



## Sulu Ortamlardaki Formaldehitin Ölçümü İçin Biyosensör Dizaynı

### *Biosensor Design for Formaldehyde Measurement in Aqueous Mediums*

Şeyda Korkut<sup>1\*</sup>, Muhammet Samet Kılıç<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Bülent Ecevit Üniversitesi, Çevre Mühendisliği Bölümü, Zonguldak, Türkiye

<sup>2</sup>Bülent Ecevit Üniversitesi, Kimya Bölümü, Zonguldak, Türkiye

### Öz

Bu çalışmada, sularda ve havada izlenmesi gereken önemli kirlenici parametrelerinden olan formaldehitin güvenli, seçici, hassas ve hızlı ölçülmesi amacıyla polipirol film ile hazırlanmış çalışma elektrodundan oluşan formaldehit biyosensörü geliştirilmiştir. *Formaldehit dehidrogenaz* enzimi polipirol film boşluklarına adsorbe edilerek elektroda bağlanmıştır. Sistemin sinyal gücünü artırmak amacıyla elektron aracı olarak naftokinon kullanılmıştır. Dizayn edilen biyosensörden yüksek performansta sinyal alınabilmesi için önemli parametreler optimize edilmiştir. Biyosensör analitik parametreleri hesaplanarak elde edilen sonuçlar tartışılmıştır. Biyosensör ile, sulu ortamlarda ppb seviyesindeki formaldehit konsantrasyonları 12 saniyede ve yüksek hassasiyetle ölçülebilmektedir.

**Anahtar Kelimeler:** Biyosensör, Formaldehit, *Formaldehit dehidrogenaz*

### Abstract

In this study, a formaldehyde biosensor comprised of working electrode prepared with Polypyrrole film has been developed in order to get safe, selective, sensitive and fast detection of formaldehyde which should be detected in water and air as an important pollutant parameter. The enzyme *formaldehyde dehydrogenase* has been immobilized onto the electrode by the adsorption into the pores of the Polypyrrole film. Napthoquinone has been used as an electron mediator to improve the power signal of the system. The important parameters have been optimized to get high-performanced signals from the designed biosensor. Results obtained from the calculation of the analytical parameters have been discussed. Formaldehyde concentrations at ppb level in aqueous mediums could be measured with high sensitivity at 12 seconds by the biosensor.

**Keywords:** Biosensor, Formaldehyde, *Formaldehyde dehydrogenase*

### 1. Giriş

Formaldehit, yapıştırıcı ve mobilya imalatında kullanılan, aynı zamanda kozmetik, deterjan, boya ve yalıtım malzemeleri içerisinde bulunan önemli bir kirlenicidir. Uçucu kimyasal bir kirlenici olan formaldehitin havadaki konsantrasyonu 200 ppb'in üzerine çıktığında gözlerde ve burunda tahrişe, 5 ppm'in üzerine çıktığında ise solunum güçlüğüne neden olmaktadır (Descamps et al. 2011). Formaldehitin konsantrasyonu normalde iç ortam ve dış ortam havasında 0.03 ppm mertebesinde olmasına rağmen, ortamın nem, sıcaklık ve hava akımı bu değeri artırabilmektedir. Yeni yapılan evlerde konsantrasyon 3 ppm'e kadar ulaşabilirken, 10 yıllık evlerde bu değer 0.2 ppm

olduğu rapor edilmiştir. Endüstriyel bölgelerde, atmosferde bulunan formaldehit konsantrasyonu genellikle 0.005-0.6 ppm aralığındadır (Kataky et al. 2002). Yağış miktarı ve hacmi değişken olduğundan, havası kirli bölgelerin yağmur sularında bulunan formaldehit konsantrasyonu hakkında net bir değer vermek güçtür. Örneğin, İzmir bölgesinde yapılan bir çalışmada 27 yağmur suyu analizinde ölçülen formaldehit konsantrasyonlarının 10-304 ppb aralığında değişim gösterdiği rapor edilmiştir (Seyfioglu et al. 2006).

Formaldehit analizi için kullanılan başlıca analitik metotlar yüksek performans sıvı kromatografisi, gaz kromatografisi, ultraviyole, iyon kromatografisi ve florometredir. Bu metotlarda genellikle örnek içinde bulunan farklı maddelerin girişimleri söz konusudur ve analizler uzun sürede sonuç verip, anlık ölçümler için elverişli olmamaktadır (Korkut Ozoner et al. 2013). Enzim içeren elektrokimyasal biyosensörler, formaldehit ölçümleri için yüksek hassasiyet ve seçicilikte,

