

T.C.
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
Analitik Kimya Anabilim Dalı

**AMİNO VE MERKAPTO FENİL BORONİK ASİT-Cu(II)
HİBRİD NANO YAPILARIN SENTEZİ, ENZİM MİMİK
AKTİVİTESİNİN VE HEDEFLİ ANTI-BAKTERİYEL
AJAN OLARAK KULLANIMININ İNCELENMESİ**

Hazırlayan
Kasım BÜYÜKBEZİRCİ

Danışman
Doç. Dr. Vedat YILMAZ

Yüksek Lisans Tezi

Ocak 2020
KAYSERİ

T.C.
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
Analitik Kimya Anabilim Dalı

**AMİNO VE MERKAPTO FENİL BORONİK ASİT-Cu(II)
HİBRİD NANO YAPILARIN SENTEZİ, ENZİM MİMİK
AKTİVİTESİNİN VE HEDEFLİ ANTI-BAKTERİYEL
AJAN OLARAK KULLANIMININ İNCELENMESİ**

(Yüksek Lisans Tezi)

Hazırlayan
Kasım BÜYÜKBEZİRCİ

Danışman
Doç. Dr. Vedat YILMAZ

**Bu çalışma Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi
tarafından TYL-2018-8326 kodlu proje ile desteklenmiştir.**

Ocak 2020
KAYSERİ

BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK

Bu çalışmadaki tüm bilgilerin, akademik ve etik kurallara uygun bir şekilde elde edildiğini beyan ederim. Aynı zamanda bu kural ve davranışların gerektirdiği gibi, bu çalışmanın özünde olmayan tüm materyal ve sonuçları tam olarak aktardığımı ve referans gösterdiğimi belirtirim.

Adı-Soyadı: Kasım BÜYÜKBEZİRCİ

İmza:



YÖNERGEYE UYGUNLUK ONAYI

“Amino ve Merkпто Fenil Boronik Asit-Cu(II) Hibrid Nano Yapıların Sentezi, Enzim Mimik Aktivitesinin ve Hedefli Anti-bakteriyel Ajan Olarak Kullanımının İncelenmesi” adlı Yüksek Lisans Tezi, Erciyes Üniversitesi Lisansüstü Tez Önerisi ve Tez Yazma Yönergesi’ ne uygun olarak hazırlanmıştır.

Tezi Hazırlayan

Kasım BÜYÜKBEZİRCİ

Danışman

Doç. Dr. Vedat YILMAZ

Anabilim Dalı Başkanı

Prof. Dr. İbrahim NARİN

Doç. Dr. Vedat YILMAZ danışmanlığında **Kasım BÜYÜKBEZİRCİ** tarafından hazırlanan “**Amino ve Merkapto Fenil Boronik Asit-Cu(II) Hibrid Nano Yapıların Sentezi, Enzim Mimik Aktivitesinin ve Hedefli Anti-bakteriyel Ajan Olarak Kullanımının İncelenmesi**” konulu bu çalışma, jürimiz tarafından Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü **Analitik Kimya** Anabilim Dalında **Yüksek Lisans** tezi olarak kabul edilmiştir.

.../.../2020

JÜRİ**İMZA**

Danışman : Doç. Dr. Vedat YILMAZ
(Erciyes Üniv. Eczacılık Fak. Analitik Kimya ABD)

Üye : Doç. Dr. Tülay OYMAK
(Sivas Cumhuriyet Üniv. Eczacılık Fak. Analitik Kimya ABD)

Üye : Doç. Dr. Ahmet CUMAĞLU
(Erciyes Üniv. Eczacılık Fak. Biyokimya ABD)

ONAY:

Bu tezin kabulü Enstitü Yönetim Kurulununtarih ve Sayılı kararı ile onaylanmıştır.

...../...../.....

Prof. Dr. Bilal AKYÜZ
Enstitü Müdürü

TEŞEKKÜR

Bu çalışmanın planlanmasında ve yürütülmesinde, çalışmalarım süresince benden bilgi, destek ve hoşgörülerini esirgemeyen sayın danışman hocalarım Doç. Dr. Vedat YILMAZ ve Doç. Dr. İsmail ÖÇSOY' a sonsuz saygı ve şükranlarımı sunarım.

Geniş bilgi ve deneyimleri ile deneysel ve teorik aşamalarda değerli yardımlarını, insani ilişkilerde samimiyetini esirgemeyen sayın hocam, Doç. Dr. Ahmet CUMAOĞLU' na ve değerli ailesine teşekkürlerimi sunarım.

Ayrıca deneysel aşamalarda yardımlarını esirgemeyen sayın Arş. Gör. Süheyl Furkan KONCA ve Arş. Gör. Ufuk İNCE' ye

Manevi desteklerini her zaman hissettiğim sayın Prof. Dr. Ayşe EKEN, Dr. Öğr. Üyesi İffet İpek BOŞGELMEZ, Arş. Gör. Dr. Dönay YUVALI, Öğr. Gör. Hanifa FATULLAYEV, Öğr. Gör. Hatice BEKÇİ, Arş. Gör. Gökhan SARP, Arş Gör. Kübra UZUN ve Dr. İbrahim AYDIN'a teşekkürü bir borç bilirim.

Kayseri'de geçirdiğim süre boyunca iş arkadaşlığından öte samimiyetlerini ve yardımlarını esirgemeyen her sevincimde yanımda, her olumsuzlukta ardımda olarak tabir yerindeyse buradaki ailem olan sayın ablam Elif TUĞRUL ve sayın abim Dr. Çağlayan KOCAKAYA ve kıymetli ailelerine şükranlarımı sunarım.

Çalışma hayatım boyunca yardımlarını esirgemeyen Eczacılık Fakültesi'nin değerli personellerine,

Aletli analizler ve ile yapılan çalışmalarda yardımlarından dolayı Sayın ERNAM ve TAUM çalışanlarına,

ve...

Bugünlere gelmem de en büyük pay sahibi olan hayatım boyunca her fedakarlığı gösteren, sevgilerini ve desteklerini bir an olsun esirgemeyen canım anneme, canım babama, ablalıktan çok ikinci annelerim olan canım ablalarım, sevincimiz canımın içi Ceren'ime ve güzel ailemin tüm fertlerine...

Şükranlarımı sunarım.

Kasım BÜYÜKBEZİRCİ

Kayseri, Ocak 2020

AMİNO VE MERKAPTO FENİL BORONİK ASİT-Cu(II) HİBRİD NANO YAPILARIN SENTEZİ, ENZİM MİMİK AKTİVİTESİNİN VE HEDEFLİ ANTİ-BAKTERİYEL AJAN OLARAK KULLANIMININ İNCELENMESİ

Kasım BÜYÜKBEZİRCİ

**Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Analitik Kimya Anabilim Dalı
Yüksek Lisans Tezi, Ocak 2020
Danışman: Doç. Dr. Vedat YILMAZ**

ÖZET

Bu çalışmada, ilk defa organik bileşen olarak 3-aminofenil boronik asit (APBA) ve 4-merkaptofenil boronik (MPBA) asit; inorganik bileşen olarak bakır(II) iyonu kullanılarak iki yeni organik-inorganik çiçek şekilli hibrit nano yapılar (ÇHNY) sentezlendi. Hibrit nanoyapıların morfolojisi üzerine pH'nın etkisi pH 4 ile pH 10 arasında incelendi. Hibrit nano yapıların sentezi için, 0,8 mM CuSO₄ çözeltisi 0,02 mg mL⁻¹ derişiminde organik bileşen (APBA veya MPBA) içeren fosfat tamponu (PBS) çözeltisine ilave edildi ve çözeltilerin pH değerleri Cu(II)-APBA ÇHNY'ler için pH 5,0'a ve Cu(II)-MPBA ÇHNY'ler için pH 6,0'a ayarlandı. Elde edilen çözeltiler 25 °C'de 3 gün süre ile inkübe edildi. Hibrit nano yapılar SEM, FT-IR, EDX ve XRD ile karakterize edildi. ABPA-Cu(II) ve MPBA-Cu(II) ÇHNY'ler bakteriyel patojenlere (*E. coli* ATCC 35218 ve *S. aureus* ATCC 2592) ve mantar patojenlere (*C. albicans* ATCC 10231) karşı serbest formlarına kıyasla belirtilen konsantrasyonlarda (0,5-2,0 mg mL⁻¹) etkili bir antimikrobiyal etkinlik gösterdi. Ek olarak, ABPA-Cu (II) ve MPBA-Cu (II) ÇHNY'lerin Fenton benzeri reaksiyonu üzerinden model bir kromojenik substrat olarak guaiacol'a karşı peroksidaz benzeri aktivitelere sahip oldukları da gösterildi.

Anahtar Kelimeler: Amino fenil boronik asit, Merkapto fenil boronik asit, Hibrit nano yapı, Enzim mimik aktivite, Anti-mikrobiyal ajan

**SYNTHESIS OF AMINO AND MERCAPTO-PHENYL BORONIC ACID-CU (II)
HYBRID NANO STRUCTURES, INVESTIGATION OF ENZYME MIMIC
ACTIVITY AND ITS USE AS A TARGETED ANTI-BACTERIAL AGENT**

Kasım BÜYÜKBEZİRCİ

**Erciyes University, Institute of Health Sciences,
Analytical Chemistry Program,
Master Thesis, January 2020
Supervisor: Doç. Dr. Vedat YILMAZ**

ABSTRACT

In this study, two novel organic-inorganic hybrid nanoflowers (HNFs) were prepared for the first time using 3-aminophenyl boronic acid (APBA) and 4-mercaptophenyl boronic acid (MPBA) as organic components and copper (II) ion. The effects of the pH values on morphologies of the HNFs were examined between pH 4 and pH 10. For formation of the HNFs, 0.8 mM CuSO₄ solution was added to phosphate-buffered saline solution (PBS) containing 0,02 mg mL⁻¹ organic component (APBA or MPBA), and then the pHs of the solutions were adjusted to pH 5 and pH 6.0 for ABPA-Cu (II) HNFs and MPBA-Cu (II) HNFs, respectively. The resulting solutions were incubated at 25 °C for three days. The HNFs were characterized by SEM, FT-IR, EDX, and XRD. The ABPA-Cu (II) HNFs and MPBA-Cu (II) HNFs showed effective antimicrobial activity against bacterial (*E. coli* ATCC 35218 and *S. aureus* ATCC 25923) and fungal pathogens (*C. albicans* ATCC 10231) at the indicated concentrations (0.5-2.0 mg mL⁻¹) compared to their free forms. Additionally, It was also demonstrated that the nanoflowers exhibited peroxidase-like activities towards guaiacol as a model chromogenic substrate owing to Fenton like reaction.

Key words: Amino phenyl boronic acid, mercapto phenyl boronic acid, hybrid nano structure, enzyme mimic activity, anti-microbial agent

İÇİNDEKİLER

AMİNO VE MERKAPTO FENİL BORONİK ASİT-Cu(II) HİBRİD NANO YAPILARIN SENTEZİ, ENZİM MİMİK AKTİVİTESİNİN VE HEDEFLİ ANTI-BAKTERİYEL AJAN OLARAK KULLANIMININ İNCELENMESİ

| | |
|--|-----|
| BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK..... | i |
| YÖNERGEYE UYGUNLUK ONAYI..... | ii |
| ONAY: | iii |
| TEŞEKKÜR | iv |
| ÖZET | v |
| ABSTRACT | vi |
| İÇİNDEKİLER..... | vii |
| KISALTMALAR VE SİMGELER | x |
| ŞEKİLLER LİSTESİ | xi |
| 1. GİRİŞ VE AMAÇ..... | 1 |
| 2.GENEL BİLGİLER | 3 |
| 2.1. NANOTEKNOLOJİ TERİMİ | 3 |
| 2.2. NANOMALZEMELER..... | 4 |
| 2.2.1. Nanomalzemelerin sınıflandırılması..... | 5 |
| 2.2.2. Nanomalzeme elde etme yöntemleri | 6 |
| 2.2.2.1. Yukarıdan aşağıya | 6 |
| 2.2.2.2. Aşağıdan yukarıya | 7 |
| 2.3. NANOTEKNOLOJİ VE NANOMALZEMELERİN UYGULAMA ALANLARI..... | 8 |
| 2.4. NANOTEKNOLOJİ VE NANOMALZEMENİN DÜNYADA KULLANIM ALANLARI VE UYGULAMALARI | 9 |
| 2.5. NANOMALZEME ÜRETİM YÖNTEMLERİ..... | 10 |
| 2.5.1. Kimyasal Buhar Yoğunlaştırma Yöntemi | 10 |
| 2.5.2. Asal Gaz Yoğunlaştırma (AGY) Yöntemi | 10 |
| 2.5.3. Hidrojen Redüksiyon Yöntemi..... | 11 |
| 2.5.4 Alev Sentezi Yöntemi..... | 11 |
| 2.5.5. Mekanik Aşındırma Yöntemi..... | 11 |
| 2.6. MİKROPLAR..... | 11 |

