 Otoklav Sterilizasyonu ve Yapay Tükürük Etkisi	65
4.2.11 Farklı İSE'ler Kullanılarak Ticari RE ile Karşılaştırma.....	68
5 SONUÇ VE ÖNERİLER	71
KAYNAKÇA	75
TEZDEN ÜRETİLMİŞ YAYINLAR	81

SİMGELİSTESİ

dk	Dakika
R^2	Determinasyon katsayısı
z, n	Elektron değeri
E	Elektrot potansiyeli
F	Faraday sabiti
g	Gram
Hz	Hertz
R	İdeal gaz sabiti
a	İyon aktivitesi
K	Kelvin
C	Konsantrasyon
m	Metre
M	Molar
s	Saniye
$^{\circ}C$	Santigrat derece
T	Sıcaklık
E^0	Standart elektrot potansiyeli
V	Volt
t	Zaman

KISALTMA LİSTESİ

BTA	4,4,4-Trifloro-1-fenil-1,3-bütandion
DBF	Dibütil ftalat
DOS	Dioktil sebakat
CMC	Karboksimetil selüloz
GO	Grafit oksit
IUPAC	Uluslararası Temel ve Uygulamalı Kimya Birliği
İSE	İyon seçici elektrot
KTpCIPB	Potasyum tetrakis(4-klorofenil) borat
MA	Molekül ağırlığı
MWCNT	Çok duvarlı karbon nanotüp
<i>o</i> -NPOE	2-Nitrofenil oktil eter
PLA	Polilaktik asit
PVA	Polivinil alkol
PVC	Polivinil klorür
RE	Referans elektrot
TDAN	Tetradodesil amonyum nitrat
THF	Tetrahidrofuran

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1.1 Katı hal elektrotlar için çeşitli örnek tasarımlar [22]	4
Şekil 2.1 Örnek bir elektrokimyasal (galvanik) hücre [43]	10
Şekil 2.2 Örnek bir İSE’de membran potansiyel farkı oluşumu [51]	15
Şekil 2.3 Bazı referans elektrotlar için örnek bir dönüşüm tablosu [54]	18
Şekil 2.4 Tipik bir standart hidrojen elektrotunun genel yapısı [70]	19
Şekil 2.5 Temel civa referans elektrot tasarımları [57]	21
Şekil 2.6 Tipik bir Ag/AgCl referans elektrot [3]	23
Şekil 2.7 Bakır/bakır sülfat elektrotunun genel şematiği [54]	25
Şekil 3.1 Katı hal çubuk şekilli referans elektrotların genel yapısı.....	33
Şekil 3.2 Kullanılan çeşitli boru ve yapılar ile bazı örnek elektrotlar.....	36
Şekil 3.3 Katı hal mini referans elektrotların genel yapısı	37
Şekil 4.1 GO içeren ve jel içermeyen katı hal çubuk şekilli referans elektrotlara ait uzun dönem stabilite sonuçları	50
Şekil 4.2 MWCNT içeren ve jel içermeyen katı hal çubuk şekilli referans elektrotlara ait uzun dönem stabilite sonuçları	51
Şekil 4.3 CMC ve PVA jel içeren katı hal çubuk şekilli referans elektrotlara ait uzun dönem stabilite sonuçları	51
Şekil 4.4 Farklı çap ve yüksekliklerin mini referans elektrotların potansiyometrik davranışı üzerindeki etkisi	53
Şekil 4.5 En iyi performans gösteren katı hal mini referans elektrotun (mRE2) çeşitli çözeltilerdeki potansiyometrik davranışı.....	57
Şekil 4.6 Katı hal mini referans elektrotlara ait uzun dönem stabilite sonuçları	58
Şekil 4.7 Pres ile hazırlanan katı hal mini referans elektrotlara ait uzun dönem stabilite sonuçları.....	58
Şekil 4.8 mRE2 katı hal mini referans elektrotunun pH test sonuçları	60
Şekil 4.9 mRE2 mini referans elektrotunun oksijen etkisi test sonuçları	60
Şekil 4.10 Aynı mRE2 elektrotunun a: 12 ay önce ve b: 12 ay sonraki potansiyometrik davranışı.....	61
Şekil 4.11 Özdeş bir mRE2 elektrotunun a: Liç testi öncesi ve b: Liç testi sonrası potansiyometrik ölçüm sonuçları	62
Şekil 4.12 Üstte yeni bir mRE2 elektrot yüzeyi, altta ise liç testi sonrası mRE2 elektrot yüzeyi potasyum haritalama sonuçları	63
Şekil 4.13 mRE2 türü elektrot için üstten alta doğru sırayla gümüş, gümüş klorür ve potasyum klorür içeren tabakalara ait SEM görüntüleri.....	64

Şekil 4.14 mRE2 elektrotunun dış PLA kabuğu varken (C51) ve yokken (C52) elde edilen sitotoksisite test sonuçları.....	65
Şekil 4.15 mRE2 elektrotunun KCl çözeltileri ve yapay tükürükte a: Otoklav öncesi ve b: Otoklav sonrası potansiyometrik davranışı	66
Şekil 4.16 İki özdeş mRE2 elektrotunun KCl çözeltisi ve yapay tükürükteki a: Otoklav öncesi ve b: Otoklav sonrası uzun dönem stabilitesi.....	67
Şekil 4.17 NO ₃ ⁻ İSE için Bland-Altman analizi sonuçları	68
Şekil 4.18 Ca ²⁺ İSE için Bland-Altman analizi sonuçları.....	68
Şekil 4.19 Li ⁺ İSE için Bland-Altman analizi sonuçları.....	69
Şekil 4.20 NH ₄ ⁺ İSE için Bland-Altman analizi sonuçları.....	69



TABLO LİSTESİ

Tablo 3.1	Çalışmada kullanılan kimyasallar.....	29
Tablo 3.2	Çalışmada kullanılan cihaz ve araçlar	31
Tablo 3.3	Referans elektrotların test edilmesinde kullanılan çeşitli İSE'lerin membran bileşimleri	32
Tablo 3.4	Çalışmada denenen çeşitli katı hal çubuk şekilli büyük referans elektrotların ağırlıkça bileşimleri	34
Tablo 3.5	Çalışmada denenen çeşitli katı hal mini referans elektrotların ağırlıkça bileşimleri	38
Tablo 4.1	Katı hal çubuk şekilli referans elektrotların stabilizasyon zamanları .	47
Tablo 4.2	Katı hal çubuk şekilli referans elektrotların KCl çözeltilerinde ticari referans elektrota karşı potansiyometrik davranışı.....	48
Tablo 4.3	Katı hal mini referans elektrotlara ait stabilizasyon zamanları	54
Tablo 4.4	Katı hal mini referans elektrotların KCl çözeltilerinde ticari referans elektrota karşı potansiyometrik davranışı	56

Medikal Uygulamalar İçin Mikro Referans Elektrot Geliştirilmesi

Mustafa NİĞDE

Biyomühendislik Anabilim Dalı

Doktora Tezi

Danışman: Prof. Dr. İbrahim İŞILDAK

Potansiyometri iki elektrotlu bir sistemdir. Çalışmalar, anlaşılabilir şekilde, genellikle indikatör elektrotlar üzerine yoğunlaşmıştır. Referans elektrotlar, ki gümüş/gümüş klorür (Ag/AgCl) elektrotlar bunlar arasında büyük kullanım oranına sahiptir, oldukça iyi tanımlanmış ve sorunsuzca kullanılmaktadır. Ancak, son yıllarda çeşitli uygulamaları görülen kişiye özel tıp, hasta başı analiz ve yerinde/zamanında ölçüm gibi kavramlar ile giderek artan minyatürizasyon baskısı, çalışma elektrotlarının yanında referans elektrotlar için de daha küçük boyutları zorunlu kılmaktadır. Bu durum konvansiyonel elektrotlar için yeni sorunları beraberinde getirmekte ve indikatör elektrotların yanında, sistemin diğer yarısını oluşturan referans elektrotların da daha farklı malzemelerle, farklı şekil ve boyutlarda tekrar tasarlanmasını gerektirmektedir.

Bu çalışmada, Ag/AgCl temeli üzerinden çeşitli katı hal referans elektrotlar tasarlanmıştır. Önce büyük boyutlu ve çubuk şekilli katı hal referans elektrotlar hazırlanarak farklı malzeme ve kompozisyonlar denenmiş, ardından bu temel üzerinden boyutları küçültülüp yeni kompozisyonlarla nihai mini referans elektrot tasarımı netleştirilmiştir. Geliştirilen tüm elektrotlar hem birbirleriyle hem de ticari Ag/AgCl referans elektrotlarla karşılaştırılmıştır.

Çalışmalar sonucunda, en iyi performans gösteren mini referans elektrotun 3 tabakalı, her tabakada %50 grafit oksit, %40 epoksi ve sertleştirici bulunduran ve her tabaka için sırayla %10 gümüş, %10 gümüş klorür ve %10 potasyum klorür eklenerek hazırlanan elektrot olduğu belirlenmiş ve ek karakterizasyon testlerine tabi tutulmuştur. En fazla 5 mm kalınlık ve 2 mm çapta hazırlanan bu elektrot 120 μ V/saat gibi yeterince iyi bir sapmayla çalışmaktadır. Ayrıca pH 3-11 arası oldukça

kararlı, pH 2 ve 12’de ise pek çok uygulama için yeterince iyi çalışabileceği görülmüştür. Ticari referans elektrota karşı çeşitli iyon seçici elektrotlarla yapılan deneylerde de ortalama %1’den daha az hata ile çalıştığı gösterilmiştir. Mini referans elektrotun raf ömrü 1 yıldan uzun, kullanım ömrü ise sürekli çalışma koşullarında en az 1 ay olarak tespit edilmiştir. Buna göre, bu tip mini referans elektrotların belli koşullar dahilinde, uygun cihazlarla kısa süreli vücut sıvıları ölçümü dahil çeşitli çalışmalarda kullanıma uygun olduğu düşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler: Katı hal referans elektrot, gümüş/gümüş klorür, potansiyometri, iyon-seçici elektrot



Development of a Micro Reference Electrode for Medical Applications

Mustafa NİĞDE

Department of Bioengineering

Doctor of Philosophy Thesis

Supervisor: Prof. Dr. İbrahim İŞILDAK

Potentiometry is a two-electrode system. Studies, understandably, have generally concentrated on indicator electrodes. The reference electrodes, among which the silver/silver chloride (Ag/AgCl) electrodes have a large usage rate, are quite well defined and used without any problems. However, concepts such as personalized medicine, point-of-care analysis and on-site/on-time measurement, which have seen various applications in recent years, and the increasing pressure of miniaturization necessitate smaller sizes for reference electrodes as well as working electrodes. This situation brings along new problems for conventional electrodes and requires redesigning the reference electrodes as well as the indicator electrodes, which form the other half of the system, with different materials, in different shapes and sizes.

In this study, various solid state reference electrodes were designed based on Ag/AgCl. First, large-sized and rod-shaped solid state reference electrodes were prepared and different materials and compositions were tried, then from this basis the final mini reference electrode design was clarified with new compositions by reducing the size. All developed electrodes were compared both with each other and with commercial Ag/AgCl reference electrodes.

As a result of the studies, it was determined that the best performing mini reference electrode was the electrode with 3 layers, 50% graphite oxide, 40% epoxy and hardener in each layer, and prepared by adding 10% silver, 10% silver chloride and 10% potassium chloride for each layer, respectively and this electrode was subjected to additional characterization tests. The electrode, which was prepared with a maximum thickness of 5 mm and a diameter of 2 mm,

operated with a sufficiently good deviation of $120\ \mu\text{V}/\text{hour}$. It has also been found to be quite stable at pH 3-11, and work well enough for many applications at pH 2 and 12. In experiments with various ion-selective electrodes against the commercial reference electrode, it has been shown to work with an average error of less than 1%. The shelf life of the mini reference electrode has been determined to be longer than 1 year and the service life to be at least 1 month under continuous operating conditions. Accordingly, this type of mini reference electrodes is considered to be suitable for use in various studies, including short-term measurement of body fluids with appropriate devices, under certain conditions.

Keywords: Solid state reference electrode, silver/silver chloride, potentiometer, ion-selective electrode



1.1 Literatür Özeti

Potansiyometri, görece kolay olması ve şimdiye dek bulduğu geniş uygulama alanıyla en çok tercih edilen elektroanalitik tekniklerden biridir. Potansiyometrik bir sistem, günümüzde bir potansiyometri cihazı, bir referans elektrot ve bir çalışma elektrotundan oluşur. [1]

Referans elektrot kabaca, potansiyel değeri bilinen bir elektrokimyasal yarı hücre olarak tanımlanabilir. [2] Gerçek anlamda referans elektrot olarak kullanılan hidrojen elektrotlarının yanında, $\text{Hg}/\text{Hg}_2\text{Cl}_2$, Ag/AgCl gibi daha yaygın veya Ag/AgBr gibi nispeten daha az kullanılan referans elektrotlar da mevcuttur. Bu tür elektrotlar, günümüzdeline benzer şekilde minyatürizasyon, kolay kullanım gerekliliği gibi ihtiyaçların ürünü olarak ortaya çıkmıştır. Hidrojen elektrotlar oldukça pahalı, bakımı ve kullanımı nispeten zor, büyük sistemlerdir ve çoğu durumda kullanılmaları ek bir avantaj getirmemektedir. [1]

Günümüzde en yaygın kullanılan referans elektrot Ag/AgCl elektrotudur. İlerleyen bölümlerde daha ayrıntılı olarak incelenecek olan bu elektrotlar, ticari olarak genelde kalem şeklinde, çok küçük sayılmayacak boyutlarda üretilip pazarlanmaktadır. Genel yapı olarak, bir kabloya tutturulmuş, üzeri klorlanarak gümüş klorür kaplanmış gümüş çubuk, yüksek konsantrasyonda tuz çözeltisi veya bu çözeltiyi içeren jel yapı ve akışı kontrol eden fritten oluşmaktadır. Bütün yapı, genelde plastikten imal edilen ve elektriksel olarak iletken olmayan bir kabuk içerisinde bulunur. Bu göreceli olarak kolay ve düşük maliyetli bir üretim yaklaşımıdır. [3] Ancak bazı dezavantajları da yok değildir. Bu tür referans elektrotlar akmaya, kontaminasyona ve sıvı bağlantı potansiyeli oluşumuna açıktır. Dışarıdan güçlü mekanik müdahalelere ve yüksek sıcaklıklara dayanımları

da her durum için istenen düzeyde olmayabilir. Bu tür sorunlara yol açan belki de en önemli etmen çözelti içermeleridir. [4]

Bir potansiyometrik sistemin tüm unsurları birlikte çalışarak istenen bilgiyi verse de genellikle kullanılan referans ve indikatör elektrotlar stabiliteleriyle potansiyometrik hücrenin uzun dönem performansını etkilemektedir. İndikatör elektrotlarla ilgili literatürde çok fazla çalışma bulunmasına karşın, referans elektrotlar alanında yakın sayılabilecek bir zamana kadar ciddi bir yenilik ve değişiklik olmamıştır. Bunun başlıca nedenleri, ticari olarak kolay ulaşılabilen Ag/AgCl gibi ikinci tür elektrotların sergilediği oldukça iyi performans ve minyatürizasyon gibi bir ihtiyacın yakın zamana dek ortaya çıkmamış olması olarak gösterilebilir. [5] Ancak son yıllarda minyatürizasyon ihtiyacının artması, bu alana önceki yıllara nispeten hareket getirmiştir. [3]

Şu anda yaygın olarak kullanılan ticari Ag/AgCl elektrotlar düşük maliyetli, yapısal olarak sağlam, uzun süre bakım gerektirmeden kullanılabilir, çoklu sensör içeren ve daha önce tasarlanmış boşluklara oturtulması gereken minyatür cihazlar için her zaman yeterli nitelikleri haiz değildir. [6] Bu durum, mikro ve mini elektrokimyasal sensör ve sensör sistemleri için halihazırda bir ihtiyaç olan minyatürize referans elektrot geliştirme ve üretme çabalarını artırmıştır. [7] Bu çalışmada, potansiyometrik sistemler özelindeki referans elektrotlar ve bilhassa Ag/AgCl referans elektrotu üzerinde durulsa da, bir referans elektrotun voltametri gibi farklı elektroanalitik yöntemlerde de uygulama alanı bulduğu unutulmamalıdır. [8]

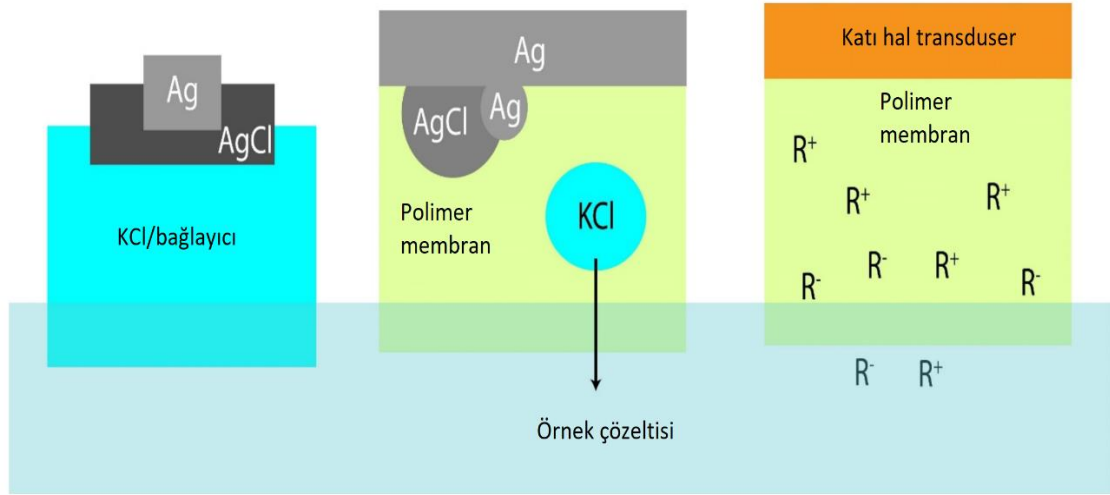
Literatürde, özellikle potansiyometri söz konusu olduğunda katı hal RE [5], psödo RE [9], iyonik sıvı gibi maddelerle doplanmış [10] veya KCl gibi tuzları içeren polimer membranlı RE [11], kağıt tabanlı hazırlanan RE [12], çip temelli RE [13] gibi birkaç farklı ana yola yönelen çeşitli minyatürize referans elektrot çalışmaları bulunabilse de çoğu çalışma benzer temel prensiplere bağlıdır. Referans elektrotların üretiminde elle hazırlamadan fotolitografi [14] ve ince film tekniğine [15], serigrafı [16] ve enjeksiyon kalıplamadan [17] mürekkep püskürtmeli yazıcılara [18] ve üç boyutlu yazıcılara [19] kadar bir dizi fabrikasyon yöntemi

kullanılmaktadır. İster bütünüyle kompozit katı hal olsun ister polimer membran veya çip temelli olsun, isterse de çubuk veya strip gibi farklı şekillerde üretilsin, Ag/AgCl tabanlı referans elektrot geliştirme ve üretimindeki en önemli noktalardan biri AgCl tabakasının korunmasıdır. Aksi halde elektrot hızla bozulur. [20] Bu koruma genellikle analit çözeltisi ve AgCl tabakası arasında veya bazı durumlarda tüm elektrot yapısı boyunca Ag ve AgCl ile karışık olarak bulunan klorür varlığıyla sağlanır. Buradaki klor genellikle klorür içeren bir tuz vasıtasıyla bulunur ki, çoğu durumda bu amaçla KCl tuzu kullanılır. KCl kullanılmasıdaki en önemli gerekçe, potasyum ve klorür iyonlarının birbirine çok yakın mobilitelere sahip olmaları ve bu nedenle normalde çözelti aracılığıyla üretilmeyecek potansiyel farklarından çok büyük oranda muafiyet sağlamalarıdır. [11] Bu durum konvansiyonel referans elektrotlar ve herhangi bir şekilde sıvı veya jel içeren referans elektrotlar için özellikle önemlidir. Bu tuzu veya aynı görevi gören KBr gibi diğer tuzları hapseden çeşitli yapılar, sağladıkları kütle transfer hızı ve mekanik olarak işlenebilirlikleriyle minyatürize referans elektrot üretim, maliyet ve performansında önemli rol oynamaktadır. Katı kontak olarak kullanılacak yapıların zamanla kararlılıklarının değişmemesi, test çözeltisindeki değişimlerden etkilenmemesi, kolay işlenebilir olması, mekanik ve ısıl açıdan dayanıklı olması ve referans elektrotun diğer elemanlarına iyi bir şekilde temas edebilmesi gerekmektedir. Hatta referans ve indikatör elektrotlarda aynı katı kontak yapısının kullanılması minyatürizasyon için bir avantajdır. [21]

Yeni geliştirilen mini ve mikro referans elektrotların sinyal iletim mekanizması yapıda kullanılan malzemelerin türü, yapısı ve kompozisyonları gibi faktörlere bağlıdır. Sinyal iletimi, en öne çıkan mekanizma olarak elektrot içerisinde hapsedilen tuzların yavaşça test çözeltisine akmasıyla sağlanır. [4] Şekil 1.1, bu tür elektrotların genel yapısını göstermektedir.

İyon-elektron iletkeni olarak yapıda bulunan çeşitli katı kontak yapıları sinyalin düzenli iletiminde çok önemli bir rol oynar. İdeal olarak, elektrot yüzeyi ve test çözeltisi arasındaki iyon dağılımı referans elektrot potansiyelini ve davranışını belirleyen tek parametredir. Çeşitli tuzların yanı sıra inert elektrolitler ve iyonik sıvılar da özellikle polimerler ve karbon temelli katı kontak yapılarıyla birlikte

referans elektrot geliştirme çalışmalarında kullanılmaktadır. Pek çok çalışmada iletken polimerlerin de yer aldığı referans membranların varlığı göze çarpmaktadır. Bu tür referans elektrotlarda redoks tepkimeleri ile oluşan yüksek redoks kapasitansı ve katı kontakların doğrudan test çözeltisi ile temasta bulunduğu elektrotlarda yüzeydeki elektriksel çift tabaka oluşumu, stabil bir potansiyel sağlanması için diğer mekanizmalar olarak öne çıkmaktadır. [4]



Şekil 1.1 Katı hal elektrotlar için çeşitli örnek tasarımlar [22]

R: Örnek çözeltisine de geçebilen hidrofobik tuzlar. En soldaki elektrot doğrudan katı KCl'nin Ag/AgCl yüzeyine eklenmesiyle yapılabildiği gibi, tuzun bir bağlayıcı ile birlikte konması şeklinde de hazırlanabilir.

Literatürde minyatürizasyon noktasında önem verilen referans elektrot türlerinden biri psödo (kuasi) referans elektrotlardır. Çeşitli dezavantajlarına rağmen özellikle tek kullanımlık sensörlerde veya düşük hacimli çalışmalarda sıklıkla tercih edilmektedirler. [23] İridyum oksit gibi metal/metal oksit tabanlı elektrotlar [24] ve poroz karbon temelli elektrotlar [25] da son zamanlarda psödo referans elektrot olarak kullanılmaktadır. Ag/AgCl tipi psödo referans elektrotlar, konvansiyonel referans elektrotlardan farklı olarak Ag/AgCl tabakasını koruyacak bir üst tabaka içermez. Dolayısıyla bu elektrotlar dış etkilere oldukça açıktır ve hızla özelliğini kaybetmeye adaydır. [26] Analit çözeltisinde klorür iyonunun bulunması da performansı çok etkiler. [27] Yine de mikro seviyede üretim kolaylığı gibi faktörler nedeniyle özellikle kısa ömürlü sistemlerde kullanılabilirler. [23] Ayrıca ek olarak grafit oksit gibi farklı malzemelerin

yapıya eklenmesiyle bu elektrotların performansı artırılabilir. [14] “Gerçek” referans elektrot tarafında da çalışmaların geçmişe kıyasla biraz daha yoğunlaştığı söylenebilir. Bu tür yeni nesil, katı hal ve minyatürize referans elektrotlar çubuk [2], düzlemsel [28], kağıt tabanlı [29] gibi çok farklı şekil ve boyutlarda rapor edilmiştir.

Xu ve ekibi, grafen ve kitosanla takviye ettikleri ince film Ag/AgCl psödo referans elektrotundan oldukça iyi sonuçlar elde ettiklerini bildirmişlerdir. [26] İnce gümüş film RF püskürtme yöntemiyle hazırlanmış, daha sonra sodyum hipoklorür çözeltisiyle AgCl üst tabaka oluşturulmuştur. Daha sonra damla döküm yöntemiyle bu yapı üzerine eklenen kitosan-grafen karışımıyla yüzey modifikasyonu gerçekleştirilmiştir. Elde edilen elektrot voltametrde 50’den fazla döngü boyunca stabilitesini korumuştur.

Papamatthaiou ve arkadaşları [30], gümüş nanoparçacıklı ticari bir mürekkep kullanarak, püskürtmeli yazıcı ile bir baskı devrede altın üzerinde bir psödo referans elektrot üretmiştir. Elektrotlar ayrıca kimyasal ve termal sinterlemeye maruz bırakılmıştır. Özellikle kimyasal sinterleme yapılan elektrotun 24 saatlik stabilitesi 0,04 mV/h civarında bulunmuştur.

Musa ve arkadaşları [31] ,serigrafi ve sonrasında termal kürleme ile ürettikleri psödo Ag/AgCl referans elektrotlar için sürekli çalışma koşullarında bile 7 günden fazla stabil çalışma bildirmiştir. Elektrotun bu süre zarfında sadece 1,2 mV’luk bir sapma gösterdiği, bir pH elektrotla birlikte kullanıldığında çok dar bir pH aralığında oldukça iyi çalışabildiği bildirilmektedir.

Macedo ve arkadaşları [32], etilen glikol dimetakrilat ile çapraz bağladıkları ve ayrıca çapraz bağlama işlemini yapmadıkları polivinil asetat içerisine KCl ekleyip, bu yapıyı Ag/AgCl tele bağlayarak farklı bir referans elektrot geliştirdiklerini bildirmişlerdir. Yapılan potansiyometrik ve voltametrik testlerde, elektrotların en az 175 gün boyunca 1 M Na₂SO₄ çözeltisinde stabil kaldığı belirtilmiştir. Çapraz bağlanmanın ayrıca asidik ve bazik çözeltilerde elektrot dayanımını ve stabilitesini artırdığı görülmüş, ancak geçirgenliği azalttığı da belirlenmiştir.

Yeo ve ekibi [33], amperometrik giyilebilir bir biyosensör için ince film tekniği kullanarak 800 nm kalınlığında bir referans elektrot geliştirmiştir. Silikon temel üzerinde gümüş/titanyum evaporasyonu, vakum tavlama, elektrokimyasal klorlama ve kısa süreli 3,5 M KCl çözeltisi damlatma aşamalarıyla hazırlanan ve 800 nm kalınlıkta olan bu sensör son olarak nafyon membranla kaplanmıştır. Yapılan çalışmalarda, tuz çözeltisinde 18 gün boyunca 0,09 mV/saat potansiyel değişimiyle çalıştığı görülmüştür. Ayrıca enzimatik bir çalışma elektrotuyla yapılan testlerde, söz konusu referans elektrotun ticari bir referans elektrot ile kıyaslanabilir hassasiyette olduğu belirlenmiştir.

Bühlmann ve ekibi, 1-methyl-3-alkylimidazolium bis(trifluoromethylsulfonyl)imid iyonik sıvılarından biri ile fluorosilicone 1 silikonunu dölplayarak, biyouyumlu ve yapay kanda 8 günde 0,02 mV/saat potansiyel değişimi veren bir referans elektrot bildirmişlerdir. Aynı elektrot, %10'luk hayvan serumunda 5,8 gün için 0,112 mV/saat stabilite ile çalışmıştır. [34]

Lisak ve arkadaşları, katı KCl içeren kâğıt substrat üzerinde Ag/AgCl tel ile hazırladıkları referans elektrotun, örnek çözeltisi ile ilk temastan sonra sadece 1 dakika içerisinde stabil potansiyel verir hale gelebildiğini ortaya koymuştur. Ancak elektrotun gerçek örneklerdeki uygulaması çok başarılı bulunmamıştır. [35]

Doan ve ekibi, fotolitografi tekniğiyle ürettikleri düzlemsel Ag/AgCl referans elektrotunu, Hummer's yöntemiyle üretilen grafit oksit ile korudukları bir çalışma bildirmiştir. Grafit oksitin stabilite ve dayanıklılığa katkıda bulunduğunu belirtilmiştir. [14]

Chen ve Wu, toz KCl ile karıştırılmış PVC tabanlı katı hal bir Ag/AgCl referans elektrot geliştirmiştir. PVC miktarı arttıkça stabilitenin arttığı görülmüştür. [20]

Compton ve Chen, karbon substrat üzerinde yaklaşık 0,035 mm kalınlığındaki nafyon filme immobilize edilmiş ferrocene/ferrocenium, poly-(vinylferrocene)/poly(vinylferrocenium) gibi redoks çiftlerini kullanarak bir referans elektrot geliştirmiştir. Elektrolit içermediği için test çözeltilerini kontamine etmeme ve nispeten kolay üretilip minyatürize edilebilme gibi avantajlara sahip olduğu belirtilmektedir. [36]

Baeza ve ekibi, mürekkep püskürtmeli yazıcı kullanarak, Ag/AgCl yapısını klorür iyonu ile doyurulmuş polivinil bütiral membran ile korumuş ve stabil çalışan bir referans elektrot elde etmiştir. Uzun süreli kullanım için çok uygun olmasa da nispeten stabil ve hızla üretililecek elektrotlar için oldukça iyi bir adım sayılabilecek olan bu çalışma ile ayrıca düşük maliyet isterlerinin de karşılanabileceği bildirilmiştir. [18]

Heinke ve Fernandes [37], grafit, epoksi ve Ag/AgCl yapısı temelinde farklı katı hal referans elektrotlar hazırlamıştır. KCl'nin yanı sıra birçok farklı alkali ve toprak alkali metallerinin tuzlarını da yapıya katarak ayrı ayrı denemişler ve elektrotların stabil, sterilize edilebilir ve geniş pH çalışma aralığına sahip olduğunu rapor etmişlerdir.