\*Sorumlu yazarın e-posta adresi: s.korkut@beun.edu.tr

yerinde ve hızlı ölçüm yapabilme özelliğinde olduğundan iyi bir alternatif metottur (Herschkovitz et al. 2000, Korpan et al. 2000, Vianello et al. 2007). *Formaldehit dehidrogenaz*, formaldehit ile reaksiyona giren nikotinamid adenin dinükleotit (NAD) bağımlı bir enzim olduğundan, *formaldehit dehidrogenaz* tabanlı biyosensörlerde formaldehit ölçümü yapabilmek için ortamda mutlaka NAD<sup>+</sup> kofaktörü bulunmalıdır. Biyosensörde, enzim, formaldehit ile reaksiyona girmeden önce NAD<sup>+</sup>, NADH formuna indirgenmektedir. Bu sistemlerde gözlemlenen bir sorun, oluşan NADH kofaktörünün, elektrot yüzeyinde tekrar NAD<sup>+</sup>'ya oksitlenmesinin yetersiz oluşudur. Çünkü, NADH'nin elektrokatalitik oksidasyonu çok yüksek potansiyelde gerçekleşmektedir ve bu potansiyelin elektroda uygulanması sonucu numune içinde bulunan başka maddelerin oksidasyonu ölçüme girişim yapabilmekte, ayrıca elektrot yüzeyinde istenmeyen metabolit birikimleri oluşabilmekte, sonuç olarak formaldehit biyosensörlerinde ölçüm hassasiyeti düşmektedir (Gebicki et al. 2004, Bareket et al. 2010). Bu sorunun önlenmesi ve biyosensörde ölçüm yapılabilmesi sisteme bir elektron aracısının (redoks aktif) dahil edilmesiyle sağlanabilir. Elektron araçları, enzim ve elektrot arasında gerçekleşen elektron akışını hızlandırdığından dolayı sisteme uygulanacak potansiyel değerini düşürerek ölçüm hassasiyetini artırır (Can et al. 2012).

Bu çalışmada, çalışma elektrodu yüzeyinde iletken bir polimer olan Polipirol elektrokimyasal olarak sentezlenerek ve *formaldehit dehidrogenaz* enzimi, polimer filmin por boşluklarına adsorbe edilerek sulu ortamlarda bulunan formaldehit konsantrasyonunun ölçümüne dayalı bir biyosensör dizayn edilmiştir. Sistemde, elektron aracısı olarak naftokinon kullanılmıştır. Formaldehit ölçümü için biyosensör analitik parametreleri hesaplanmıştır.

## 2. Gereç ve Yöntem

### 2.1. Kimyasallar

Çalışmada, *formaldehit dehidrogenaz* (1-6 U/mg katı) (FDH), sodyum dodesil sülfat (SDS), pirol (v/v %99), naftokinon ve nikotinamid adenin dinükleotit (NAD<sup>+</sup>) Sigma'dan, dipotasyum hidrojen fosfat ve potasyum dihidrojen fosfat Merck'ten, formaldehit (v/w %37) Fluka'dan temin edilmiştir.

### 2.1. Elektrokimyasal Ölçümler

Biyosensör düzeneği, üçlü elektrot sistemi, cam reaksiyon hücresi ve bir potansiyostattan (CHI 1040B marka) oluşmaktadır. Üçlü elektrot sistemi, 3 mm çapında bir camı

karbon çalışma elektrodundan, bir pilatin çubuk karşıt elektrottan ve Ag/AgCl (3 M KCl) referans elektrodundan oluşmaktadır (CH Instruments firmasından temin edilmiştir). Çalışma elektrodu ve karşıt elektrot yüzeyleri her kullanımdan önce, farklı büyüklükteki zımparalardan ve 0.05-0.3-1 mikron boyutundaki  $\gamma$ -alüminyum tozlarından oluşan elektrot temizleme kiti ile temizlenmiştir. Biyosensör ölçümleri için, üçlü elektrot sistemi, NAD<sup>+</sup> ve naftokinon içeren 10 mL'lik 0.1 M, pH 8 fosfat tamponundan oluşan reaksiyon ortamına daldırılmış, potansiyostata sabit bir çalışma potansiyeli uygulanarak sistem çalıştırılmıştır. Elektrot yüzeyinden geçen akım değeri dengeye geldikten sonra 100 rpm'lik karıştırma altındaki hücre ortamına artan konsantrasyonlarda formaldehit çözeltisi eklenerek biyokimyasal reaksiyon sonucu oluşan akım değerleri potansiyostatta ölçülmüştür.