| | |
|--|----|
| 2.6.1. Bakteriler..... | 11 |
| 2.6.1.1. <i>Escherichia coli</i> | 12 |
| 2.6.1.2. <i>Staphylococcus aureus</i> | 12 |
| 2.6.1.3. <i>Candida albicans</i> | 12 |
| 2.7.ENZİMLER..... | 12 |
| 2.7.1. Enzim Tarihçesi..... | 12 |
| 2.7.2. Enzim Çeşitleri | 14 |
| 2.7.3. Enzimlerde Seçicilik..... | 14 |
| 2.7.4. Enzim Aktivitesi..... | 16 |
| 2.7.5. Enzim İmmobilizasyonu..... | 16 |
| 2.7.6. İmmobilizasyon Yöntemleri..... | 18 |
| 2.7.6.1. Adsorpsiyon | 18 |
| 2.7.6.2. İyonik Bağlama..... | 19 |
| 2.7.6.3. Hapsetme | 19 |
| 2.7.6.4. Kapsülleme..... | 20 |
| 2.7.6.5. Çapraz bağlama | 21 |
| 2.7.6.6. Kovalent Bağlanma..... | 21 |
| 2.7.6.7. Hibrit Nano Yapılar..... | 22 |
| 3.GEREÇ VE YÖNTEM | 25 |
| 3.1. GEREÇ..... | 25 |
| 3.1.1. Çalışmada Kullanılan Cihazlar..... | 25 |
| 3.1.2. Çalışmada Kullanılan Sarf Malzeme ve Kimyasallar..... | 26 |
| 3.1.3. Çalışmada Kullanılan Çözeltiler ve Hazırlanışı | 26 |
| 3.2. YÖNTEM..... | 28 |
| 3.2.1. Çiçek Şekilli Hibrit Nanoyapıların Sentezlenmesi..... | 28 |
| 3.2.2. Antimikrobiyal ve Antifungal Aktivitenin Belirlenmesi..... | 29 |
| 3.2.3. Katalitik Aktivitenin Belirlenmesi | 29 |
| 4. BULGULAR | 31 |
| 4.1. HİBRİD NANO YAPILARIN KARAKTERİZASYONU..... | 31 |
| 4.1.1. Hibrid Nano Yapıların Sentez pH'sının SEM Görüntüleri ile Belirlenmesi..... | 31 |
| 4.1.2. FT-IR Spektrumları | 37 |
| 4.1.3. XRD Spektrumları..... | 39 |

| | |
|---|----|
| 4.1.4. EDX Spektrumları | 40 |
| 4.2. HİBRİD NANO YAPILARIN ANTİMİKROBİYAL ETKİSİ | 41 |
| 4.2.1. APBA-Cu ²⁺ ve MPBA-Cu ²⁺ Hibrid Nano Yapıların <i>E. coli</i> Bakterisine Karşı Antimikrobiyal Etkisi | 41 |
| 4.2.2. APBA-Cu ²⁺ ve MPBA-Cu ²⁺ Hibrid Nano Yapıların <i>S. aureus</i> Bakterisine Karşı Antimikrobiyal Etkisi | 42 |
| 4.2.3. APBA-Cu ²⁺ ve MPBA-Cu ²⁺ Hibrid Nano Yapıların <i>C. albicans</i> Mantara Karşı Antifungal Etkisi..... | 44 |
| 5. TARTIŞMA VE SONUÇ..... | 48 |
| 6.KAYNAKLAR | 50 |
| EKLER | |
| ÖZGEÇMİŞ | |

KISALTMALAR VE SİMGELER

| | |
|----------------------------------|---|
| AGY | : Asal Gaz Yoğunlaştırma |
| APBA | : 3- aminofenil boronik asit |
| Ar | : Argon |
| BSA | : Bovine Serum Albumin |
| Cfu | : Colony Forming Units |
| Cu | : Bakır |
| CuSO ₄ | : Bakır II sülfat |
| ÇHNY | : Çiçek Şekilli Hibrit Nano Yapı |
| HCl | : Hidroklorik asit |
| He | : Helyum |
| H ₂ O ₂ | : Hidrojen peroksit |
| IUBMB | : Union of Biochemistry and Molecular Biology |
| KCl | : Potasyum klorür |
| KH ₂ PO ₄ | : Potasyum dihidrojen fosfat |
| L | : Litre |
| M | : Molar |
| Mbar | : Milibar |
| mL | : Mililitre |
| mm | : Milimetre |
| mmol | : Milimol |
| mg | : Miligram |
| MPBA | : 4-merkpto fenil boronik asit |
| N | : Azot |
| NaCl | : Sodyum klorür |
| Na ₂ HPO ₄ | : Disodyum hidrojen fosfat |
| NaOH | : Sodyum hidroksit |
| NMI | : Ulusal Nanoteknoloji Girişimi |
| Nm | : Nanometre |
| µL | : Mikrolitre |

ŞEKİLLER LİSTESİ

| | <u>Sayfa no</u> |
|--------------------|--|
| Şekil 2.1. | Nanoteknoloji boyutsal çalışma alanı 5 |
| Şekil 2.2. | Nanomalzeme boyutları 6 |
| Şekil 2.3. | Yukarıdan aşağıya sentez yönteminin şematik gösterimi 7 |
| Şekil 2.4. | Aşağıdan yukarıya sentez yönteminin şematik gösterimi..... 8 |
| Şekil 2.5. | Maltaz enziminin maltozu parçalama reaksiyonu..... 15 |
| Şekil 2.6. | Pepsin enziminin proteini parçalama reaksiyonu 15 |
| Şekil 2.7. | Adsorbsiyon metodu ile immobilizasyon yöntemi 19 |
| Şekil 2.8. | İyonik bağlama metodu ile immobilizasyon yöntemi 19 |
| Şekil 2.9. | Hapsetme metodu ile immobilizasyon yöntemi..... 20 |
| Şekil 2.10. | Kapsülleme metodu ile immobilizasyon yöntemi..... 20 |
| Şekil 2.11. | Çapraz bağlama metodu ile immobilizasyon yöntemi 21 |
| Şekil 2.12. | Kovalent bağlama metodu ile immobilizasyon yöntemi..... 22 |
| Şekil 2.13. | Çiçek şekilli hibrid nano yapıların immobilizasyon yöntemi (Ge ve ark.,2012)..... 23 |
| Şekil 4.1. | pH 4'te sentezlenen APBA-Cu ⁺² ÇHNY'ların SEM görüntüleri 32 |
| Şekil 4.2. | pH 5'de sentezlenen APBA-Cu ⁺² ÇHNY'ların SEM görüntüleri..... 32 |
| Şekil 4.3. | pH 6'da sentezlenen APBA-Cu ⁺² ÇHNY'ların SEM görüntüleri..... 33 |
| Şekil 4.4. | pH 7'de sentezlenen APBA-Cu ⁺² ÇHNY'ların SEM görüntüleri..... 33 |
| Şekil 4.5. | pH 8'de sentezlenen APBA-Cu ⁺² ÇHNY'ların SEM görüntüleri..... 33 |
| Şekil 4.6. | pH 9'da sentezlenen APBA-Cu ⁺² ÇHNY'ların SEM görüntüleri..... 34 |
| Şekil 4.7. | pH 10'da sentezlenen APBA-Cu ⁺² ÇHNY'ların SEM görüntüleri..... 34 |
| Şekil 4.8. | pH 4'de sentezlenen MPBA-Cu ⁺² ÇHNY'ların SEM görüntüleri 34 |
| Şekil 4.9. | pH 5'de sentezlenen MPBA-Cu ⁺² ÇHNY'ların SEM görüntüleri 35 |
| Şekil 4.10. | pH 6'de sentezlenen MPBA-Cu ⁺² ÇHNY'ların SEM görüntüleri 35 |
| Şekil 4.11. | pH 7'de sentezlenen MPBA-Cu ⁺² ÇHNY'ların SEM görüntüleri 35 |
| Şekil 4.12. | pH 8'de sentezlenen MPBA-Cu ⁺² ÇHNY'ların SEM görüntüleri 36 |
| Şekil 4.13. | pH 9'da sentezlenen MPBA-Cu ⁺² ÇHNY'ların SEM görüntüleri 36 |
| Şekil 4.14. | pH 10'da sentezlenen MPBA-Cu ⁺² ÇHNY'ların SEM görüntüleri 36 |
| Şekil 4.15. | APBA reaktifinin FT-IR spektrumu..... 37 |
| Şekil 4.16. | pH 5'de sentezlenen APBA-Cu ⁺² ÇHNY'ların FT-IR spektrumu 38 |

| | | |
|--------------------|--|----|
| Şekil 4.17. | MPBA reaktifinin FT-IR spektrumu | 38 |
| Şekil 4.18. | pH 6'da sentezlenen MPBA-Cu ⁺² ÇHNY'ların FT-IR spektrumu..... | 38 |
| Şekil 4.19. | pH 5'de sentezlenen APBA-Cu ⁺² ÇHNY'ların XRD spektrumu..... | 39 |
| Şekil 4.20. | pH 6'da sentezlenen MPBA-Cu ⁺² ÇHNY'ların XRD spektrumu | 39 |
| Şekil 4.21. | pH 5'de sentezlenen APBA-Cu ⁺² ÇHNY'ların EDX spektrumu | 40 |
| Şekil 4.22. | pH 6'da sentezlenen MPBA-Cu ⁺² ÇHNY'ların EDX spektrumu | 40 |
| Şekil 4.23. | APBA ve APBA-Cu ²⁺ ÇHNY'ların E.coli ile etkileşim süresinin E.coli canlılığı üzerine etkisi | 41 |
| Şekil 4.24. | MPBA ve MPBA-Cu ²⁺ ÇHNY'ların E.coli ile etkileşim süresinin E.coli canlılığı üzerine etkisi | 42 |
| Şekil 4.25. | APBA ve APBA-Cu ²⁺ ÇHNY'ların S.aureus ile etkileşim süresinin S.aureus canlılığı üzerine etkisi | 43 |
| Şekil 4.26. | MPBA ve MPBA-Cu ²⁺ ÇHNY'ların S.aureus ile etkileşim süresinin S.aureus canlılığı üzerine etkisi | 44 |
| Şekil 4.27. | APBA ve APBA-Cu ²⁺ ÇHNY'ların C.albicans ile etkileşim süresinin C.albicans canlılığı üzerine etkisi | 45 |
| Şekil 4.28. | MPBA ve MPBA-Cu ²⁺ ÇHNY'ların C.albicans ile etkileşim süresinin C.albicans canlılığı üzerine etkisi | 46 |
| Şekil 4.29. | APBA-Cu ²⁺ Hibrid Nano Yapıların katalitik aktivitesi | 47 |

1. GİRİŞ VE AMAÇ

2000'li yılların başlarında yeni nanomalzemelerin ilk çalışmalarından bu yana, nanotozlar, nanotüpler, nanoteller, nanokütleler, nanoyapraklar, nanoçubuklar gibi büyüleyici morfolojileri olan çeşitli nanomalzemeler geliştirilmiştir. Bu yeni nano yapılar arasında çiçek şekilli hibrit nano yapıların (ÇHNY'ların) topografik özellikleri bilim insanlarının adamlarının ilgisini çekmiştir, çünkü nanoçiçeklerin küresel nano parçacıklara kıyasla daha yüksek yüzey/hacim oranına sahip olması yüzey reaksiyonlarının verimliliğinde artış için önemli bir özelliktir. Bu nedenle, nanoçiçek sentezi ve uygulamalarına odaklanan kapsamlı çalışmalar yapılmaktadır (Lee ve ark., 2015).

İlk defa 2012 yılında Zare ve arkadaşları organik bileşen olarak çeşitli protein ve enzimleri (laktalbumin, lakkaz, karbonik anhidraz, lipaz ve BSA), inorganik bileşen olarak Cu^{2+} iyonu kullanarak protein-inorganik hibrit nano yapıları sentezlemişlerdir. Oluşan nano yapıların yüzey morfolojisini tarayıcı elektron mikroskobu ile incelediklerinde, hibrit nano yapıların çiçeklerdeki yapraklara benzer nano boyutta yapraklardan oluştuğunu gözlemlemişlerdir. Oluşan bu hibrit nano yapıların, sentezde kullanılan serbest enzimler ve diğer enzim immobilizasyon teknikleri ile karşılaştırıldığında daha yüksek kararlılığa ve aktiviteye sahip olduğu görülmüştür (Ge ve ark., 2012). Hibrit çiçek şekilli nano yapıların oluşumunun; (I) çekirdek oluşumu, (II) büyüme, (III) yapının doygunluğa ulaşip tamamlanması olmak üzere 3 basamak üzerinden gerçekleşmiş olabileceği düşünülmektedir (Ocsoy ve ark., 2015). Birinci basamak, çözeltideki Cu^{2+} iyonları ile PBS tamponunun yapısında bulunan fosfat iyonlarının bakır-fosfat nanokristallerini oluşturmasıdır. Nanokristallerin çekirdeklenme basamağında enzimler yapılarındaki amin grupları aracılığıyla ile bakır fosfat nanokristalleri üzerine uygun koordinatlarla bağlanır. Büyüme basamağında ise öncül nanokristaller, enzim ile sürekli beslenerek nanokristaller üzerinde büyük yaprakları oluşturur. Büyüme sürecinin en önemli özelliği ise bakır fosfat nanokristalleri üzerine

çiçek yapraklarına benzeyen enzimlerin birbirlerine bağlanmaları için yine enzimlerin tutkal gibi görev almasıdır. Tüm bu basamakların ardından hibrit nano yapı anizotropik büyüme ile üretilmektedir.