Bu örnekler elbette arttırılabilir. Ancak görüldüğü üzere, referans elektrotlarla ilgili çalışmalar çoğunluk itibarıyla yeni bir tür referans elektrot üretmekten ziyade halihazırdaki çözümlerin daha da küçültülmesi, çoklu ve hızlı üretime uygun hale getirilmesi ve farklı malzemeler kullanılması şeklinde yoğunlaşmaktadır. Ancak bu cümle farklı elektrotların geliştirilmediği anlamına gelmemelidir. Özellikle son yıllarda yapılan çalışmalar incelendiğinde, laboratuvarlarda geliştirilen referans elektrotların uzun dönem stabilite ve potansiyometrik davranış açısından oldukça iyi sayılabilecek noktalara geldiği görülebilir. [38], [39], [40]

1.2 Tezin Amacı

Günümüzde minyatürizasyon, kişiye özel tıp ve hasta başı analiz (point-of-care) gibi kavramların yaygınlaşması, bu tür uygulamalarda yüksek kullanılabilirliğe sahip olan potansiyometri yöntemindeki alt sistemlerin uygun şekilde geliştirilmesini veya güncellenmesini gerektirmektedir. Bu bağlamda, hem pratik şekilde hazırlanabilen çubuk şekilli büyük katı hal referans elektrotların, hem de bunlar temel alınarak daha küçük boyutlarda hazırlanıp çeşitli parametrelere göre karakterize edilen ve konvansiyonel ticari elektrotlarla karşılaştırılabilir performans gösterebilen uzun ömürlü ve tek kullanımlık mini referans elektrotların geliştirilmesi amaçlanmıştır.

1.3 Hipotez

Konvansiyonel ticari Ag/AgCl referans elektrotlar kabaca, bir plastik boru içersine yerleştirilmiş gümüş klorür kaplı gümüş tel, yüksek konsantrasyonda potasyum klorür (KCl) tuzu içeren bir çözelti ve bu çözeltinin analit çözeltisine akış oranını ve bağlantısını kontrol eden bir fritten oluşmaktadır. Bu temeli taklit edecek çeşitli katı hal referans elektrotların geliştirilmesi için, gümüş, gümüş klorür ve potasyum klorürü bir arada tutacak ve analit çözeltisinin doğrudan etkilerine karşı onu koruyacak bir yapıya ihtiyaç vardır. Bu tür çalışmalarda önemli olan maliyet faktörü, kolay üretim ve kolay kullanım parametreleri göz önüne alındığında, tüm yapının kolay hazırlanabilen ve sinyal iletimini sağlıklı şekilde sağlayabilecek, aynı zamanda birlikte kullanılacağı iyon seçici elektrotlarla benzer özelliklerde olabilecek tek tür kompozit malzeme içersine hapsedilmesinin uygun olacağı öngörülmüştür. Bu yapı temelinde, farklı oranlarda kullanılan malzemelerin performansa etkisinin ortaya konulabileceği düşünülmüştür. Çalışmalar, en iyi çalışan çubuk şekilli referans elektrot kompozisyonunun belirlenmesi, bunun olabildiğince küçültülmesi ve en iyi çalışan elektrotun ek testlerle karakterize edilmesi esasına göre gerçekleştirilmiştir. Tıbbi anlamda önemi olan sterilizasyon, biyouyumluluk gibi testlerin bu mini referans elektrot üzerinde yapılmasının daha doğru sonuçlar elde etmeye yardımcı olması da beklentiler arasındadır.

2.1 Potansiyometrik Yöntem

Potansiyometrik yöntem veya potansiyometri, iki elektrot arasında potansiyel ölçümüne dayalı elektrokimyasal/elektroanalitik bir yöntemdir. Bu yöntemde, eldeki elektrokimyasal sistemden akım ya hiç geçmez ya da çok az geçer. Çalışma elektrotunun (diğer bir ifadeyle indikatör elektrot) karşılaştırma elektrotuna (diğer bir ifadeyle referans elektrot) karşı sistemdeki iyonik aktiviteye bağlı olarak sergilediği potansiyel farkı ölçülerek veri sağlanır. [41]

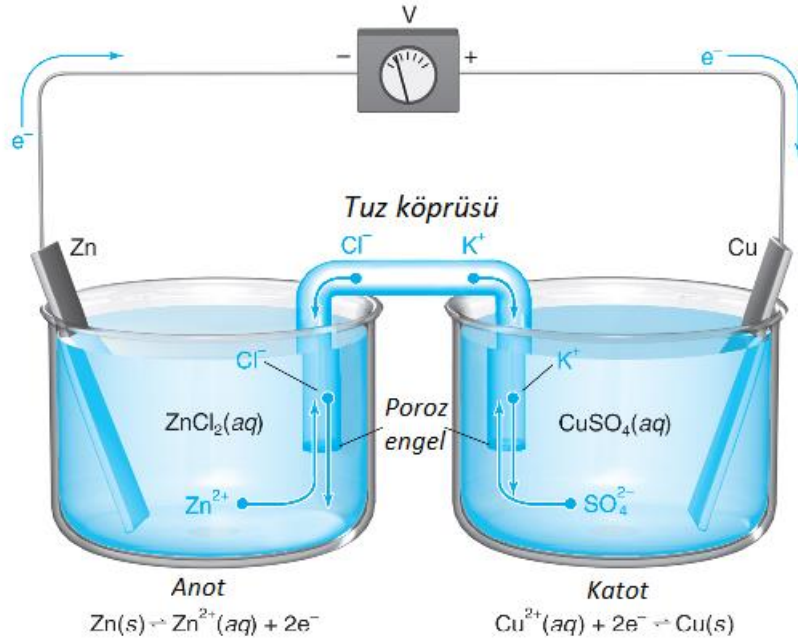
2.1.1 Potansiyometrinin Esasları

Elektrokimyasal hücreler, iyonik iletkenlik sağlayan bir elektrolitle temasta olan en az iki adet elektron ileten malzemeden meydana gelir. Hücre boyunca elektriksel devrenin tamamlanması için bu temas önemlidir. Bir elektrokimyasal hücreden geçen akım sıfır olabildiği gibi sıfırdan farklı da olabilir. Akım geçtiği durumlarda enerjinin bir kısmı ısıya dönüşür. Bu tür hücreler reaksiyonların dışarıdan bir müdahale olmaksızın gerçekleştiği galvanik hücre veya elektrik enerjisinin kimyasal enerjiye dönüştürüldüğü elektrolitik hücre olarak davranabilir. Örnek bir elektrokimyasal hücre Şekil 2.1’de gösterilmektedir.

Elektrot teriminin IUPAC’a göre iki anlamı vardır.

- I. Dış devreye bağlı, genellikle metal, bir elektron iletkeni
- II. Bir elektron iletkeni ve en az bir iyonik iletkenenden oluşan elektrokimyasal yarı hücre.

Elektrokimyada ikinci tanım daha yaygın şekilde kullanılmaktadır. [42]



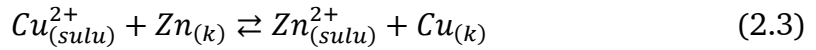
Şekil 2.1 Örnek bir elektrokimyasal (galvanik) hücre [43]

Redoks, yani indirgenme-yükseltgenme tepkimelerinin gerçekleştiği Şekil 2.1'deki gibi bir elektrokimyasal hücrede, indirgenme ve yükseltgenmenin gerçekleştiği kısımlar ayrı ayrı birer *elektrokimyasal yarı hücre* oluşturur. Genellikle yükseltgenmenin meydana geldiği yarı hücre sol tarafa yazılır ve anot olarak adlandırılır. İndirgenmenin meydana geldiği yarı hücreye ise katot adı verilir.

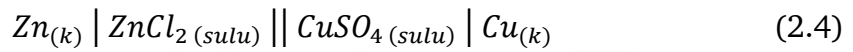
Yine Şekil 2.1'de gösterilen *tuz köprüsü*, iki ucu iyon geçişine müsaade eden frit veya diyafram ile kapatılmış genellikle inert bir elektrolittir ve iki yarı hücre arasında iyonik temas ve yük dengliği sağlar. Tuz köprüsü bulunmayıp, her iki elektrotun aynı çözeltiye temas etmesi halinde reaksiyon kısa sürede sonlanır ve sistem bozulur. Ayrıca potansiyel farkını ölçen voltmetre üzerinden elektron geçişi olmaz ve redoks reaksiyonları doğrudan doğruya elektrotlardan birinin yüzeyinde meydana gelir. [43]

Her bir yarı hücrenin potansiyeli, yani görünen haliyle potansiyometrik ölçümlere biraz daha yaklaştıracak olursak, her bir *elektrotun standart potansiyeli* standart hidrojen elektrotuna karşı yapılan ölçümle belirlenir. Bu elektrot potansiyellerinin toplamı da *elektrokimyasal hücrenin standart potansiyelinin* belirlenmesinde önemlidir. [44]

Buraya kadar anlatılanların matematiksel ve kimyasal olarak ifade edilmesi doğru olacaktır. Şekil 2.1’de gösterilen reaksiyon ele alınacak olursa, indirgenme ve yükseltgenme için yarı reaksiyonlar ve net reaksiyon sırasıyla aşağıdaki gibi olur.



Aynı reaksiyon üzerinden devam edilirse aşağıdaki gibi bir notasyonla gösterim yapılabilir.



Yukarıda gösterilen tek çizgi faz sınırlarını, çift çizgi ise tuz köprüsünü temsil etmektedir.

Potansiyometre biri (+) ve diğeri (-) olmak üzere iki uca sahiptir. Dolayısıyla Eşitlik 2.5’te gösterildiği gibi potansiyel bu iki uçtan ölçülen elektrokimyasal yarı hücreler, diğer bir ifadeyle elektrotlar arasındaki potansiyel farkına eşit olacaktır.

$$E_h = E_k - E_a \quad (2.5)$$

Burada E_h elektrokimyasal hücrenin standart indirgenme potansiyeli, E_k voltmetrenin pozitif ucuna bağlı yarı hücrenin ve E_a da voltmetrenin negatif ucunda bağlı yarı hücrenin potansiyelini vermektedir. [45]

Yarı hücre indirgenme potansiyellerinin nasıl elde edildiğini görmek için aşağıdaki gibi bir yarı hücre reaksiyonu ele alınabilir.



Bu yarı hücrenin potansiyel değeri Nernst denklemi kullanılarak aşağıdaki şekilde elde edilebilir.

$$E = E^o - \frac{RT}{nF} \log\left(\frac{[B]^b}{[A]^a}\right) \quad (2.7)$$

Bu denklemde E^o , $[A] = [B] = 1$ M olduğu veya türlerin 1 bar basınca sahip olduğu durumdaki standart hidrojen elektrota karşı ölçülen standart potansiyel

değeri, n yarı reaksiyondaki elektron sayısı ve a ile b de stokiyometrik katsayılarıdır. Denklemdaki R gaz sabiti, T Kelvin cinsinden sıcaklık ve F de Faraday sabitini belirtmektedir.

25°C sıcaklıkta bilinen değerler yerlerine konulduğu takdirde Eşitlik 2.7 aşağıdaki hali almaktadır.

$$E = E^o - \frac{0,05916}{n} \log Q \quad (2.8)$$

Buradaki Q , reaksiyon katsayısıdır.

Eşitlik 2.8'den yola çıkarak, Eşitlik 2.5'te verilen denklem Şekil 2.1'deki reaksiyon için daha açık bir şekilde yazılabilir. Katılar ve sıvılar bu denkleme dahil edilmez.

$$E_h = \left(E_{\frac{Cu^{2+}}{Cu}}^o - E_{\frac{Zn^{2+}}{Zn}}^o \right) - \frac{0,05916}{2} \log \left(\frac{a_{Zn^{2+}}}{a_{Cu^{2+}}} \right) \quad (2.9)$$

Her iki element için de standart potansiyeller belli olduğu için, Eşitlik 2.9'dan yola çıkarak belirli şartlar altında sadece konsantrasyona bağlı bir potansiyel değişimi olacağı sonucuna varılır ve konsantrasyon hesabı için Nernst denklemi ve türevleri kullanılabilir.

Burada birkaç önemli noktaya dikkat çekmek gerekmektedir. Birincisi, bahsedilenlerin uygulanabilmesi için sistemin denge halinde olması şarttır. İkinci olarak, Nernst denklemi sıcaklığa bağlı olduğundan çoğu durumda sıcaklığın da hesaba katılması gerekecektir. Üçüncüsü, denklem aslında konsantrasyon değil, iyonik aktiviteye göre çalışmaktadır. Özellikle yüksek iyonik şiddetlerde aktivite ve konsantrasyon değerleri arasında önemli farklar görülebilir. Son olarak, elektrot, hücre ve malzeme yapılarından kaynaklanabilen ek potansiyel farklarının da denkleme (Eşitlik 2.5) yansıtılması gerekir. Bu tür potansiyel farklardan belki de en önde geleni *sıvı bağlantı potansiyelidir*. [43]

Farklı bileşim veya konsantrasyonda iki elektrolit çözeltisi arasında bir temas olduğunda, yüzeyler arasında bir potansiyel farkı meydana gelir. Bu potansiyel farkın temel nedenlerinden biri, genellikle konsantrasyon farkından beslenen iyon hareketinin, her bir iyonun sudaki mobiliteleri arasında fark olması nedeniyle birbirlerine göre farklı hızlarda meydana gelmesidir. [46]

Sıvı bağlantı potansiyeli, genel denklem olarak kabul edebileceğimiz Eşitlik 2.5'e eklendiğinde aşağıdaki gibi bir denklem elde edilir. Burada E_b , bağlantı potansiyelini ifade etmektedir. Bir elektrokimyasal hücre birden fazla bağlantı noktası barındırabilir.

$$E_h = E_k - E_a + E_b \quad (2.10)$$

Sıvı bağlantı potansiyelinin büyüklüğü her zaman bilinemez. Bununla birlikte, çalışma süresince sabit kalması halinde ciddi bir problem teşkil etmez. Bu potansiyeli azaltmak için birbirine yakın mobilitede iyonlara ayrılabilen KCl gibi tuzların çözeltileri elektrolit olarak kullanılmaktadır. [47]

Bütün bu teorik arkaplandan sonra potansiyometrik yöntem daha anlaşılır bir şekilde açıklanabilir. Bir potansiyometrik sistem, örnek hücresi görevini gören bir elektrolitik çözelti ile buna elektriksel olarak bağlantılı olan indikatör ve referans elektrotların bulunduğu yarı hücreler ve kararlı bir potansiyometre cihazından müteşekkildir. Referans elektrottan gelen veri, indikatör elektrottan gelen değeri bilinmeyen potansiyel verisine karşı potansiyometre cihazındaki değişken bir direnç yardımıyla kaydedilir. İndikatör elektrottaki potansiyel, analit çözeltisindeki iyonların aktivitesine bağlı olarak değişirken referans elektrotun zaten bilinmekte olan potansiyel değerinde değişiklik olmamaktadır. Dolayısıyla değişim sadece indikatör elektrot vasıtasıyla olmakta ve potansiyometre ile bu değişimin ölçülmesi sonucu ilgili iyonun konsantrasyonu tayin edilebilmektedir. Potansiyometrik tayin, tamamen bu esasa dayanmaktadır. Cihazın doğru çalışması ve ilgili komponentlerin sağlıklı veri üretmesi, doğru sonuçlar alınabilmesi için son derece önemlidir. [48]

2.1.2 İyon Seçici Elektrotlara Kısa Bir Bakış

Her ne kadar potansiyometrik yöntemde indikatör elektrot olarak sadece iyon seçici elektrot (İSE) kullanılmıyor ve metalik elektrot gibi farklı indikatör elektrotlar mevcutsa da günümüzde nispeten yaygın kullanımda ve çalışmayla bir derece ilgili olduğu için sadece İSE'lere kısaca bakmakta fayda bulunmaktadır. İSE temel olarak en az bir iyon seçici membran aracılığıyla tek bir iyonla seçici cevap elde edilmesine olanak sağlayan elektrotların genel adıdır.

İyon seçici elektrotlar malzeme yapısına göre cam, sıvı, iç referans çözeltisi içeren katı hal ve bütünüyle katı hal elektrotlar olmak üzere sınıflandırılabilir. Bu elektrotlar özelliklerini seçici membranlarına borçludur ve bu nedenle bu yönden de sınıflandırılabilirler. Temel olarak 4 farklı tür seçici membran bulunmaktadır. Bunlar cam membran, kristalin membran, polimer membran ve fonksiyonel görev yapan enzim gibi maddelerin immobilize edildiği membranlardır. Bu son grup özellikle iyonik olmayan analitlerin ölçülmesinde önemli rol oynar ve genellikle polimer membranlarla birlikte kullanılır. Tüm bu sınıfların pek çok alt türü bulunmaktadır. [49] İyonofor içeren polimer membranlar günümüzde en yaygın kullanılan membran grubudur. İyonofor, bir iyonu yüksek seçicilikte tutan kimyasal maddelere verilen addır. Ancak genellikle başka iyonlar da çok daha az seçicilikte olmak kaydıyla tutulabilmektedir. Bu durum girişim veya interferans olarak adlandırılır. [50]

Konvansiyonel bir iyon seçici elektrotta, iç standart ve test çözeltilerindeki iyonlar birbirilerinden iyon seçici bir membran aracılığıyla ayrılır. Her iki elektrot da analit çözeltisine daldırıldığında elektronlar, iyonlar veya analit çözeltisinde bakılan hedef iyonun yüklü ya da nötral kompleksleri membranın iç kısımlarına doğru iç standart çözeltinin bileşimine göre taşınırlar. Bu durum, indikatör elektrotun oluşturduğu yarı hücrede bir elektromotor kuvveti (EMF) meydana getirir. Referans elektrotta bu şekilde bir değişim meydana gelmediğinden, her iki yarı hücredeki toplam değişim, ölçülen ilgili iyonun konsantrasyonundaki değişimle orantılı olarak meydana gelmiş olacaktır. [48] Böyle bir elektrotun kullanıldığı toplam hücre potansiyelini belirlemek için Eşitlik 2.10'a, iyon seçici membran potansiyelinin de dahil edilmesi gerekir ve Eşitlik 2.10 aşağıdaki halini alır.

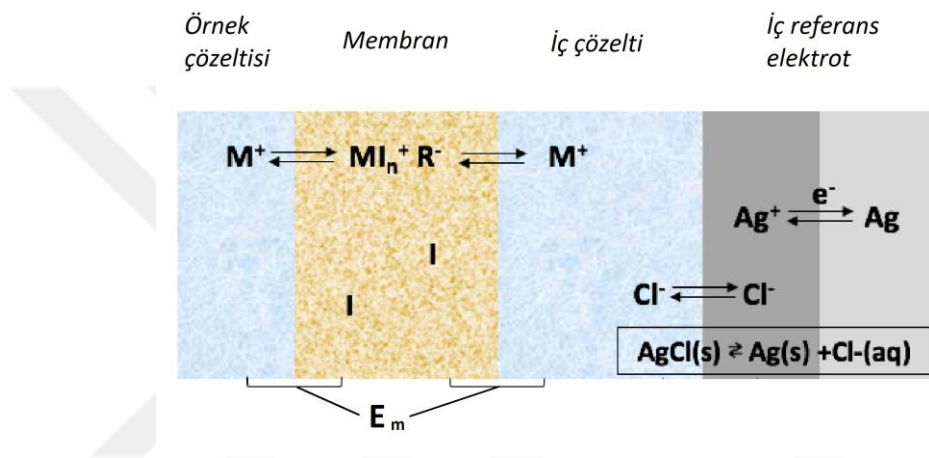
$$E_h = E_k - E_a + E_b + E_m \quad (2.11)$$

Bir iyon seçici elektrot ile analit çözeltisinde bulunan seçici olduğu iyonun konsantrasyonu değil, daha önce de belirtildiği üzere sadece aktivitesi belirlenebilir. Aktivite değişimine cevap ideal olarak sadece membrandan

geldiğinden membran potansiyeli Nernst denklemi yardımıyla aşağıdaki gibi bulunabilir. [43]

$$E_m = \frac{0,05916}{n} \log \left(\frac{a_{dış}}{a_{iç}} \right) \quad (2.12)$$

Burada $a_{dış}$, test çözeltisindeki bilinmeyen iyon aktivitesini, $a_{iç}$ ise iç referans çözeltideki bilinen aktivite değerini ifade eder. Bu şekilde değişimin yalnızca dış çözeltiden kaynaklandığı bilinebilir. Şekil 2.2, yukarıda bahsedilen olayları özetlemektedir.



Şekil 2.2 Örnek bir İSE'de membran potansiyel farkı oluşumu [51]

R: Anyon değiştirici, I: İyonofor, M: İyon. Sağ tarafta da iç referans elektrotun çalışma prensibi verilmiştir.

Günümüzde yaygın olarak kullanılan bütünüyle katı hal iyon seçici elektrotlarda iç çözelti veya iç referans elektrot bulunmamaktadır. Bunun yerine iletken polimerler veya karbon gibi çeşitli malzemelerle bir katı kontak kullanılmaktadır. Bu tür malzemeler membranın iç yüzeyine yapışır ve iyondan elektrona sinyal geçişini düzenler. İç kısımda bu malzemelerin etkisiyle meydana gelen çift tabaka kapasitans ve yük birikimi sonucu potansiyel fark oluşur ve bu fark yine test çözeltisindeki ilgili iyon aktivitesine bağlıdır. [51]

İyon seçici elektrotlar tıbbi çalışmalarda, tarımda, gıda ve ilaç endüstrisinde ve çevre analizleri gibi çok farklı alanlarda çeşitli iyonların ölçümünde kullanılmaktadır. Bu tür faaliyetlerde iyon seçici elektrotların kullanılmasında bazı avantajlar bulunmaktadır. Bunlardan belki en önemlisi, yerinde ve zamanında

ölçüm alınabilmesidir. Merkezi bir laboratuvara örnek taşımanın çeşitli zorluk ve maliyetleri olmaksızın analizlerin gerçekleştirilebilmesi oldukça önemli bir kabiliyet artışı getirir. Ayrıca kullanım için eğitilmiş personele veya yüksek güç sarfiyatına gerek yoktur. Maliyetler de genelde düşüktür. [50] Bu avantajlar, kablolu sensör ağları gibi çeşitli sistemlerde de iyon seçici elektrot kullanımını cazip kılmaktadır.

2.2 Referans Elektrotlar

2.2.1 Referans Elektrotların Genel Çalışma Prensipleri ve Önemi

Önceki bölümlerde anlatılanlar, bir potansiyometrik sistemin sağlıklı bir şekilde çalışabilmesi için cihaz ve indikatör elektrotların ne kadar önemli olduğunu ortaya koymuştur. Ancak Eşitlik 2.11'den de anlaşıldığı gibi, potansiyometrik sistemlerin en önemli unsurlarından biri de referans elektrotlardır. İyi bir referans elektrot elde edilmeden, iyon seçici elektrotların bir önceki bölümde bahsedilen avantajları sağlayabilmesi mümkün değildir. Özellikle minyatürizasyonun önem kazanması sonrası referans elektrotların öneminin daha da arttığını söylemek mümkündür. Bir potansiyometrik sistemin stabilitesi aynı zamanda referans elektrotun stabilitesine de bağlıdır. Sadece 1 mV'luk bir ölçüm farkı tek değerlikli iyonlar için %4 oranında hatalı sonuç alınmasına neden olabilmektedir. [52] Bu durum referans elektrotların ihmal edilemeyecek potansiyometrik sistem bileşenleri olduğunu daha net bir şekilde göstermektedir.

Bir galvanik hücrede indikatör elektrot potansiyelinin doğru bir şekilde belirlenebilmesi için referans elektrot potansiyelinin ve karakteristiğinin çok iyi tanımlanmış olması gereklidir. Öne çıkan iki tür konvansiyonel referans elektrot varlığından bahsedilebilir. Bunlar,

- I. Birinci tip referans elektrotlar
- II. İkinci tip referans elektrotlar

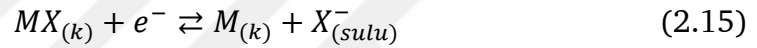
olarak sınıflandırılabilir. [53] Bunlar dışında ayrıca benzer çalışma prensibine sahip hidrojen elektrot gibi gaz temelli veya genelde susuz ortamlarda kullanılan ferroocene/ferrocenium gibi redoks temelli referans elektrotlar da vardır. [23]

Birinci tip referans elektrotlar, bir metal (M) ve katyonunu (M^{n+}) içeren bir elektrolit çözeltisinden oluşur. Eşitlik 2.13'te gösterilen redoks tepkimesi, Eşitlik 2.14'te verildiği şekliyle sadece ilgili katyon aktivitesine bağlı bir potansiyel farkına neden olmaktadır.



$$E = E^o - \frac{RT}{nF} \log \frac{1}{a(M^{n+})} \quad (2.14)$$

İkinci tip referans elektrotlar, çok az çözünen bir tuzuyla (MX, metal M'nin tanıma uyan herhangi bir halojenür veya oksit/hidroksiti) kaplanan bir metal (M) ve çözünebilir halojen veya oksijen içeren anyondan oluşur. Eşitlik 2.15'te M'nin +1 değerlikli olduğu durum için gösterilen redoks tepkimesi, Eşitlik 2.16'da verildiği şekilde elektrotun potansiyelini belirler. [53]



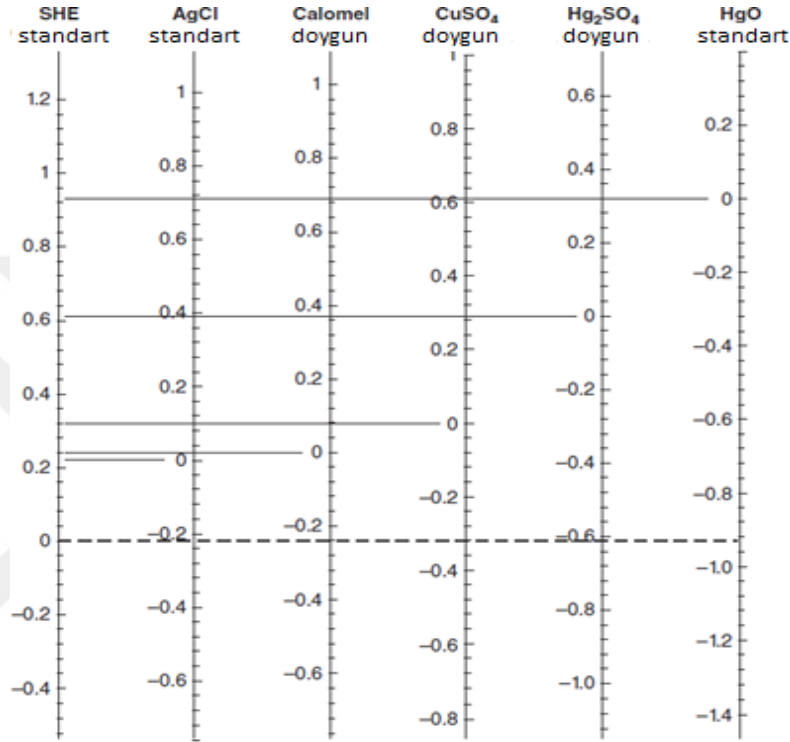
$$E = E^o - \frac{RT}{nF} \log a(X^{-}) \quad (2.16)$$

Özellikle vurgulanması gerekir ki, hangi tip olursa olsun konvansiyonel referans elektrotların çalışabilmesi için iç ve dış çözeltiler arasında sürekli bir kütle transferinin var olması gerekir. Aksi halde devre tamamlanamaz ve elektrot çalışmaz. [43]

2.2.2 Referans Elektrot Türleri

Referans elektrotlar birkaç farklı şekilde gruplandırılabilir. Kullanıldıkları yere göre sulu çözeltilerde, susuz ortamlarda, iyonik sıvı ve erimiş tuzlarda, oksidik cam eriyiklerinde ve katı elektrolitlerde kullanılabilen referans elektrotlar şeklinde bir ayırım yapılabileceği gibi, sulu çözeltilerde kullanılabilen referans elektrotları da yukarıda bahsedildiği gibi kimyasına bakılarak birinci ve ikinci tip olmak üzere iki gruba ayırmak veya konvansiyonel sıvı/jel temelli ve yeni nesil katı hal olmak üzere iki ana grupta toplamak mümkündür. Daha farklı bir yaklaşımla bu elektrotlar büyüklük ve şekillerine veya yapılarındaki malzemelere göre de sınıflandırılabilir. [1] Burada, çalışma konusuna uygun şekilde sulu çözeltilerde kullanılabilen bazı referans elektrotların incelenmesi daha uygun bulunmuştur.