### 2.2 Çalışma Elektrodunun Hazırlanışı

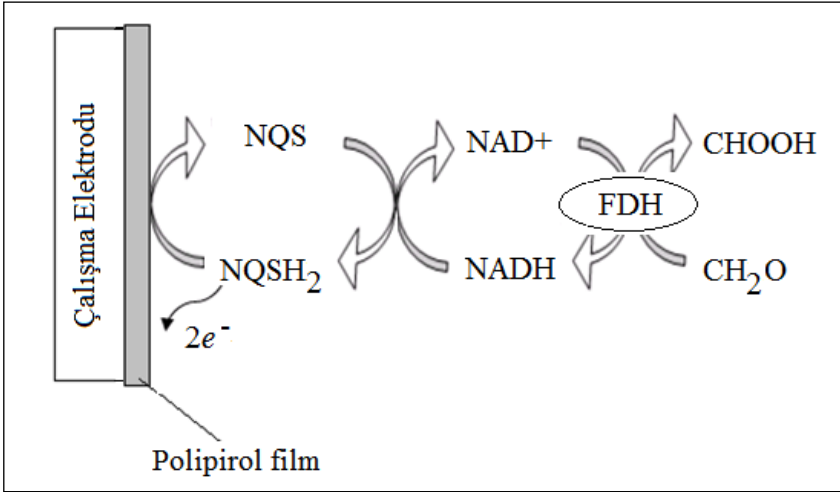
Camsı karbon çalışma elektrodu yüzeyinde elektropolimerizasyon metoduyla pirol polimerizasyonu için saf suyla hazırlanmış 0.01 M'lik pirol çözeltisinin 5 mL'sine 0.3 mg FDH enzimi ve 3 mg SDS eklenerek ortam karıştırılmıştır. Üçlü elektrot sistemi cam reaksiyon hücresine daldırılarak 0 ile +1.2 V'luk potansiyel aralığında ve 100 mV/s'lik tarama hızında dönüşümlü voltametri metodu kullanılarak 45 saniyelik sürede elektrot yüzeyinde enzim immobilize edilmiş Polipirol biyofilmi kaplanmıştır.

## 3. Bulgular ve Tartışma

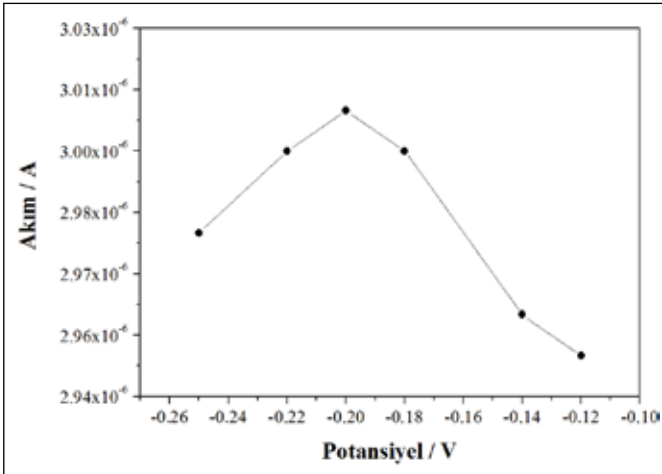
### 3.1. İşletme Koşullarının Optimizasyonu

Dizayn edilen biyosensörden alınan sinyal, ilk olarak formaldehitin (CH<sub>2</sub>O) NAD bağımlı *formaldehit dehidrogenaz* enzim reaksiyonuyla formik aside (CHOOH) dönüşümüne ve bu reaksiyonlar sonucu oluşan NADH'nin naftokinon (NQS) elektron aracısı yardımıyla amperometrik olarak belirlenmesine bağlıdır. Reaksiyonlar süresince NAD<sup>+</sup>, NADH'a indirgenirken, *formaldehit dehidrogenaz*, formaldehitin formik aside oksidasyonunu gerçekleştirmektedir. Ortama eklenen elektron aracısı naftokinon NADH'ı tekrar NAD<sup>+</sup>'ya oksitlerken, kendisi elektrot yüzeyinde indirgenmektedir (NQSH<sub>2</sub>). Sistemde elektron aracısının sürekli olarak reaksiyonlara katılabilmesi NQSH<sub>2</sub>'nin tekrar NQS formuna oksidasyonu ile sağlanabilir. Bu durumda çalışma elektroduna NQSH<sub>2</sub>'nin NQS formuna oksitlenebileceği potansiyel değeri uygulanmalıdır. Elektrot yüzeyinde gerçekleşen reaksiyonlar Şekil 1'de gösterilmiştir.