Çiçek şekilli nano yapıların oluşum mekanizmaları birçok araştırmacı tarafından aydınlatılmış ve bu yapıların oluşumunda organik bileşenin (enzim veya protein) yapısında bulunan amino ve karboksilik asit gruplarının etkin rol aldıkları rapor edilmiştir. Cu^{2+} iyonlarının bu gruplar ile koordinasyona girerek kompleks oluşturduğu yapılan çalışmalar ile ispatlanmıştır. Bu bilgidен esinlenerek araştırmacılar inorganik bileşen olarak Cu^{2+} iyonları ve organik bileşen olarak doğal amino asitler kullanılarak organik-inorganik hibrit çiçek şekilli nano yapılar sentezlemişlerdir. Böylece ilk defa organik bileşen olarak enzim veya protein kullanılmadan enzim benzeri özellik gösteren çiçek şekilli nano yapılar oluşturmuşlardır (Zhuo ve ark., 2016).

Bu çalışmada, organik bileşen olarak 3-aminofenil boronik asit (APBA) ve 4-merkaptofenil boronik asit (MPBA) molekülleri kullanılarak APBA- Cu^{2+} ve MPBA- Cu^{2+} çiçek şekilli hibrit nano yapıların sentezi, katalitik ve antimikrobiyal özelliklerinin incelenmesi amaçlanmıştır. APBA molekülünün yapısında amino ve hidroksil grupları, MPBA molekülünün yapısında hidroksil ve tiyol grupları üzerinden bakır-fosfat nanokristallerine bağlanarak çiçek şekilli hibrit nano yapıların oluşturulması hedeflenmiştir. Oluşacak hibrit nano yapıların üzerinde bulunan serbest hidroksil (diol) grupları sayesinde bazı bakterilere ve funguslara karşı antimikrobiyal etki gösterme potansiyeline sahip olması beklenmiştir. Ayrıca, oluşan hibrit nano yapıların enzim benzeri bir katalitik aktiviteye sahip olabileceği öngörülmüştür. Tez çalışması sonunda, yukarıda belirtilen çiçek şekilli hibrit nano yapıların sentezi ve karakterizasyonu yapılmış; katalitik ve antimikrobiyal aktivite özellikleri detaylı bir şekilde incelenmiştir.

2.GENEL BİLGİLER

2.1. NANOTEKNOLOJİ TERİMİ

Teknoloji; içinde bulunduğumuz yüzyılda insanlığın belki de aniden kendini içinde bulduğu, hepimizin hayatına neredeyse bir anda giren ve takip etmekte zorlandığımız bir olgudur. Eski çağlardan günümüze kadar gelişen toplumsal, kültürel ve sosyolojik yaşamda gelişen insanlık, hayatı daha kolay ve işler hale getirebilmek için yeni keşifler ve icatların gösterdiği yolda ilerleyerek geçmişten günümüze kadar ‘teknoloji’ dediğimiz terimi hayatımızın her noktasına entegre etmiştir. Gelişen teknoloji ile beraber insanlığın ihtiyacı artış göstermiş ve bu ihtiyaçlar doğrultusunda daha ergonomik, etkin ve maliyeti uygun teknolojik materyallerin üretimine olan istek ve gelişmeler artmıştır.

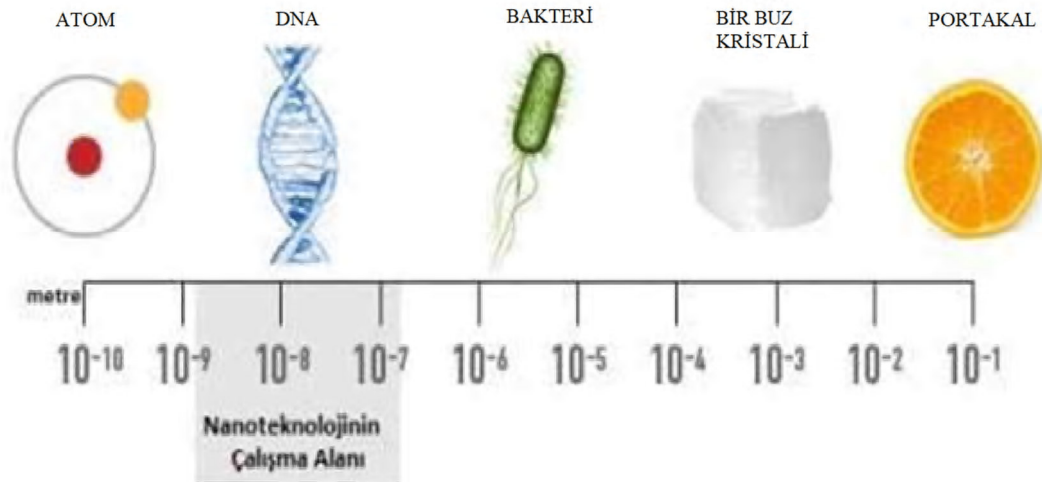
Son yıllarda yapılan çalışmalarda sıkça nanoteknoloji ve nanomalzeme terimleri ile karşılaşmaktayız. Kelime kökeni olarak varsayabileceğimiz ‘Nano’ Yunanca’da ‘Cüce’ ve ‘Yaşlı Adam’ anlamlarını taşımaktadır (Sabzali ve ark. ,2018). Türk Dil Kurumu’na göre nanoteknoloji maddelerin atomik boyutlarda veya moleküler denilecek boyutlarda işlem görerek mikroskobik büyüklükte ürünlerin ortaya çıkma yöntemi olarak tanımlanmaktadır (TDK). Bilimsel çalışmalarda nanoteknoloji; 1 ila 100 nanometre aralığındaki boyutlarda bulunan maddelerin anlaşılması, bunların kontrol edilebilmesi ve uygulanması olarak tanımlanmaktadır. Nanoteknoloji; bilim, teknoloji, tıp ve enerji gibi geniş bir alanda farklı, orijinal, özgün, yeni uygulamalar olarak nitelendirilir. Japon bilim adamı Norio Taniguchi 1974’te nanoteknoloji terimini ilk kez kullanarak nanoteknolojiyi, hassas bir imalat süreci olarak nitelendirmiş ‘ve Atom veya bir molekül ile malzemelerin ayrılması, birleştirilmesi ve işlenmesi’ olarak tanımlamıştır (Zarzycki, 2014).

‘Aşağıda çok yer var’ sözüyle bilimde yeni bir akım başlatan Richard Feynman 1959 yılında atom ve molekülleri hassas bazı aletlerle işleyerek çok küçük boyutlarda malzemeler üretilebileceğinden söz etmiştir. Amerikan Fizik Derneği'nin toplantısında yapılan bu konuşma sonrası nanoteknoloji, çok alanlı bir olguya dönüşmüştür (Zhao ve ark.,2016). Nanoteknoloji sözcüğü bir terim olarak ilk kez Tokyo Bilim Üniversitesi Profesörü Pratima Nikalje Taniguchi tarafından dünyaya tanıtılmıştır. Bu terim, atomik ölçekli boyuta sahip materyallerin hassas şekilde işlenmesini tanımlamak için kullanılmıştır (Parikhani ve ark.).

Özellikle bilgi teknolojileri başta olmak üzere sağlık, tekstil, tarım gibi insanlığın ana ihtiyaç alanlarına hitap eden nanoteknoloji insan varlığında devrim niteliği taşıyan birçok gelişmenin kapısını açmıştır. Nanoteknolojiyle, aygıtların daha küçük yapılmasının en belirgin avantajı, materyal boyutunun küçülmesi ile birlikte performansın katlanarak çoğalmasındır. Diğer bir avantajından bahsetmek gerekirse, belirgin olmamakla birlikte, minyatürize edilmiş aygıtlar, genellikle daha verimli çalışır ve birim başına üretilen aygıtlar daha az maliyete sahiptirler (Ramsden, 2009).

2.2. NANOMALZEMELER

Nanometre, metrenin milyarda biri kadardır. Genel olarak nanoteknolojinin çalışma alanı 1 nm ile 100 nm arasında bir büyüklüğü kapsar. 100 nanometreden daha küçük boyutlarla çalışıldığında maddenin makro boyutlarındaki fiziksel özellikleri (mekanik, optik, elektriksel vb.) nano boyut bölgesine göre daha çok farklılık göstermektedir. Bu bölgeye kısaca “kuantum alanı” denir. Makro ölçekteki ışığı ve havayı geçirmeyen (opak) bir malzeme nano boyutlarda şeffaf hale gelebilir ve çözünmeyen maddeler çözünür hale gelebilir (Lubick ve Betts, 2008). 1-100 nm aralığında boyut büyüklüğüne sahip malzemeler nanomalzeme olarak adlandırılır. Nanomalzemeler doğal olarak var olmuş ya da çeşitli yöntemlerle disiplinize bir çalışma sonucu elde edilmiş olabilirler. Nano yapıya sahip malzemeler genellikle benzersiz optik, elektronik veya mekanik özelliklere sahip ürünlerdir (Buzae ve ark., 2007). Şekil 2.1.’de nano boyutu ifade edebilmek için bazı örnekler gösterilmektedir.



Şekil 2.1. Nanoteknoloji boyutsal çalışma alanı

Malzeme ebatı makro boyuttan nano boyuta geçerken güç/ağırlık oranı, iletkenlik, optik ve manyetik özellikleri göz ardı edilemeyecek biçimde değişmektedir (Rao ve ark., 2007).

2.2.1. Nanomalzemelerin sınıflandırılması

Nanomalzemeler buldukları ya da sentezlendikleri duruma göre 4 boyut grubuna ayrılırlar. Bunlar;

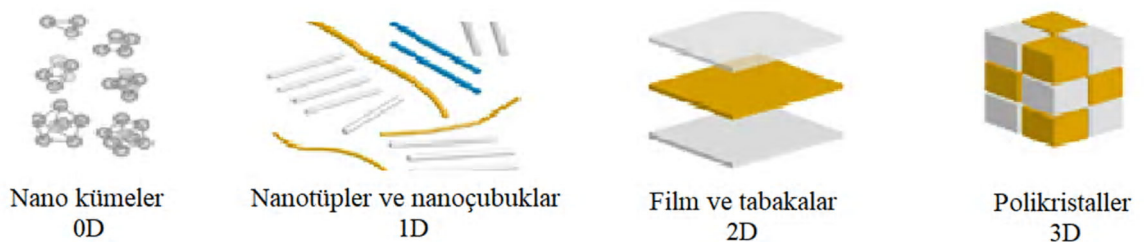
- Sıfır Boyutlu Nanomalzemeler (0D),
- Tek Boyutlu Nanomalzemeler (1D),
- İki Boyutlu Nanomalzemeler (2D),
- Üç Boyutlu Nanomalzemeler (3D).

Sıfır boyutlu nanomalzemeler nanotoz ya da nanodispersiyon şeklinde, birbirinden izole halde bulunan malzeme grubunu oluşturmaktadır. Günümüzde bu malzemeler çok farklı şekillerde bulunmaktadır ve çeşitli araştırma grupları tarafından sentezlenmektedir. 0D malzemelere örnek olarak homojen kuantum noktacıkları (quantum dots), çekirdek (core shell) nanoparçacıkları içi boş nanoküreler (hollow nanospheres) ve fullerenler (Buckyballs) örnek gösterilebilir.

Bir boyutlu nanomalzemeler nanotüpler, fiberler, filamentler, spirallerdir ve nanoçubuklardır. 1D günümüzde giderek önem kazanmaktadır. Bu malzemeleri önemli kılan şey çok farklı multi disiplinler arasında bağlantı kurmasıdır. 1D nanomalzemeler özellikle elektronik ve kompozit malzeme üretiminde, alternatif enerji kaynaklarının kullanılması ve geliştirilmesinde yaygın olarak kullanılmaktadırlar.

İki Boyutlu Nanomalzemeler (2D), bu malzemelerin keşfi grafen ile başlayarak gelişimi günümüzde halen devam etmektedir. 2D malzemelere nanometrik boyuttaki film ve kaplama malzemeleri örnek olarak gösterilebilir.

Üç Boyutlu Nanomalzemeler (3D), bu materyaller çok katmanlı, toz yapılı ve çoklu kristal yapılara sahip malzemeleri oluşturmaktadırlar. 3D nanomalzemelere elmas ve grafit örnek gösterilebilir. Şekil 2.2.'de yapısal boyutta nanomateryaller şeklen izah edilmiştir.