Yeni nesil katı hal referans elektrotlar ve literatürdeki güncel durumla ilgili kısa bir özet daha önce verildiğinden, bu bölümde öne çıkan konvansiyonel referans elektrotlardan kısaca bahsedilecektir. Referans elektrotlardan her birinin deneysel olarak farklı potansiyeller üretebildiği unutulmamalıdır. Çeşitli online araçların yanı sıra, Şekil 2.3 gibi çevrim tabloları aracılığı ile öne çıkan bazı referans elektrotların birbirlerine karşı potansiyel farkları gösterilebilmektedir.



Şekil 2.3 Bazı referans elektrotlar için örnek bir dönüşüm tablosu [54]

SHE: Standart hidrojen elektrot. Standart terimi, iç çözeltinin 1 M konsantrasyonda olduğunu, doymuş terimi ise iç çözeltinin doymuş olduğunu belirtmektedir. Konsantrasyon değişikliği, verilen potansiyel değerlerinde değişikliğe neden olur.

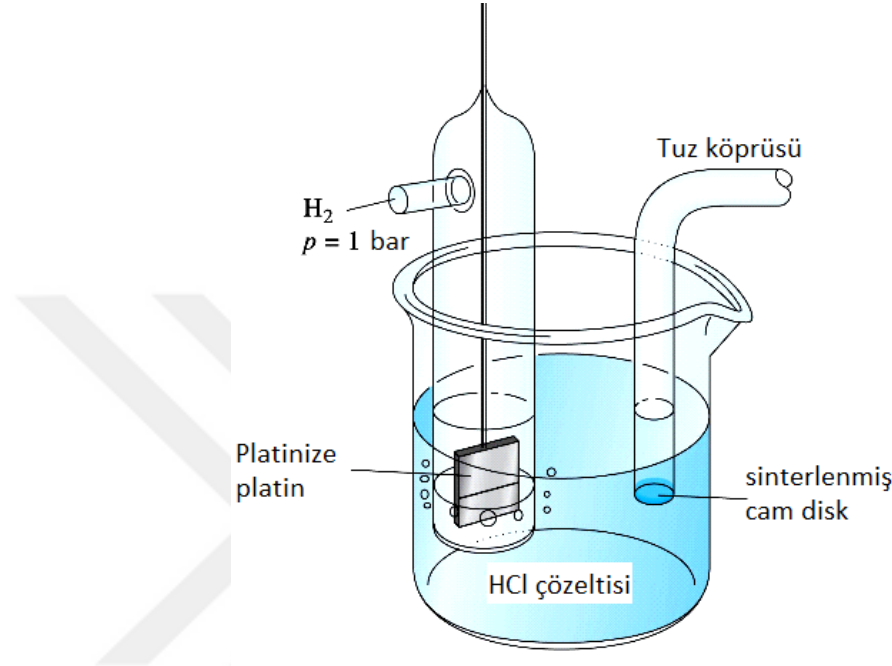
2.2.2.1 Hidrojen Referans Elektrotlar

Bu grup referans elektrotlar birkaç ana tür elektrotu içermektedir. Çalışma prensipleri benzer olmakla birlikte, belli farklarla birbirlerinden ayrılmaktadırlar. Bunlar arasında öne çıkanların kısaca incelenmesinde yarar vardır.

Standart hidrojen elektrot, elektrokimyadaki temel referans olarak kullanılır. Bir yarı hücrenin potansiyeli tek başına değerlendirilemeyeceğinden, diğer tüm referans elektrot türleri ve yarı hücre potansiyelleri bu elektrotun potansiyeliyle

kıyaslanarak tespit edilmektedir. IUPAC'a göre standart hidrojen referans elektrotu şu şekilde tanımlanmaktadır:

“Standart hidrojen elektrotu, 10^5 Pa standart basınç olarak tanımlanmış bir etkin basınca sahip H_2 gazı ile doyurulmuş ve birim aktivitede (1 M) bir H^+ çözeltisi ile temas halindeki bir platin elektrottan oluşmaktadır.” [42]

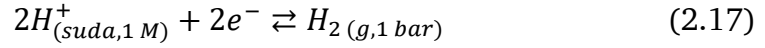


Şekil 2.4 Tipik bir standart hidrojen elektrotunun genel yapısı [70]

Standart hidrojen elektrodu, duruma göre anot veya katot gibi davranabilir. Standart referans elektrotunun mutlak potansiyeli 25°C sıcaklıkta $4,44 \pm 0,02$ V olarak belirlenmiştir. Ancak tüm sıcaklıklarda referans görevini üstlenebilmesi için potansiyeli 0 V olarak kabul edilmiştir. [55]

Şekil 2.4'te ayrıntılı olarak gösterildiği gibi, bir standart hidrojen referans elektrotu saf hidrojen gazının sürekli olarak platin üzerinde kabarcık oluşturacak şekilde sevkedilmesini ve belli bir basınçta tutulmasını gerektirmektedir. Ayrıca hidroklorik asit ile çalışma, platin folyonun zaman içinde eser miktardaki organik veya metalik iyonlarla zehirlenmesi gibi dezavantajlar da söz konusudur. Bu durum pratik kullanım, sağlık ve bakım gibi konularda sorunlara neden olabileceğinden, bu tür elektrotların kullanımı genellikle diğer referans elektrotların karakterizasyonu ve öğretim gibi amaçlarla sınırlıdır. [56]

Eşitlik 2.17, standart hidrojen elektrota ait yarı hücre reaksiyonunu göstermektedir. Görüleceği gibi hidrojen iyonu/hidrojen gazı redoks çifti elektrot potansiyelini belirlemektedir. [7]



Normal hidrojen elektrot, yapı olarak standart hidrojen elektrota çok benzer ve onunla sık sık karıştırılır. İki elektrot arasındaki potansiyel fark 0,006 V olsa da, bu fark standart hidrojen elektrotun hata sınırları içindedir. Farkı, çözeltideki proton konsantrasyonunun 1 M değil 1 N ve hidrojen gazının basıncının 1 bar yerine 1 atm olması gerekliliğidir. Eski dönemlerde kolay hazırlanabilmesi nedeniyle kullanılmış olsa da, tam olarak tersinir olmaması ve potansiyelinin zaman içinde değişmesi nedeniyle artık pek kullanılmamaktadır.

Tersinir hidrojen elektrot, bir başka standart hidrojen elektrot türevidir. Farkı, tersinir hidrojen elektrotun belirli aktivitede hidrojen iyonuna ihtiyaç duymamasıdır. Bu durum elektrot potansiyelinin pH değerine bağlı olmasına neden olur. Eşitlik 2.18, Nernst denkleminde göre 25°C sıcaklıkta standart hidrojen elektrotuna karşı tersinir hidrojen elektrotun potansiyelini vermektedir.

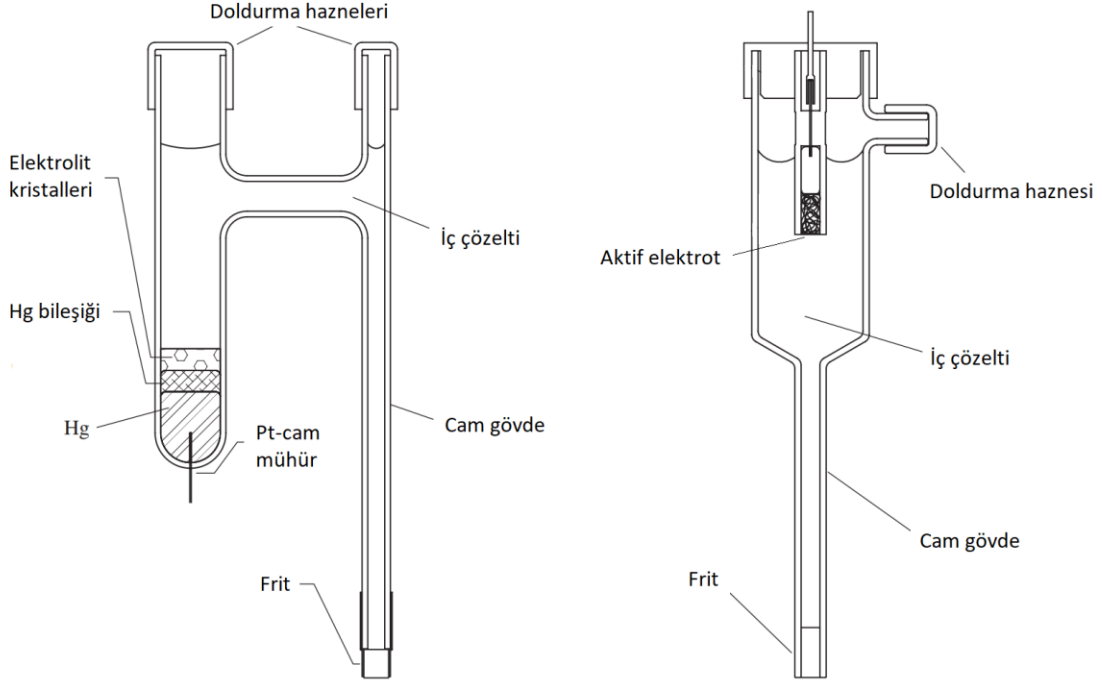
$$E = 0,059 \times pH \quad (2.18)$$

pH=0 olduğunda bu elektrotun potansiyeli standart hidrojen elektrota eşit olmaktadır. [55]

Anlatılanlar dışında dinamik hidrojen elektrot veya platin yerine paladyum kullanılarak hazırlanan paladyum-hidrojen elektrot gibi hidrojen temelli referans elektrot türevleri de bulunmaktadır.

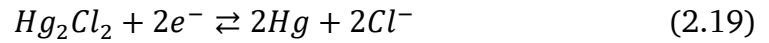
2.2.2.2 Civa Temelli Referans Elektrotlar

Civa temelli referans elektrotlar saf, sıvı civa ile az çözünür civa tuzlarından hazırlanabilmektedir. Saflaştırmanın ve geri kazanımın kolay olması ve sabit yüzey alanı sağlaması civa temelli elektrotlara avantaj sağlamaktadır. Ancak civanın toksisitesinin yüksek oluşu, bu tür elektrotların giderek daha az tercih edilmesine neden olmaktadır. Şekil 2.5, iki farklı temel şekilde hazırlanabilen civa elektrot tasarımını göstermektedir. [57]



Şekil 2.5 Temel civa referans elektrot tasarımları [57]

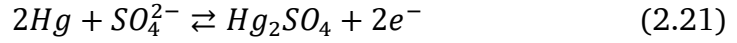
Civa/civa (I) klorür veya diğer adıyla *kalomel referans elektrot*, metalik civa üzerine yerleştirilen civa (I) klorür ve çeşitli konsantrasyonlarda KCl çözeltisi ile hazırlanabilen ikinci tip bir referans elektrottur. Eşitlik 2.19, ilgili yarı hücre reaksiyonunu ve Eşitlik 2.20 elektrot potansiyelini göstermektedir. Kalomel elektrotun potansiyeli, klorür iyonu aktivitesine bağlıdır. Doygun kalomel elektrot, 25°C sıcaklıkta standart hidrojen elektrota karşı 0,268 mV civarında potansiyel farkı vermektedir.



$$E = E^o - \frac{RT}{F} \log a(Cl^-) \quad (2.20)$$

Kalomel elektrotun bir dezavantajı da yüksek sıcaklıklarda kullanılması halinde elektrotta histerezise neden olmasıdır. Genellikle tavsiye edilen maksimum kullanım sıcaklığı 70°C'dir. Bu durumu bir nebze iyileştirmek için düşük konsantrasyonda KCl kullanılabilse de, doymuş KCl çözeltisiyle hazırlanan kalomel elektrotun daha kolay kullanılabildiği belirtilmektedir.

Bir diğerk önemli civa temelli referans elektrot *civa/civa (I) sülfat* elektrotudur. Yapısı temel olarak kalomel elektrotla benzerlik gösterir. Elektrolit olarak ya belirli bir konsantrasyonda potasyum sülfat veya sülfürik asit kullanılır. Sülfürik asitle hazırlanan elektrolit, bu asitin bulunduğu test ortamlarında kullanılmaya çok uygundur. Eşitlik 2.21 elektrot net reaksiyonunu, Eşitlik 2.22 elektrot potansiyelini vermektedir. [57]



$$E = E^o - \frac{RT}{F} \log a(SO_4^{2-}) \quad (2.22)$$

Yukarıda anlatılanların haricinde civa/civa (II) oksit, civa/civa (I) sülfür gibi farklı ortamlarda kullanışlı olabilen çeşitli civa temelli referans elektrotlar da mevcuttur.

2.2.2.3 Gümüş Temelli Referans Elektrotlar

İkinci tip elektrotlar içinde gümüşün yeri oldukça önemlidir. Günümüzde en yaygın kullanılan referans elektrot türleri gümüş temellidir. Bunun nedeni gümüşün çeşitli anyonlarla az çözünen tuzlar oluşturmasıdır. Gümüş temelli elektrotların pek çok avantajı vardır. Bunlar aşağıdaki gibi sıralanabilir.

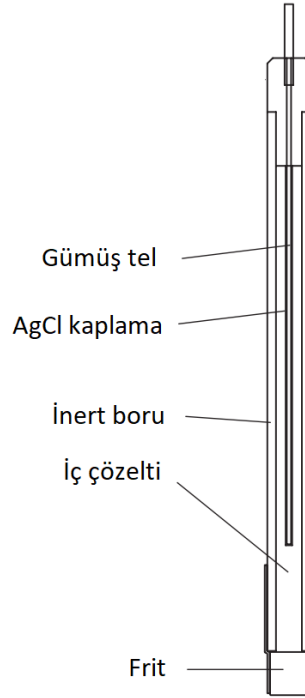
- I. Nispeten kolay hazırlanabilirler.
- II. Minyatürizasyona oldukça uygundurlar.
- III. Bazı durumlarda elektrolite ihtiyaç olmadan doğrudan test çözeltisi içinde kullanılabilirler. Böylece sıvı bağlantı potansiyeli elimine edilmiş olur.
- IV. Maliyetleri genel olarak düşüktür.
- V. Toksik değildirler.

En önemli gümüş temelli referans elektrot *gümüş/gümüş klorür (Ag/AgCl) referans elektrottur*. Şekil 2.6'da bu tür elektrotların genel yapısı görülebilir. Genellikle bu elektrotlar elektrokimyasal veya termal yolla gümüş klorür ile kaplanan bir gümüş tel ve çeşitli konsantrasyonlarda KCl gibi tuzlarla hazırlanır. Şekilde görülen frit, iç çözelti içeren referans elektrotların vazgeçilmez bir parçasıdır. İç çözelti ve test çözeltisi arasındaki bağlantıyı sağlar ve akma hızını kontrol eder. Seramik, teflon gibi çeşitli malzemelerden imal edilebilir.

Eşitlik 2.23 elektrot net reaksiyonunu, Eşitlik 2.24 elektrot potansiyelini vermektedir. Reaksiyon hızlı gerçekleşir ve bu elektrotun doğru çalışması için çok önemlidir. [1]



$$E = E^o - \frac{RT}{F} \log a(Cl^-) \quad (2.24)$$



Şekil 2.6 Tipik bir Ag/AgCl referans elektrot [3]

Çok da uzak olmayan bir geçmişte, gümüş/gümüş klorür referans elektrotların sıcaklık dayanımı gibi özelliklerini geliştirmek için içteki elektrolit çözeltisinin bir jel yapısına emdirilmesiyle jel tabanlı elektrotlar geliştirildi. 140°C sıcaklığa kadar erimeden dayanabilen agar veya jelatin jeller bu amaçla kullanılmaktadır. Bu tür elektrotların 16 bara kadar basınç dayanımına sahip olduğu da belirtilmektedir. Ancak jellerin yeniden doldurmaya elverişli olmaması, biyo-saldırıllara açık olması ve dolayısıyla daha kısa ömürlü olması gibi dezavantajları da vardır. [2]

Referans elektrotların kararlı bir şekilde çalışması, gözenekli frit üzerinden sabit bir elektrolit akışının devamlılığına bağlıdır. Bu nedenle test çözeltisi referans elektrot iç çözeltisinden akan iyonlarla kademeli olarak kontamine olur. Düşük

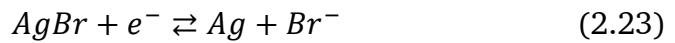
K⁺, Cl⁻ veya Ag⁺ seviyelerinde veya bu iyonların girişim yapabileceği iyon seçici elektrotları kullanırken bu durumdan dolayı hatalı ölçümlerle karşılaşılabilir. Bu sorunu aşmak amacıyla çift bağlantı referans elektrotlar geliştirilmiştir. En yaygın kullanılan referans elektrot olarak, Ag/AgCl referans elektrotu da farklı firmaların ürettiği çift bağlantılı türevlere sahiptir. Bu tür elektrotlarda, Şekil 2.6'da gösterilen elektrot ikinci bir frit aracılığıyla test çözeltisi ile temas halinde olan ve farklı bir elektrolit içeren bir dış tüpe yerleştirilir. Bu dış çözelti, iç referans ile test çözeltisi arasında yeni bir tuz köprüsü oluşturur ve test çözeltisini kontamine etmeyecek tuzlardan seçilebilir. Örneğin lityum asetat bu amaçla kullanılan tuzlar arasındadır. Bu yaklaşımın bir dezavantajı, yeni bir sıvı bağlantı potansiyeli oluşumuna kaynaklık etmesidir. Ancak yine de tercih edilebilir. [58]

Gümüş/gümüş klorür referans elektrota ait E⁰ değerleri 0-95°C için Eşitlik 2.25 ile, daha yüksek sıcaklıklar içinse Eşitlik 2.26 ile hesaplanabilmektedir. Sıcaklık bu tür bir elektrot için de oldukça önemlidir çünkü AgCl çözünürlüğü sıcaklığa göre değişmektedir. [1] 25°C sıcaklıkta doymuş KCl çözeltisinde bu elektrot 0,197 mV potansiyel farkı vermektedir. [3]

$$E = 0,2365_9 - 4,8564 \times 10^{-4}T - 3,4205 \times 10^{-6}T^2 + 5,869 \times 10^{-9}T^3 \quad (2.25)$$

$$E = 0,2373_5 - 5,3783 \times 10^{-4}T - 2,3728 \times 10^{-6}T^2 \quad (2.26)$$

Gümüş/gümüş bromür referans elektrotu bir diğer önemli gümüş temelli elektrottur. Yapısı ve yarı hücre reaksiyonu bakımından Ag/AgCl elektrotuna benzerlik göstermektedir. Bu tür elektrotların hazırlanmasında ya termal yöntemle gümüşün erimiş gümüş bromür tuzuyla kaplanması gerçekleştirilmekte, ya da elektrokimyasal yöntemle gümüş yüzeyine kaplama yapılmaktadır. Eşitlik 2.27 yarı hücre reaksiyonunu ve Eşitlik 2.28 elektrot potansiyelini belirtmektedir.

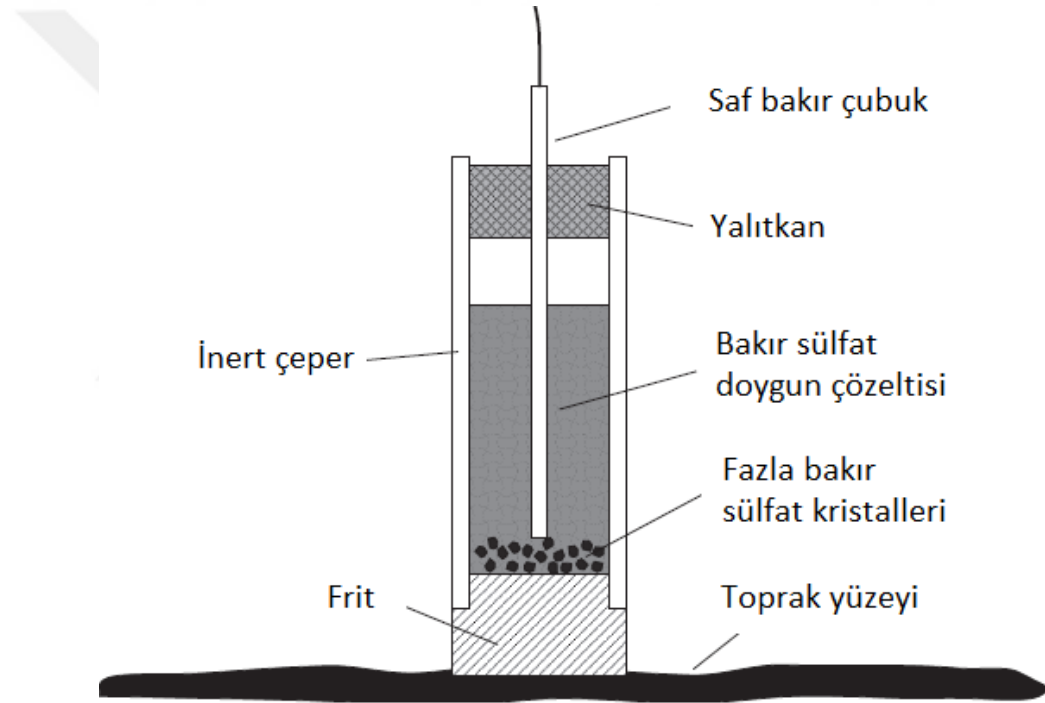


$$E = E^o - \frac{RT}{F} \log a(Br^-) \quad (2.24)$$

Yukarıda bahsedilenlerden başka gümüş/gümüş iyodür, gümüş/gümüş sülfür, gümüş/gümüş sülfat gibi çeşitli referans elektrotlar da mevcuttur. [1]

2.2.2.4 Diğer Bazı Referans Elektrotlar

Şimdiye kadar belirtilenler dışında çok sayıda farklı redoks reaksiyonuna dayanan referans elektrotlar denenmiş ve Ag/AgCl kadar yaygın olmasa bile kullanımdadır. Ayrıca bazıları spesifik alanlarda özellikle tercih edilebilmektedir. Örneğin Şekil 2.7’de gösterilen *bakır/bakır (II) sülfat referans elektrotu*, toprakta ve metallerin katodik veya anodik korozyon koruması uygulamalarında kullanılmaktadır. Elektrotun potansiyeli bakır iyonu aktivitesiyle belirlendiğinden, doymuş bakır sülfat çözeltisi içerisinde tutulmakta ve bir frit ile dış ortamla bağlantı kurulmaktadır. Standart potansiyeli, yani bakır iyonu aktivitesi 1 iken standart hidrojen elektrota karşı verdiği değer -0,34 V’tur. [59]



Şekil 2.7 Bakır/bakır sülfat elektrotunun genel şematiği [54]

Bunun dışında iyot/iyodür, talyum/talyum klorür, talyum/talyum bromür, gümüş/gümüş oksit, civa/civa (II) oksit gibi çeşitli elektrotlar da vardır. Ayrıca bu çalışmada pek bahsedilmeyen Ag/Ag⁺ gibi susuz ortamlarda kullanıma uygun referans elektrotlar halihazırda kullanımdadır. Bu tür elektrotların çok yaygınlaşmamasının önemli nedenlerinden biri yaygın kullanımda çok sayıda referans elektrot mevcudiyetinin pratik olmamasıdır.

2.2.3 Referans Elektrotların Genel Performans Parametreleri

İdeal bir referans elektrot, güvenilir bir sonuç üretmek için aşağıdaki birkaç koşulu sağlamak ve farklı ortam şartlarında devam ettirmek zorundadır.

1. *Polarize edilememesi* gerekir. Yani üzerinden büyük akımlar geçse bile elektrot potansiyeli denge potansiyeline göre önemli bir değişim göstermemelidir.
2. *Sıcaklık değişimlerine* karşı olabildiğince dirençli olması istenir.
3. Aynı ortam şartlarında bırakıldığında, *aynı cevabı minimum sapma* ile sağlaması gerekir. [3]
4. Analiz edilen çözeltinin herhangi bir bileşeni ile hiçbir şekilde *istenmeyen etkileşim ve reaksiyonlara girmemesi* gerekmektedir. [6]
5. *Işık, karbondioksit, oksijen* gibi, özellikle elektrot yapısında polimerik malzemelerin kullanımı durumunda sonuçları etkileyebilecek faktörlere karşı direnç göstermesi de istenen bir özelliktir. [4]

İdeal referans elektrotlar, yukarıda sayılan parametrelerin yanı sıra *üretim, kullanım ve bakım kolaylığı, yapısal sağlamlık, düşük maliyet* gibi özelliklere de sahip olmalıdır. Ancak bu özellikler diğerleri gibi performansı doğrudan etkilemediği için, onlarla aynı önem derecesine sahip değildir. [11]

Son yıllarda, kişiye özel tıp, yerinde ve zamanında ölçüm, uzaktan kontrollü kablosuz sensör ağları gibi kavram ve teknolojilerin yaygınlaşmasıyla elektrokimyasal sensörler ve dolayısıyla referans elektrotlar ayrı bir önem kazanmıştır. Yukarıda bahsedilen özelliklere sahip ideal referans elektrotların, bu tür çalışmalar özelinde bazen başka ek koşulları da sağlaması gerekebilir. [60] Bu, her durum için geçerli değildir. Ancak vücuda sensör yerleştirilmesi gibi durumlarda ideal bir referans elektrot ek olarak,

1. *Biyouyumlu* olmalıdır. [7] Biyouyumluluk özetle, bir malzemenin veya cihazın temas ettiği veya implante edildiği organizmada herhangi bir kabul edilemez sistemik veya yerel etkiye neden olmaması olarak tanımlanabilir. [61]

2. İlgili standartlarda belirtilen şekilde *sterilize edilebilir* olmalı ve sterilizasyon işlemi elektrot performansını ciddi şekilde etkilememelidir.
3. Kan, idrar, ter, tükürük gibi *kompleks vücut sıvılarında güvenilir sonuçlar* üretecek performansı gösterebilmelidir. [62]

Bu noktada belirtilmesi yerinde olur ki, bazı özel uygulamalarda karşılanması gereken ek kriterler burada açıklanandan daha fazla veya daha az olabilir. [63]

Yukarıdaki bilgiler ışığında, yeni geliştirilen bir referans elektrotun kullanıma alınmadan önce ne tür testlerden geçirilmesi gerektiğiyle ilgili net prosedürler ve standartlar olduğu yanılgısına kapılmamak gerekir. Bununla birlikte, referans elektrotların değerlendirilmesinde aşağıda belirtilen belli başlı parametreleri belirlemek için zaman içinde literatürde oturmuş çeşitli testler kullanılabilmektedir.

Referans elektrot ile çözelti arasında daha kararlı ve düzenli bir tuz transferi/akma olayına erişilinceye kadar geçen zamana *stabilizasyon zamanı* adı verilmektedir. Çeşitli tasarımlara sahip referans elektrotlar için bu süreç *hidrasyon zamanı* veya *şartlandırma zamanı* olarak da adlandırılabilir. Bu süreçte referans elektrot potansiyeli çoğunlukla sabit değildir ve bazen oldukça şaşırtıcı düzeyde dalgalanmalar olabilmektedir. [64]

Potansiyometrik davranış testleri, geliştirilen referans elektrotların değişik iyonik şiddetlerdeki farklı çözeltilerde kısa süreli potansiyometrik davranışını ve bu cevabın tekrarlanabilirliğini görmek amacıyla yapılmaktadır. Bu doğrultuda yapılan çalışmalarda KCl, KOH, NaCl, HCl, NaBr, NaHCO₃ gibi çeşitli çözeltiler kullanılır. Test çözeltilerine daldırılan referans elektrotların değişen konsantrasyonlar arasında ne kadar potansiyel fark verdiği incelenerek stabilitesi hakkında fikir sahibi olunabilmektedir. [22]

Bir diğer önemli performans parametresi *uzun dönem stablitedir*. Bu amaçla elektrotlar genelde sabit iyonik şiddette bir çözeltide dakikalar, saatler veya günler/haftalar mertebesinde tutularak potansiyel sapmaları incelenmektedir. Sapma ne kadar düşük olursa elektrot o kadar güvenilir. [4]

pH etkisi testleri, referans elektrotun pH değişimlerine nasıl cevap verdiğinin ölçülmesi ve çalışma aralığının belirlenmesi için yapılır. Bu amaçla elektrotlar çeşitli pH çözeltilerine daldırılarak ölçüm alınır ve potansiyel farkları karşılaştırılır. [65]

Kullanım ömrü, bir referans elektrotun sürekli olarak ne kadar uzun süre kullanılabileceğini belirtir. Bunu belirlemek için yapılan liç testinde elektrot distile su veya çok yüksek olmayan sabit iyonik şiddette bir çözelti içine daldırılır ve uzun süre bırakılır. Bu süre zarfında test ortamına iyon geçişi olacağından iletkenlik artar ve bu bir iletkenlik ölçer ile takip edilebilir. Alternatif olarak, test çözeltisine geçen tuz miktarı farklı yöntemlerle belirlenerek ve elektrot performansının liç testi öncesi ve sonrası kıyaslaması yapılır. [37]

3.1 Kullanılan Kimyasal ve Cihazlar

Çalışmada temel olarak aşağıda kullanım amaçları ve tedarik edildikleri firmalar belirtilen kimyasallar kullanılmıştır.