NQSH<sub>2</sub>'nin tekrar NQS formuna okside edildiği en etkili uygulama potansiyelinin belirlenmesi için, üçlü elektrot



**Şekil 1.** Formaldehit ölçümü için naftokinon varlığında elektrot yüzeyinde gerçekleşen biyokimyasal reaksiyonlar.



**Şekil 2.** Çalışma elektroduna uygulanan potansiyelin biyosensör sinyali üzerine etkisi.

sistemi 0.5 mM NAD<sup>+</sup> ve 1 mM NQS içeren 0.1 M pH 8 fosfat tamponunun 10 mL'sine daldırılmıştır. Cihaz, sırasıyla -0.12 ve -0.25 V'luk potansiyel aralığında değişen farklı potansiyeller altında çalıştırılmış, her potansiyel değerinde reaksiyon hücre sine 45 µM'lık formaldehit eklemesi yapılarak biyosensörden elde edilen akım sinyalleri kaydedilmiştir. Uygulanan her potansiyel değerinde elde edilen akım değişimleri potansiyel değerlerine karşı grafiğe geçirilmiş ve Şekil 2'de gösterilmiştir. NQSH<sub>2</sub>'nin elektrot yüzeyindeki oksidasyon akımı -0.12 V'dan -0.2 V'a kadar hızlı bir şekilde artmış ve bu voltaj değerinden sonra oksidasyon akımında düşüş gözlenmiştir. En yüksek oksidasyon akımına -0.2 V'luk potansiyel değerinde ulaşıldığından, formaldehitin ölçümü için uygulanacak potansiyel değeri -0.2 V olarak seçilmiştir.

Dizayn edilen biyosensörde enzimin kofaktörü olan NAD<sup>+</sup> konsantrasyonunun formaldehit sinyaline etkisinin

incelenmesi ve optimum konsantrasyonun belirlenmesi için, 1 mM NQS içeren 10 mL'lik 0.1 M pH 8 tampon ortamlarına ayrı ayrı konsantrasyonu sırasıyla 0.1-0.25-0.5-1 ve 1.5 mM olacak şekilde NAD<sup>+</sup> eklenerek ölçüm ortamları hazırlanmıştır. Her ölçüm ortamında çalışma elektroduna -0.2 V'luk potansiyel uygulanarak 45 µM formaldehit eklemesi yapılmıştır. Artan konsantrasyonda NAD<sup>+</sup> içeren reaksiyon ortamlarından formaldehit eklemelerine karşı elde edilen akım değerleri Şekil 3'de verilmiştir. Enzimatik reaksiyonun en etkin gerçekleşebildiği ve bunun sonucu olarak da maksimum akım değerinin elde edildiği NAD<sup>+</sup> konsantrasyonu 0.5 mM olarak belirlenmiş, daha yüksek konsantrasyonlarda biyosensör akım değerlerinin düştüğü gözlenmiştir. Yüksek NAD<sup>+</sup> konsantrasyonlarında akım değerlerindeki düşüşün nedeni NAD<sup>+</sup>'in, elektrokimyasal NADH oksidasyon reaksiyonuna inhibisyon etkisi göstermesi olarak yorumlanabilir (Shimomura et al. 2008, Gorton et al. 1992).

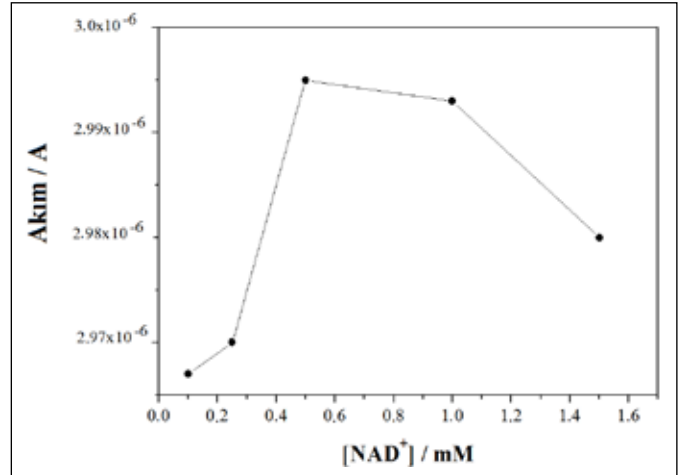
Biyosensörde yüksek sinyaller alabilmek için kullanılan elektron aracı maddenin miktarı, elektrokimyasal reaksiyonlarda hızlı ve etkili elektron transferinin sağlanabilmesi açısından oldukça önemlidir. Bir biyosensör sisteminden, elektron akışı zorlanmadığı ve maksimum hızda gerçekleştiği sürece ölçümü yapılan analitin ortama eklenmesiyle yüksek sinyaller alınabilir. Bu nedenle, çalışmada dizayn edilen formaldehit biyosensöründe elektron aracı olarak kullanılan naftokinon (NQS) konsantrasyonunun, elektrot yüzeyinde gerçekleşen redoks reaksiyonları sonucu salınan elektron akışına etkisi incelenmiş ve sistem için optimum konsantrasyon belirlenmiştir. Bu amaçla, 0.5 mM NAD<sup>+</sup> içeren 10 mL'lik 0.1 M pH 8 tampon ortamlarına ayrı ayrı, konsantrasyonu sırasıyla 0.25-0.5-0.75-1 ve 1.5 mM olacak şekilde NQS eklenerek ölçüm ortamları hazırlanmıştır. Her