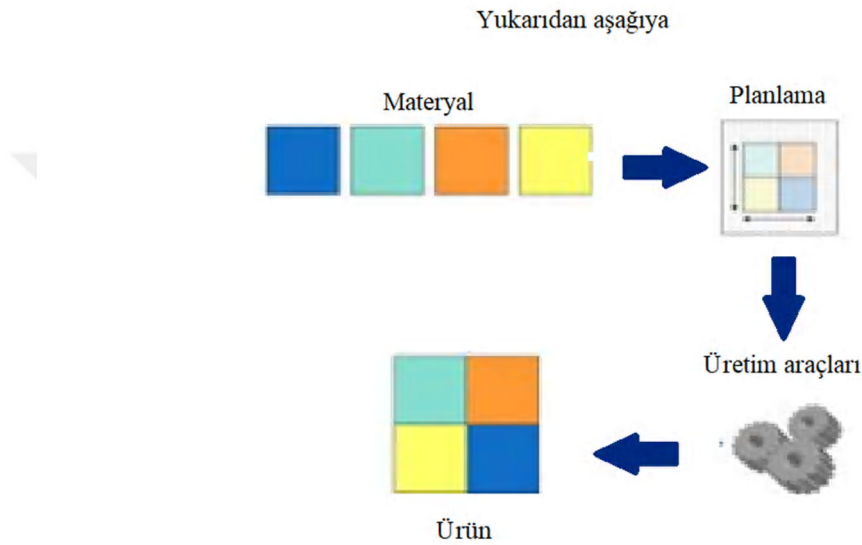
Şekil 2.2. Nanomalzeme boyutları

2.2.2. Nanomalzeme elde etme yöntemleri

2.2.2.1. Yukarıdan aşağıya

Bu yöntem anlam olarak büyük boyutlara sahip olan malzemelerin yüksek enerji ortamında mekanik ve kimyasal bazı işlemlere tabi tutularak nano ölçekte malzeme üretimi esasına dayanmaktadır. Yöntemin gerçekleştirilebilmesi için kullanılan yüksek enerji ihtiyacından dolayı bu sentez yönteminde yüksek üretim maliyeti oluşur. Bu metot ile ilgili üretim yöntemleri genellikle mekanik aşındırma, elektro patlama, dağlama, ısı (termik) yöntem, dönen soğuk yüzeyde katılaştırma, gaz atomizörü,

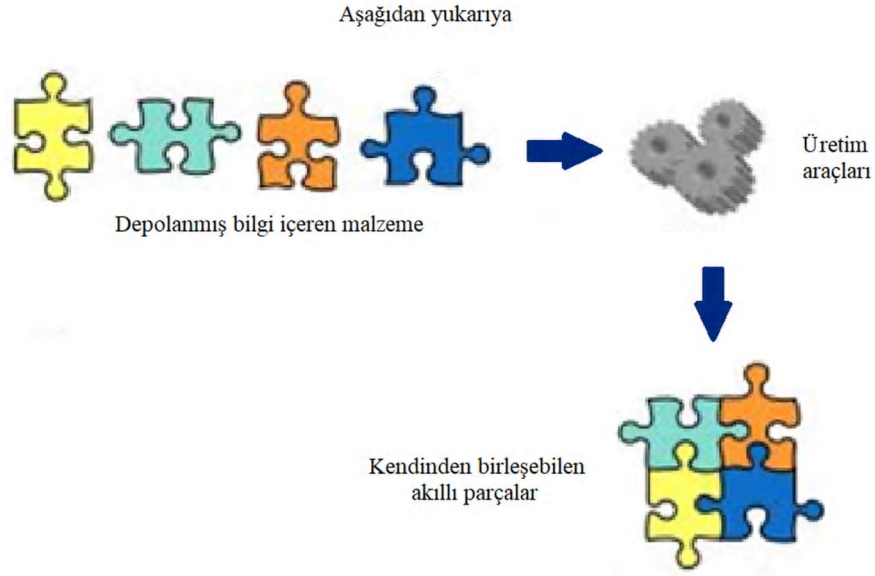
yüksek enerji, litografi, aşırı ultraviyole ve yumuşak litografi teknikler ile elde edilmektedir (Hosokawa, 2007). Üretim zamanı-ürün ilişkisi değerlendirildiğinde bu yöntem vasıtasıyla daha az miktarda nanomalzeme oluştuğu bilinmektedir. Bu yöntem aynı zamanda mekanik, yüksek enerji, ısı (termik), kimyasal işlemler ve doğal yöntemler olarak da isimlendirilmektedir (Wolfgang, 2004). Yukarıdan aşağıya üretim yöntemi Şekil 2.3.'te şeklen izah edilmiştir.



Şekil 2.3. Yukarıdan aşağıya sentez yönteminin şematik gösterimi

2.2.2.2. Aşağıdan yukarıya

Aşağıdan yukarıya üretim metodu ise atom ya da moleküler düzeyde bulunan parçacıkların belli yöntemler vasıtasıyla sentezlenerek nano boyuta sahip bir nanomalzeme üretimini oluşturmaktadır. Bu yöntem diğer yöntemlere oranla maliyet açısından daha uygun ve daha az zamanda gerçekleştirilir. Bu yöntem nano boyutta olan atom ya da moleküllerin kimyasal işlemlere tabi tutularak yeni nano ölçeğe sahip malzeme üretimine imkân tanır. Bu metoda ait bazı yöntemler, asal gaz yoğunlaştırma, alev sentezi, kimyasal buhar yoğunlaştırma, moleküler huzme, atom tabaka çökmesi, yanma, yaş kimyasal sentez, elektro-patlama, lazer ablasyonu, sol-jel ve ultrasonik sprey piroliz gibi üretim yöntemleridir (Hosokawa, 2007). Aşağıdan yukarıya üretim yöntemi Şekil 2.4.'de şeklen izah edilmiştir.



Şekil 2.4. Aşağıdan yukarıya sentez yönteminin şematik gösterimi

2.3. NANOTEKNOLOJİ VE NANOMALZEMELERİN UYGULAMA ALANLARI

Tarihsel sürece bakıldığında süregelen teknolojik yenilikler hayatımızın hemen hemen her noktasında artık vazgeçilemez şekilde yerini almaktadır. Özellikle bilgi teknolojilerinde meydana gelen gelişimler hem diğer sektörlerin ana yapılarını etkileyerek değiştirmekte hem de eskiden bağıntı kurmakta güçlük çeken alanları birbirine bağlar hale getirmektedir. Bu yenilikler insan hayatında birçok yenilik ve kolaylığı beraberinde getirmektedir(Şenel ve Gençoğlu,2003).

Özellikle son yıllarda nanoteknoloji üzerine yapılan çalışmalar daha küçük boyutta daha ergonomik ve kontrol edilebilir malzeme üretimi üzerine olumlu etkiler oluşturmaktadır. Sağlık, tarım, gıda endüstrisi, bilişim teknolojileri, savunma sanayii, mühendislik bilimleri ve daha birçok uygulama alanında artık nanomalzemeler ve uygulamaları üzerine daha fazla kaynak aktarılmakta ve yapılan bilimsel çalışma sayısı her geçen gün artmaktadır (Ates ve Bahceci, 2015).

Tıp ve hedefli ilaç kullanımı alanında

Mühendislik alanında

Tarım ve zirai uygulamalarda

Genetik ve moleküler biyoloji çalışmalarında

Güvenlik ve savunma sanayiinde

Bilişim ve bilgi teknolojileri alanında ve daha birçok insan hayatına doğrudan etkisi bulunan sektörlerden uygulama alanı olarak bahsedebilir (Metin ve Ozdemir,2015).

2.4. NANOTEKNOLOJİ VE NANOMALZEMENİN DÜNYADA KULLANIM ALANLARI VE UYGULAMALARI

Yenilenen ve gelişen bilim anlayışı ile nanoteknolojiye ve nanomalzemelere olan talep ve gereksinim gün geçtikçe artmaktadır. Ülkelerin üretim şemalarında yer alan temel hammadde ve ihracat unsurlarına bakıldığında teknolojik araştırmaların yeri giderek artmaktadır. Artık bilişim sektöründen savunma sanayisine sağlık alanlarından tarım uygulamalarına kadar birçok sektörde nanoteknolojik gelişmelere yer verilmekte ve uygulama alanları arttırılmaktadır (Turunc, 2019).

Akademik çalışmaların artması ve sanayi kollarının bu sektöre ait gözardı edilemez kar marjı ve verimlilik olgularına kayıtsız kalamamasından ötürü ülkelerin hem kendi iç sanayilerinde hemde dış pazar için nanomalzemelere ilgisi günden güne artmakta ve bu sektöre ait eylem planlarını hayata geçirmektedirler. Nanoteknoloji alanında öncü olarak Amerika Birleşik Devletleri'ni (ABD) gösterebiliriz. ABD bu sektörde diğer ülkelere öncülük edecek birçok Ar-Ge yatırımı gerçekleştirmiştir (Arnall, A. H.,2003). Almanya, Japonya ve Fransa bilişim ve mühendislik alanlarında dünya pazarında önemli gelir elde eden ülkelerdir ve nanoteknolojiyi devlet planlamalarında öncelikli konuma getirerek bu sektöre olan ilgilerini göstermişlerdir. Özellikle Almanya ve Fransa bu alanda Ar-Ge merkezleri kurulması ve projelerin geliştirilmesini desteklemektedir. Amerikan otomotiv üreticileri, nanotüpler vasıtasıyla güvenliği artırılmış yakıt ünitelerini uzunca bir süredir kullanmaktadır ve geliştirme için Ar-Ge çalışmalarına da devam etmektedir. (Perker, 2010). Güney Kore mikroelektronik alanına yoğunlaşmıştır. Benzer şekilde, elektronik, tekstil endüstrisi ve özellikle mobil telefonlar ve ev elektroniği alanında değişik nanoteknoloji uygulamaları geliştirilerek yüksek katma değerli ürünler ortaya çıkarmaktadır. Nanoteknoloji araştırmaları alanında başı çeken ABD, 2000 yılında Ulusal Nanoteknoloji Girişimini (NNI) kurarak örgütlenme alanında da öncü olmuştur (<https://www.gmka.gov.tr>). Avrupa Birliği'nde ise ilk olarak 4. Çerçeve Programı ile desteklenmeye başlanmış ve bütçesi devamlı arttırılarak revize edilmiştir(Cordis

Nanotechnology, 2011). 2014 yılına gelindiğinde ise, Ekonomik Kalkınma ve İşbirliği Örgütü'ne üye ülkeler (Avustralya, Avusturya, Belçika, Kanada, Şili, Danimarka, Finlandiya, Fransa, Almanya, Macaristan, İzlanda, Hindistan, İrlanda, İsrail, Japonya, Lüksemburg, Hollanda, Yeni Zelanda, İsveç, İngiltere ve ABD) nanoteknoloji alanında planlı büyüme için strateji belgeleri hazırlamıştır (Hancıoğlu ve Atay, 2019).

2.5. NANOMALZEME ÜRETİM YÖNTEMLERİ

2.5.1. Kimyasal Buhar Yoğunlaştırma Yöntemi

Yüksek verim ve yüksek nanomalzeme üretimi için uygun bir yöntemdir. Bu yöntemde buhar fazına kolay geçebilen klorürler, hidrürler ve karboniller kullanılır (Markus, W. 2007). Bu yöntemin en büyük avantajı kolay temin edilebilen kimyasal hammaddelerden imal edilebilmesidir. Gaz fazındaki malzeme ısıl parçalanma ile partiküle dönüşür. Başlangıç malzemesinin gaz fazına geçtiği bölgeye gaz akışı verilerek buharın reaktör olarak da adlandırılan fırın içine taşınıp burada ısıl olarak parçalanması sağlanır. Taşıyıcı gaz olarak He, Ar veya N₂ gibi gazlar kullanılır. Isıl parçalanma sonucu oluşan nanopartiküller fırın çıkışındaki uygun toz toplama yöntemleriyle toplanır. Genellikle içerisinden sıvı azot geçen bir çubuğun kapalı bir bölme içerisinde partiküllerin çöktürülmesi işlemi ile elde edilen nanopartiküller sistemden toplanır (Kevin,1997).

2.5.2. Asal Gaz Yoğunlaştırma (AGY) Yöntemi

Metallerin doygun buhar fazı halinde nanopartikül üretim yöntemidir. AGY yöntemi çok yönlü olduğundan dolayı günümüzde laboratuvar ölçekli nano-yapılı tozların sentezinde kullanılmaktadır (Bernard ve Ganesh,1998). Buhar oluşumu başlamadan önce sistem vakuma alınıp 1 – 50 mbar asal gaz ile doldurulur. Başlangıç malzemesi ısı, lazer veya elektron demeti gibi herhangi bir enerji kaynağı kullanılarak buharlaştırılır. (Ward ve ark.,2006). Buharlaşan atomlar veya moleküller homojen olarak toplanarak ısı kaynağının hemen yakınlığında partikül kümeleri oluşturur. Başlangıç malzemesinin buharlaşan atomları ile sistem içinde bulunan gaz moleküllerinin çarpışması sonucu buharlaşan atomların enerjilerini kaybetmeleriyle çekirdeklenme ve partikül oluşumu gerçekleşir. Yüksek gaz basıncının varlığı çarpışma sayısını artırarak daha hızlı soğuma ile ince partiküllerin oluşması sağlanır (Lee ve ark. ,2005).

2.5.3. Hidrojen Redüksiyon Yöntemi

Demir, Nikel, Kobalt gibi metallere laboratuvar ölçekli nanopartikül sentezleme yöntemidir. Çözelti buharlaştırılır ve taşıyıcı bir gaz vasıtasıyla ön ısıtmanın yapılacağı birime aktarılır. Daha sonra redüksiyonun gerçekleşeceği bölgeye geçen buhar daha fazla ısı verilmek suretiyle nanopartikül oluşumu gerçekleşir. İşlem esnasında azot taşıyıcı hidrojen ise redükleyici gaz olarak kullanılmaktadır (Jang ve ark. ,2004).

2.5.4 Alev Sentezi Yöntemi

Ticari miktarda üretimler için uygun bir yöntemdir. Alev ortamı yüksek oksitleyici özelliğe sahiptir. Özellikle oksit nanopartiküllerin üretimi için kullanılmaktadır. Bu yöntemde metal halojenürler başlangıç malzemesi olarak kullanılmaktadır. Bu yöntemde partikül boyut dağılımı kontrolü kolaydır (Roth,2007).