Tablo 3.1 Çalışmada kullanılan kimyasallar

Kimyasal	Kullanım Amacı	Üretici
Çeşitli tuzlar (analitik kalite KCl, NH ₄ NO ₃ , CaCl ₂ , LiCl, NaCl)	Çeşitli amaçlar için çözelti hazırlama ve referans elektrot bileşeni (KCl)	Merck
Grafit (<45 µm)	Katı kontak bileşeni	Merck
Polivinil alkol (PVA, MA=13000-23000)	Referans elektrot bileşeni	Merck
Gümüş klorür	Referans elektrot bileşeni	Merck
Karboksimetil selüloz (CMC, sodyum tuzu, MA=250000)	Referans elektrot bileşeni	Acros
Grafit oksit (<20 µm)	Referans elektrot bileşeni	Medisen Medikal
Epoksi (Macroplast Su 2227)	Referans elektrot ve katı kontak bileşeni	Henkel
Sertleştirici (Desmodur RFE)	Referans elektrot ve katı kontak bileşeni	Bayer Ag
Gümüş (toz, 4-7 mikron)	Referans elektrot bileşeni	Alfa Aesar
Çok duvarlı karbon nanotüp (MWCNT, US4509)	Referans elektrot bileşeni	US Nano
Kuinhidron	Referans elektrot bileşeni	Merck

Tablo 3.1 Çalışmada kullanılan kimyasallar (devamı)

Tetrahidrofuran (THF, max %0.005 su)	Organik çözücü	Merck
Fusayama-Meyer yapay tükürük sıvısı	Testler	Merck
Tampon çözeltiler (pH 1-13)	pH testleri	Fisher Scientific
Nitrik asit	Gümüş teli safsızlıktan arındırma	Merck
Polivinil klorür (PVC)	İyon seçici membran bileşeni	Merck
2-nitrofenil oktil eter (NPOE)	İyon seçici membran bileşeni	Merck
Potasyum tetrakis(4-klorofenil)borat (KTpCIPB)	İyon seçici membran bileşeni	Merck
6,6-dibenzil-1,4,8,11-tetraoksasiklotetradekan (lityum iyonofor VI)	İyon seçici membran bileşeni	Merck
4,4,4-Trifloro-1-fenil-1,3-bütandion (BTA)	İyon seçici membran bileşeni	Merck
Kalsiyum iyonofor IV	İyon seçici membran bileşeni	Merck
Amonyum iyonofor I	İyon seçici membran bileşeni	Merck
Tetradodesil amonyum nitrat (TDAN)	İyon seçici membran bileşeni	Merck
Dibütil ftalat (DBF)	İyon seçici membran bileşeni	Merck
Dioktil sebakat (DOS)	İyon seçici membran bileşeni	Merck

Aşağıdaki tabloda ise (Tablo 3.2), kullanılan cihaz ve araç gereçler ile bunların kullanım amaçları ve üreticileri listelenmiştir. SEM-EDS ölçümleri ve spektrofotometrik ölçümleri kapsayan sitotoksosite testleri, YTÜ Merkez Laboratuvarı'nda yaptırılmıştır. İkinci referans elektrot ise, diğerinin potansiyelinin kontrolü ve yedek olarak bulunması amacıyla kullanılmıştır.

Tablo 3.2 Çalışmada kullanılan cihaz ve araçlar

Cihaz	Kullanım Amacı	Üretici
Çok kanallı potansiyometre	Potansiyometrik testler	Medisen Medikal
Referans elektrot (çift bağlantı, H15315)	Üretilen referans elektrotların testi	Hanna
Referans elektrot (çift bağlantı, ELIT 003n)	Diğer ticari referans elektrotun kontrolü	Nico2000
Masaüstü otoklav	Sterilizasyon işlemleri	Kerman
SEM (EVO LS10)	Yüzey görüntüleme	Zeiss
Elisa plate okuyucu (Multiskan GO)	Sitotoksosite testi	Thermo Scientific
pH metre (inoLab pH 7110) ve kombine pH elektrot (SenTix 41)	pH ölçümleri	WTW
Ultrasaf su sistemi (Purelab Flex 4)	Ultrasaf su eldesi ($18,2 \text{ M}\Omega \text{ cm}^{-1}$)	Elga
Pres	Referans elektrot hazırlama	Chemplex

3.2 Elektrotların Hazırlanması

3.2.1 İyon Seçici Elektrotların (İSE) Hazırlanması

Ca^{2+} , Li^{+} , NH_4^{+} ve NO_3^{-} İSE'ler, daha önceki çalışmalarda belirtildiği şekilde hazırlandı. [66]–[68] Özet olarak, katı kontak hazırlamak için %50 grafit, %35 epoksi ve %15 sertleştirici, birkaç damla THF ilave edilerek uygun kıvama gelinceye kadar mümkün olduğunca iyi bir şekilde karıştırıldı ve polipropilen borulara doldurularak 24 saat oda sıcaklığında kurumaya bırakıldı. Bu arada Tablo 3.3'te belirtilen bileşimlerde membran kokteylleri hazırlandı. Daha sonra katı kontak yüzeyleri, daldırarak kaplama yöntemiyle ilgili iyon seçici membranlarla kaplanarak kurutuldu. Her bir İSE, kullanımdan önce ilgili iyonu içeren 10^{-2} M çözeltide 12 saat şartlandırıldı.

Tablo 3.3 Referans elektrotların test edilmesinde kullanılan çeşitli İSE'lerin membran bileşimleri

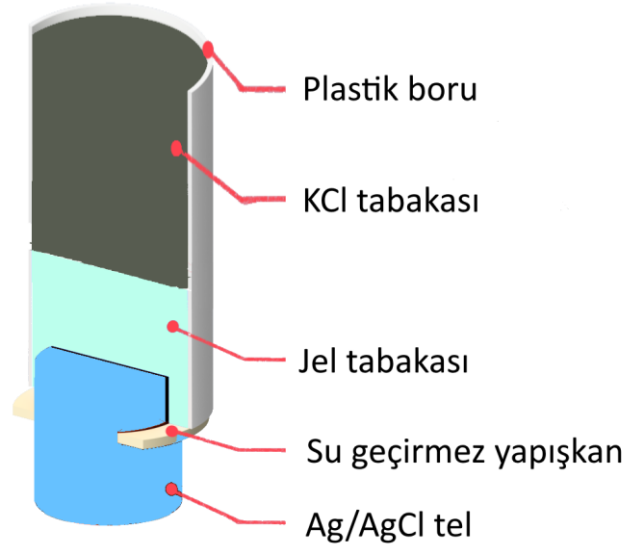
İSE	Membran bileşimi (ağırlıkça)
Ca^{2+}	Kalsiyum iyonofor IV (%2), PVC (%29), NPOE (%68), KTpCIPB (%1)
NO_3^-	TDAN (%4), PVC (%30), DBF (%65), KTpCIPB (%1)
NH_4^+	Amonyum İyonofor I (%1,5), DOS (%65,5), PVC (%32), KTpCIPB (%0,5)
Li^+	Lityum iyonofor VI (%1,5), BTA (%1,5), NPOE (%67,5), KTpCIPB (%0,5)

3.2.2 Referans Elektrotların (RE) Hazırlanması

3.2.2.1 Katı Hal Çubuk Şekilli Referans Elektrotların Hazırlanması

Öncelikli hedef, ticari referans elektrotlara yakın büyüklükte bir referans elektrot geliştirmek ve en uygun bileşimi belirlemek olduğu için, Tablo 3.4'te belirtilen çeşitli kompozisyonlar hazırlanmış ve denenmiştir. İletken malzeme olarak karbon nanotüp veya grafit oksit, jel olarak PVA ve CMC çeşitli yüzdelerde denenmiş, ayrıca KCl yüzdesi optimize edilmiştir. Şekil 3.1, bu sınıfta hazırlanan elektrotların genel yapısını göstermektedir.

İlk adım Ag/AgCl tellerin hazırlanmasıdır. Gümüş yüzeyinde bir safsızlık kalmaması amacıyla gümüş tel nitrik asitte 1 saniye bekletilip ultrasaf su ile yıkandı. Daha sonra 0,01 M'lık NaCl çözeltisine daldırılan gümüş tel, anot görevi görmek üzere sabit voltaj üreten bir devreye bağlandı. Katot olarak bir platin elektrot kullanıldı ve önce 40 s boyunca bu şekilde, daha sonra 20 s uçlar tersine çevrilerek (yani Pt (-), Ag (+) uç olacak şekilde) ve sonra 10 dk uçlar eski haline getirilerek 3,5 V gerilim uygulanmak suretiyle gümüş telin çözeltiye daldırılmış yüzeyinde (10-20 mm uzunluk boyunca) bir gümüş klorür tabakası oluşması sağlandı. Daha sonra gümüş tel çözeltiye daldırılmamış kısmından bakır bir kablunun ucuna lehimlenerek tutturuldu ve 30 mm uzunluk ve 6 mm çapındaki bir plastik boru içerisine alındı. Boru içinde kalan kısımda klorlanmamış gümüş tel yüzeyi bulunmadığından emin olundu ve borunun arka kısmı, tek iletken bağlantı yolu gümüş tel olacak şekilde su geçirmez bir yapıştırıcıyla kapatıldı.



Şekil 3.1 Katı hal çubuk şekilli referans elektrotların genel yapısı

Toplam 20 farklı kompozisyonda elektrot hazırlandı, ancak temel olarak jel içeren ve içermeyen olmak üzere iki ana tür elektrot bulunduğundan bahsedilebilir. Geri kalan elektrotlardaki farklılıklar temel olarak optimum oranları ve malzemeleri tespit etmek üzere tasarlandı.

Jel içeren elektrotlardaki (RE5p1, RE5p2, RE5p3, RE5c1, RE5c2, RE5c3) jel tabakaları, 50°C sıcaklıkta Tablo 3.4'te belirtilen oranlarda KCl tuzu ile karıştırılan ve jel haline getirilen PVA veya CMC'nin doğrudan Ag/AgCl tel üzerine aktarılıp boru iç çapı ile yaklaşık olarak aynı çapta bir seramik çubuk yardımıyla hava kabarcığı veya boşluk kalmayacak şekilde sıkıştırılması ve fazla suyunu kaybedene kadar 50°C sıcaklıkta etüvde bekletilmesiyle hazırlandı. Burada tam bir kurutma hedeflenmedi, sadece üstteki tabakanın kolayca ve iki tabaka birbirine karışmadan eklenebileceği çok yüksek viskozitede bir yapı elde edilmeye çalışıldı.

Jel içeren elektrotlarda önce jel tabakası, sonra diğer tabaka hazırlanarak Ag/AgCl üzerine eklendi ve seramik çubuk yardımıyla tekrar sıkıştırıldı. Diğer elektrotlarda ise elektrot bileşimine göre farklı oranlarda KCl, GO veya MWCNT içeren tabakalar Tablo 3.4'te belirtilen ağırlık oranlarına göre hazırlanarak birkaç ml THF ile bir spatula yardımıyla iyice karıştırıldı, uygun kıvama getirilerek boruya en az Ag/AgCl teli tamamen kapatana kadar dolduruldu ve yapının birden fazla tabaka

içerdiği durumlarda, bir sonraki tabaka diğerinin kuruması beklenmeden aynı şekilde hazırlanarak en sonunda 24 saat boyunca oda sıcaklığında kurutuldu. Jel tabakası içeren elektrotların üst katmanı da burada anlatılan şekilde hazırlandı. Toplam elektrot kalınlığı her iki ana tür elektrot için de en az 20 mm idi. Plastik borunun boş kalan kısımları, elektrotlar iyice kuruyup sıkıştırıldıktan sonra kesilip atıldı ve yüzeyler ince dişli eğe ile düzleştirildi ve yüzey alanları arasındaki farklar minimuma indirildi.

Tablo 3.4 Çalışmada denenen çeşitli katı hal çubuk şekilli büyük referans elektrotların ağırlıkça bileşimleri

Elektrot Adı	Tabaka 1	Tabaka 2	Tabaka 3
<i>RE1g</i>	Ag/AgCl tel	%30 KCl, %50 GO, %20 epoksi+sertleştirici	-
<i>RE1k</i>	Ag/AgCl tel	%30 KCl, %50 MWCNT, %20 epoksi+sertleştirici	-
<i>RE2g</i>	Ag/AgCl tel	%20 KCl, %50 GO, %30 epoksi+sertleştirici	-
<i>RE2k</i>	Ag/AgCl tel	%20 KCl, %50 MWCNT, %30 epoksi+sertleştirici	-
<i>RE3g</i>	Ag/AgCl tel	%5 KCl, %50 GO, %45 epoksi+sertleştirici	-
<i>RE3k</i>	Ag/AgCl tel	%5 KCl, %50 MWCNT, %45 epoksi+sertleştirici	-
<i>RE4g1</i>	Ag/AgCl tel	%10 KCl, %75 GO, %15 epoksi+sertleştirici	-
<i>RE4g2</i>	Ag/AgCl tel	%10 KCl, %60 GO, %30 epoksi+sertleştirici	-
<i>RE4g3</i>	Ag/AgCl tel	%10 KCl, %50 GO, %40 epoksi+sertleştirici	-
<i>RE4g4</i>	Ag/AgCl tel	%10 KCl, %40 GO, %50 epoksi+sertleştirici	-

Tablo 3.4 Çalışmada denenen çeşitli katı hal çubuk şekilli büyük referans elektrotların ağırlıkça bileşimleri (devamı)

<i>RE4g5</i>	Ag/AgCl tel	%10 KCl, %25 GO, %65 epoksi+sertleştirici	-
<i>RE4k1</i>	Ag/AgCl tel	%10 KCl, %60 MWCNT, %30 epoksi+sertleştirici	-
<i>RE4k2</i>	Ag/AgCl tel	%10 KCl, %50 MWCNT, %40 epoksi+sertleştirici	-
<i>RE4k3</i>	Ag/AgCl tel	%10 KCl, %40 MWCNT, %50 epoksi+sertleştirici	-
<i>RE5p1</i>	Ag/AgCl tel	%95 PVA jel, %5 KCl	%10 KCl, %50 GO, %40 epoksi+sertleştirici
<i>RE5p2</i>	Ag/AgCl tel	%90 PVA jel, %10 KCl	%10 KCl, %50 GO, %40 epoksi+sertleştirici
<i>RE5p3</i>	Ag/AgCl tel	%75 PVA jel, %25 KCl	%10 KCl, %50 GO, %40 epoksi+sertleştirici
<i>RE5c1</i>	Ag/AgCl tel	%95 CMC jel, %5 KCl	%10 KCl, %50 GO, %40 epoksi+sertleştirici
<i>RE5c2</i>	Ag/AgCl tel	%90 CMC jel, %10 KCl	%10 KCl, %50 GO, %40 epoksi+sertleştirici
<i>RE5c3</i>	Ag/AgCl tel	%75 CMC jel, %25 KCl	%10 KCl, %50 GO, %40 epoksi+sertleştirici

3.2.2.2 Katı Hal Mini Referans Elektrotların Hazırlanması

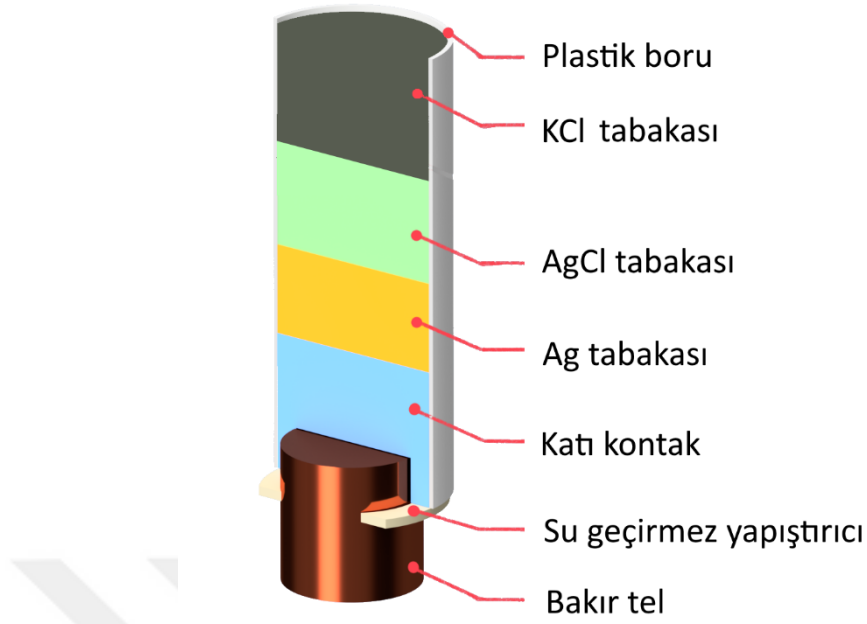
Büyük boyutlu referans elektrotlar hazırlanıp test edildikten ve KCl içeriği optimize edildikten sonra, bu elektrotların minyatürizasyonuna geçildi. Amaç yaklaşık olarak aynı elektrot yapısını mümkün olduğunca koruyarak küçültmek olduğundan hem daha büyük elektrotlarda en iyi performansı gösteren yapının hemen hemen aynısı, hem de benzer kompozisyonlar minyatür formda üretildi.

Minyatürizasyon aşamalı olarak gerçekleştirildi; Şekil 3.2'de görüldüğü gibi çeşitli tip ve çapta plastik boru ve yapılar kademeli olarak kullanılıp test edildi. Diğer amaç, eldeki imkanlara göre kararlı çalışan en küçük ve en ince elektrot

boyutlarının tespit edilmesi ve planlanan testlerin bunlar üzerinde gerçekleştirilmesi idi. Bu nedenlerle 6 mm, 4 mm ve 2 mm çaplı borular ve önceden hazırlanmış olan yapılar kullanıldı. Performansı çaptan daha fazla etkileyen parametrenin yükseklik olduğu yapılan deneyler sonucu gözlemlenmiştir. Toplam 10 farklı kompozisyonda ve pelet şeklinde hazırlananlar haricindeki her bir kompozisyon için 10 mm, 5 mm ve 2,5 mm olmak üzere 3 farklı yükseklikte elektrotlar hazırlandı. Ancak daha büyük hazırlanan referans elektrot grubunda olduğu gibi burada da temel olarak daha az tür elektrot bulunduğu söylenebilir. Elektrotlardaki farklılıklar temel olarak optimum boyutları, oranları, malzemeleri ve üretim yöntemini tespit etmek üzere tasarlandı. Gümüş tel kullanımı pratik olmadığından mikro gümüş tozu ve gümüş klorür tozunun kullanılmasına karar verildi. Şekil 3.3, bu sınıfta hazırlanan elektrotların genel yapısını göstermektedir.



Şekil 3.2 Kullanılan çeşitli boru ve yapılar ile bazı örnek elektrotlar



Şekil 3.3 Katı hal mini referans elektrotların genel yapısı

Elektrotların çoğu için üretim yöntemi bir önceki bölümde bahsedilen çubuk şekilli katı hal elektrotlara benzerdir. Bu amaçla en fazla 10 mm uzunluk ve 6, 4 ve 2 mm iç çapa sahip polilaktik asit (PLA) ve polipropilen (PP) borular veya polikarbonat (PC) yapılar bir uçtan bakır kabloya bağlanarak hazırlandı. Tablo 3.5'te belirtilen tüm elektrotlar için, bakır kablounun ucu yaklaşık 1 mm kadar borunun içine sokuldu ve tek iletken bağlantı noktası bakır tel olacak şekilde su geçirmez yapıştırıcı ile kalan kısımlar izole edildi.

Tüm elektrotlar, bakır telin elektrot tabakalarıyla herhangi bir olumsuz etkileşimini ve istenmeyen kompleksler oluşma riskini en aza indirecek şekilde tasarlandı. Bu amaçla, bakır teli kaplayacak incelikte, Bölüm 3.2.1'de anlatıldığı gibi hazırlanan bir katı-hal kontak tabakası yüzeye kaplandı. Bu tabaka referans elektrotun özelliğine katkıda bulunacak bir fonksiyonellik içermediği için ilgili tabloda ayrıca bahsedilmesine gerek görülmemiştir. Ortalama katı-hal kontak yüksekliği 1-3 mm aralığında tutulmuştur.

Tablo 3.5'te belirtilen pRE1, pRE2 ve pRE3 haricindeki elektrotların tüm tabakaları, önce toz haldeki bileşenlerinin basit bir öğütme (milling) düzeneğinde

bir gece boyunca iyice karıştırılması, daha sonra uygun oranda sıvı bileşenin çok az miktarda THF’de çözündürülerek toz karışıma eklenmesi ve bu son karışımın spatula yardımıyla iyice karıştırılması usulüyle hazırlandı. Her elektrot bu şekilde ayrı tabakalara sahip olmasa da genel kural olarak en altta gümüş içeren tabaka (Tabaka 1), en üstte KCl içeren tabaka (Tabaka 3) olacak şekilde hazırlanan ve optimum viskoziteye ulaşmaya kadar spatulayla olabildiğince karıştırılıp borulara sırayla doldurularak uygun çapta bir metal çubuk ile iyice sıkıştırılan bu karışımlar oda sıcaklığında kurumaya bırakıldı.

pRE1, pRE2 ve pRE3 elektrotları, belirtilen oranlardaki toz malzemelere öğütme ve karıştırma süreci sonrası doğrudan pelet hazırlama presinde 40 tonluk bir baskı uygulanması ile hazırlandı. Birden fazla tabaka bulunduran pRE1 ve pRE2 elektrotları, altta gümüş içeren tabaka olmasına dikkat edilerek preslendi. Her üç elektrotta da nihai olarak elde edilen tek bir preslenmiş yapı boruya yerleştirilerek, alt tabakayı oluşturan taze hazırlanmış katı-hal kontak tabakasıyla birleştirildi. Daha sonra yan taraflardan su sızmasını ve dolayısıyla elektrotun bozulmasının engellenmesi için boru çeperleri boyunca dikkatlice epoksi uygulandı. Bu elektrotların çapı 4 mm, toplam yüksekliği ise katı kontak kısmı hariç 2 mm civarında ölçülmüştür.

Tüm elektrotların hazırlanmasında son olarak, plastik boruların boş kalan kısımlarının kesilerek atılması ve elektrot üst yüzeylerinin ince dişli eğe ile düzeltilmesi işlemleri yapılmıştır.

Tablo 3.5 Çalışmada denenen çeşitli katı hal mini referans elektrotların ağırlıkça bileşimleri

Elektrot Adı	Tabaka 1	Tabaka 2	Tabaka 3
<i>mRE1</i>	%20 μ -Ag tozu, %40 GO, %40 epoksi+sertleştirici	%20 AgCl tozu, %40 GO, %40 epoksi+sertleştirici	%10 KCl, %50 GO, %40 epoksi+sertleştirici
<i>mRE2</i>	%10 μ -Ag tozu, %50 GO, %40 epoksi+sertleştirici	%10 AgCl tozu, %50 GO, %40 epoksi+sertleştirici	%10 KCl, %50 GO, %40 epoksi+sertleştirici

Tablo 3.5 Çalışmada denenen çeşitli katı hal mini referans elektrotların ağırlıkça bileşimleri (devamı)

<i>mRE3</i>	%5 μ -Ag tozu, %55 GO, %40 epoksi+sertleştirici	%5 AgCl tozu, %55 GO, %40 epoksi+sertleştirici	%10 KCl, %50 GO, %40 epoksi+sertleştirici
<i>mRE4</i>	%10 μ -Ag tozu, %10 AgCl tozu, %40 GO, %40 epoksi+sertleştirici	%10 KCl, %50 GO, %40 epoksi+sertleştirici	-
<i>mRE5</i>	%10 μ -Ag tozu, %10 AgCl tozu, %10 KCl, %40 GO, %30 epoksi+sertleştirici	-	-
<i>qRE1</i>	%10 μ -Ag tozu, %50 GO, %40 epoksi+sertleştirici	%10 AgCl tozu, %50 GO, %40 epoksi+sertleştirici	%1 kuinhidron, %10 KCl, %49 GO, %40 epoksi+sertleştirici
<i>qRE2</i>	%10 μ -Ag tozu, %50 GO, %40 epoksi+sertleştirici	%10 AgCl tozu, %50 GO, %40 epoksi+sertleştirici	%5 kuinhidron, %10 KCl, %45 GO, %40 epoksi+sertleştirici
<i>pRE1 (ince pelet)</i>	%10 μ -Ag tozu, %90 GO	%10 AgCl tozu, %90 GO	%10 KCl, %90 GO
<i>pRE2 (ince pelet)</i>	%10 μ -Ag tozu, %10 AgCl tozu, %80 GO	%10 KCl, %90 GO	-
<i>pRE3 (ince pelet)</i>	%10 μ -Ag tozu, %10 AgCl tozu, %10 KCl, %70 GO	-	-

Burada üzerinde durmak istediğimiz bir konu, toplam madde miktarının azlığından dolayı homojen karışım sağlanmasının zorluğudur. Bir önceki bölümde anlatılan daha büyük referans elektrotlar daha kolay karıştırılabilir ve homojenlikteki sapmaları daha kolay tolere edebilir yapıda olduklarından, bu konu büyük elektrotlarda sorun arz edecek boyutta görülmemektedir. Ancak gerek

toplam kalınlığın gerekse kullanılan toplam malzeme miktarının az olması nedeniyle elle karıştırma ile homojen karışım sağlanması ve homojenlikten sapmanın performans açısından tolere edilebilir olması bu sınıf elektrotlar için oldukça zordur. Bu nedenle modifiye edilerek karıştırma aparatı şekline dđnüştürülmüş matkap uçları da dahil olmak üzere bir dizi çözüm üzerinde çalışılmış, ancak en uygun ve kolay yaklaşımın yukarıda anlatıldığı şekilde her bir tabakadaki toz bileşenlerin belirtilen oranlarda karıştırılarak 1 gece öğütme (milling) sürecine maruz bırakılması, sıvı bileşenlerin de tozlara eklenmeden önce çözücü ile muamelesi ve böylece olabildiğince homojen bir yapı elde edilmesi olduğu sonucuna varılmıştır.

Önemle belirtilmesi gerekir ki, burada bahsedilenlerden başka çok sayıda farklı referans elektrot kompozisyonu daha denenmiş, ancak tekrarlanabilir ve güvenilir sonuçlar elde edilemediğ i için bu çalışmaya eklenmesine gerek görülmemiştir.

3.3 Referans Elektrotların Karakterizasyonu ve Uygulamaları

3.3.1 Elektrot Çapı ve Tabaka Yüksekliğinin Etkisi

Sadece pelet şeklinde hazırlanmayan mini referans elektrotlar için uygulanan bu test ile, 3 farklı çapta borular içerisinde ve 3 farklı yükseklikte hazırlanan 7 farklı mini referans elektrot kompozisyonu test edilerek en iyi performansın elde edildiğ i en küçük fiziksel boyutların tespit edilmesi amaçlandı. Bunun için ileride Bölüm 3.3.3'te anlatılacak olan potansiyometrik davranış test sonuçlarından faydalanıldı. Her çap ve yükseklik için elektrot türü başına üçer elektrot denendi. Her bir elektrot türü için en iyi sonuç alınan çap ve yükseklik %100 performansta kabul edilerek yüzdesel karşılaştırma yapıldı. Bunu elde etmek için elektrotların farklı KCl çözeltilerinde verdiğ i minimum ve maksimum potansiyel değ erleri ortalamaları arasındaki farklar kıyaslandı. Daha büyük boyut ve daha küçük olan arasında yüzde 10 ve daha az fark olması durumunda daha küçük boyutlu elektrotun yeterli performans gösterdiğ i kabul edilmiştir. Daha düşük yükseklikte elektrotlar da denenmesine karş ın, tekrarlanabilir sonuçlar elde edilemediğ i için sadece anekdot olarak bahsetmekle yetinilecektir.

3.3.2 Stabilizasyon Zamanı

Stabilizasyon zamanının belirlenmesi için elektrotlar 10^{-3} M KCl çözeltisine daldırılarak sürekli ölçüm modunda bekletildi. Üretilen referans elektrotların stabilizasyon zamanı, bu çalışma özelinde elektrotun çözeltiye daldırılmasından itibaren ± 1 mV üzerinde değişim göstermemeye başlamasından itibaren bunu en az 10 dakika sürdürmesine kadar geçen zaman olarak belirlendi. Bu değer, elektrotların çeşitli konsantrasyonlardaki tuz çözeltilerine verdiği potansiyometrik cevaba göre belirlendi. Burada vurgulanması gereken husus şudur ki, öncelikli olarak stabil potansiyel elde edilmeden hiçbir elektrotta diğer testler uygulanmadı. İkinci bir husus olarak, bu deneyde ve daha sonraki testlerde farklı çap ve kalınlıklarda hazırlanan mini referans elektrotların sadece optimum boyutta belirlenen üyesinin kullanıldığı dikkate alınmalıdır.