ölçüm ortamına,  $-0.2$  V'luk potansiyel altında  $45 \mu\text{M}$  formaldehit eklemesi yapılmış, biyosensörden elde edilen akım değerleri kaydedilmiştir (Şekil 4). NQS konsantrasyonu  $1 \text{ mM}$ 'a kadar arttıkça elektron transfer hızının artmasına bağlı olarak akım değerleri artmış,  $1.5 \text{ mM}$ 'lık NQS konsantrasyonundan da yaklaşık aynı akım değerleri elde edilmiştir. NQS konsantrasyonunun  $1 \text{ mM}$  olması biyosensörde gerçekleşen elektrokimyasal redoks reaksiyonları için en etkili dozdur ve sistem için yeterlidir.

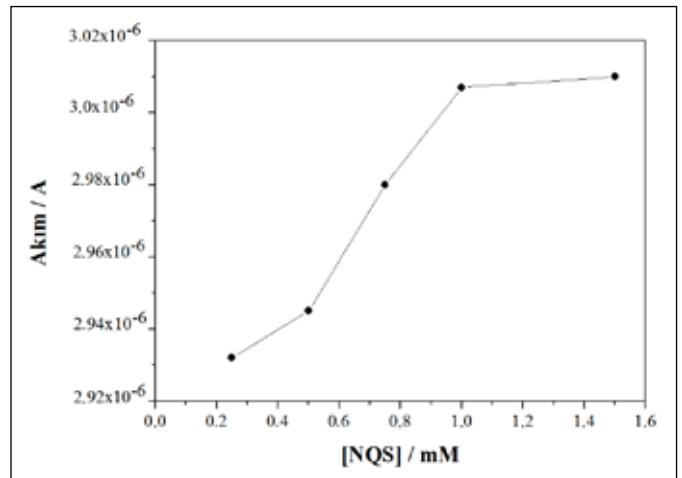
### 3.2. Biyosensörle Formaldehit Ölçümü

Bölüm 2.2'deki gibi hazırlanan biyosensör çalışma elektrodunda bağlı bulunan enzimin miktarı Bradford Protein Analizi (Bradford 1976) metodu kullanılarak  $120 \mu\text{g}$  olarak hesaplanmıştır. Formaldehit ölçümleri yapılan biyosensör çalışma ortamında da aynı metotla protein analizi yapılmış, çalışmalar boyunca elektrottan enzim kaçığının olmadığı tespit edilmiştir. Geliştirilen biyosensör ile farklı konsantrasyonlardaki formaldehitin ölçümü kesikli ortamda  $100 \text{ rpm}$ 'lik karıştırma hızında  $-0.2 \text{ V}$  çalışma potansiyeli uygulanarak yapılmıştır. Bunun için  $0.5 \text{ mM NAD}^+$  ve  $1 \text{ mM NQS}$  içeren  $0,1 \text{ M pH } 8$  fosfat tamponunun  $10 \text{ mL}$ 'sine sırasıyla  $10\text{-}200 \mu\text{M}$  konsantrasyon aralığında formaldehit eklemeleri yapılmıştır. Eklemeler sırasında elde edilen akım değerleri amperometrik akım-zaman grafiği olarak Şekil 5'de gösterilmiştir.