2.5.5. Mekanik Aşındırma Yöntemi

Yukarıdan aşağıya üretim metoduna uygun bir örnektir. Bilyalı öğütücüler vasıtasıyla yüksek frekans ve düşük titreşim oluşumu ile nanopartiküller oluşturma esasına dayanmaktadır (Edelstein ve Cammarata, 2001).

2.6. MİKROPLAR

Tek hücreli (prokaryot) mikroskop gibi özel cihazlarla görülebilen canlılardır. Bu tek hücreli canlı grubunu şu başlıklar altında toplamak mümkündür.

- Parazitler
- Mantarlar
- Bakteriler
- Virüsler

2.6.1. Bakteriler

Bakteriler; basit yapıya sahip prokaryot mikroorganizmalardır. Tek hücrelidirler, çekirdek zarı, mitokondri, golgi cisimciği ve endoplazmik retikulum gibi hücresel organelleri bulunmaz. Eşeysiz üreme özelliğine sahiptirler ve bu yöntemle çoğalırlar. Hücre duvarlarının sahip olduğu karmaşık yapıdan dolayı gram boyası ile boyanma özelliğine göre iki sınıf altında değerlendirilirler. Bunlardan Gram pozitif hücre duvarı kalın bir

tabaka içerirken Gram-negatif hücre duvarı ince bir tabaka ve bu tabaka üzerinde ince yapıya sahip bir membran içermektedir. Her bakteride bu hücre duvarı yapısı bulunmamaktadır (Murray, 2018).

2.6.1.1. *Escherichia coli*

Yaklaşık 2-6 mm boyda 1-1,5 mm ene sahip olan düz ve uçları yuvarlak şekle sahip olan bakteri türüdür. Etraflarında bulunan kirpikler vasıtası ile hareket edebilirler lakin bu hareketleri hızlı değildir. Bundan dolayı hareketsiz olarak algılanabilirler. Bakteriyolojik boyalar ile boyanabilirler ve Gram-negatiflerdir. 15-45 derece sıcaklık arasında da üreme özelliği gösterirler. Optimal üreme ısıları 37⁰C dir (Ewers ve ark.,2004).

2.6.1.2. *Staphylococcus aureus*

Küçük, yuvarlak ve oval şekle sahip Gram-pozitif bakterilerdir. Hücre bölünmelerinin gerçekleştiği düzlem farklılığından ötürü üzüm salkımı şeklinde bir arada bulunurlar. Optimal üreme ısıları 37⁰C dir. Kanlı besiyerinde 24 saat içerisinde porselen görünüme sahip düzgün yüzeyli, sarı pigmentli koloniler oluştururlar (Nazakawa ve Hosona,1992).

2.6.1.3. *Candida albicans*

Candida albicans; Saccharomycetaceae familyası içerisinde yer alan maya formundaki mantar türlerinden oluşmaktadır (Berkhout, 1923). İnsan vücudunda; deride ve bağırsakta buldukları bilinmektedir (Jenkinson and Douglas, 2002). *C. albicans* türünün diğer fungal türlere oranla daha fazla enfeksiyondan sorumlu olduğu saptanmıştır (Dorko et al., 2001).

2.7.ENZİMLER

2.7.1. Enzim Tarihçesi

Enzimler, reaksiyonları yüksek özgüllük ve çok yüksek hızlarda katalize eden çoğu protein yapısında biyokatalizörlerdir (Smith ve ark., 1997) Yüksek katalitik verimlilik, yüksek seçicilik ve suda çözünme gibi eşsiz özellikleri ile kimyasal katalizörlere alternatif olup biyokimya, biyomedikal, ilaç, gıda, kimya, endüstriyel gibi alanlarda daha yoğun bir şekilde kullanılmaktadır (Vasileva vd., 2009; Fritzen-Garcia vd. 2013). Enzimatik reaksiyonların yapı taşı olan enzimler eski çağlardan beri belirli ihtiyaçların

karşılabilmesi için kullanılmıştır. Yiyecek maddeleri olarak kullanılan peynir ve yoğurdun üretiminde, ekmeğin mayalanmasında ve daha birçok üretim aşamasında geçmiş nesillerden günümüze kadar benzer yöntemlerle elde edilmiş ve kuşaktan kuşağa aktarılmış bilgilerdir. Biyolojik anlamda kataliz terimi ilk kez 1800' lü yıllarda mide salgıları vasıtası ile etin sindirilmesinde, nişastanın şekere dönüşmesinde gözlemlenerek kullanılmıştır. Louise Pasteur, 1850'lerde şekerin maya aracılığı ile alkole femantasyonu gözlemlemiştir. Bu olayın 'fermenter' aracılığı ile katalizlendiği sonucuna vararak daha sonra 'enzimler' olarak adlandırılan bu yapıların canlı maya hücreleri olduğunu kabul etmiştir. Pasteur'ün bu görüşü uzun yıllar boyunca gerçekliğini korudu. Fakat 1879 yılında Nobel ödüllü Alman bilim adamı Eduard Buchner tarafından maya ekstratlarının şekeri alkole fermente edebildiğinin keşfi gerçekleşti. Böylece fermantasyonu sağlayan enzimlerin canlı hücre yapısının dışında da fonksiyon gösterebildiğini ispat edilmiş oldu. Fermantasyonu gerçekleştiren enzim adı verilen formların canlı hücre yapısının dışında fonksiyon gösterebildiğinin ispatı ise biyokimya bilim dalında hizmet eden bilim insanlarını birçok enzimin aktivitesini denemeye ve onların katalitik özelliklerini incelemeye teşvik etti. 1926 yılında Amerika'lı bilim insanı James Sumner'in üreazı izole ve kristalize etmesi ile üreaz kristallerinin protein yapıda olduklarını keşfetti ve bütün enzimlerin protein yapıdan oluştuğu tezini öne sürdü. Bu fikir o dönemde karşılaştırılabilecek veri örneklemelerinin olmaması sebebiyle bir süre için belirsizliğini korudu. Lakin kısa bir süre sonra 1930'lu yıllarda Amerika'lı bilim insanları John Northrop ve Wendell Meredith Stanley pepsin ve tripsini kristalize etti ve bu enzimlerin protein yapıda olduklarını keşfederek Sumner'in vardığı sonucun doğruluğu bu alanda gerçekliğini kabul ettirdi. Bu üç bilim adamı bu çalışmaları sayesinde 1946'da Nobel Kimya Ödülünü aldı. Günümüzde ise bu alanda binlerce enzim saflaştırılmış ve bunların yüzlercesinin yapısı ve kimyasal mekanizması incelenmiştir ve çoğu deneysel çalışma devam etmektedir (Blake ve ark.,1965).

2.7.2. Enzim Çeşitleri

Enzimler International Union of Biochemistry and Molecular Biology (IUBMB) tarafından fonksiyonları bakımından altı ayrı gruba ayrılmıştır.

Oksidoredüktazlar; redoks tepkimelerini katalizleme özelliğine sahip olan enzimlerdir. Dehidrogenazlar, oksidazlar, redüktazlar, peroksidazlar, oksijenazlar ve hidroksilazlar bu grup içinde yer alırlar(Kikuchi ve Sasaki,1991).

Transferazlar; hidrojenin dışında bir atomun ya da atom gruplarının bir molekülden diğer bir moleküle aktarılmasını sağlayan enzim çeşididir. Transaldolaz, transketolaz, açıl, metil, glukoliz, fosforil transferazlar ve kinazlar bu gruba dahil edilmiştir.

Hidrolazlar; reaksiyona bir molekül su ilave edilmesi ile su molekülü aracılığıyla moleküllerin parçalanmasını sağlayan enzim çeşididir. Esterazlar, glukozidazlar, peptidazlar, fosfatazlar, tiyolazlar, fosfolipazlar, deaminazlar ve ribonükleazlar bu grup içinde yer almaktadırlar (Noller ve ark., 1992).

Liyazlar; oksidasyon ve hidroliz dışında kimyasal bağların oluşmasını veya yıkılmasını sağlayan enzimler grubudur. Dekarboksilazlar, aldolazlar, hidratazlar, dehidratazlar, sentazlar ve liyazlar bu grupta yer almaktadırlar.

İzomerazlar; molekül içerisinde dizilim değişikliği gerçekleştiren ve molekülün uzay dizilişini değiştiren enzim çeşididir. Rasemazlar, epimerazlar, izomerazlar ve mutazlar bu grupta yer alırlar.

Ligazlar; enerji kullanımı ile substrat moleküllerinin birbirine bağlanmasını bununla birlikte aminoasitlerin ve yağ asitlerinin aktifleşmesini sağlarlayan enzim çeşididir. Bunun yanı sıra karbon, oksijen, kükürt ve azot arasındaki bağların oluşumunda rol almaktadır. Sentetazlar ve karboksilazlar bu grupta yer almaktadırlar(Noller ve ark., 1992).

2.7.3. Enzimlerde Seçicilik

Enzimler yüksek seçicilik özelliği göstermektedirler. Bunlar;

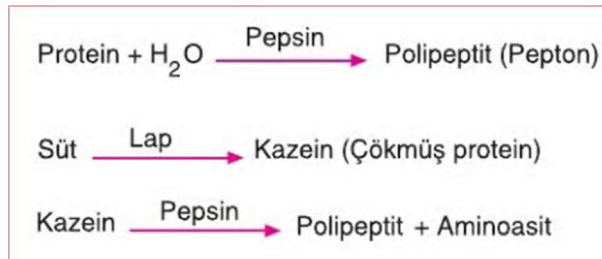
- Mutlak seçicilik: Enzim seçicilik gösterdiği substrata etki ederek belirli bir ürüne çevirir. Yani enzim seçicilik özelliğini ortaya koyarak hedef substrattan

hedef ürün oluşturur. Örnek olarak; maltaz enzimi maltozu monosakkaritlerine kadar parçalarken bu tür seçicilik gösterir. Seçicilik ilkesi Şekil 2.5.'de Maltaz enzimin maltozu parçalaması reaksiyonu ile şeklen açıklanmıştır.



Şekil 2.5. Maltaz enziminin maltozu parçalama reaksiyonu

- Grup seçiciliği: Enzimin etki edebileceği substratın bünyesinde belirli grupları ihtiva etmesine göre gösterdiği seçicilik özelliğidir. Proteinleri parçalayan proteolitik enzimlerin gösterdiği bu etki grup seçiciliği özelliğine örnek olarak gösterilebilir. Grup seçiciliği Şekil 2.6.'da şekil ile izah edilmiştir.



Şekil 2.6. Pepsin enziminin proteini parçalama reaksiyonu

- Tepkime ya da bağ seçiciliği: Gerçekleşecek olan tepkime türüne ya da hedef substratta bulunan mevcut bağ türüne etki gösteren bağ seçiciliğidir. Buna örnek olarak lipaz enzimlerinin hedef substratta gösterdiği reaksiyon davranışları örnek verilebilir.
- Stereokimyasal seçicilik: Enzimin; substratın yani hedef molekülün uzay diziliminde yer alan gruplardan birine etki göstermesi durumudur. Stereokimyasal bu durum enzim seçiciliğine ait bir özelliktir.
- Yukarıda belirtilen özelliklerden farklı olarak aynı enzimin farklı enzim kaynaklarından eldesinde substrat üzerinde gösterdiği etki değişiklik

gösterebilmektedir. Buna örnek olarak kimotripsin enziminin ve tripsin enziminin protein bağlarını farklı yerlerden kırma seçicilikleri vermeleri buna örnek olarak gösterilebilir (Lehninger, 1979).

2.7.4. Enzim Aktivitesi

Enzimlerin aktivitesini hesaplamak için 1965 yılında Uluslararası Biyokimya Birliği tarafından enzim aktivite birimi (ünite) kabul edilmiştir (Lehninger, 1979). Ünite olarak isimlendirilen kavram; standart koşullarda 1 dakikada 1 μmol substratı ürüne dönüştüren enzim miktarı olarak tanımlanır. Enzim aktivitesini ve dolayısıyla bunun sonucu olarak tepkime hızını etkileyen faktörler; enzimin derişimi, substratın derişimi, iyonik aktivite, inhibitör veya aktivatörlerin derişimi, sıcaklık, pH, tepkime sonucu oluşan ürünlerin derişimi ve oluşan ürünlere ait özellikler, sistemde yer alan akışkan kuvvetler, ışık ve diğer fiziksel faktörler olarak örnek verilebilir. “Bu faktörlerden herhangi birinin tepkime hızının etkisine bakmak istenilirse diğer faktörleri sabit bir değerde tutarken etkisi gözlemlenmek istenen faktörde değişim sağlanarak tepkime hızı ölçülür” (Muhammet, 2008).

2.7.5. Enzim İmmobilizasyonu

Enzimler; yüksek özgülük gösterdikleri reaksiyonları çok yüksek hızlarda katalize eden protein yapıdaki biyokatalizörler olarak tanımlanmaktadır. Enzimler kimyasal katalizörlerle karşılaştırıldıklarında sahip oldukları avantajlar biyokimya, biyomedikal, ilaç, gıda, kimya, endüstriyel üretim gibi alanlarda daha yoğun şekilde kullanılmaktadırlar (Vasileva ve ark. , 2009, Fritzen-Garcia ve ark, 2013).