3.3.3 Potansiyometrik Davranış

Potansiyometrik davranış testleri birincil olarak ticari Ag/AgCl referans elektrotla karşı 10^{-7} - 10^{-1} M arasındaki her biri bir öncekine göre 10 kat konsantrasyon farkına sahip KCl çözeltilerinde yapıldı. Buna ek olarak, en iyi performans gösteren mini referans elektrot belirlendikten sonra bu elektrotun daha iyi karakterize edilmesi amacıyla 10^{-5} - 10^{-1} M konsantrasyonlar arasındaki CaCl_2 , NaHCO_3 ve NH_4NO_3 çözeltilerinde ek potansiyometrik ölçümler yapıldı.

Ölçümlere en düşük konsantrasyona sahip çözeltiden başlandı. En yüksek konsantrasyona erişildiğinde bir önceki çözeltiye geri dönüldü ve bu şekilde her bir çözeltinin ölçümü 5 kere tekrarlandı. Elektrotlar bir sonraki çözeltiye daldırılmadan önce mutlaka ultrasaf su ile yıkandı ve kurutma kağıdı ile hassas bir şekilde kurulandı. Her bir çözelti için ölçüm süresi 5 saniye ve ölçüme başlamadan önce elektrotun çözeltide bekletildiği süre 30 saniyedir. Böylelikle, her ne kadar düşük ihtimal olsa da, bu sürelerdeki farklardan kaynaklanabilecek muhtemel tutarsızlıkların önüne geçilmesi hedeflenmiştir. Mini referans elektrotlar için bu deney KCl çözeltilerinde 5 farklı elektrotla tekrarlanmış, büyük elektrotlarda ise tek elektrotun her çözelti için 5 kez ölçüm sonucunun alınmasının yeterli olacağı düşünülmüştür.

3.3.4 Uzun Dönem Stabilité

Uzun dönem stabilité testleri ticari Ag/AgCl elektrotu karşı 10^{-3} M KCl çözeltisinde yapıldı. Bu testte kullanılan elektrotlar potansiyometrik davranış testi için kullanılan elektrotların aynısıdır. Elektrotlar ultrasaf su ile iyice yıkanıp kurulandıktan sonra 24 saat boyunca sürekli ölçüm modunda bu çözeltide bekletildi.

3.3.5 pH Etkisi

pH farklılıklarının referans elektrot potansiyeline etkisini belirlemek için önce potansiyometrik davranış ve uzun dönem stabilité testleri aracılığıyla en iyi performansı gösteren mini referans elektrot belirlendi ve pH testi buna özdeş bir elektrot özelinde uygulandı. Elektrot sırayla pH 1-13 arasındaki çözeltilere daldırılarak ölçümler gerçekleştirildi. Her çözelti değişiminde ultrasaf su ile yıkanan elektrotun ölçüm süresi her bir çözelti için 5 saniye, ölçüm öncesi her bir çözeltide bekletildiği süre ise 30 saniyedir. Her pH çözeltisi için ölçüm 5 kere tekrarlanmıştır.

3.3.6 Oksijen Etkisi

Bu test sadece en iyi performans gösteren mini elektrotu özdeş bir referans elektrotu uygulanmıştır. Bu amaçla iki ayrı 10^{-3} M KCl çözeltisi kullanıldı. Çözeltilerden biri atmosfere açık olarak bırakılırken, diğer çözelti kabını üstü elektrot ve gaz giriş çıkışı için bilinçli olarak bırakılan delikler dışında parafilm ile kapatılarak ölçüm öncesi 10 dk ve ölçüm süresince sürekli olarak 50 ml/dk akış hızında argon gazı geçirildi. Referans elektrot sırayla iki çözeltiye daldırılıp ticari Ag/AgCl referans elektrotu karşı ölçüldü ve bu ölçümler üst üste 11 kez tekrarlandı. Diğer testlerde olduğu gibi, her defasında ölçüm süresi 5 saniye ve ölçüm öncesi bekleme süresi de 30 saniye olarak uygulandı.

3.3.7 Kullanım Ömrü – Liç Testi ve EDS Analizi

Bu testler de en iyi performansı gösteren mini elektrotu uygulanmıştır. Elektrotun rafta, herhangi bir çözelti içerisinde bırakılmadan bekletilmesinin performansa olumsuz bir etkisi olup olmadığını görmek için en iyi performansı gösteren mini

elektrota özdeş bir elektrot 12 ay aralıkla birer defa 10^{-5} - 10^{-1} M KCl çözeltilerinde ticari Ag/AgCl referans elektrota karşı potansiyometrik davranış testinden geçirildi. Bu testin prosedürü Bölüm 3.3.2’de anlatıldığı gibidir.

Sürekli kullanımın, çalışma prensibi nedeniyle sürekli olarak tuz kaybeden bir referans elektrotun ömrünü hızla tüketeceği aşıkardır. Bu durumu test etmek için en iyi çalışan elektrota özdeş bir mini referans elektrota 20 ml ultrasaf su içerisinde liç testi uygulandı. Elektrot, belirtilen hacimdeki ultrasaf suda 30 gün boyunca bekletildi. Daha sonra, kaybedilen KCl miktarını belirlemek için sürekli karıştırma altında azar azar AgNO_3 eklenmek suretiyle AgCl çökeltisi elde edildi. Daha fazla çökeltme gözlemlenmediğinde AgNO_3 eklenmesi durduruldu ve çökelti önce santrifüj ve süzme, ardından kurutma ile elde edilerek tartıldı.

Liç testinin elektrot üzerindeki etkisini görmek maksadıyla, testten önce ve sonra EDS analizleri Yıldız Teknik Üniversitesi Merkez Laboratuvarı’nda bulunan cihaz aracılığıyla yaptırılmıştır. Ayrıca test öncesi ve sonrasında elektrot Bölüm 3.3.2’de anlatılan şekilde 10^{-5} - 10^{-1} M KCl çözeltilerinde ticari Ag/AgCl referans elektrota karşı potansiyometrik davranış yönünden test edilmiş ve fark olup olmadığı incelenmiştir.

3.3.8 SEM

En iyi çalışan mini elektrotun yüzeyinin ve çeşitli tabakalarının incelenmesi için Yıldız Teknik Üniversitesi Merkez Laboratuvarı’nda SEM analizi yaptırıldı. Bu amaçla her tabaka malzemelerin parçacık boyutlarına uygun mikrometre seviyesinde görüntüleme için 10 kV hızlandırıcı voltajı altında 5000 büyütme oranında görüntülendi. Kullanılan malzemelerin büyüklüklerinden ötürü daha yüksek büyütme oranlarına ihtiyaç hissedilmemiştir.

3.3.9 Sitotoksisite

Üretilen mini referans elektrotların tıbbi alanda kullanılabilirlik vurgusundan dolayı sitotoksisite testi yapılması gerektiği kanaatine varılmıştır. Bu çalışmada yapılan tek biyouyumluluk testi budur. Bu test de Yıldız Teknik Üniversitesi Merkez Laboratuvarı’nda yaptırılmıştır. Kullanılan malzemeler çok farklı

olmadığından, sadece en iyi performansı gösteren mini referans elektrota uygulanan bu testten elde edilen sonuçlar diğer minyatürize elektrotlar için de genellenebilir.

Sitotoksosite testi için hem dış plastik kabukla hem de bu kabuk olmadan iki farklı çalışma yapılmıştır. L929 fibroblast hücreleri, ml başına 104-105 hücre olacak şekilde 96'lı plate'e ekildi ve gece boyunca 37 °C'de bırakıldı. Numune 0,02 g/ml olacak şekilde alınarak DMEM (Dulbecco's Modified Eagle Medium) içerisinde 72 saat boyunca 37 °C sıcaklıkta ekstrakte edildi. Daha sonra ekstraktlar 0,22 mikron filtreden geçirildi ve kuyucuklara üçlü halde 1,5 mg/ml konsantrasyonda eklendi. Pozitif kontrol olarak %1 fenol solüsyonu ve negatif kontrol olarak da %1 DMEM kullanıldı. 24 saat sonra, bir MTT assayı kullanılarak sitotoksosite ve proliferasyon belirlendi. Optik ölçümler bir Elisa plate okuyucusu kullanılarak 570 nm dalgaboyunda gerçekleştirilmiştir. Sonuçlar negatif kontrol %100 canlı kabul edilerek bunun üzerinden hesaplanmıştır.

3.3.10 Otoklav Sterilizasyonu ve Yapay Tükürük Etkisi

Üretilen mini referans elektrotların tıbbi alanda kullanılabilirlik vurgusundan dolayı otoklav sterilizasyonu gibi ekstrem bir durumun elektrot performansı üzerinde etkisinin incelenmesinin faydalı olacağı kanaatine varılmıştır. Mini referans elektrotların insan vücudunda bulunan kompleks sıvılardaki performansına ilişkin tahminde bulunabilmek için, önceden elde edilmiş olan yapay tükürük sıvısında da testler gerçekleştirildi.

Testlerde en iyi çalışan mini referans elektrota özdeş üç elektrot kullanıldı. Bu elektrotlardan biri önce 10^{-5} - 10^{-1} M KCl çözeltilerinde ve yapay tükürük sıvısında ticari Ag/AgCl elektrota karşı Bölüm 3.2.2'de anlatıldığı gibi potansiyometrik davranış yönünden test edilip, daha sonra potansiyometre cihazı kapatılmadan 30 dakika süresince 121°C ve 1,2 atm basınçta otoklavda sterilize edildi. Bu testlerdeki tek fark, sadece 1 adet elektrot ile çözeltilerde birer kez ölçüm alınmış olmasıdır. Otoklavdan çıkarıldıktan sonra oda sıcaklığına soğuması beklenen elektrot, tekrar 10^{-5} - 10^{-1} M KCl çözeltilerinde potansiyometrik davranış yönünden test edildi ve bir fark olup olmadığı incelendi.

İkinci özdeş elektrot, önce 10^{-3} M KCl çözeltisinde ticari Ag/AgCl elektrota karşı 24 saatlik uzun dönem stabilite testine tabi tutuldu. Daha sonra potansiyometre kapatılmadan ölçüm durduruldu ve alınan elektrot yukarıda belirtilen koşullarda 30 dakika boyunca otoklavlandı. Oda sıcaklığına geldikten sonra taze bir 10^{-3} M KCl çözeltisinde 24 saat daha sürekli ölçüm modunda bekletilerek, daha önceki ölçüm sonucu ile bir fark olup olmadığı incelendi.

Üçüncü özdeş elektrot ise önce yapay tükürük sıvısında ticari Ag/AgCl elektrota karşı 24 saat boyunca uzun dönem stabilite testine tabi tutuldu. Daha sonra potansiyometre kapatılmadan ölçüm durduruldu ve elektrot yukarıda anlatıldığı şekilde otoklavlandı. Oda sıcaklığına geldikten sonra, yenilenen yapay tükürük sıvısında yeniden 24 saat sürekli ölçüm modunda bekletildi ve sonuçlar arasında bir fark olup olmadığı incelendi.

3.3.11 Farklı İSE'ler Kullanılarak Ticari RE ile Karşılaştırma

En iyi çalışan mini referans elektrota özdeş bir referans elektrot kullanılarak, bu elektrotun kontrollü şartlar altında ticari referans elektrotun yerini alıp alamayacağını belirlemek için bazı İSE'ler ile testler yapıldı. Ca^{2+} , Li^{+} , NH_4^{+} ve NO_3^{-} İSE'ler, önce ticari referans elektrota karşı, daha sonra da en iyi çalışana özdeş bir mini referans elektrota karşı kendi iyonlarını içeren 10^{-5} - 10^{-1} M çözeltielerde (Ca^{2+} için CaCl_2 , Li^{+} için LiCl , NH_4^{+} ve NO_3^{-} için NH_4NO_3) Bölüm 3.3.2'de anlatıldığı şekilde potansiyometrik davranış yönünden test edildi.

Elde edilen veriler, yazılan Python koduyla Bland-Altman analizine tabi tutuldu. Bland-Altman analizi, özellikle tıbbi çalışmalarda yeni geliştirilen bir yöntem veya cihazın o alanda öne çıkan farklı bir yöntem veya cihaz yerine kullanılıp kullanılamayacağını incelemesinde önemlidir. Martin Bland ve Douglas Altman tarafından geliştirilen bu yöntemde, iki yöntemle yapılan ölçümler arasındaki farklar ile iki yöntemin ortalamasına ait değerler birbirlerine karşı işaretlenerek grafiğe geçirilir [69]. Çalışmada güven aralığı %95, anlaşma sınırı ise $1,96 \times \text{SD}$ (standard deviation=standart sapma) olarak belirlenmiştir.

4.1 Katı Hal Çubuk Şekli Referans Elektrotlar

4.1.1 Stabilizasyon Zamanı

Hazırlanan her bir elektrotun kendine özgü olması ve elle üretimin zorluklarından dolayı bazen tamamen aynı malzemelerle aynı şekilde üretilen elektrotların bile çeşitli parametreler açısından ciddi farklılıklar gösterebilmektedir. Bu nedenle, stabilizasyon zamanı referans elektrotların herhangi bir türünün genellenebilmesi bakımından tam olarak belirlenmesi zor bir parametredir. Ancak yine de bu veriler elektrot yapı ve davranışını genel anlamda yansıtabildiğinden, stabilizasyon zamanı verileri en az 2 deneyin ortalaması olarak Tablo 4.1’de sunulmuştur.

Veriler incelendiğinde, özellikle jel içeren elektrotların dengeye gelmesinin oldukça uzun zaman alabildiği görülmektedir. Bunun bir nedeni, üst tabaka ve jel tabakası arasında ve elektrot yüzeyi ile çözelti arasında ayrı ayrı kurulması gereken kütle transfer hatlarının varlığıdır. Diğer elektrotlarda sadece elektrot yüzeyi ve çözelti arasında iyon geçişi olduğundan daha kısa stabilizasyon zamanları görülmektedir.

Yapıdaki epoksi oranının yüksek olmasının da genellikle stabilizasyon zamanını artırdığı söylenebilir. Bunun muhtemel bir nedeni, epoksinin elektrot-çözelti arası kütle transferini zorlaştırarak kurulması gereken iyon iletim yolunun kararlı hale gelmesini yavaşlatması olabilir. İkinci bir neden ise, epoksi oranının çok olduğu durumların üst tabakadaki tuz oranının az olmasına bağlı olması ve daha düşük tuz oranının difüzyon hızını azaltarak kararlı hale geçişi yavaşlatması olabilir.

Yapıda GO veya MWCNT kullanımının stabilizasyon zamanını herhangi bir yolla etkilediğine dair bir çıkarım yapılamamıştır.

Elde edilen sonuçlardan sonra, üretilen referans elektrotların tüm kullanım süresi boyunca sadece ilk kullanımdan önce 1 kez olmak üzere 10 saat boyunca 10^{-3} M KCl çözeltisinde bekletilmesinin uygun olacağı sonucuna varılmıştır.

Tablo 4.1 Katı hal çubuk şekilli referans elektrotların stabilizasyon zamanları

Elektrot Kodu	Ortalama Stabilizasyon Zamanı (dk)	Elektrot Kodu	Ortalama Stabilizasyon Zamanı (dk)
<i>RE1g</i>	148	<i>RE4g5</i>	454
<i>RE1k</i>	141	<i>RE4k1</i>	147
<i>RE2g</i>	145	<i>RE4k2</i>	203
<i>RE2k</i>	155	<i>RE4k3</i>	354
<i>RE3g</i>	222	<i>RE5p1</i>	272
<i>RE3k</i>	187	<i>RE5p2</i>	380
<i>RE4g1</i>	152	<i>RE5p3</i>	465
<i>RE4g2</i>	102	<i>RE5c1</i>	323
<i>RE4g3</i>	320	<i>RE5c2</i>	487
<i>RE4g4</i>	360	<i>RE5c3</i>	512

Yapılan çalışmalarda, elektrotların daha sonraki süreçte farklı çözeltilerde kullanılması durumunda dahi bir daha bu kadar uzun bir şartlandırma ihtiyacının bulunmadığı görülmüştür. Şartlandırılmış ve iyi çalışan bir referans elektrot, çeşitli konsantrasyonlardaki farklı çözeltilerde kullanıldığında bile saniyeler içinde stabil bir potansiyel cevap gösterebilmektedir. Yapılan deneylerde, ölçüme başlanmadan önce elektrotların 10-30 saniye kadar çözeltide bekletilmesi fazlasıyla yeterli olmaktadır. Bu durum, sonraki bölümlerde daha iyi görülecektir.

4.1.2 Potansiyometrik Davranış

Katı hal çubuk şekilli referans elektrotların potansiyometrik davranışı sadece KCl çözeltilerinde yapılan çalışmalarla gösterilmiştir. Elde edilen sonuçlar Tablo 4.2’de standart sapmalar da dahil olmak üzere verilmiştir.

Elde edilen sonuçlara göre, %30-50 epoksi, %40-60 GO ve %10-20 KCl içeren, jel içermeyen elektrotların en iyi performansı verdiği tespit edildi. Jel içeriğinin, her ne kadar küçük de olsa normalde katı hal elektrotlarda mevcut olmayan sıvı bağlantı potansiyeli gibi ek potansiyel farklar meydana getirme olasılığı yüksektir. Bunun yanı sıra yapının ortasında az da olsa jel bulunmasının mekanik ve ısı dış etkenlere karşı katkı sağlamayacağı ortadadır. Bütün bu nedenlerle jel içermeyen ve iyi performans gösteren elektrotların potansiyometrik davranış açısından minyatürizasyon için daha uygun olduğu düşünülmüştür. Ancak uzun dönem stabilite de önemli bir parametre olduğundan, konunun bu testin sonuçlarıyla birlikte değerlendirilmesinin daha uygun olacağına inanılmaktadır.

Tablo 4.2 Katı hal çubuk şekilli referans elektrotların KCl çözeltilerinde ticari referans elektrota karşı potansiyometrik davranışı

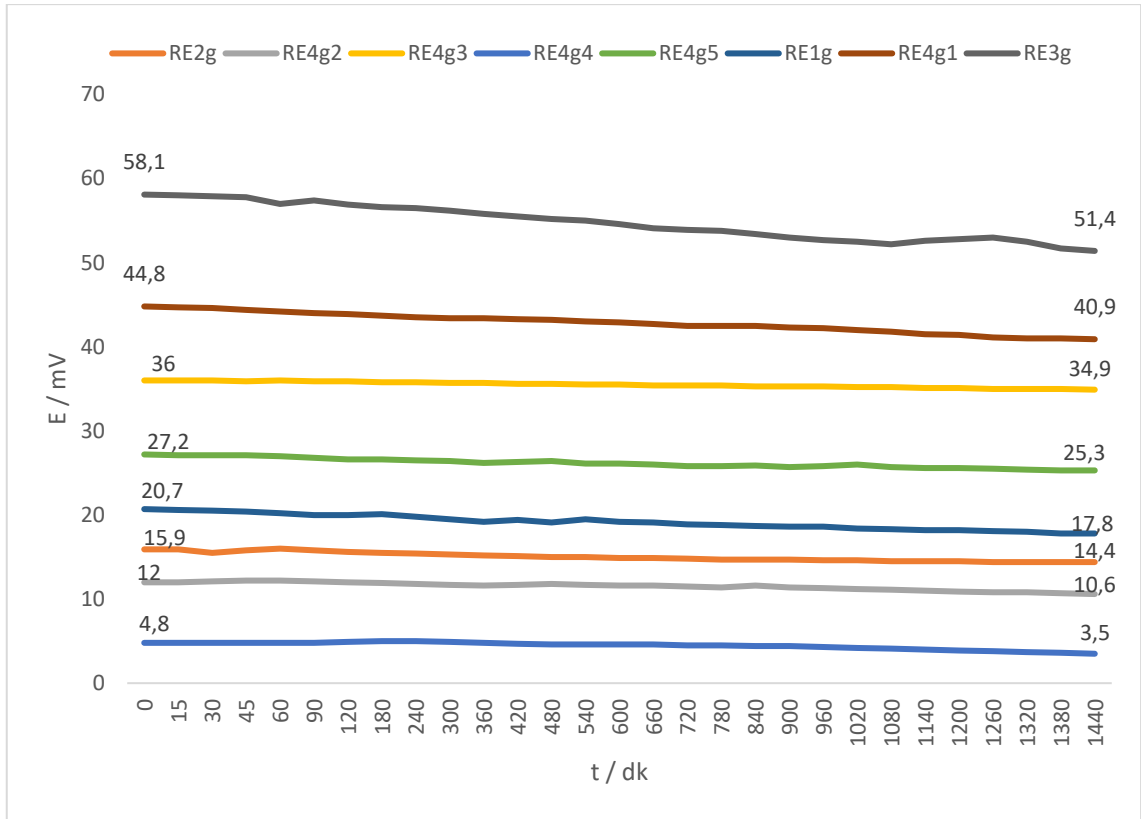
RE	Ortalama potansiyel fark $\pm$ standart sapma (mV)						
	$10^{-7} M$	$10^{-6} M$	$10^{-5} M$	$10^{-4} M$	$10^{-3} M$	$10^{-2} M$	$10^{-1} M$
<i>RE1g</i>	5,2 $\pm 0,7$	4,86 $\pm 0,1$	4,56 $\pm 0,13$	2,22 $\pm 0,22$	0,84 $\pm 0,22$	-0,74 $\pm 0,16$	-3,7 $\pm 0,08$
<i>RE1k</i>	16,15 $\pm 2,5$	17,2 $\pm 3,5$	15,4 $\pm 0,18$	10,3 $\pm 0,95$	6,2 $\pm 0,99$	4,5 $\pm 0,25$	-2,18 $\pm 2,2$
<i>RE2g</i>	-11,12 $\pm 0,4$	-11,2 $\pm 0,29$	-11,59 $\pm 0,16$	-12,51 $\pm 0,26$	-14 $\pm 0,13$	-14,74 $\pm 0,14$	-16,2 $\pm 0,15$
<i>RE2k</i>	-1,5 $\pm 0,35$	-1,8 $\pm 0,05$	-1,54 $\pm 0,13$	-4,84 $\pm 0,15$	-7,7 $\pm 0,2$	-10,77 $\pm 0,2$	-15,32 $\pm 0,2$
<i>RE3g</i>	24,85 $\pm 0,77$	26,9 $\pm 0,67$	25,1 $\pm 0,47$	20,4 $\pm 0,58$	18,29 $\pm 0,3$	16,11 $\pm 0,3$	10,28 $\pm 0,3$
<i>RE3k</i>	12,25 $\pm 1,5$	12,9 $\pm 1,1$	12,3 $\pm 2,1$	5,49 $\pm 3,05$	6,26 $\pm 1,09$	0,71 $\pm 0,11$	-5,08 $\pm 0,9$
<i>RE4g1</i>	6,5 $\pm 0,3$	5,71 $\pm 0,85$	1,55 $\pm 0,11$	-3,7 $\pm 0,25$	-5,6 $\pm 0,65$	-6,2 $\pm 0,3$	-10,32 $\pm 0,3$
<i>RE4g2</i>	-5,22 $\pm 0,5$	-5,28 $\pm 0,9$	-5,79 $\pm 0,2$	-6,88 $\pm 0,25$	-8,05 $\pm 0,33$	-8,98 $\pm 0,11$	-10,01 $\pm 0,1$

Tablo 4.2 Katı hal çubuk şekilli referans elektrotların çeşitli KCl çözeltilerinde ticari referans elektrota karşı potansiyometrik davranışı (devamı)

<i>RE4g3</i>	-1,99 ±0,4	-2,11 ±0,39	-2,29 ±0,36	-2,99 ±0,08	-3,99 ±0,13	-4,9 ±0,26	-6,36 ±0,12
<i>RE4g4</i>	-2,32 ±0,4	-2,42 ±0,5	-2,82 ±0,16	-4,22 ±0,1	-5,25 ±0,16	-5,62 ±0,1	-7,12 ±0,19
<i>RE4g5</i>	7,3 ±0,2	6,96 ±0,25	5,54 ±0,1	-0,84 ±0,25	-2,7 ±0,35	-4,58 ±0,45	-9,22 ±0,1
<i>RE4k1</i>	10,8 ±0,95	9,9 ±1,1	9,9 ±0,67	7,7 ±0,55	7,89 ±0,39	3,41 ±0,21	-4,86 ±0,12
<i>RE4k2</i>	10,55 ±0,5	10,8 ±0,7	11,1 ±0,57	8,6 ±0,9	5,99 ±0,9	1,5 ±0,1	-4,45 ±0,12
<i>RE4k3</i>	11,25 ±0,8	10,9 ±2,0	10,5 ±0,15	10,4 ±0,25	7,0 ±0,39	2,55 ±2,2	-5,05 ±1,03
<i>RE5p1</i>	5,25 ±1,4	5,71 ±0,7	6,5 ±3,0	0,8 ±0,15	-4,5 ±0,75	-6,3 ±0,28	-15,07 ±1,3
<i>RE5p2</i>	0,9 ±0,2	0,26 ±0,15	-0,54 ±0,15	-3,75 ±0,25	-4,92 ±0,25	-6,02 ±0,2	-10,52 ±0,1
<i>RE5p3</i>	16,5 ±0,5	19,7 ±3,24	15,5 ±2,0	8,88 ±0,13	9,97 ±0,15	5,23 ±2,28	-1,07 ±0,21
<i>RE5c1</i>	-13,15 ±0,9	-10,52 ±4,54	-12,5 ±1,0	-18,0 ±5,1	-22,6 ±0,75	-24,9 ±0,6	-32,07 ±0,33
<i>RE5c2</i>	2,5 ±0,3	1,9 ±0,2	1,54 ±0,2	-1,84 ±0,2	-2,7 ±0,24	-4,0 ±0,2	-8,72 ±0,14
<i>RE5c3</i>	-3,21 ±0,4	-1,21 ±0,6	-2,33 ±0,11	-6,66 ±2,5	-9,1 ±1,8	-10,45 ±0,25	-18,08 ±1,27

4.1.3 Uzun Dönem Stabilité

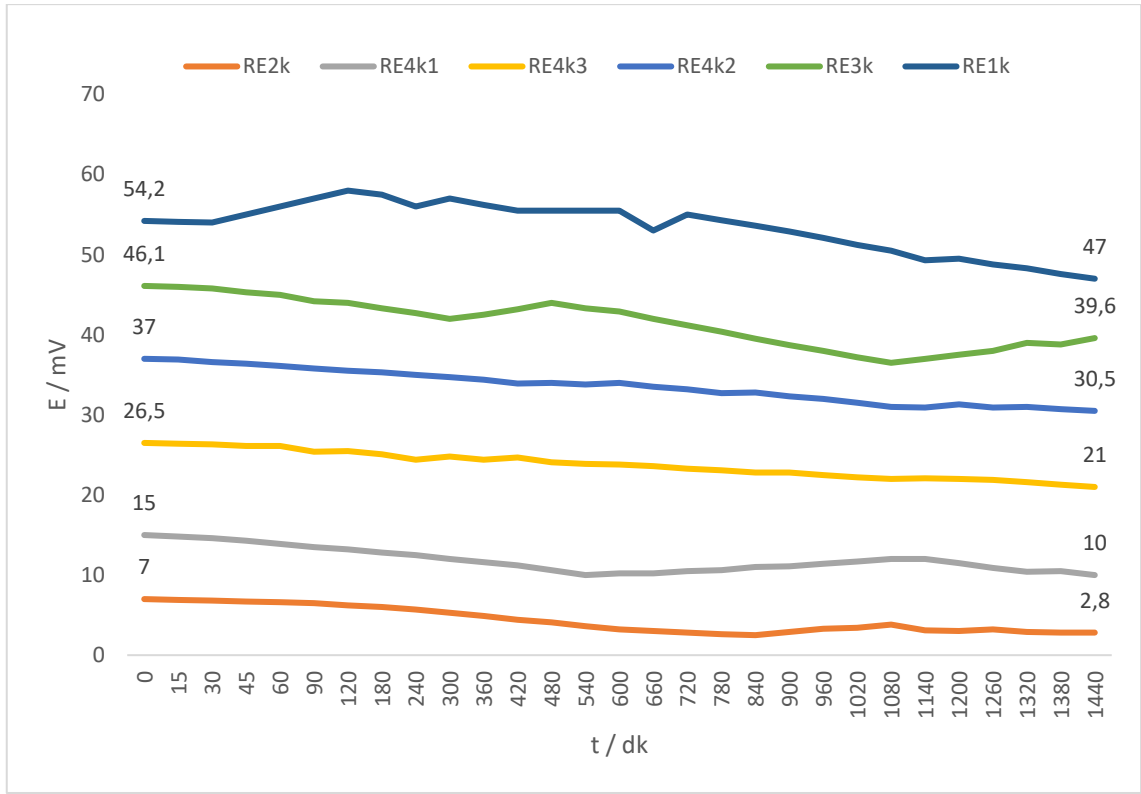
Şekil 4.1 GO, Şekil 4.2 MWCNT ve Şekil 4.3 jel içeriği ile hazırlanan büyük referans elektrotların 24 saatlik uzun dönem stabilite sonuçlarını göstermektedir. Elektrot sayısı fazla olduğundan ve veriler birbirleriyle iç içe geçtiğinden, sonuçların ayrı grafiklerde gösterilmesi ve değerlere offset eklenmesinin daha iyi bir gösterim sağlayacağı düşünüldü.