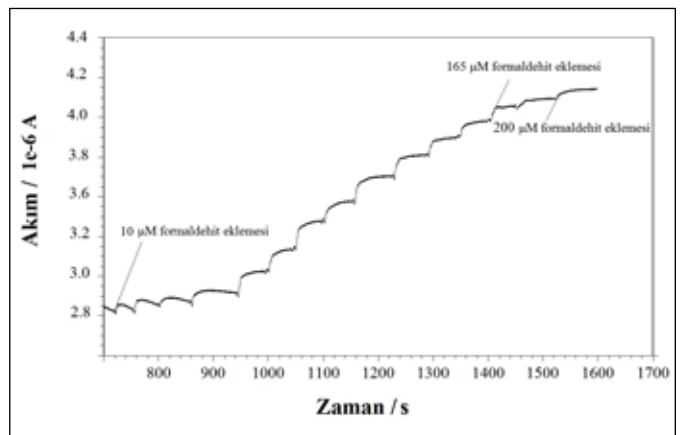
Amperometrik akım-zaman grafikleri kullanılarak her bir ekleme sonunda elde edilen akım değişimleri ekleme konsantrasyonlarına karşı grafiğe geçirilmiş ve formaldehit için bir kalibrasyon eğrisi çizilmiştir (Şekil 6). Formaldehit kalibrasyonundan elde edilen biyosensör analitik parametreleri Çizelge 1'de verilmiştir. Biyosensördeki akım değişimleri, artan formaldehit konsantrasyonu ile doğrusal bir ilişki göstermiştir ( $y = 8.10^{-9}x + 3.10^{-6}$ ,  $R^2: 0.992$ ). Bu sonuca göre biyosensörün ölçüm yapabildiği formaldehit konsantrasyonu aralığı  $10\text{-}165 \mu\text{M}$  ( $0.3\text{-}4.95 \text{ ppm}$ )'dir. Biyosensörün cevap verebildiği en küçük konsantrasyon değeri belirleme limiti olarak (LOD) adlandırılır. Belirleme limiti  $[3s_b/m]$  formülü ile hesaplanmıştır (Hasebe and Osteryoung 1975). Burada  $m$  analit için hazırlanmış kalibrasyon eğrisinin doğrusal alarıktaki eğimini (ölçüm hassasiyet değeri),  $s_b$  aynı konsantrasyondaki analitin reaksiyon ortamına ard arda eklenmesiyle oluşan akım değişimleri arasındaki standart sapma değerini göstermektedir. Biyosensör için belirleme limiti  $2 \mu\text{M}$  ( $60 \text{ ppb}$ ) olarak hesaplanmıştır. Yüksek redoks kapasitesine sahip bir redoks polimeriyle dizayn edilen formaldehit biyosensör çalışmasında LOD değeri  $1 \text{ mM}$  (Herschkovitz et al. 2000), Polivinilpiridin polimer



Şekil 3. NAD<sup>+</sup> konsantrasyonunun biyosensör sinyali üzerine etkisi.



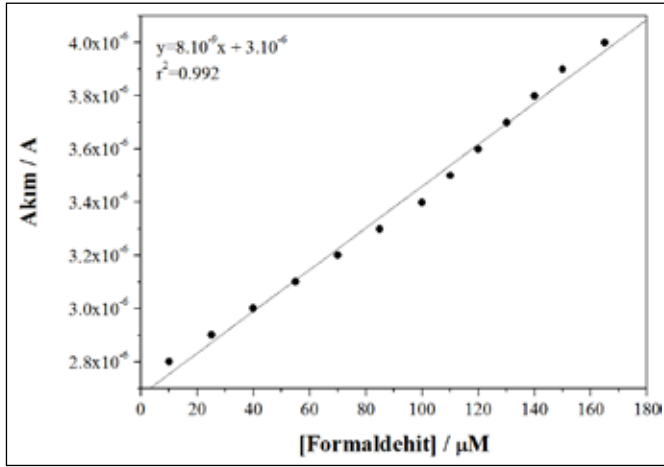
Şekil 4. Naftokinon (NQS) konsantrasyonunun biyosensör sinyali üzerine etkisi.



Şekil 5. Artan konsantrasyonlarda formaldehit eklemeleri sonucu biyosensörden elde edilen akım değerleri.

**Çizelge 1.** Ölçüm analitik parametreleri.

Optimum Voltaj (V)	Yanıt Süresi (s)	R <sup>2</sup>	Ölçüm Hassasiyeti (nA/μM)	Doğrusal Ölçüm Aralığı (μM)	LOD (μM)	%RSD
-0.2	12	0.992	8	10-165	2	1.5

**Şekil 6.** Biyosensörden elde edilen formaldehit kalibrasyon eğrisi.

tabanlı başka bir çalışmada ise, bu değer 3 μM olarak rapor edilmiştir (Demkiv et al. 2008). Çalışmamızda dizayn edilen biyosensör sistemi ile ppb seviyelerindeki formaldehit konsantrasyonları tespit edilebilmekte, ayrıca geliştirilen biyosensör, havası kirli bölgelerin yağmur sularındaki formaldehit konsantrasyonunun saniye bazında ölçülmesine olanak sağlamaktadır.

Biyosensör sistemlerinde ölçüm hassasiyeti genel olarak enzimin analite ilgisine, kullanılan iletken polimerin çeşidine, enzim immobilizasyon metoduna, iletkenliğe ve enzimatik reaksiyonla oluşan ürünlerin stabilitesine bağlıdır. Dizayn edilen biyosensörde formaldehit için Şekil 6'da verilen kalibrasyon eğrisinin eğimini olan ölçüm hassasiyeti 8 nA/μM'dir (0.27 nA/ppb). Elektrot yüzeyinde reaksiyona giren enzimin miktarı birçok formaldehit biyosensör çalışmasına göre az (120 μg) olmasına rağmen, bu çalışmalara kıyasla elde edilen ölçüm hassasiyetinin yüksek olduğu anlaşılmaktadır (Zhen et al. 2007, Achmann et al. 2008a, Hammerle et al. 2008, Shimomura et al. 2008, Ben Ali et al. 2007). Ayrıca bu çalışmalarda bağlanan enzim miktarı mg mertebesinde ve çalışma elektrotlarının yüzeyleri çalışmamızda kullanılan elektrot yüzeyinden oldukça geniştir. Örneğin, 15 mm çapında (25 kat fazla yüzey alanına sahip) grafit elektrot kullanılarak hazırlanan bir formaldehit biyosensörü çalışmasında elektrot yüzeyinde bağlı bulunan enzim miktarı 1.2 mg (10 kat fazla enzim bağlanmış) gibi yüksek bir miktar olmasına rağmen ölçüm hassasiyetinin bu