Bunun yanında enzimlerin serbest formlarının kısa yaşam sürelerine sahip olması çözünür durumdaki enzimlerden daha fazla yararlanılmasını ve enzimlerin pek çok çalışma alanında ki uygulamaları kısıtlamaktadır (Kim ve ark. , 2006). Ayrıca serbest halde bulunan enzimin, reaksiyon ortamından izole edilerek tekrar tekrar kullanılabilmesi zor bir durumdur (Wu ve ark. ,2012). Uygulamalarda kullanımının arttırılabilmesi için enzimlere ait etkinlik özelliğinin, enzim aktivitesinin, enzimlerin kararlılıklarının ve geri kazanımlarının arttırılması gerekir.

Enzimlerin reaksiyon kararlılıklarını arttırmak amacı ile enzim immobilizasyonu, enzim modifikasyonu ve protein mühendisliği gibi bazı yöntemler vardır (Kim ve ark. , 2006). Bu metodlardan enzimlerin katı bir destek üzerine immobilizasyonu yaygın olarak kullanılan bir yöntem olmuştur. Bu yöntemde enzimlerin reaksiyon ortamında destek görevi olan bir materyal üzerine tutturulması ‘immobilizasyon’ terimi şeklinde ifade edilmektedir. Enzimlerin immobilizasyonunda kovalent bağlama, çapraz bağlama, adsorbsiyon, tutuklama ve enkapsüle etme şeklinde beş farklı yöntem bulunmaktadır (Sassolas ve ark. ,2012). “İmmobilizasyon yöntemleri genel olarak enzim sistemleri, destek materyale tutturulmuş ilaç, mikroorganizma, biyosensör ve biyoreaktör uygulamalarında ve kontrollü ilaç salınım sistemlerinde kullanılmaktadır” (Aksoy, 2003). Bu çerçevede ilk immobilizasyon işlemi 1916 yılında Nelson ve Grifin tarafından adsorbsiyon yöntemi kullanılarak yapılmıştır. 1954 yılında ise Grobhofer ve Scheilth diastaz, karboksipeptidaz, pepsin ve ribonükleaz enzimlerini poliaminostiren reçinesine kovalent bağlama yolu ile immobilize etmişlerdir. İmmobilizasyon işlemi enzim kararlılığında artma eğilimine sahip olur, böylece enzimin ekonomik olarak kullanımı sağlanır ve bu da daha sonraki uygulamalar için pozitif yönde olanak verir (Kim ve ark. , 2006). Bu duruma rağmen immobilizasyon işlemleri ile birkaç enzim dışında immobilize edilen enzimlerin serbest enzime göre kararlılıklarında artış gözlemlenmesine rağmen enzim aktivitelerinin düştüğü gözlemlenmiştir (Netto ve ark. ,2013). İmmobilizasyon yöntemi ile birlikte enzimlerin aktivitelerinin düşmesinin genel sebepleri;

- İmmobilizasyon işlemi sırasında enzimin entiklinliğini durduran ya da yok eden (inaktif hale geçiren) çözücüler kullanılması.
- Kütle transferinin enzimler açısından önem teşkil eden düzeyde olmaması
- İmmobilizasyon sırasında protein ile enzimin tutunacağı destek arasındaki kimyasal bir reaksiyon gerçekleşmemesi ve enzimin üç boyutlu yapısının değişikliğe uğraması. Bu durumlar immobilize enzimlerin kullanım alanlarının daralmasına sebep olmaktadır.

“İmmobilize enzimlerin serbest enzimlere göre avantajları şöyle sıralanabilir” (Aksoy, 2003; Zaborsky 1973).

- İmmobilize enzimler reaksiyon sonucu ortamdan kolayca ayrılabilirler.

- Sürekli proseslere uygulanabilirler yani kararlı bir yapıya sahiptirler.
- Tekrar tekrar ve uzun süreli kullanılabilirler.
- Çevresel şartlara dayanıklılık gösterirler.
- Kararlılıkları doğal enzime göre daha iyi ve devamlıdır.
- İmmobilize enzimler sayesinde gerçekleştirilen reaksiyon kontrol altında tutulabilir.
- İmmobilize enzimler çok basamaklı reaksiyonlar için uygunluk gösterirler.

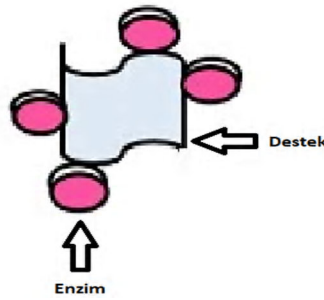
2.7.6. İmmobilizasyon Yöntemleri

2.7.6.1. Adsorpsiyon

Adsorpsiyon yöntemi ile enzim immobilizasyonu, enzim immobilizasyon metotları arasında oldukça yaygın olarak kullanılan bir yöntemdir. Adsorpsiyon yöntemi ile immobilizasyon enzimin, yüzeyine tutundurulacak destek maddenin sınır yüzeyindeki derişiminin değişimi ile sağlanmaktadır. Derişim artması durumu pozitif adsorpsiyon olarak isimlendirilirken azalması durumu ise negatif adsorpsiyon olarak adlandırılır. Kullanılan protein ve destek maddesinin kolaylıkla saflaştırılmasına olanak sağladığından dolayı tekrar tekrar kullanıma olanak sağlar (Sheldon,2007).

- Deney ortamının kolaylıkla oluşturulabilmesi ve gerekli koşulların farklılık göstermemesi immobilizasyonun gerçekleştirilebilmesini sağlar.
- Kimyasal bir değişiklik olmadığından dolayı kovalent immobilizasyon yöntemine oranla enzimin aktivitesi daha yüksektir.

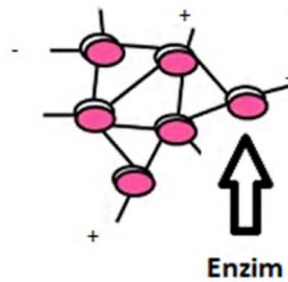
Adsorpsiyon yöntemi ile hazırlanan immobilize enzimler diğer yöntemlerle elde edilen enzimlere göre destek maddeye daha zayıf bağlanma eğilimindedirler, bunun sebebi enzim ile destek arasında bulunan zayıf etkileşimden dolayıdır. Desorpsiyon kuvvetleri (yüksek iyonik şiddet, pH vb.) ile bu sorun ortadan kaldırılarak daha etkin bir bağlanma gerçekleştirilir. Adsorpsiyon yöntemi Şekil 2.7.'de şekil olarak izah edilmiştir.



Şekil 2.7. Adsorbsiyon metodu ile immobilizasyon yöntemi

2.7.6.2. İyonik Bağlama

Suda çözünmeyen lakin iyon değiştirme yeteneğine sahip olan destek maddelerine seçilen enzimin iyonik bağ ile bağlanması metodudur. İyonik bağlamanın çoğunlukla kullanıldığı bu yöntemde fiziksel adsorpsiyon da kısmen etkili olmaktadır. İyonik bağlama metodu optimum koşullarda gerçekleştirildiğinden enzimin bağlanma yapısında ve aktif merkezde değişikliğe sebep olmaz. Fakat enzim ile destek madde arasında oluşan bağ kovalent bağ kadar kuvvetli değildir ve bunun sonucunda enzimde kayıplar gözlemlenebilir (Ticsherand ve Wedekind, 1999). Şekil 2.8.'de iyonik bağlanma metodu ile immobilizasyon yöntemi şekledilmiştir.

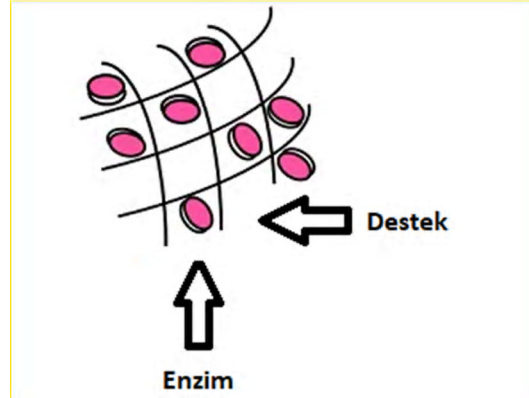


Şekil 2.8. İyonik bağlama metodu ile immobilizasyon yöntemi

2.7.6.3. Hapsetme

Hapsetme yönteminde enzimler, yapay veya doğal destek maddesi olan polimerlerdeki kafes şekilli yapılar içerisinde tutulurlar. Enzimler polisakkaritler, proteinler veya sentetik polimerlerden hazırlanan jellerde hapsedilebileceği gibi fosfolipidlerden hazırlanan sıvı membranlar içerisinde de hapsedilebilir. Bu yöntemde enzimler önemli miktarda bir değişime uğramazlar. Yüksek molekül kütlesine sahip olan substratların kendilerine özgü bu enzim moleküllerine ulaşması güç bir hal alır. Destek materyal tekrar tekrar kullanılabilme özelliğini kaybeder. Hapsetme yöntemlerinden en yaygın olarak kullanılan

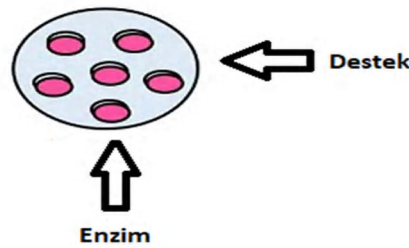
metod ise örgü içine hapsedme yöntemidir (Sperinde ve Griffith, 1997). Hapsedme yöntemi ile immobilizasyon yöntemi Şekil 2.9.'da şeklen izah edilmiştir.



Şekil 2.9. Hapsedme metodu ile immobilizasyon yöntemi

2.7.6.4. Kapsülleme

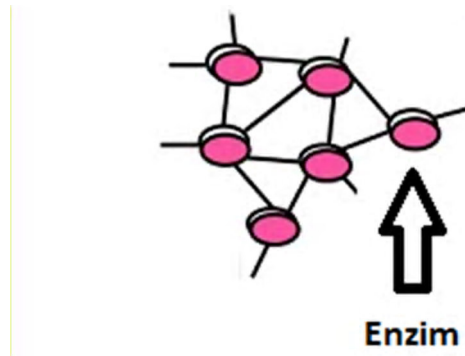
Enzimin membran tarafından sarılması ile sağlanan immobilizasyon yöntemidir. Bu immobilizasyon yönteminin hapsedme yönteminden farkı, immobilize enzimlerin küresel şekildeki bir membran ile tamamen sarılmasıdır. Diğer kapsülleme teknikleri, sol-jel prosesi gibi hapsedme yöntemi içerisinde gösterilir çünkü enzim membran değil bir matriks içinde sınırlanmaktadır. Bu yöntemde amaç; kapsül içindeki enzimlerin kimyasal olarak modifikasyona uğramalarına rağmen enzim moleküllerinde kaynaklanan sızıntıyı önlemek için membran içinde çözünmez hale getirilme mantığına dayanır (Cao, 2005). Kapsülleme metodu ile immobilizasyon yöntemi Şekil 2.10.'da şeklen ifade edilmiştir.



Şekil 2.10. Kapsülleme metodu ile immobilizasyon yöntemi

2.7.6.5. Çapraz bağlama

Moleküllerin arasına küçük molekülü iki veya çoklu fonksiyonel grupları olan reaktiflerin girerek bağ kurması çapraz bağlama metodu olarak adlandırılmaktadır. Bu bağlar suda çözünmeyen kompleksler oluştururlar. Çapraz bağlama yöntemi ile enzim immobilizasyonun da yöntemin basit olmasına karşın enzimlerdeki özel fonksiyonel grupların bağlayıcı olarak kullanılması için gereken şartların seçimi ve oluşumu açısından zordur (Sanjay ve Sugunan, 2006). Bu yöntemin avantajı tek bir işlemde enzim immobilizasyonu için çok fonksiyonlu reaktiflerin kullanılabilmesine olanak sağlar, dezavantajı ise oluşan reaksiyonların kontrolünün zorluğudur. Şekil 2.11.'de çapraz bağlama metodu ile immobilizasyon yöntemi şekledilmiştir.

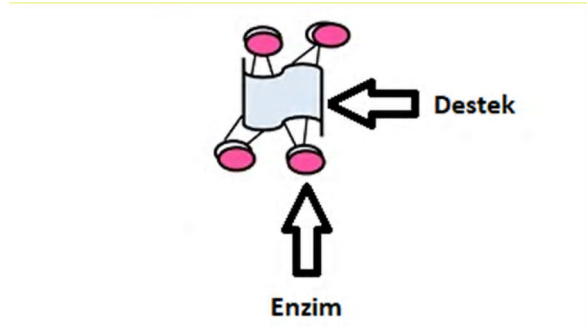


Şekil 2.11. Çapraz bağlama metodu ile immobilizasyon yöntemi

2.7.6.6. Kovalent Bağlanma

Reaktif taşıyıcılarına enzimlerin kovalent bağlarla bağlanması esasına dayanan yöntemdir. Bu immobilizasyon yöntemi genelde sulu ortamda gerçekleştirilir. Bu teknikte önemli olan durum bağlanmanın enzim aktivitesinde etkili gruplar üzerinden olmaması ve bağlanma sırasındaki sterik engellemeler nedeni ile bu grupların olumsuzluklarla karşılaşmasına olanak vermemektir. Taşıyıcıya kovalent bağlanma, enzimin yapısındaki amino asitlerin taşıdığı fonksiyonel gruplar üzerinden sağlanır. Başka bir önemli husus taşıyıcı suda çözünmemeli fakat büyük ölçüde de hidrofobik özellikte olmamalı, suda ıslanabilmeli, ayrıca mekanik olarak kararlı yapıya sahip olmalıdır. Kovalent bağ ile bağ oluşturacak taşıyıcıların seçiminde, kovalent bağın aktivite için zorunlu gruplar üzerinden olmamasının yanı sıra taşıyıcının enzim tarafından parçalanmaması, mikroorganizma üremesine olanak vermemesi, pH ve çözücülere karşı dirençli olması gibi özellikler taşıması diğer dikkat

edilecek hususları oluşturmaktadır (Ticsherand ve Wedekind, 1999). Kovalent bağlanma yöntemi ile immobilizasyon metodu Şekil 2.12.'de şekledilmiştir.