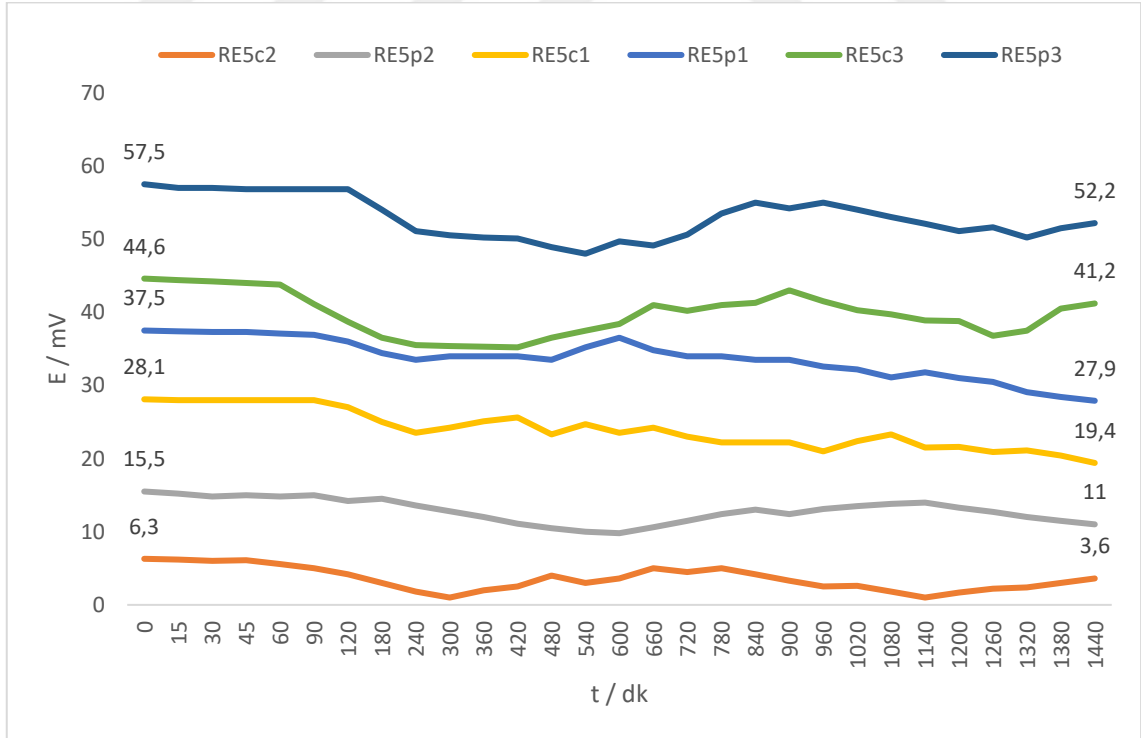
Şekil 4.1 GO içeren ve jel içermeyen katı hal çubuk şekilli referans elektrotlara ait uzun dönem stabilite sonuçları

Yukarıdaki şekildeki toplam potansiyel değişimi ve bu değişimin düzeninden de görülebileceği gibi, RE4g3 en kararlı elektrot olarak öne çıkmaktadır. Elektrot 24 saatte 1,1 mV sapma göstermiştir. Bu, saatlik olarak yaklaşık 45 μ V değerine karşılık gelmektedir. Ancak RE4g2, RE4g4 ve RE2g elektrotlarının da yüzdesel olarak bakılmadığı takdirde yakın sayılabilecek kararlılıkta çalıştığı görülmektedir. Bu elektrotların saatlik sapma değerleri sırasıyla 58, 54 ve 62 μ V civarındadır. Elbette bu değerler tam doğrusal şekilde değişim göstermemektedir. Bunun başlıca nedeninin elektrotlardaki yapısal kusurlar olduğu düşünülmektedir.

Bu veriler potansiyometrik davranış testlerinden elde edilen sonuçlarla da paralellik arz etmektedir. Hem maliyet hem de performans açısından en ideal mini referans elektrot kompozisyonunun belirlenmesi için, özellikle RE4g3'ün sahip olduğu kompozisyon üzerine yoğunlaşılmasının daha sağlıklı olacağı kararna varıldı.



Şekil 4.2 MWCNT içeren ve jel içermeyen katı hal çubuk şekilli referans elektrotlara ait uzun dönem stabilite sonuçları



Şekil 4.3 CMC ve PVA jel içeren katı hal çubuk şekilli referans elektrotlara ait uzun dönem stabilite sonuçları

Şekil 4.2’de GO yerine MWCNT kullanılarak hazırlanan elektrotlara ait uzun dönem stabilite sonuçları verilmiştir. Esasen bu iki malzemenin görevi arasında fark yoksa da, MWCNT hem potansiyometrik davranış, hem de uzun dönem stabilite açısından geride kalmış ve mini referans elektrot üretme çalışmalarında kullanılmasına gerek görülmemiştir.

Şekil 4.3’te ise jel kullanılan referans elektrotlara ait sonuçlar verilmiştir. Bu elektrotların potansiyeli 24 saatlik test esnasında oldukça ciddi dalgalanmalar göstermiştir. Esasen jelle birlikte gelen ek KCl deposu bu tür elektrotların diğerlerine kıyasla daha uzun süre çalışmasına olanak sağlayabilir. Ancak elektrotların sergilediği bu düşük performans, özellikle uzun sürebilen çalışmalarda güvenilirliği azaltacaktır. Bu dalgalanmalar çözelti-elektrot yüzeyi arasındaki tuz iletimi ve jel-üst tabaka arası tuz iletiminin zaman içinde birbirlerini etkilemesi sonucu meydana gelmiş olabilir. Sonuç olarak mini referans elektrot kompozisyonu içerisinde jel bulunmasına, hem mekanik ve ısı etkenlere karşı dayanıklılığı azaltması hem de performans olarak geride kalması nedeniyle gerek görülmemiştir.

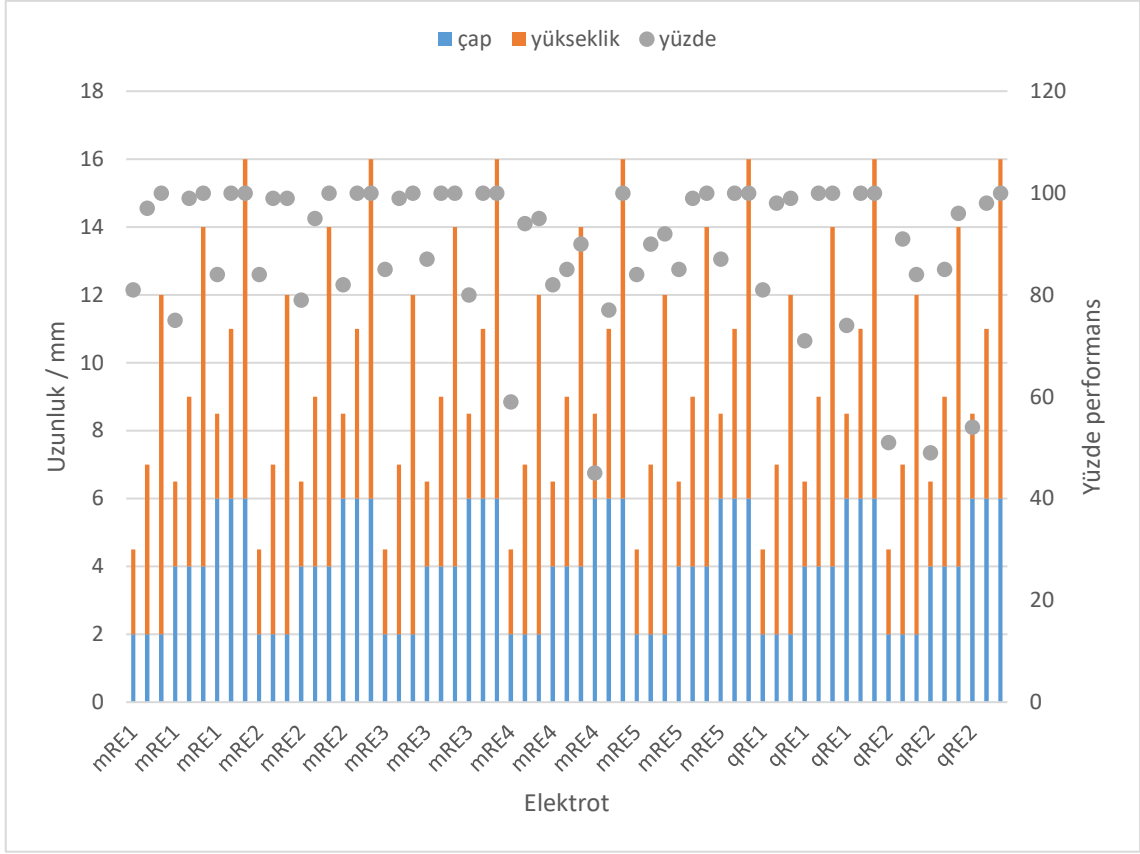
4.2 Katı Hal Mini Referans Elektrotlar

4.2.1 Elektrot Çapı ve Tabaka Yüksekliğinin Etkisi

Yapılan deneyler sonucu çap ve yüksekliğin katı hal mini referans elektrot performansına etkisi Şekil 4.4’te verilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre, boru çapının değişmesinin bu tür referans elektrotların potansiyometrik davranışında belirgin bir değişime neden olup olmadığı tam olarak kestirilememekle birlikte, büyük ihtimalle belirgin bir değişime neden olmadığı söylenebilir. Bu parametrenin, mini referans elektrotlar üzerinde kısa süreli potansiyel cevabından ziyade uzun dönem stabilite açısından daha belirleyici bir etki göstermesi beklenebilir.

Elektrot kalınlığının performansı etkilediği Şekil 4.4’teki sonuçlardan rahatça anlaşılabılır. Ancak burada dikkate alınması gereken önemli bir nüans vardır. Buradaki veriler evrensel olarak referans elektrot yüksekliğinin performans üzerindeki etkisini göstermekten ziyade, bu çalışmada belirtilen üretim

yöntemiyle ve malzemelerle belirtilen oranlarda hazırlanmış katı hal mini referans elektrotların yüksekliğe bağlı performans değişimini açıklamaya yardımcı olmaktadır.



Şekil 4.4 Farklı çap ve yüksekliklerin mini referans elektrotların potansiyometrik davranışı üzerindeki etkisi

Elde edilen verilere göre 5 mm civarında kalınlık ve 2 mm çap, hazırlama zorluğu ve performans parametreleri açısından tüm elektrotlar için optimum değer olarak öne çıkmaktadır. Burada hazırlama zorluğu özellikle vurgulanmalıdır. Örneğin mRE1 ve mRE2 elektrotlarının daha sonraki bölümlerde açıklanan performansından yola çıkarak, 2,5 mm kalınlıkta hazırlanan bu elektrotların diğer elektrotların 10 mm kalınlıkta verdikleri performansa kıyasla bile çok daha iyi durumda oldukları ve kullanılabilirlik açısından belki bazı uygulamalarda yeterli olabilecekleri öne sürülebilir. Ancak performansın istikrarsız olmasının yanı sıra, bu incelikte ve bu yöntemle elektrot hazırlamanın zorluğu, bu çalışmanın hedeflerinden biri olan hızlı, nispeten ucuz ve kolay bulunabilen malzemelerle pratik referans elektrot hazırlama hedefine ulaşmayı güçleştirmektedir. Bu

nedenle, farklı denemelerde çok nadiren 1 mm civarında bile bir derece olumlu sayılabilecek sonuçlar alınmış olsa da 5 mm kalınlık bu çalışmada bu kompozisyonla ulaşılabilecek optimum yükseklik olarak kabul edilmiştir.

Bundan sonraki süreçte sadece en iyi sonuç alınan fiziksel boyutlar üzerine yoğunlaşmış ve sadece bunlara ait sonuçlar sunulmuştur. Bu nedenle, sonraki bölümlerde mini referans elektrotlara dair açıklanan sonuçların, sadece kendi türü için iyi performans gösteren en küçük boyuttaki mini referans elektrota ait olduğunun belirtilmesinde fayda görülmektedir. Her bir çap ve yüksekliğin tekrar tekrar denenmesi yerine, her bir kompozisyon için en iyi sonuç veren boyuttaki elektrotların kullanılması daha uygun görülmüştür.

4.2.2 Stabilizasyon Zamanı

Bölüm 4.1.1’de belirtildiği gibi her elektrotun kendine özgü davranış göstermesi gibi nedenlerden dolayı, hazırlanan herhangi bir referans elektrot sınıfına ait stabilizasyon zamanı verisini genellemek zordur. Bu durum, hacimce küçük olmaları nedeniyle mini referans elektrotlar için özellikle problemli olabilmektedir. Bununla birlikte, iyi çalışan mini referans elektrotların genel olarak birbirlerine yakın sonuç verdikleri gerçeğinden yola çıkarak, fikir vermesi açısından bu verilerin paylaşılmasının faydalı olacağı sonucuna varılmıştır.

Tablo 4.3 Katı hal mini referans elektrotlara ait stabilizasyon zamanları

Elektrot Kodu	Ortalama Stabilizasyon Zamanı (dk)	Elektrot Kodu	Ortalama Stabilizasyon Zamanı (dk)
<i>mRE1</i>	99	<i>qRE1</i>	102
<i>mRE2</i>	87	<i>qRE2</i>	172
<i>mRE3</i>	68	<i>pRE1</i>	14
<i>mRE4</i>	88	<i>pRE2</i>	22
<i>mRE5</i>	125	<i>pRE3</i>	26

Tablo 4.3’te verilen stabilizasyon zamanları en az 2 ölçümün ortalamasını içermektedir. Bu ölçümler tek bir elektrottan değil, her bir mini referans elektrot

türü için daha sonraki çalışmalarda iyi performans gösteren en az 2 özdeş elektrottan elde edilmiştir.

Bekleneceği üzere, toplam kalınlık ve hacimleri çok daha az olduğu için katı hal mini referans elektrotların stabilizasyon zamanları, katı hal çubuk şekilli büyük referans elektrotlara göre daha azdır. Dengeye gelme mekanizmaları benzerdir. Bu durum mini referans elektrotların daha hızlı bir şekilde çalışmaya hazır hale gelebilmesi nedeniyle bir açıdan avantaj olarak görülebilir. Ancak epoksi içermeyen pRE türü elektrotlarda suyun çok daha kısa süre içerisinde elektrota nüfuz etmesi stabilite ve kullanım ömrü açısından bir dezavantajdır.

Kuinhidron içeren qRE1 ve qRE2 şeklinde kodlanmış olan elektrotların biraz daha yüksek bir stabilizasyon zamanına sahip olduğu görülmektedir. Preslenerek hazırlanan pRE1, pRE2 ve pRE3 şeklinde kodlanmış olan elektrotların ise hem epoksi içermedikleri hem de daha ince oldukları için biraz daha hızlı dengeye geldikleri tahmin edilmektedir.

Elde edilen bu sonuçlardan sonra, preslenmiş olanlar hariç her bir katı hal mini referans elektrot en az 3 saat 10^{-3} M KCl çözeltisinde şartlandırıldıktan sonra diğer testler için kullanılmıştır. Daha büyük sınıf elektrotlarda da gözlemlendiği gibi, elektrotların daha sonraki süreçte farklı çözeltielerde kullanılması durumunda dahi bir daha bu şekilde bir şartlandırma ihtiyacının bulunmadığı görülmüştür. Yapılan deneylerde, ölçüme başlanmadan önce elektrotların 10-30 saniye kadar çözeltide bekletilmesinin fazlasıyla yeterli olduğu görülmüştür.

4.2.3 Potansiyometrik Davranış

Katı hal mini referans elektrotların potansiyometrik davranışı öncelikle KCl çözeltiinde yapılan çalışmalarla gösterilmiştir. Elde edilen sonuçlar Tablo 4.2'de standart sapmalar da dahil olmak üzere verilmiştir. Standart sapmaların oldukça küçük olması nedeniyle, verilerin daha sağlıklı gösterimi için tablo kullanımının daha uygun olacağı düşünülmüştür.

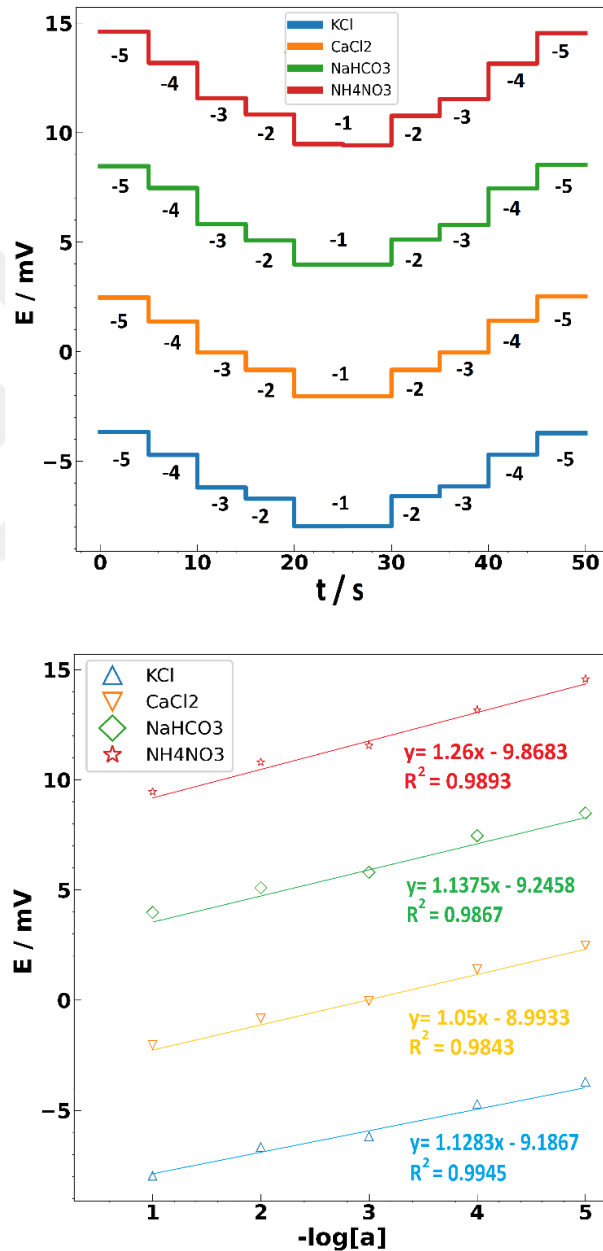
Görülebileceği gibi, mRE2 diğer elektrotlara kıyasla daha iyi performans göstermiştir. Ancak katı hal mini referans elektrotlar yine de öncülleri kadar iyi

performans sergileyememektedir. Bunun en önemli nedenlerinden birinin kalınlık azaldıkça homojenliğin ve kullanılan malzeme yapılarından kaynaklanan kusurları gizleme kabiliyetinin azalması olduğu söylenebilir. İlginç bir husus, elektrotların genelde 10^{-1} M konsantrasyona geçişte büyük bir potansiyel farkı vermeleridir. Elbette $[Cl^-]$ yüksekliği bunda bir faktördür. Ancak bu davranışın sadece bu konsantrasyon aralığında görülmesi, elektrotların nispeten güvenilir çalışma sınırlarına yaklaşıldığının bir göstergesi de olabilir.

Tablo 4.4 Katı hal mini referans elektrotların KCl çözeltilerinde ticari referans elektrota karşı potansiyometrik davranışı

RE	Ortalama potansiyel fark $\pm$ standart sapma (mV)						
	$10^{-7} M$	$10^{-6} M$	$10^{-5} M$	$10^{-4} M$	$10^{-3} M$	$10^{-2} M$	$10^{-1} M$
<i>mRE1</i>	-8,14 $\pm 0,2$	-8,3 $\pm 0,09$	-8,55 $\pm 0,06$	-9,89 $\pm 0,06$	-10,98 $\pm 0,23$	-11,75 $\pm 0,07$	-13,36 $\pm 0,1$
<i>mRE2</i>	-7,02 $\pm 0,2$	-7,2 $\pm 0,09$	-7,49 $\pm 0,06$	-8,59 $\pm 0,06$	-10 $\pm 0,23$	-10,8 $\pm 0,07$	-12 $\pm 0,1$
<i>mRE3</i>	18,25 $\pm 0,5$	17,9 $\pm 0,71$	16,3 $\pm 0,37$	12,4 $\pm 0,05$	8,5 $\pm 0,19$	5,81 $\pm 0,1$	1,28 $\pm 0,2$
<i>mRE4</i>	12,25 $\pm 0,7$	10,96 ± 1	10,76 $\pm 0,12$	9,61 $\pm 0,02$	7,42 $\pm 0,22$	5,04 $\pm 0,06$	1,79 $\pm 0,08$
<i>mRE5</i>	24,69 $\pm 1,5$	22,85 $\pm 2,2$	23,66 $\pm 1,9$	19,48 $\pm 1,22$	14,67 $\pm 2,13$	10,17 $\pm 0,88$	-1,58 $\pm 0,75$
<i>qRE1</i>	-22 $\pm 0,9$	-22,5 $\pm 0,9$	-23,15 ± 1	-24,5 ± 1	-26,6 $\pm 1,13$	-27,8 $\pm 0,85$	-29 $\pm 0,5$
<i>qRE2</i>	5,8 $\pm 2,1$	4,9 $\pm 2,05$	4,14 $\pm 1,2$	2,76 $\pm 0,75$	-1,5 $\pm 3,35$	-5 $\pm 0,52$	-11,11 $\pm 0,44$
<i>pRE1</i>	62,5 $\pm 2,7$	60,51 $\pm 3,02$	60,26 $\pm 2,12$	59,49 $\pm 1,2$	57,2 $\pm 2,22$	55,4 $\pm 0,96$	51,8 $\pm 0,8$
<i>pRE2</i>	56,1 $\pm 1,7$	50 $\pm 1,55$	50,56 $\pm 1,1$	49,11 $\pm 0,5$	47,25 $\pm 0,3$	45,17 $\pm 0,6$	44,78 $\pm 0,8$
<i>pRE3</i>	54,5 $\pm 0,75$	52,64 $\pm 0,99$	53,5 $\pm 0,9$	49,18 $\pm 0,83$	44,66 $\pm 0,93$	40,15 $\pm 0,79$	31,47 $\pm 0,85$

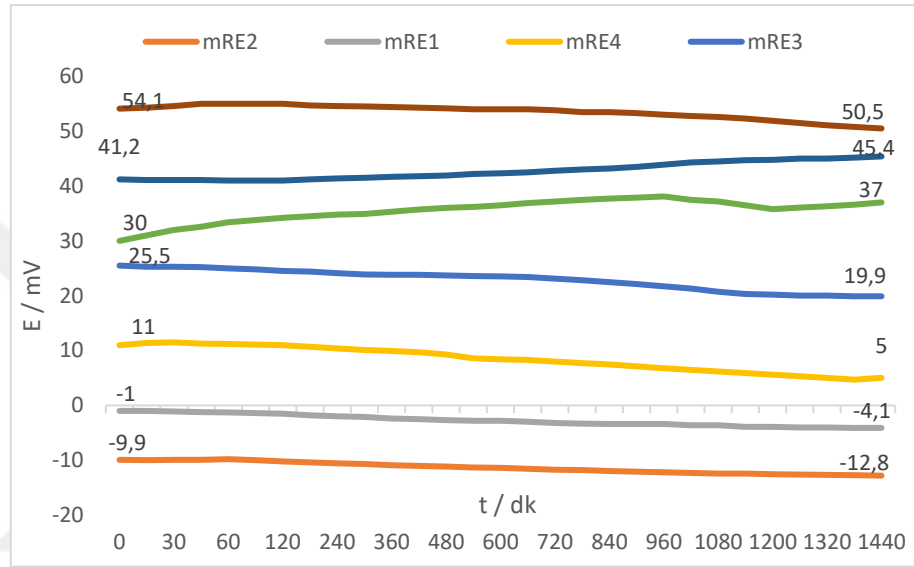
En iyi performans gösteren katı hal mini referans elektrot olarak belirlenen mRE2, daha iyi karakterize edilmesi amacıyla 10^{-5} - 10^{-1} M konsantrasyonlar arasındaki CaCl_2 , NaHCO_3 ve NH_4NO_3 çözeltilerinde de test edildi. Bu deneylere ait sonuçlar Şekil 4.5'te verilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre, mRE2 olarak kodlanan mini referans elektrotun farklı çözeltilerde önemli bir fark meydana gelmeden çalışabildiği gözlemlenmiştir. Bu durum, elektrotun daha karmaşık çözeltilerde denenmesi için de cesaretlendirici olmuştur.



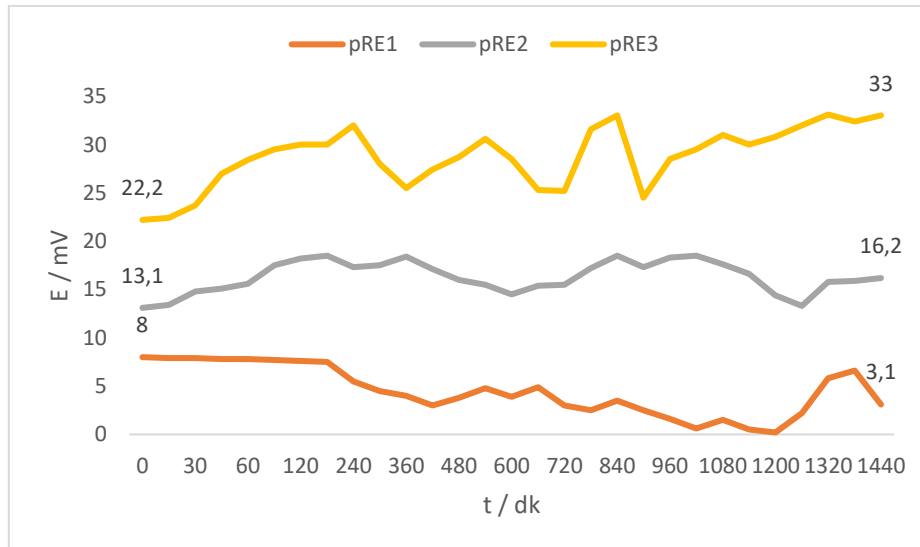
Şekil 4.5 En iyi performans gösteren katı hal mini referans elektrotun (mRE2) çeşitli çözeltilerdeki potansiyometrik davranışı

4.2.4 Uzun Dönem Stabilite

Tüm katı hal mini referans elektrotlar, potansiyometrik davranış testiyle birlikte değerlendirilerek sonraki testlerin de uygulanacağı elektrotun belirlenmesinde katkı sunan 24 saatlik uzun dönem stabilite testine tabi tutuldu. Şekil 4.6 ve Şekil 4.7 bu teste dair sonuçları belirtmektedir. Elektrot sayısı fazla olduğundan ve veriler birbirleriyle iç içe geçtiğinden, sonuçların ayrı grafiklerde gösterilmesi ve değerlere offset eklenmesi daha uygun bulundu.



Şekil 4.6 Katı hal mini referans elektrotlara ait uzun dönem stabilite sonuçları



Şekil 4.7 Pres ile hazırlanan katı hal mini referans elektrotlara ait uzun dönem stabilite sonuçları

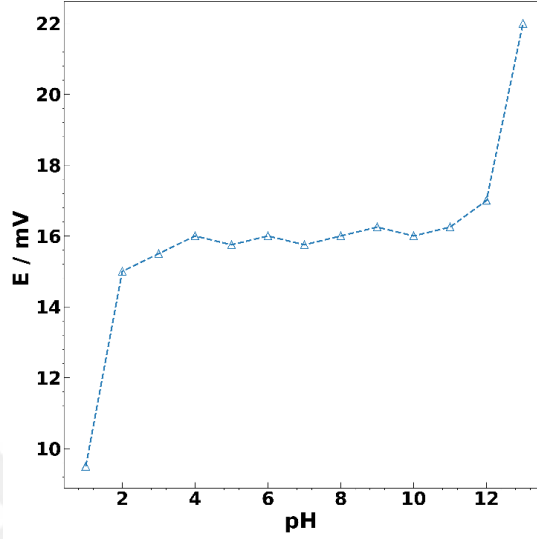
Yukarıdaki bu sonuçlar, mRE2 kodlu katı hal mini referans elektrotun yaklaşık 120 $\mu\text{V/saat}$ sapma oranı ile diğerlerine kıyasla daha iyi performans gösterdiğini ortaya koymaktadır. Bu sebeple bundan sonraki deneylerde sadece bu elektrot kullanılmıştır. %20 oranında mikro gümüş tozu ve gümüş klorürün, %10 oranındakine kıyasla performansa pek etkisi olmadığı, ancak bu oranların %5'e düşürülmesi halinde elektrotun iyi çalışmadığı belirlenmiştir. Kuinhidron ise görünüşe göre sabit pH'ta elektrota bir miktar stabilite sağlamaktadır ancak yüksek oranda kuinhidronun fayda sağlamadığı da ortaya çıkmıştır.