çalışmaya göre sadece 1.6 kat (13 nA/μM) fazla olduğu rapor edilmiştir (Achmann et al. 2008b). Osmium tabanlı redoks polimeri kullanılarak yapılan başka bir çalışmada potasyum ferrisiyanür, metilen mavisi, ferrosen ve prusyan mavisi elektron araçları olarak sistemde kullanılmış ve formaldehit için ölçüm hassasiyeti sadece 0.00253 nA/μM olarak hesaplanmıştır (Demkiv et al. 2008). Elektriksel iletkenliği yüksek ve son zamanların gözde nanomateryali olan karbon nanotüplerle hazırlanmış başka bir çalışmada ise hassasiyetin 0.6 nA/μM olduğu belirtilmiştir (Bareket et al. 2010). Formaldehit için geliştirilmiş diğer biyosensör çalışmalarında ölçüm hassasiyetleri 0.002-5 nA/μM arasında değişim göstermiştir (Herschkovitz et al. 2000, Hammerle et al. 2008, Shimomura et al. 2008). Literatüre kıyasla, elde ettiğimiz yüksek ölçüm hassasiyeti, enzim ve elektrot arasında gerçekleşen elektron transferinin, NQS elektron aracısının varlığıyla hızlandırılmasına ve enzim immobilizasyon metodunun ılımlı şartlarda ve enzimi fazla yıpratmadan gerçekleştirilmiş olmasına dayandırılabilir. Çalışmamızda enzim immobilizasyonu, polimerizasyon sırasında enzimi polimerde oluşan çapraz bağ ağları arasında hapsedilmesi suretiyle sağlanmış, enzim kimyasal olarak yüzeyde bağ yapmamıştır.

Dizayn edilen biyosensör, formaldehiti 12 saniye gibi kısa bir sürede ölçebilmiştir. Biyosensörün işletme kararlılığının tespiti için, 0.5 mM NAD<sup>+</sup> ve 1 mM NQS içeren 0,1 M pH 8 fosfat tamponunun 10 mL'sine -0.2 V'luk çalışma potansiyeli altında, ard arda 20 defa 45 μM'lık formaldehit eklemeleri yapılmış ve elde edilen akım değişimlerinin % standart sapma değeri (%RSD) 1.5 olarak hesaplanmıştır. %RSD değerinin küçük olduğu görülmüştür ve bu değer biyosensörün ölçümler arası kararlılığının iyi olduğunu göstermiştir.

#### 4. Sonuç

Çalışmada iletken Polipirol film ile kaplı çalışma elektrodundan oluşan bir formaldehit biyosensörü geliştirilmiştir. Biyosensörün formaldehit için doğrusal ölçüm aralığı 10-165 μM (0.3-4.95 ppm), belirleme limiti 2 μM (60 ppb), %RSD 1.5 ve ölçüm hassasiyeti ise 8 nA/μM (0.27 nA/ppb) olarak hesaplanmıştır. Biyosensöre 120 μg enzim bağlanmış ve formaldehit ölçümleri 12 saniye gibi kısa bir

sürede tamamlanabilmiştir. Sistemden elde edilen analitik parametreler, dizayn edilen biyosensörün formaldehiti hızlı ve yüksek hassasiyetle ölçtüğünü göstermiştir. Ölçümlerde naftokinonun (NQS) kullanılması sayesinde, enzim ve elektrot arasında gerçekleşen elektron akışı hızlandırılmış ve biyosensörün formaldehite karşı yüksek sinyaller üretilmesi sağlanabilmiştir.