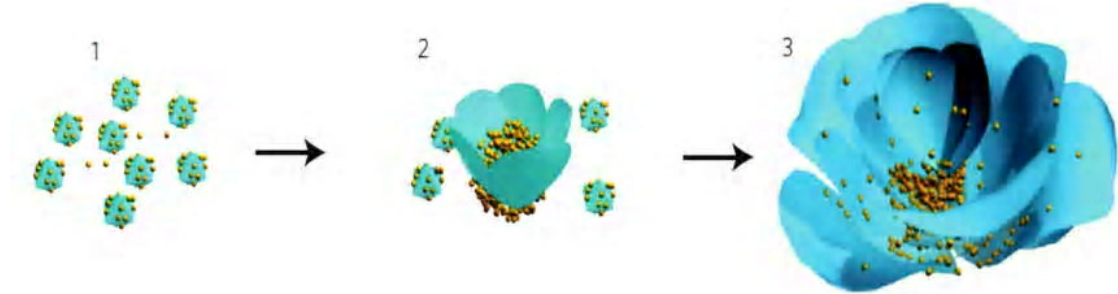


Şekil 2.12. Kovalent bağlama metodu ile immobilizasyon yöntemi

2.7.6.7. Hibrit Nano Yapılar

Zare ve arkadaşları tarafından kazara yapılan bir hata sonucu 2012 yılında keşfedilmiş yeni bir immobilizasyon yöntemidir. Zare ve arkadaşları, inorganik bileşen olarak Cu (II) iyonu ve organik bileşen olarak çeşitli protein ve enzimleri (laktalbumin, lakkaz, karbonik anhidraz, lipaz ve BSA) kullanarak nano yapraklardan (nanopetels) oluşan çiçek benzeri (flower-like) portein-inorganik hibrit yapıların oluşum protokolünü rapor etmişlerdir (Ge, 2012). Sentezlenen yapılar mikrometre boyutunda olmasına karşın nano boyutlu yapraklardan oluşmaları nedeniyle 'Protein-inorganic hybrid nanoflowers' başlığı ile ilk defa literatüre bu grup tarafından geçirilmiştir. Bu yapıların sentezi için Cu^{+2} iyonu inorganik bileşen olarak; enzim ise organik bileşen olarak hibrid nano yapı eldesinde kullanılır. Hibrid nanoyapılar üç ana bileşenden oluşmaktadır; fosfat sağlayıcı olarak PBS tamponu, Cu^{+2} iyonu ve enzim. Hibrid nano yapıların oluşumu çekirdeklenme, büyüme süreci ve nano yapı oluşumu olarak üç ana evreden oluşur. Düzgün bir nanoyapı elde etmek için ilk basamak Cu^{+2} iyonları ile PBS tamponu ile ortamda sağlanan fosfat iyonlarının bakır-fosfat kompleksi oluşturmasıdır. Nanokristallerin çekirdeklenme evresinde enzim yapısındaki amin grupları bakır fosfat kompleksi olan temel yapı üzerine uygun koordinatlarla bağlanır. Büyüme basamağında ise öncül nanokristaller, enzim ile sürekli beslenerek nanokristaller üzerinden büyük yaprakları oluşturur. Büyüme sürecinin en önemli özelliği ise bakır fosfat nanokristalleri üzerine çiçek yapraklarını andıran enzimlerin birbirine bağlanmaları için yine enzimin tutkal gibi görev almasıdır. Tüm bu basamakların ardından hibrit nanoyapı anizotropik büyüme ile üretilir. Çiçek şekilli

protein-inorganik hibrit yapının oluşumu Şekil 2.13.'te gösterildiği gibi temel olarak 3 basamakta gerçekleşmektedir (Ge vd 2012).



Şekil 2.13. Çiçek şekilli hibrit nano yapıların immobilizasyon yöntemi (Ge ve ark.,2012)

Birinci basamak (çekirdeklenme ve ilk kristallerin oluşması): İlk olarak primer bakır fosfat ($\text{Cu}_3(\text{PO}_4)_2$) kristalleri oluşur. Bu aşamada protein molekülleri baskın olarak Cu(II) iyonları ile özellikle proteinin yapısındaki amin gruplarının koordinasyonu sayesinde kompleksler oluştururlar. Oluşan bu kompleksler bakır fosfat birincil kristallerin çekirdeklenme alanları haline gelir.

İkinci basamak (kristallerin büyümesi): Büyüme aşamasında, protein molekülleri ve primer kristaller iri topaklar haline gelir. Bakır fosfat kristallerinin kinetik olarak kontrolü agregatların yüzeyindeki bireysel bakır bağlayıcı bölgelerden kaynaklanır ki bu da ayrı ayrı yaprakların oluşmasına neden olur.

Son basamak (çiçek şekilli nano yapının oluşumu): Son basamak anizotropik büyüme dallı ve çiçek-benzeri bir yapının oluşması ile sonuçlanır. Önerilen bu büyüme sürecinde, protein yaprak iskeletlerinin oluşturulması için bakır fosfat kristallerinin çekirdeklenmesini indükler ve yaprakları birbirine bağlamak için bir “tutkal” olarak görev yapar. Nano boyuttaki bu yaprak şekilli yapılar bir araya gelerek birbirine bağlanırlar ve çiçek benzeri şekillere sahip yapılar oluştururlar. Bu nedenle sentezlenen yapılar “Çiçek Şekilli Hibrit Yapılar” (Flower-Like Hybrid structures) olarak adlandırılmıştır.

Geleneksel immobilizasyon yöntemlerine karşın çiçek benzeri şekillere sahip enzim-inorganik hibrit nanoyapıların kararlılığının ve aktivitesinin serbest enzimlere ve diğer immobilizasyon teknikleri ile üretilen immobilize enzimlere kıyasla önemli ölçüde arttığını

göstermişlerdir (Song ve ark. ,2010- Hu ve ark. ,2010). Rapor edilen bir çalışmada, lakkaz enzimi ile oluşturulan hibrit yapıların aktivitesinin serbest enzime göre 4-6 kata kadar arttığı ve serbest enzim aktivitesinin %50'sini 10 gün sonra kaybederken aynı şartlar altında lakkaz hibrit yapıların başlangıç aktivitelerinin %95'ini 2 ay boyunca muhafaza ettiği belirtilmiştir. Diğer enzimler için de bu sonuçlara yakın sonuçlar elde edilmiştir. Sentezlenen protein-inorganik hibrit yapıların aktivitelerinin artmasının tahini sebepleri ise;

- Sentezlenen yapıların yüksek yüzey alanına sahip olması
- Nano ölçekte yapıya hapsedilen enzim moleküllerinin birlikte gösterdiği etki
- Denenen enzimlerin yapısında metal iyonu bulundurmasıdır.

Aynı araştırma grubu tarafından protein ve inorganik malzemelerin fonksiyonlarının birleştirilmesi ile oluşturulan protein-inorganik hibrit çiçekler yapılarının biyosensör, biyoanalitik cihazlar, biyoyakıt hücreleri ve endüstriyel biyokataliz gibi alanlarda önemli uygulamalara sahip olmalarının beklendiği rapor edilmiştir. Ancak 'nanoflowers' olarak adlandırılan enzim-inorganik hibrit yapıların morfolojisinin farklı deneysel şartlarda oluşma mekanizması ve enzimatik aktivitesinin artma mekanizmasının nasıl gerçekleştiği açıklanamamıştır. Yapılan güncel çalışmalarda morfolojiyi etkileyen faktörler araştırılmakta olup aktivite üzerine etkileri gözlenmeye çalışılmaktadır. 2015 yılında yapılan bir çalışmada laktoperoksidazın hibrit nano yapıdaki aktivite ve stabilite çalışmasından nanoenzimin belli pH aralığında serbest enzime göre daha aktif ve kararlı olduğu bulunmuş ve nanosensörler olarak kullanılabileceği ispat edilmiştir (Altınkaynak ve ark. 2016).

ÇHNY'lerin sentezinde metal iyonu olarak çoğu zaman bakır iyonları kullanılmış olsa da, bakır iyonları yerine kalsiyum ve magnezyum iyonları kullanılarak sentezlenen ÇHNY'ler araştırmacılar tarafından incelenmektedir (Lee ve ark., 2015).

3.GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. GEREÇ

3.1.1. Çalışmada Kullanılan Cihazlar

pH metre: Çalışmalarda kullanılan çözeltilerin pH ölçümleri için Mettler Toledo S200 K model pH metre kullanıldı.

Analitik Teraz: Çalışmalarda tartım işlemleri için Ohaus marka Explorer Pro model analitik terazi kullanıldı.

Etüv: Kullanılan cam malzemelerin ve sentezlenen ÇHNY'ların kurutulması için Nüve marka FN 120 model etüv kullanıldı.

Santrifüj Cihazı: Sentezlenen ÇHNY'ların çözelti ortamından ayrılması için Thermo marka SL16 R model santrifüj cihazı kullanıldı.

UV vis spektrofotometre: Sentezlenen ÇHNY'ların absorbansının ölçülebilmesi için Shimadzu marka UV 1800 model UV-vis spektrofotometre kullanıldı.

Elisa okuyucu: Çalışmada antibakteriyel etkinin ölçülebilmesi için absorbans ölçümlerinde Biotek marka Synergy HT model Elisa okuyucu kullanıldı.

Saf Su Cihazı: Çalışmalarda ihtiyaç duyulan saf suyun elde edilmesi için Millipore marka Elix 5 model deiyonize saf su cihazı kullanıldı.

İnkübatör: Antibakteriyel etkide kullanılacak örneklerin sabit sıcaklıkta ve steril ortamda saklanabilmesi için MMM marka Ecocell model inkübatör kullanıldı.

Ultrasonik banyo: Belirli derişimlerde aletli analiz için hazırlanan ÇHNY'ların çözelti ortamında homojen dağılımını sağlamak için Bandelin marka ultrasonik banyo kullanıldı.

FT-IR Spektrometresi: Çalışmalarda sentezlenen ÇHNY'ların fonksiyonel gruplarının belirlenmesi için Perkın Elmer marka Spotlight 400 model FT-IR spektrometresi kullanıldı.

XRD Toz Difraksiyon Cihazı: Çalışmada sentezlenen ÇHNY'ların yapısının aydınlatılması için Bruker marka AXS d8 advance model XRD Toz Difraksiyon Cihazı kullanıldı.

SEM-EDX Taramalı Elektron Mikroskobu: Çalışmalarda sentezlenen ÇHNY'ların yüzey morfolojilerinin incelenmesi ve eser element miktarlarının tayini için Zeiss marka Evo LS10 model taramalı elektron mikroskobu kullanıldı.

Taramalı Elektron Mikroskobu SEM: Çalışmalarda sentezlenen ÇHNY'ların yüzey yapılarının incelenmesi için Zeiss marka Evo LS10 model taramalı elektron mikroskobu kullanıldı.

3.1.2. Çalışmada Kullanılan Sarf Malzeme ve Kimyasallar

Çalışmamızda kullanılan standart maddeler; 3-aminofenilboronik asit ($C_6H_8BNO_2$, $\geq\%95$ saflıkta) Florochem marka temin edilmiştir. 4-merkaptofenilboronik asit ($C_6H_7BO_2S$, $\geq\%90$ saflıkta) Aldrich marka temin edildi. Kullanılan diğer kimyasal madde sodyum klorür (NaCl), potasyum klorür (KCl) ve guaiacol ($C_7H_8O_2$) Sigma 'dan, disodyum hidrojen fosfat (Na_2HPO_4) ve potasyum dihidrojen fosfat (KH_2PO_4) Merck'ten ve hidrojen peroksit (H_2O_2) Tekkim'den temin edilmiştir

3.1.3. Çalışmada Kullanılan Çözeltiler ve Hazırlanışı

Deneylerde kullanılan çözeltilerin hazırlanmasında analitik saflıkta reaktifler ve deiyonize saf su kullanıldı. Kullanılan çözeltiler ve hazırlanışları aşağıda verilmektedir:

Fosfat tampon çözeltisi (PBS, 1X, pH:7,4): 8 g NaCl, 0,2 g KCl, 1,44 g Na_2HPO_4 ve 0,24 g KH_2PO_4 tartılıp 500 mL saf suda tamamen çözüldü. Çözeltinin pH'sı az miktarda

0,1 M HCl veya 0.1 M NaOH ilavesiyle pH 7,4'e ayarlandı ve çözeltinin son hacmi deiyonize saf su ile 1 L' ye tamamlandı.