Bu sonuçlardan belki de en ilgi çekici olanı preslenen ve yapısında epoksi içermeyen pRE türü elektrotların davranışdır. Epoksi korumasından yoksun yapıya kısa sürede, görece büyük miktarda su girişi gerçekleşmesi bu elektrotların ömrünü önemli ölçüde kısaltmaktadır. Ayrıca deneyler sırasında bir süre sonra yüzeyden KCl harici malzeme kaybı olduğu gözlemlenmiştir. Bu da epoksinin bağlayıcılık özelliğinden yoksun olmanın bir başka sonucu olarak yorumlanabilir. Ancak en az 3 saat boyunca 166 $\mu\text{V/saat}$ sapma ile yeterince stabil çalıştığı değerlendirilen PRE1, bazı çalışmalar için yeterli sayılabilecek düzeydeki kısa süreli potansiyometrik performansı ve düşük stabilizasyon zamanıyla öne çıkmaktadır. Bu elektrotun çok hassas olmayan çalışmalarda tek kullanımlık veya kısa süreli olarak kullanılması mümkün olabilir. Ancak raf ömrünün özellikle de uygun koşullarda saklanmadığı takdirde çok uzun olmayabileceği düşünülmektedir. Kullanılan toplam malzeme miktarının oldukça az olması ve üretimin görece kolaylığı, bu elektrotu hem pratiklik hem de maliyet anlamında çok hassas sonuç elde edilmesine ihtiyaç olmayan çalışmalarda kullanışlı hale getirebilir.

4.2.5 pH Etkisi

mRE2 katı hal mini referans elektrotunun çeşitli pH çözeltilerindeki ölçüm sonuçları Şekil 4.8'de verilmektedir. Elde edilen sonuçlara göre elektrot pH 3-11 arasında küçük farklarla iyi sayılabilecek bir performans sergilemektedir. Ayrıca pH 2 ve pH 12 çözeltilerinde de hassas çalışmalar hariç tutulacak olursa kabul edilebilecek seviyede potansiyel fark göstermiştir. Grafikteki standart sapmalar,

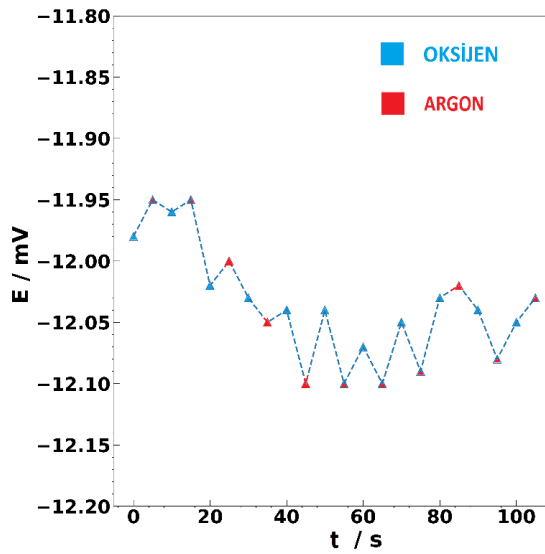
veri noktalarını gösteren üçgen şekillerden daha küçüktür. Bu da elektrotun kararlı çalıştığının bir işaretidir. Kullanılan malzemelerin aynı veya benzer olduğu düşünüldüğünde, diğer katı hal mini referans elektrotlar ve katı hal çubuk şekilli referans elektrotların çoğunun pH cevabının benzer olacağı söylenebilir.



Şekil 4.8 mRE2 katı hal mini referans elektrotunun pH test sonuçları

4.2.6 Oksijen Etkisi

mRE2 katı hal mini referans elektrotunun atmosfere açık, yani oksijen açısından zengin ortam ve argon ile süpürülen kapalı ortamdaki test sonuçları Şekil 4.9'da verilmiştir.

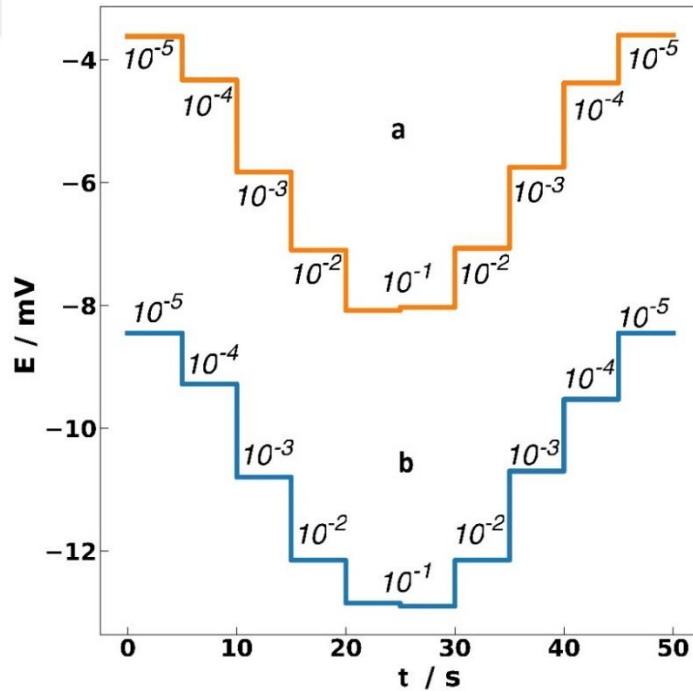


Şekil 4.9 mRE2 mini referans elektrotunun oksijen etkisi test sonuçları

Yukarıda verilen sonuçlara göre, ortamın oksijenli veya oksijensiz olmasının elektrot performansı üzerinde önemli bir etkisi yoktur. pH test sonuçlarında da belirtildiği gibi, benzer veya aynı malzemelerin kullanılmasından dolayı bu çalışmada bahsedilen elektrotların büyük kısmı için de bu durumun geçerli olduğu tahmin edilmektedir.

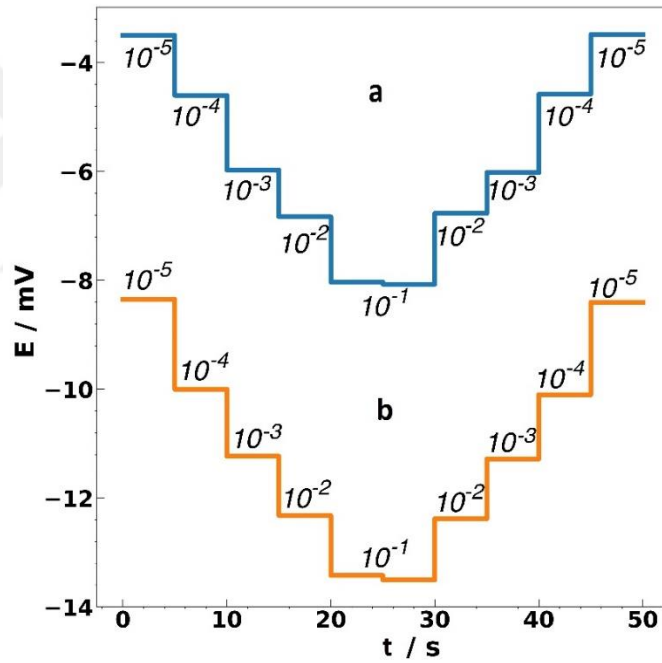
4.2.7 Kullanım Ömrü – Liç Testi ve EDS Analizi

Bu kapsamda birkaç farklı deney yapılmıştır. Katı hal mini referans elektrotların uzun süre depolama koşullarında bekletilmesinin performans üzerine etkisini incelemek için mRE2 türü bir elektrotun 12 ay arayla yapılan potansiyometrik ölçüm sonuçları Şekil 4.10'da verilmiştir. Buradaki önemli nokta, aradan 12 ay geçtikten sonra yapılan testten önce elektrotun çözeltide bekletme veya ultrasaf suda yıkama hariç yüzey temizleme gibi hiçbir ön işleme tabi tutulmamasıdır. Bu deney sonucunda elektrotun herhangi bir sorun olmadan hemen hemen 12 ay önceki performansını gösterdiği tespit edildi.



Şekil 4.10 Aynı mRE2 elektrotunun a: 12 ay önce ve b: 12 ay sonraki potansiyometrik davranışı

Elektrotların kullanım ömrünü incelemek için mRE2 türü elektrotta yapılan liç testi öncesi ve sonrasındaki potansiyometrik ölçüm sonuçları ise Şekil 4.11’de verilmiştir. Buna göre, 30 gün sonunda performansta bir miktar düşme gözlenmiş, yine de basit uygulamalar için halen kullanılabilir olduğu sonucuna varılmıştır. Liç testi sonrası elde edilen AgCl çökeltisinin ağırlığı 0,087 mg olup, bu da elektrottan suya 30 gün içerisinde yaklaşık olarak 0,045 mg KCl geçtiğini gösterir. Elektrotun yaşadığı performans kaybı, bunun yüzde olarak önemli bir kayıp olduğu anlamına gelmektedir. Bununla birlikte, liç testi için kullanılan ortamın ultrasaf su olması koşulları epey aşırı hale getirdiğinden performansta normalden daha hızlı bozulma görülmüş olabilir. Ekstrem seviyede düşük veya yüksek iyonik şiddetteki ortamlarda kullanılmaması halinde, mRE2 elektrotunun sürekli çalışma ömrünün 1 ayı geçebileceği söylenebilir.



Şekil 4.11 Özdeş bir mRE2 elektrotunun a: Liç testi öncesi ve b: Liç testi sonrası potansiyometrik ölçüm sonuçları

Liç testinin elektrot üst katmanı ve yüzeyindeki KCl miktarını nasıl etkilediğinin daha iyi görülmesi için ayrıca bir EDS analizi yapıldı. Şekil 4.12’de, liç testinde kullanılabilecek özdeş taze hazırlanmış iyi çalışan bir mRE2 elektrotu ile liç testi yapılan mRE2 elektrotunun potasyum haritalama sonuçları gösterilmiştir.

Şekilden de görülebileceği gibi, liç testi elektrot yüzeyindeki KCl varlığını önemli ölçüde seyreltmıştır.

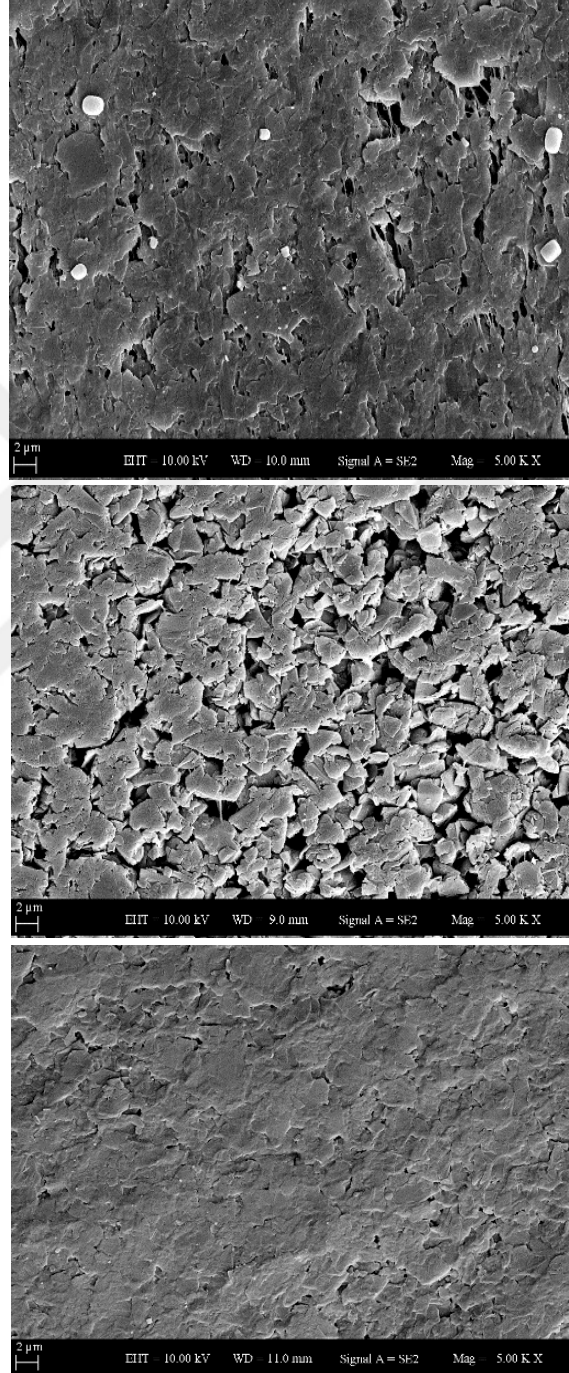


Şekil 4.12 Üstte yeni bir mRE2 elektrot yüzeyi, altta ise liç testi sonrası mRE2 elektrot yüzeyi potasyum haritalama sonuçları

4.2.8 SEM

Şekil 4.13'te özdeş bir mRE2 elektrotu için yapılan SEM analizi sonuçları verilmiştir. Malzemelerin yapı içerisinde olabildiğince homojen dağılımının sağlanması düzgün bir elektrot cevabı için vazgeçilmez önemdedir. Tabakalarda çok ideal olmasa da yeterli düzeyde olduğu düşünülen gümüş, gümüş klorür ve potasyum klorür dağılımları gözlemlenmiştir. Şekilde görülen mikro engebeli ve çatlak yüzeyler, elektrotun alt tabakalarına doğru su sızma hızını artırabilir ve

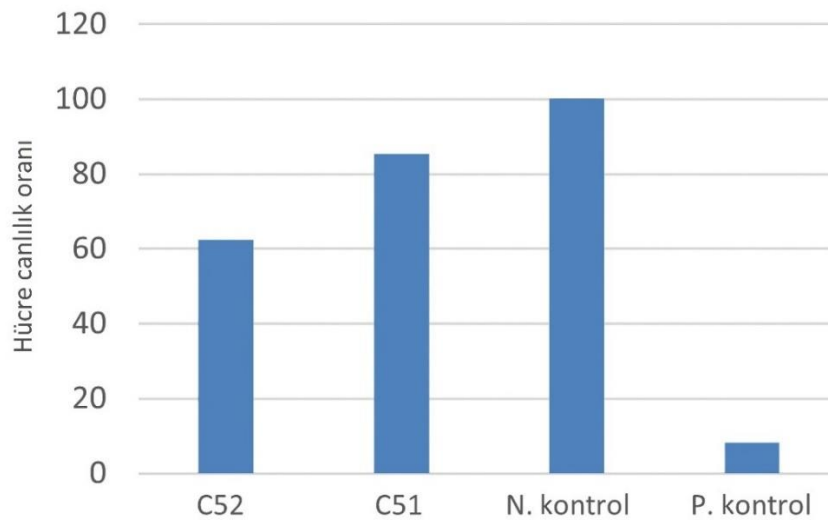
sinyal/gürültü oranını düşürebilir. Ayrıca elektrot ömrünü kısaltabilir. Bununla birlikte, ortalama bir mRE2 elektrotunun toplam kalınlığı katı kontak hariç 5 mm civarında olduğından bahsedilen risklerin gerçekleşme ihtimalinin düşük olduğı söylenebilir. Ayrıca bu tür yüzeyler, tabakalar arası yapışmayı artırarak fayda da sağlayabilir.



Şekil 4.13 mRE2 türü elektrot için üstten alta doğru sırayla gümüş, gümüş klorür ve potasyum klorür içeren tabakalara ait SEM görüntüleri

4.2.9 Sitotoksosite

Şekil 4.14'te mRE2 elektrotuna ait iki farklı sitotoksosite test sonucu verilmiştir. Bu testlerden biri bu elektrotun dış kabuğunu oluşturan PLA plastik, diğeri ise bu plastik sökülerek yapılmıştır. Bunun yapılmasındaki amaç, elektrotun fonksiyonel ve yardımcı parçalarının etkisinin ayrıken ve birlikte incelenmesidir. Elde edilen sonuçlara göre, elektrot dış kabuğu ile birlikte hücreler için daha az toksiktir. Bunda biyoyumlu bir malzeme olan PLA'nın etkisi de olabilir. Buna ek olarak, ekstraksiyon işlemi sırasında elektrotun fonksiyonel iç kısmının alt ve üst kısım hariç çepeçevre plastik tabaka ile sarılı olması ekstraksiyon verimini azaltmış ve ekstraktı daha az toksik hale getirmiş de olabilir. Her halükârda, C51 olarak kodlanmış olan elektrotun vücutla özellikle kısa süreli temas halinde ciddi bir akut tehlike arz etmediği eldeki veriler çerçevesinde söylenebilir.



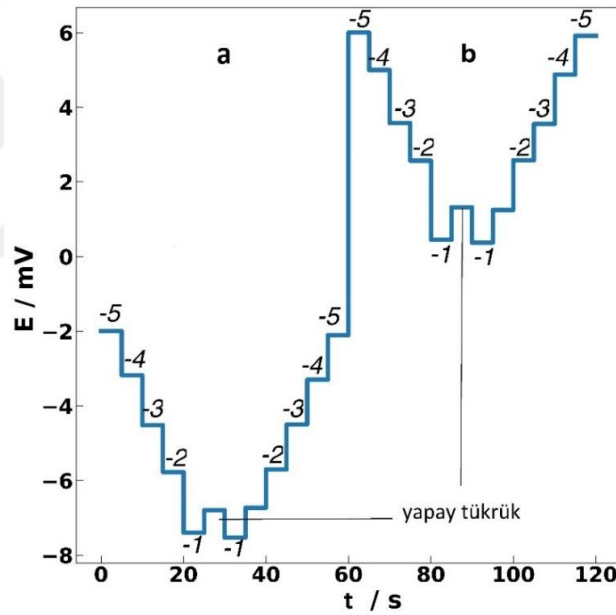
Şekil 4.14 mRE2 elektrotunun dış PLA kabuğu varken (C51) ve yokken (C52) elde edilen sitotoksosite test sonuçları

4.2.10 Otoklav Sterilizasyonu ve Yapay Tükürük Etkisi

Tıbbi çalışmalarda, çoğu durumda tedarik edilecek ekipman için sterilize edilebilirlik isterlerinin bulunması şaşırtıcı değildir. Hatta bazı durumlarda etilen oksit veya UV sterilizasyonu gibi farklı sterilizasyon yöntemlerinin kullanılması sorun oluşturmazken, bazen özel olarak tek bir sterilizasyon yöntemi istenebilmektedir. Ürettiğimiz referans elektrot açısından belki en zorlayıcı

sterilizasyon yöntemlerinden biri otoklav sterilizasyonudur. Bu amaçla mRE2 elektrotunun hem potansiyometrik cevabının hem de uzun dönem stabilitesinin otoklav sterilizasyonundan nasıl etkilendiğini anlamak için Bölüm 3.3.9’da anlatıldığı şekliyle bazı testler yapılmıştır. Ayrıca, oldukça kompleks olabilen vücut sıvılarındaki davranışı simüle etmek için bu testlerde yapay tükürük sıvısı da kullanıldı.

Şekil 4.15’te, özdeş bir mRE2 elektrotunun çeşitli konsantrasyonlarda KCl çözeltileri ve yapay tükürük sıvısında otoklav öncesi ve sonrası potansiyometrik davranışı görülmektedir. Buna göre, elektrot potansiyeli bir miktar sapma göstermiş olsa bile elektrot davranışı değişmeden kalmıştır. Bu durum, elektrotun kısa süreli ölçümler için vücut sıvılarında kullanımı ve otoklavlanmasında ciddi bir sorun olmadığı izlenimi vermektedir.



Şekil 4.15 mRE2 elektrotunun KCl çözeltileri ve yapay tükürükte a: Otoklav öncesi ve b: Otoklav sonrası potansiyometrik davranışı

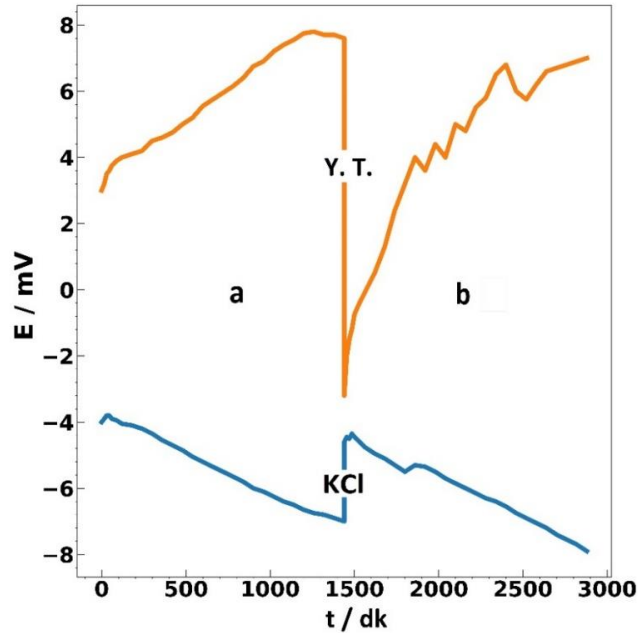
Şekil 4.16’da ise, iki özdeş mRE2 katı hal mini referans elektrotunun otoklav öncesi ve sonrası uzun dönem potansiyometrik stabilite sonuçları verilmiştir. KCl çözeltisinde ilk 24 saatte yaklaşık 125 $\mu\text{V/saat}$ değişim gösteren elektrot potansiyeli otoklavdan sonra ortalama 129 $\mu\text{V/saat}$ hızında değişmiştir. Yapay tükürük sonuçları ise çok daha farklıdır. İlk 24 saatte yaklaşık 192 $\mu\text{V/saat}$ değişim

gösteren potansiyel, otoklav sonrası 24 saatte ortalama $422 \mu\text{V/saat}$ değişmiştir, ancak bu değişim nispeten kararsız ve düzensizdir.

Elektrot, KCl çözeltisinde yapılan testte otoklavla sterilize edildikten sonra bile çok değişmeyen bir potansiyometrik cevap sergilemesine rağmen, yapay tükürük ve otoklav sterilizasyonuna birlikte maruz kalması sonucunda bozulmuştur. Hatta otoklavlanmadan önce bile kendi özgün cevabından farklı bir cevap sergilemiştir. Otoklav sonrası elektrot potansiyelinde gözlenen dalgalanmaların da elektrotun uğradığı hasarın göstergesi olduğu düşünülmektedir.

Elektrotun yapay tükürükten bu kadar şiddetli etkilenmesinin en önemli sebepleri arasında ortamın yüksek viskozitesi ve yüksek iyonik şiddeti gösterilebilir. Ayrıca otoklav sonrası yüksek sıcaklık etkisiyle mikro yapıda meydana gelmiş olabilecek hasarlar da bu duruma katkı sağlamış olabilir.

Bütün bu verilerden yola çıkarak, hazırlanan mRE2 katı hal mini referans elektrotun otoklav sterilizasyonu sonrasında da kullanılabilir olduğu, ancak kompleks vücut sıvılarında uzun süreli ölçümler için kullanıma uygun olmadığı sonucuna varılmıştır. Vücut sıvılarındaki çok kısa süreli ölçümler için ise bu tür elektrotlar kullanılabilir bulunmuştur.

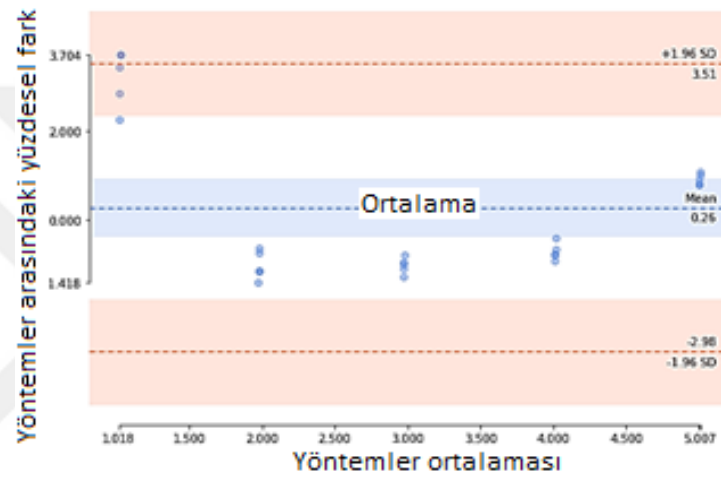


Şekil 4.16 İki özdeş mRE2 elektrotunun KCl çözeltisi ve yapay tükürükteki a: Otoklav öncesi ve b: Otoklav sonrası uzun dönem stabilitesi

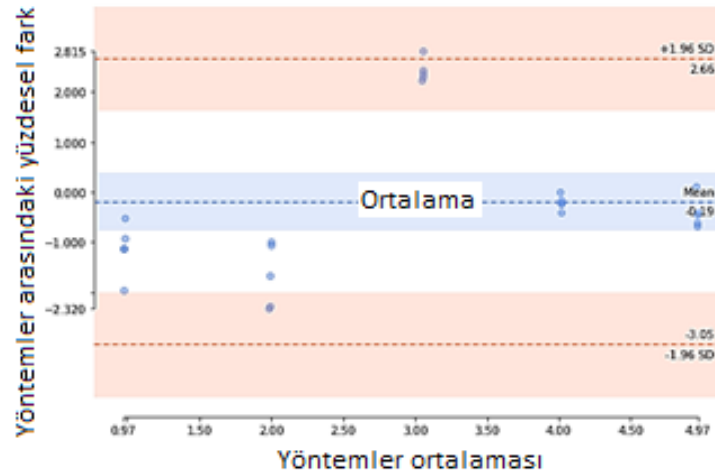
Bir dipnot olarak, kullanılan ticari referans elektrotun da uzun süreli yapay tükürük ortamından çok az da olsa etkilendiği ve iç çözeltisinin değiştirilerek güvenilir bir başka ticari referans elektrotla karşılaştırıldıktan sonra kullanımına devam edildiğinin belirtilmesinde fayda görülmektedir.

4.2.11 Farklı İSE'ler Kullanılarak Ticari RE ile Karşılaştırma

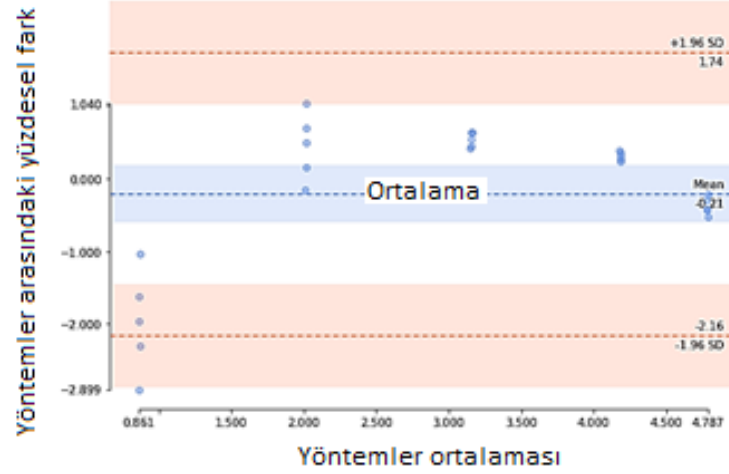
Şekil 4.17-20, hem ticari Ag/AgCl referans elektrot, hem de mRE2 katı hal mini referans elektrotu karşı karşıya elde edilen dört farklı iyon seçici elektrot verisi kullanılarak yapılan Bland-Altman analizlerinin sonuçlarını göstermektedir.



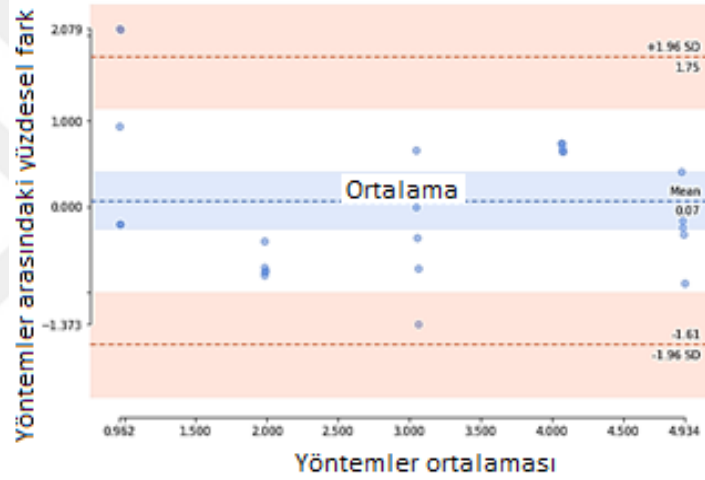
Şekil 4.17 NO₃⁻ İSE için Bland-Altman analizi sonuçları



Şekil 4.18 Ca²⁺ İSE için Bland-Altman analizi sonuçları



Şekil 4.19 Li⁺ İSE için Bland-Altman analizi sonuçları



Şekil 4.20 NH₄⁺ İSE için Bland-Altman analizi sonuçları

Çalışmada güven aralığı %95 kabul edilmiş ve anlaşma sınırları $\pm 1,96 \times$ (standart sapma) olarak belirlenmiştir. Elde edilen sonuçlara göre mRE2 katı hal mini referans elektrot ve Hanna marka ticari Ag/AgCl referans elektrot arasındaki ortalama farklar NO₃⁻ İSE için %0,26, Ca²⁺ İSE için %0,19, Li⁺ İSE için %0,21 ve NH₄⁺ İSE için %0,07 olarak bulunmuştur. Ancak bu sonuçların bu tür elektrotların uzun süre denenmesinin ardından elde edilebilen en iyi yüzdesel ortalama sonuçları temsil ettiği, maksimum ve minimumlar arasında hem yüzde hem de özellikle mV cinsinden biraz daha büyük farklar olabildiği göz ardı edilmemelidir. Sonuçlar, iyi bir şekilde hazırlanabildiği takdirde mRE2 katı hal mini referans elektrotunun ticari bir konvansiyonel referans elektrot yerine kullanılabilir

olduğuna işaret etmektedir. Ancak bazı çalışmalar daha yüksek ve daha kararlı performans gerektirebilir. Bu nedenle, bu konunun tam olarak değerlendirilebilmesi için her çalışma özelinde referans elektrottan ne beklendiği net bir şekilde bilinmelidir.