## 5. Kaynaklar

- Achmann, S., Hammerle, M., Moos, R. 2008a.** Amperometric enzyme-based biosensor for direct detection of formaldehyde in the gas phase: Dependence on electrolyte composition. *Electroanal.*, 20: 410-417.
- Achmann, S., Hermann, M., Hilbrig, F., Jerome, V., Hammerle, M., Freitag, R., Moos, R. 2008b.** Direct detection of formaldehyde in air by a novel NAD<sup>+</sup> and glutathione-independent formaldehyde dehydrogenase-based biosensor. *Talanta*, 75: 786-791.
- Bareket, L., Rephaeli, A., Berkovitch, G., Nudelman, A., Rishpon, J. 2010.** Carbon nanotubes based electrochemical biosensor for detection of formaldehyde released from a cancer cell line treated with formaldehyde-releasing anticancer prodrugs. *Bioelectrochem.*, 77: 94-99.
- Ben Ali, M., Gonchar, M., Gayda, G., Paryzhak, S., Maaref, MA., Jaffrezic-Renault, N., Korpan, Y. 2007.** Formaldehyde-sensitive sensor based on recombinant formaldehyde dehydrogenase using capacitance versus voltage measurements. *Biosens. Bioelectron.*, 22: 2790-2795.
- Bradford, MM. 1976.** A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal. Biochem.*, 72: 248-254.
- Can F, Korkut Ozoner, S., Ergenekon, P., Erhan, E. 2012.** Amperometric nitrate biosensor based on Carbon nanotube/ Polypyrrole/Nitrate reductase biofilm electrode. *Mat. Sci. Eng. C-Bio. S.*, 32: 18-23.
- Demkiv, O., Smutok, O., Paryzhak, S., Gayda, G., Sultanov, Y., Guschin, D., Shkil, H., Schuhmann, W., Gonchar, M. 2008.** Reagentless amperometric formaldehyde-selective biosensors based on the recombinant yeast formaldehyde dehydrogenase. *Talanta*, 76: 837-846.
- Descamps, MN., Bordya, T., Huea, J., Mariano, S., Nonglaton, G., Schultz, E., Tran-Thi, T.H., Vignoud-Despond, S. 2011.** Real-time detection of formaldehyde by a sensor. *Procedia Eng.*, 00:1-9.
- Gebicki, J., Marcinek, A., Zielonka, J. 2004.** Transient species in the stepwise interconversion of NADH and NAD(+). *Acc. Chem. Res.*, 37: 379-386.
- Gorton, L., Persson, B., Hale, HL, Boguslavsky, L.I., Karan, HI., Lee, HS., Skotheim, TA., Lan, HL., Okamoto, Y. 1992.** Biosensors and Chemical Sensor, American Chemical Society, Maple Press, PA, York, 56 pp.
- Hammerle, M., Achmann, S., Moos, R. 2008.** Gas diffusion electrodes for use in an amperometric enzyme biosensor. *Electroanal.*, 20: 2279-2286.
- Hasebe, K., Osteryoung, J. 1975.** Differential pulse polarographic detector for high performance liquid chromatography. *Anal. Chem.*, 47: 2412-2418.
- Herschkovitz, Y., Eshkenazi, I., Campbell, CE., Rishpon, J. 2000.** An electrochemical biosensor for formaldehyde. *J. Electroanal. Chem.*, 491: 182-187.
- Kataky, R., Bryce, MR., Goldenberg, L., Hayes, S., Nowak, A. 2002.** A biosensor for monitoring formaldehyde using a new lipophilic tetrathiafulvalene-tetracyanoquinodimethane salt and a polyurethane membrane. *Talanta*, 56: 451-458.
- Korkut Ozoner, S., Erhan, E., Yılmaz, F., Ergenekon, P., Anıl, İ. 2013.** Electrochemical biosensor for detection of formaldehyde in rain water. *J. Chem Technol. Biotechnol.*, 88: 727-732.
- Korpan, YI., Gonchar, MV., Sibirny, AA., Martelet, C., El'skaya, AV., Gibson, TD., Soldatkin, AP. 2000.** Development of highly selective and stable potentiometric sensors for formaldehyde determination. *Biosens. Bioelectron.*, 15: 77-83.
- Seyfioglu, R., Odabaşı, M., Çetin, E. 2006.** Wet and dry deposition of formaldehyde in Izmir, Turkey. *Sci. Total Environ.*, 366: 809-818.
- Shimomura, T., Itoh, T., Sumiya, T., Mizukami, F., Ono, M. 2008.** Electrochemical biosensor for the detection of formaldehyde based on enzyme immobilization in mesoporous silica materials. *Sensor. Actuat. B-Chem*, 135: 268-275.
- Vianello, F., Boscolo-Chio, R., Signorini, S., Rigo, A. 2007.** On-line detection of atmospheric formaldehyde by a conductometric biosensor. *Biosens. Bioelectron.*, 22: 920-925.
- Zhen, YQ., Wang, SE., Xiao, WX., Yuan, HY., Xiao, D. 2007.** A fluorescent dosimeter for formaldehyde determination using the Nash reagent in silica gel beads. *Microchim. Acta*, 159: 305-310.