Bu çalışmada hızlı bir şekilde hazırlanabilecek, nispeten kolay elde edilebilir malzemelerden çok yüksek olmayan fiyatlara mal edilebilecek, konvansiyonel referans elektrotların sıvı ve büyüklük kaynaklı dezavantajlarından arındırılmış pratik bir katı hal mini referans elektrot ortaya çıkarmak ve temelde paralel bir tasarımı paylaşan varyasyonlarındaki küçük değişikliklerin etkisini göstermek için yola çıkıldı. Aynı yaklaşım kullanılarak daha fazla minyatürizasyonun makul bir şekilde gerçekleştirilip gerçekleştirilemeyeceğini tahmin etmek de bu çalışmanın hedefleri arasındaydı.

Bekleneceği üzere, daha büyük boyutlarda hazırlanan referans elektrotlar, aynı veya benzer kompozisyondaki mini referans elektrotlara göre daha iyi sonuçlar vermiştir. Özellikle uzun dönem stabilite testlerinde, en iyi çubuk şekilli ve mini referans elektrotlar arasında %100'ün üzerinde bir potansiyel sapma farkı bulunmaktadır (RE4g3: 0,045 mV/saat, mRE2: 0,12 mV/saat). Bunun en önemli nedenleri arasında büyük referans elektrotun daha çok KCl deposuna sahip olması, yüzey alanının genişliği nedeniyle küçük yüzey kusurlarından diğerine kıyasla çok etkilenmemesi ve hazırlanışının nispeten kolay olması nedeniyle tuz dağılımının muhtemelen daha homojen olması gösterilebilir.

Elektrotun iyonik iletkenliğini düzenlemek ve optimize etmek için grafit oksit (GO) ve karbon nanotüp (MWCNT) malzemeleri kullanıldı. Çalışma kapsamında bu malzemelerden birinin sinyal iletiminde öne çıkıp çıkmadığı tespit edilmeye çalışılmıştır. Yapıda iletkenlik sağlama rolü her zaman bu malzemelerle sınırlı olmayabilir. Bunun yerine, literatürde denenen başka uygun iletken malzemeler veya polimerler ile farklı bağlayıcı/yapıştırıcı malzemeler kullanılarak yapıya uyarlanabilir. Bu tür farklı malzemelerin kullanımı yeni bir çalışmanın konusu olarak görülmüş ve burada ele alınmamıştır. Bu çalışmadan çıkan sonuçlara göre, GO ve MWCNT arasında keskin bir ayrım yapmak kolay değildir. GO ile hazırlanan

elektrotlar, gözlemsel veriler ışığında daha iyi gibi görünse de daha odaklı bir test metodolojisi ve kapsamlı istatistiksel analizler ile münhasıran bu konuda bir çalışma yapmadan kesin bir sonuca varmanın doğru olmayacağı düşünülmektedir.

Elektrotların çalışma mekanizması ve stabilizasyonu tartışılması gereken diğer önemli konulardır. Elde edilen veriler ışığında, büyük referans elektrotlarda kullanılan AgCl kaplı Ag tel ile mini referans elektrotlarda kullanılan Ag ve AgCl tozları performans açısından bir farka neden olmamıştır. Referans elektrotların kararlı davranışı, matrise, özellikle üst katmana sınırlı su girişi ile açıklanabilir. Katmanlar farklı şekilde hazırlansa da tümü yüksek hidrofobikliğe sahiptir. Elektrotlar bunu katmanlar içindeki nispeten yüksek epoksi yüzdesine borçludur. Suyun sınırlı penetrasyonuna ek olarak, çok yavaş nüfuz ettiği de gözlemlenmiştir. Nitekim liç testi dahil tüm gözlemlerimiz, suyun çok yavaş ve çok küçük miktarlarda her seferinde çok az KCl sızması ile üst katmana girdiğini ve en iyi çalıştığı belirlenen mRE2 mini referans elektrotun buna binaen kararlı davrandığını göstermektedir.

Üretilen referans elektrotlar genellikle hazır olur olmaz sabit potansiyel verememektedir. Bunun birbiriyle bağlantılı iki nedeni, elektrotların potansiyel cevabı oluşturabilmek için çözeltiyle arasında kurması gereken KCl kütle transfer hızının kararlı hale gelmesi için zaman gerekmesi ve elektrot yüzeyinde düzensiz olarak bulunabilen KCl parçacıklarıdır. Elektrot çözeltiye daldırıldığında bu parçacıklar suyla temas ederek değişken hızlarda çözünür ve çözeltinin çok küçük bir miktarı da elektrotun üst tabakasına geçerek burada KCl partiküllerini çözebilir. Bu durum bir potansiyel düzensizliğine neden olur. Bu nispeten düzensiz ve hızlı bir şekilde gerçekleştiğinden, kütle transferi kararlı bir hal alana dek sinyal de daha kararlı hale gelemez. Bu nedenle, stabilizasyon süresinin aynı bileşimi paylaşan ve aynı anda üretilen elektrotlar arasında bile önemli ölçüde değişebileceği sonucuna varılabilir ki, yapılan çalışmalarda bu durum net bir şekilde gözlemlenmiştir.

Tabakaların referans elektrot performansı üzerindeki etkisi net değildir. Bir yanda, gözlemsel verilere dayalı olarak açıkça ayırt edilen bir elektrot (mRE2)

bulunmaktadır. Öte yandan, bu farklılığın arkasındaki neden(ler), tek tabakalı elektrotlar ve jel içerenler dışında kısmen anlaşılmaz kalmaktadır. Tek tabakalı kompozisyonlarda, test çözeltileri ile doğrudan temas halinde olan katmanda Ag ve AgCl partiküllerinin varlığının performansı olumsuz etkilediği söylenebilir. KCl partiküllerinin sağladığı koruma muhtemelen bu durumda yeterli olmamaktadır. Jel tabakalı elektrotlardan, özellikle jel tabakasının sağladığı ek klorür içeriği sayesinde uzun süreli ölçüm için daha iyi sonuçlar beklenmekteydi. Bununla birlikte, muhtemelen eklenen kararsız sıvı bağlantı potansiyeli, klorür iyonlarının değişen kütle aktarım hızı, bir jel tabakasının varlığından dolayı tabakalar arası sinyal iletiminin diğerlerinde olduğu kadar sağlıklı olamama ihtimali gibi nedenler bu elektrotların daha yüksek sapma göstermesine neden olmuştur.

Tüm elektrotlar, basit yapı, pratik bir şekilde hazırlanabilme ve yeni bir ticari RE satın almaya kıyasla daha düşük maliyetler gibi bazı benzer faydaları paylaşmaktadır. Görüldüğü kadarıyla, en iyi elektrotun en önemli başarısı, bazı durumlarda otoklav sterilizasyonuna tabi tutulduktan sonra bile ticari bir referans elektrotun yerine kullanılabilecek kadar yeterli kısa vadeli performansdır. Ayrıca uzun süre bakım gerektirmeden çalışabilecek olması bir diğer önemli avantaj olarak öne çıkmaktadır. Uzun bir raf ömrüne sahip olması, en iyi çalışan mini referans elektrotun bir başka özelliğiydi. Bununla birlikte, tıbbi açıdan önemli kompleks sıvılarda herhangi bir uzun vadeli doğrudan ölçüm muhtemelen çok sayıda mRE2 gerektirecek ve bu da maliyetleri artıracaktır. Ayrıca bu tür ortamlarda uzun süreli kullanımda sağlıklı sonuçlar alınamadığı da bir gerçektir. Yine de karmaşık ortamlarda bile kısa süreli olarak kullanıldığında sonuç bazı uygulamalar için yeterli olabilir. Buna ek olarak, tek kullanımlık daha ince bir elektrota ihtiyaç duyulması halinde, pRE1 birçok uygulamada yeterli sayılabilecek bir kısa süreli performans gösterebilir.

Elektrotların yapımı kolay olsa da yaklaşımımızın başlıca sorunları, tüm elektrotlar için hem homojen karışımların hem de aynı potansiyometrik davranışın elde edilmesindeki zorluklardır. Bu zorlukların arkasındaki nedenler, el yapımı imalat süreci ile elektrot yapısında kullanılan ve bu kadar küçük miktarlarda çalışması kolay olmayan malzemeler olarak öne çıkmaktadır. Bu nedenle yeterince iyi

alışan bir elektrotu elde edene kadar ciddi miktarda malzeme kaybı meydana gelebilmektedir. Bu durum tüm kalınlıklar için geçerli olmakla birlikte, özellikle 2,5 ve 1 mm tabaka yükseklikleri için çalışma süresince yapılan denemeler bunu daha iyi göstermiştir. Nadiren elde edilebilecek olumlu sonuçlar için çok fazla malzeme, emek ve zaman kaybının mı, yoksa daha yüksek kalınlıklarda daha az kaybın mı tercih edilmesi gerektiği sorusunun cevabı duruma göre değişebilecek olsa da bu çalışmada da takip edilen ikinci tercihin, özellikle pratiklik ve maliyet faktörleri de göz önüne alındığında daha makul ve optimum olduğu söylenebilir. Bu durum mevcut tasarımı, daha iyi bir üretim stratejisi ve yönteminin veya mekanik ve kimyasal olarak dirençli, yüksek düzeyde işlenebilir iletken malzemelerin kullanılması gibi temelden farklı değişiklikler olmaksızın mikrometre seviyelerine doğru gidebilecek daha fazla minyatürleştirme için (imknsız değilse de) ok çekici olmamasına neden olmaktadır.

-
- [1] G. Inzelt, A. Lewenstam, and F. Scholz, *György Inzelt Handbook of Reference Electrodes*. 2013.
- [2] W. Vonau, W. Oelßner, U. Guth, and J. Henze, “An all-solid-state reference electrode,” *Sensors Actuators, B Chem.*, vol. 144, no. 2, pp. 368–373, 2010, doi: 10.1016/j.snb.2008.12.001.
- [3] H. Kahlert, *Reference electrodes*. Elsevier B.V., 2010.
- [4] J. Hu, A. Stein, and P. Bühlmann, “Rational design of all-solid-state ion-selective electrodes and reference electrodes,” *TrAC - Trends Anal. Chem.*, vol. 76, pp. 102–114, 2016, doi: 10.1016/j.trac.2015.11.004.
- [5] U. Guth, F. Gerlach, M. Decker, W. Oelßner, and W. Vonau, “Solid-state reference electrodes for potentiometric sensors,” *J. Solid State Electrochem.*, vol. 13, no. 1, pp. 27–39, 2009, doi: 10.1007/s10008-008-0574-7.
- [6] M. Sophocleous and J. K. Atkinson, “A review of screen-printed silver/silver chloride (Ag/AgCl) reference electrodes potentially suitable for environmental potentiometric sensors,” *Sensors Actuators, A Phys.*, vol. 267, pp. 106–120, 2017, doi: 10.1016/j.sna.2017.10.013.
- [7] M. Waleed Shinwari, D. Zhitomirsky, I. A. Deen, P. R. Selvaganapathy, M. Jamal Deen, and D. Landheer, “Microfabricated reference electrodes and their biosensing applications,” *Sensors*, vol. 10, no. 3, pp. 1679–1715, 2010, doi: 10.3390/s100301679.
- [8] F. Pargar, H. Kolev, D. A. Koleva, and K. van Breugel, “Microstructure, surface chemistry and electrochemical response of Ag|AgCl sensors in alkaline media,” *J. Mater. Sci.*, vol. 53, no. 10, pp. 7527–7550, 2018, doi: 10.1007/s10853-018-2083-0.
- [9] H. Ragonés *et al.*, “Disposable electrochemical sensor prepared using 3D printing for cell and tissue diagnostics,” *Sensors Actuators, B Chem.*, vol. 216, pp. 434–442, 2015, doi: 10.1016/j.snb.2015.04.065.
- [10] D. Cicmil *et al.*, “Ionic Liquid-Based, Liquid-Junction-Free Reference Electrode,” *Electroanalysis*, vol. 23, no. 8, pp. 1881–1890, 2011, doi: 10.1002/elan.201100137.
- [11] P. Lingenfelter *et al.*, “Reference electrodes with polymer-based membranes—comprehensive performance characteristics,” *Membranes (Basel)*, vol. 9, no. 12, 2019, doi: 10.3390/membranes9120161.
- [12] I. Shitanda, M. Komoda, Y. Hoshi, and M. Itagaki, “An instantly usable paper-based screen-printed solid-state KCl/Ag/AgCl reference electrode with long-term stability,” *Analyst*, vol. 140, no. 19, pp. 6481–6484, 2015, doi: 10.1039/c5an00617a.

- [13] W. Y. Liao and T. C. Chou, "Development of a reference electrode chip for application in ion sensor arrays," *Zeitschrift fur Naturforsch. - Sect. B J. Chem. Sci.*, vol. 63, no. 11, pp. 1327–1334, 2008, doi: 10.1515/znb-2008-1112.
- [14] Tung Son Vinh Nguyen, Tien Minh Huynh, Tin Chanh Duc Doan, and Chien Mau Dang, "Enhanced Electrochemical and Physical Properties of Ag/AgCl Planar Reference Electrodes in Potentiometric Sensors by Graphite Oxide Layer," *J. Mater. Sci. Eng. A*, vol. 9, no. 2, pp. 83–90, 2019, doi: 10.17265/2161-6213/2019.3-4.005.
- [15] G. Smith, C. M. Zalitis, and A. R. J. Kucernak, "Thin solid state reference electrodes for use in solid polymer electrolytes," *Electrochem. commun.*, vol. 43, pp. 43–46, 2014, doi: 10.1016/j.elecom.2014.03.005.
- [16] T. Yin, H. Yu, J. Ding, and W. Qin, "An Integrated Screen-Printed Potentiometric Strip for Determination of Ca^{2+} in Seawater," *J. Electrochem. Soc.*, vol. 166, no. 8, pp. B589–B593, 2019, doi: 10.1149/2.0251908jes.
- [17] K. Granholm, Z. Mousavi, T. Sokalski, and A. Lewenstam, "Analytical quality solid-state composite reference electrode manufactured by injection moulding," *J. Solid State Electrochem.*, vol. 18, no. 3, pp. 607–612, 2014, doi: 10.1007/s10008-013-2294-x.
- [18] A. Moya, R. Pol, A. Martínez-Cuadrado, R. Villa, G. Gabriel, and M. Baeza, "Stable Full-Inkjet-Printed Solid-State Ag/AgCl Reference Electrode," *Anal. Chem.*, vol. 91, no. 24, pp. 15539–15546, 2019, doi: 10.1021/acs.analchem.9b03441.
- [19] N. Rohaizad, C. C. Mayorga-Martinez, F. Novotný, R. D. Webster, and M. Pumera, "3D-printed Ag/AgCl pseudo-reference electrodes," *Electrochem. commun.*, vol. 103, no. April, pp. 104–108, 2019, doi: 10.1016/j.elecom.2019.05.010.
- [20] Y. Wu and L. Chen, "FABRICATION OF A PVC-BASED SOLID-STATE Ag / AgCl REFERENCE ELECTRODE," pp. 2019–2021, 2019.
- [21] T. Blaz, J. Migdalski, and A. Lewenstam, "Junction-less reference electrode for potentiometric measurements obtained by buffering pH in a conducting polymer matrix," *Analyst*, vol. 130, no. 5, pp. 637–643, 2005, doi: 10.1039/b418384c.
- [22] B. K. Troudt, C. R. Rousseau, X. I. N. Dong, E. L. Anderson, and P. Bühlmann, "Recent progress in the development of improved reference electrodes for electrochemistry," *Anal. Sci.*, vol. 38, no. 1, pp. 71–83, 2022, doi: 10.2116/analsci.21SAR11.
- [23] A. AJ Torriero, "Understanding the Differences between a Quasi-Reference Electrode and a Reference Electrode," *Med. Anal. Chem. Int. J.*, vol. 3, no. 3, pp. 2–4, 2019, doi: 10.23880/macij-16000144.
- [24] C. M. Nguyen *et al.*, "Sol-gel deposition of iridium oxide for biomedical

- micro-devices,” *Sensors (Switzerland)*, vol. 15, no. 2, pp. 4212–4228, 2015, doi: 10.3390/s150204212.
- [25] J. Lee *et al.*, “Porous carbon as a quasi-reference electrode in aqueous electrolytes,” *Electrochim. Acta*, vol. 222, pp. 1800–1805, 2016, doi: 10.1016/j.electacta.2016.11.148.
- [26] K. Xu, Y. Xin, X. Zhang, Y. Tang, and C. Wu, “Preparation and performance of a solid-state thin-film Ag/AgCl quasi-reference electrode modified by chitosan-graphene,” *Mater. Technol.*, vol. 36, no. 2, pp. 63–71, 2021, doi: 10.1080/10667857.2020.1728059.
- [27] R. C. Dawkins, D. Wen, J. N. Hart, and M. Vepsäläinen, “A screen-printed Ag/AgCl reference electrode with long-term stability for electroanalytical applications,” *Electrochim. Acta*, vol. 393, p. 139043, 2021, doi: 10.1016/j.electacta.2021.139043.
- [28] R. Kalidoss, A. Sivantha Raja, D. Jeyakumar, and N. Prabu, “Solid-State Planar Reference Electrode with Ion-Selective Electrodes for Clinical Diagnosis,” *IEEE Sens. J.*, vol. 18, no. 20, pp. 8510–8516, 2018, doi: 10.1109/JSEN.2018.2865726.
- [29] J. Hu, W. Zhao, P. Bühlmann, and A. Stein, “Paper-Based All-Solid-State Ion-Sensing Platform with a Solid Contact Comprising Colloid-Imprinted Mesoporous Carbon and a Redox Buffer,” *ACS Appl. Nano Mater.*, vol. 1, no. 1, pp. 293–301, 2018, doi: 10.1021/acsanm.7b00151.
- [30] S. Papamatthaiou, U. Zupancic, C. Kalha, A. Regoutz, P. Estrela, and D. Moschou, “Ultra stable, inkjet-printed pseudo reference electrodes for lab-on-chip integrated electrochemical biosensors,” *Sci. Rep.*, vol. 10, no. 1, pp. 1–10, 2020, doi: 10.1038/s41598-020-74340-1.
- [31] A. E. Musa *et al.*, “Disposable miniaturized screen-printed pH and reference electrodes for potentiometric systems,” *Electroanalysis*, vol. 23, no. 1, pp. 115–121, 2011, doi: 10.1002/elan.201000443.
- [32] C. F. H. David S. Macedo, Mikko Vepsäläinen, Durga Acharya, Colin D. Wood, Dingchen Wen, Liam Thomson, Stephen Peacock, Theo Rodopoulos, “An unusually stable solid state Ag|AgCl reference electrode for long term continuous measurements based on a crosslinked poly(vinyl acetate)/KCl composite,” *Electrochim. Acta*, vol. 368, 2021, doi: <https://doi.org/10.1016/j.electacta.2020.137636>.
- [33] H. R. Lim, N. Hillman, Y. T. Kwon, Y. S. Kim, Y. H. Choa, and W. H. Yeo, “Ultrathin, long-term stable, solid-state reference electrode enabled by enhanced interfacial adhesion and conformal coating of AgCl,” *Sensors Actuators, B Chem.*, vol. 309, no. January, p. 127761, 2020, doi: 10.1016/j.snb.2020.127761.
- [34] X. V. Chen, A. Stein, and P. Bühlmann, “Reference Electrodes Based on Ionic Liquid-Doped Reference Membranes with Biocompatible Silicone Matrixes,” *ACS Sensors*, vol. 5, no. 6, pp. 1717–1725, 2020, doi:

10.1021/acssensors.0c00363.

- [35] R. Ding, M. Fiedoruk-Pogrebniak, M. Pokrzywnicka, R. Koncki, J. Bobacka, and G. Lisak, "Solid reference electrode integrated with paper-based microfluidics for potentiometric ion sensing," *Sensors Actuators, B Chem.*, vol. 323, no. July, p. 128680, 2020, doi: 10.1016/j.snb.2020.128680.
- [36] L. Chen and R. G. Compton, "Reference Electrodes for Electrochemical Sensors Based on Redox Couples Immobilized within Nafion Films," *ACS Sensors*, vol. 4, no. 6, pp. 1716–1723, 2019, doi: 10.1021/acssensors.9b00693.
- [37] J. C. B. Fernandes and E. V. Heinke, "Alternative strategy for manufacturing of all-solid-state reference electrodes for potentiometry," *J. Sensors Sens. Syst.*, vol. 4, no. 1, pp. 53–61, 2015, doi: 10.5194/jsss-4-53-2015.
- [38] M. Bauer *et al.*, "Electrochemical multi-analyte point-of-care perspiration sensors using on-chip three-dimensional graphene electrodes," *Anal. Bioanal. Chem.*, vol. 413, no. 3, pp. 763–777, 2021, doi: 10.1007/s00216-020-02939-4.
- [39] J. Sun *et al.*, "A novel flexible Ag/AgCl quasi-reference electrode based on silver nanowires toward ultracomfortable electrophysiology and sensitive electrochemical glucose detection," *J. Mater. Res. Technol.*, vol. 9, no. 6, pp. 13425–13433, 2020, doi: 10.1016/j.jmrt.2020.09.041.
- [40] W. Gao, E. Zdrachek, X. Xie, and E. Bakker, "A Solid-State Reference Electrode Based on a Self-Referencing Pulstrode," *Angew. Chemie - Int. Ed.*, vol. 59, no. 6, pp. 2294–2298, 2020, doi: 10.1002/anie.201912651.
- [41] F. R. Simões and M. G. Xavier, *Chapter 6 - Electrochemical Sensors*. Elsevier Inc., 2017.
- [42] E. R. Cohen *et al.*, "Physical quantities and quantity calculus," *Quant. , Units Symb. Phys. Chem.*, p. 3, 2007.
- [43] N. B. Halhed, *Of the Elements*, no. 252. 2014.
- [44] M. Lok, "Coprecipitation," *Synth. Solid Catal.*, pp. 135–151, 2009, doi: 10.1002/9783527626854.ch7.
- [45] L. Koryta, Jiri; Dvorak, Jiri; Kavan, *Principles of Electrochemistry, 2nd ed.* 1994.
- [46] V. L. D. S. N. Button, "Chapter 1 - Introduction to Biomedical Variables Transducing," in *Principles of Measurement and Transduction of Biomedical Variables*, 2015, pp. 1–24.
- [47] I. K., "Liquid junction potentials between electrolyte solutions in different solvents," *Anal. Sci.*, vol. 27, no. 7, p. 685, 2011, doi: doi: 10.2116/analsci.27.685.
- [48] H. F. J. Skoog D. A., West D. M., *Fundamentals of Analytical Chemistry, 7th Edition*, 7th ed. Saunders College Publishing, Rinehart and Winston Inc. USA., 1996.

- [49] R. P. Buck and E. Lindner, "Recommendations for nomenclature of ion-selective electrodes (IUPAC recommendations 1994)," *Pure Appl. Chem.*, vol. 66, no. 12, pp. 2527–2536, 1994, doi: 10.1351/pac199466122527.
- [50] K. N. Mikhelson, *Ion-Selective Electrodes*, 1st ed. Springer Berlin, Heidelberg, 2013.
- [51] F. Criscuolo, M. I. N. Hanitra, I. Taurino, S. Carrara, and G. De Micheli, "All-Solid-State Ion-Selective Electrodes: A Tutorial for Correct Practice," *IEEE Sens. J.*, vol. 21, no. 20, pp. 22143–22154, 2021, doi: 10.1109/JSEN.2021.3099209.
- [52] and A. J. B. Unwin, Patrick R., Martin Stratmann, *Encyclopedia of Electrochemistry: Instrumentation and Electroanalytical Chemistry; Volume 3*. Wiley, 2003.
- [53] G. Jerkiewicz, "Standard and Reversible Hydrogen Electrodes: Theory, Design, Operation, and Applications," *ACS Catal.*, vol. 10, no. 15, pp. 8409–8417, 2020, doi: 10.1021/acscatal.0c02046.
- [54] M. About and R. Electrodes, "Potentials of Reference Electrode Page 1 of 4 Potentials of Common Reference Electrodes Potentials of Reference Electrode Page 2 of 4," pp. 2–5, 2003.
- [55] T. Liu, "What are Normal Hydrogen Electrode (NHE), Standard Hydrogen Electrode (SHE) and Reversible Hydrogen Electrode (RHE)?," *ResearchGate*, no. February, pp. 1–3, 2019.
- [56] J. R. Cowles, "Reference Electrodes.," *WVa Univ Exp Stn Bull*, vol. 2967, no. 113, pp. 499–451, 1974, doi: 10.3323/jcorr1974.35.7_422.
- [57] T. J. S. and K. J. Stevenson, "Reference Electrodes," in *Handbook of Electrochemistry*, Elsevier Science, 2007, pp. 73–110.
- [58] C. C. Rundle, "A Beginners Guide to Ion-Selective Electrode Measurements," *Data Process.*, no. May 2000, pp. 1–30, 2011.
- [59] H. A. G. Stern, D. R. Sadoway, and J. W. Tester, "Copper sulfate reference electrode," *J. Electroanal. Chem.*, vol. 659, no. 2, pp. 143–150, 2011, doi: 10.1016/j.jelechem.2011.05.014.
- [60] T. Guinovart, G. A. Crespo, F. X. Rius, and F. J. Andrade, "A reference electrode based on polyvinyl butyral (PVB) polymer for decentralized chemical measurements," *Anal. Chim. Acta*, vol. 821, pp. 72–80, 2014, doi: 10.1016/j.aca.2014.02.028.
- [61] V. Perrotti, A. Piattelli, A. Quaranta, G. Gómez-Moreno, and G. Iezzi, "Biocompatibility of dental biomaterials," *Biocompat. Dent. Biomater.*, pp. 1–7, Jan. 2017, doi: 10.1016/B978-0-08-100884-3.00001-1.
- [62] Y. Li, R. He, Y. Niu, and F. Li, "Paper-Based Electrochemical Biosensors for Point-of-Care Testing of Neurotransmitters," *J. Anal. Test.*, vol. 3, no. 1, pp. 19–36, 2019, doi: 10.1007/s41664-019-00085-0.
- [63] A. Florea, G. Melinte, I. Simon, and C. Cristea, "Electrochemical biosensors

- as potential diagnostic devices for autoimmune diseases,” *Biosensors*, vol. 9, no. 1, pp. 1–15, 2019, doi: 10.3390/bios9010038.
- [64] A. W. J. Cranny and J. K. Atkinson, “Thick film silver-silver chloride reference electrodes,” *Meas. Sci. Technol.*, vol. 9, no. 9, pp. 1557–1565, 1998, doi: 10.1088/0957-0233/9/9/027.
- [65] N. H. Kwon, K. S. Lee, M. S. Won, and Y. B. Shim, “An all-solid-state reference electrode based on the layer-by-layer polymer coating,” *Analyst*, vol. 132, no. 9, pp. 906–912, 2007, doi: 10.1039/b706905g.
- [66] E. E. Totu *et al.*, “Coated copper wire calcium selective microelectrode for applications in dental medicine,” *Rev. Chim.*, vol. 69, no. 11, pp. 3213–3217, 2018, doi: 10.37358/rc.18.11.6715.
- [67] R. Yildirim, I. Agir, M. Nigde, and I. Isildak, “Influence of 4,4,4-Trifluoro-1-phenyl-1,3-butanedione on Selectivity of All-Solid-State Lithium Ion Electrode Prepared by Using 6,6-Dibenzyl-1,4,8-11-tetraoxacyclotetradecane as Ionophore and Its Application in Human Serum Analysis,” *Int. J. Electrochem. Sci.*, vol. 15, no. 11, pp. 11468–11478, 2020, doi: 10.20964/2020.11.30.
- [68] I. Agir, R. Yildirim, M. Nigde, and I. Isildak, “Internet of Things Implementation of Nitrate and Ammonium Sensors for Online Water Monitoring,” *Anal. Sci.*, vol. 37, no. 7, pp. 971–976, 2021, doi: 10.2116/analsci.20P396.
- [69] A. A. Megahed, M. W. H. Hiew, W. Grünberg, and P. D. Constable, “Evaluation of 2 portable ion-selective electrode meters for determining whole blood, plasma, urine, milk, and abomasal fluid potassium concentrations in dairy cattle,” *J. Dairy Sci.*, vol. 99, no. 9, pp. 7330–7343, 2016, doi: 10.3168/jds.2015-10821.
- [70] B. Beşergil, “Yarı-Hücre Veya Elektrot Potansiyelleri (half-cell or electrode potentials)” <https://bilsenbesergil.blogspot.com/p/183-yari-hucre-veya-elektrot.html> (erişim tarihi 29.05.2022)

TEZDEN ÜRETİLMİŞ YAYINLAR

Makaleler

1. Nigde, Mustafa & Ağır, Ismail & Yıldırım, Rıdvan & Isildak, Ibrahim. (2022). Development and comparison of various rod-shaped mini-RE compositions based on Ag/AgCl for potentiometric applications. The Analyst. 147. 10.1039/D1AN01754C.