1 mg mL⁻¹ APBA (Aminofenilboronik asit) stok çözeltisinin hazırlanması: 20 mg APBA az miktarda PBS (pH 7,4) tamponunda çözülerek PBS ile son hacim 20 mL'ye tamamlandı. Oluşan çözelti ultrasonik banyo ve vorteks ile muamale edilerek MPBA'nın tamamının çözünmesi sağlandı.

1 mg mL⁻¹ MPBA (merkaptofenilboronik asit) stok çözeltisinin hazırlanması: 20 mg MPBA az miktarda PBS (pH 7,4) tamponunda çözülerek PBS ile son hacim 20 mL'ye tamamlandı. Oluşan çözelti ultrasonik banyo ve vorteks ile muamale edilerek MPBA'nın tamamının çözünmesi sağlandı.

120 mM CuSO₄ (bakır (II) sülfat) stok çözeltisinin hazırlanması: 7,5 g CuSO₄ az miktar saf suda çözüldü. Çözelti 250 mL'lik balonjojeye alınarak son hacim 250 mL'ye saf su ile tamamlandı.

0,1 M HCl çözeltisi: 1,07 ml derişik HCl (Carlo Erba, d= 1,18 kg/L, %36,5 (a/a)) alındı ve saf su ile balonjojede 250 mL'ye tamamlandı.

0,1 M NaOH: 1 g katı NaOH tartıldı, az miktar saf suda çözülerek 250 mL'ye balonjojede saf su ile tamamlandı.

Besiyeri hazırlanması: 21,0 g Mueller Hinton Broth tartılarak steril edilmiş balon içerisine alındı. Bir miktar deiyonize suda çözünür ve son hacim 1 L olacak şekilde deiyonize su ile belirtilen hacme tamamlandı. Ardından 121 °C'de 15 dakika otoklavda steril edilerek uygun koşullarda muhafaza edildi.

C. albicans için besiyeri olarak RPMI kullanılmıştır ve hazır olarak temin edildi.

Kültürlerin hazırlanması: Bakteri suşları ve *C. albicans* mayası 37°C'de 24 saat süre ile inkübe edildi. Kültürler, morfolojik olarak benzer olan kolonilerin %0,9 steril tuzlu su (serum fizyolojik) çözeltisine, çözeltinin bulanıklığı 0,5 McFarland standardına eşit olacak şekilde aktarılmasıyla elde edildi.

22,5 mM Hidrojen peroksit çözeltisinin hazırlanması: 52,8 µl derişik H₂O₂ (Tekkim, d= 1,45 kg/L, %50 (a/a)) alındı ve saf su ile balonjojede 50 mL'ye tamamlandı.

45 mM Guaiacol çözeltisinin hazırlanması: 254 µl derişik guaiacol (Sigma, d= 1,11 kg/L, %99 (a/a)) alındı ve saf su ile balonjojede 50 mL'ye tamamlandı.

3.2. YÖNTEM

3.2.1. Çiçek Şekli Hibrit Nanoyapıların Sentezlenmesi

Düzgün morfolojiye sahip APBA-Cu²⁺ ve MPBA-Cu²⁺ çiçek şekilli hibrit nano yapıların (ÇHNY) oluştuğu çözelti pH'larını belirlemek için, hibrit nano yapılar pH 4 ile 10 arasında değişen farklı pH'larda sentezlendi. Her bir pH'da sentezlenen hibrit nano yapıların SEM görüntüleri alınarak incelendi ve en düzgün morfolojiye sahip hibrit nano yapıların oluştuğu pH değeri optimum sentez pH'sı olarak belirlendi. Sentez prosedürleri APBA ve MPBA için ayrı ayrı uygulanmıştır. Uygulanan sentez prosedürü aşığıda verilmektedir;

8 g NaCl, 0,2 g KCl, 1,44 g Na₂HPO₄ ve 0,24 g KH₂PO₄ tartıldı. Reaktör beher içerisine alınarak yaklaşık 900 mL saf su içerisinde çözüldü. Elde edilen çözeltilerin pH'ları 0,1 M HCl veya 0,1 M NaOH ile istenilen pH'ya ayarlandı. Bu çözeltilerin üzerine, son çözeltideki Cu²⁺ derişiminin 0,8 mM ve APBA veya MPBA derişiminin 0,02 mg/L olmasını sağlamak için, 120 mM CuSO₄ stok çözeltisinden 6,66 mL ve 1 mg mL⁻¹ APBA veya MPBA çözeltisinden 20 mL eklendi. Beherdeki son çözelti 1 L'lik balonjojeye alınarak çözeltilerin hacmi saf su ile 1 L'ye tamamlandı. Balonjojedeki çözeltiler 72 saat boyunca karanlıkta ve oda sıcaklığında inkübasyona bırakıldı.

pH 4 ile 10 arasında uygulanan sentez prosedürü sonrası, balonjojelerin tabanında mavi renkli çökelekler oluştuğu gözlemlendi. Balonjojelerdeki çözelti-çökelek karışımı 5000 rpm'de 15 dk boyunca oda sıcaklığında santrifüj edilerek çökelek çözeltiden ayrıldı. Santrifüj tüpünün tabanındaki mavi renkli çökelek (çiçek şekilli hibrit nano yapılar) saf su ile yıkandı ve yıkama suyu atıldı. Elde edilen ÇHNY'lar 50° C'de etüvde kurutuldu. Kurutulan ÇHNY'lar toz haline getirilerek nem kapmaması için desikatörde muhafaza edildi.

3.2.2. Antimikrobiyal ve Antifungal Aktivitenin Belirlenmesi

Sentezlenen APBA-Cu²⁺ ve MPBA-Cu²⁺ çiçek şekilli hibrit nano yapıların antimikrobiyal ve antifungal aktivitesinin belirlenmesi amacıyla yapılan çalışmada kullanılan mikroorganizmalar Erciyes Üniversitesi Veterinerlik Fakültesi Gıda Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı'ndan temin edildi. Araştırmada *Staphylococcus aureus* gram (+) bakteri (ATCC 25923), *Escherichia coli* gram (-) bakteri (ATCC 11230) ve *Candida albicans* (95071) mayası (fungus) kullanıldı. Antimikrobiyal ve antifungal aktivitenin belirlenmesi için çalışmada besi yeri olarak sırasıyla Mueller Hinton Agar (21 g/L) ve RPMI kullanılmıştır. Yaklaşık 1x10⁶ cfu/mL mikroorganizma içeren 24 saatlik sıvı kültürden alınan bakteri ve mayalar, 0,5 McFarland standardı ile standardize edilmiştir.

Yapılan çalışmada 96 kuyucuklu steril kültür plaklarına serbest APBA, MPBA ve sentezlenen ÇHNY'ların farklı derişimlerdeki suspansiyonları hazırlanıp az miktarda kültürün ilavesiyle, madde ve mikroorganizma 0-24 saat zaman aralığında oda sıcaklığında inkübe edilmiştir. Test edilen antimikrobiyal maddenin, kullanılan mikroorganizmaya karşı hangi derişimde etkili olduğu, madde-mikroorganizma etkileşimi sonrası (inkübasyon) mikroorganizmanın mevcut ortamda canlılığının (üremesinin) devam edip etmediğine (varlığına veya yokluğuna) göre belirlenmiştir. Mikroorganizmalardaki üremenin varlığı ya da yokluğu her bir inkübasyon süresi sonunda kuyucuklardaki karışımın bulanıklık ölçümü ile yapılmıştır (Zgoda ve Porter, 2001). Bu kapsamda 96 kuyucuklu steril kültür kabındaki her bir kuyucuk içerisine ÇHNY'ların farklı derişimlerdeki (0,5 mg mL⁻¹, 1mg mL⁻¹ ve 2mg mL⁻¹) süspansiyonlarından 100 µL, uygun besiyerinden 100 µL ve en sonunda çalışılan mikroorganizmadan 25 µL pipetlendi. Daha sonra her bir kuyucuktaki çözelti bulanıklığı 0., 120., 240., 360., 720., 1080. ve 1440. dakikalarda mikropilaka okuyucuda 590 nm ve 630 nm dalga boyunda ölçüldü ve kaydedildi. Başlangıçta (0. dakikada) ölçülen absorbans değerinde mikroorganizma canlılığı %100 olarak belirlendi. Diğer etkileşim sürelerinde elde edilen absorbans, % canlılık olarak hesaplandı.

3.2.3. Katalitik Aktivitenin Belirlenmesi

Sentezlenen ÇHNY'ların katalitik aktiviteleri, Somtürk ve arkadaşlarının (2014) HRP-Cu²⁺ hibrit nano yapıları için uyguladığı yönteme göre spektrofotometrik olarak

belirlenmiştir. Yöntem H_2O_2 tarafından guaiakol substratının yükseltgenmesi ile oluşan bileşiğin (3,3'-dimetoksi-4,4'-bifenokinon) oluşturduğu absorbans artışının 470 nm'de ölçülmesi esasına dayanmaktadır. Reaksiyon enzim çözeltisinin ortama eklenmesi ile başlar ve her 15 dakikada bir olmak üzere oda sıcaklığında 470 nm'de absorbans artışı spektrofotometre ile 1 cm ışık yoluna sahip küvet kullanılarak izlenir.

Buna göre, öncelikle 1,0 mL pH 6,0'ya ayarlanmış PBS, 1,0 mL 22,5 mM H_2O_2 ve 1,0 mL 45 mM guaiakol çözeltileri 15,0 mL'lik 7 falkon tüp içerisine ayrı ayrı eklendi. Yukarıdaki çözelti karışımını içeren tüplerden 3 tanesi APBA- Cu^{2+} , 3 tanesi MPBA- Cu^{2+} ve 1 tanesi kontrol olarak kullanıldı. APBA- Cu^{2+} ve MPBA- Cu^{2+} ÇHNY'ların 0,5 mg mL⁻¹, 1,0 mg mL⁻¹ ve 2,0 mg mL⁻¹ derişimlerindeki suspansiyonlarından 1,0 mL alınarak yukarıda belirtilen tüplere ilave edildi. ÇHNY'ları içeren karışımlar manyetik karıştırıcı yardımı ile 450 rpm de 10 dakika karıştırıldı, ardından karışım 5 dakika süre ile santrifüj edildi ve süpernatant çözeltisi quartz küvete alındı. Elde edilen çözeltinin 470 nm'de kontrol çözeltisine karşı absorbansı ölçülerek kaydedildi. Absorbansı ölçülen süpernatant çözeltileri her bir ölçüm sonrası tekrar reaksiyon tüplerine eklenerek 15 dakika arayla toplam 6 kez yukarıdaki işlemler tekrarlandı. Bu işlemlerin tamamı HRP için gerçekleştirildi. En sonunda, APBA- Cu^{2+} , MPBA- Cu^{2+} hibrit nano yapıları ve HRP için zamana karşı ölçülen absorbans değerleri grafiğe alındı.

4. BULGULAR

4.1. HİBRİD NANO YAPILARIN KARAKTERİZASYONU

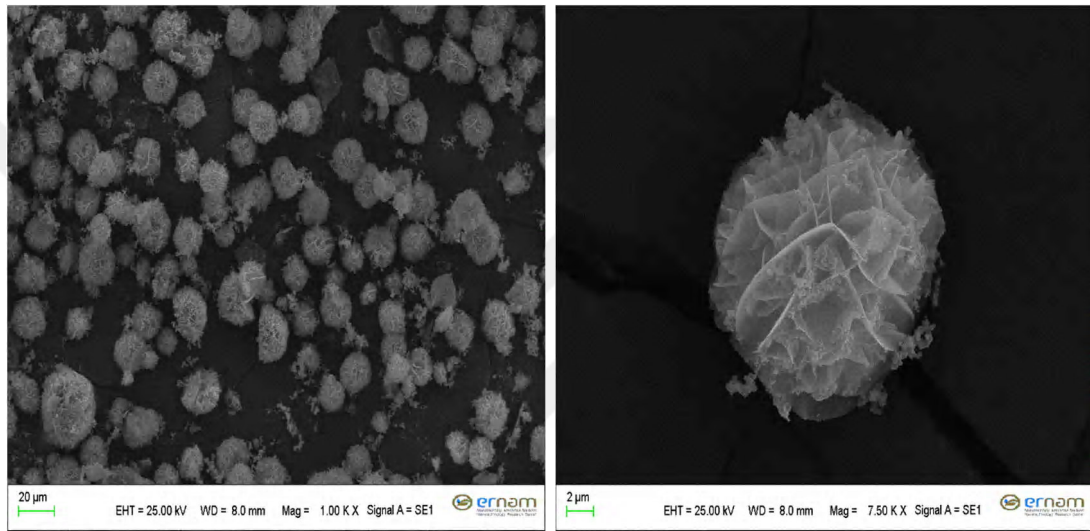
4.1.1. Hibrid Nano Yapıların Sentez pH'sının SEM Görüntüleri ile Belirlenmesi

Düzdün şekil ve morfolojiye sahip APBA-Cu²⁺ ve MPBA-Cu²⁺ çiçek şekilli hibrit nano yapıların oluştuğu pH değerlerinin belirlenmesi için pH 4 ile pH 10 arasında sentez prosedürleri uygulandı. Optimum sentez pH'sı oluşan hibrit nano yapıların SEM görüntülerinde bulunan 2 parametre dikkate alınarak belirlendi. Bunlar; (i) oluşan hibrit nano yapıların düzdün çiçek benzeri bir görüntüye sahip olması ve (ii) her bir hibrit nano yapıdaki nano yaprakların sayısının en yüksek olmasıdır.

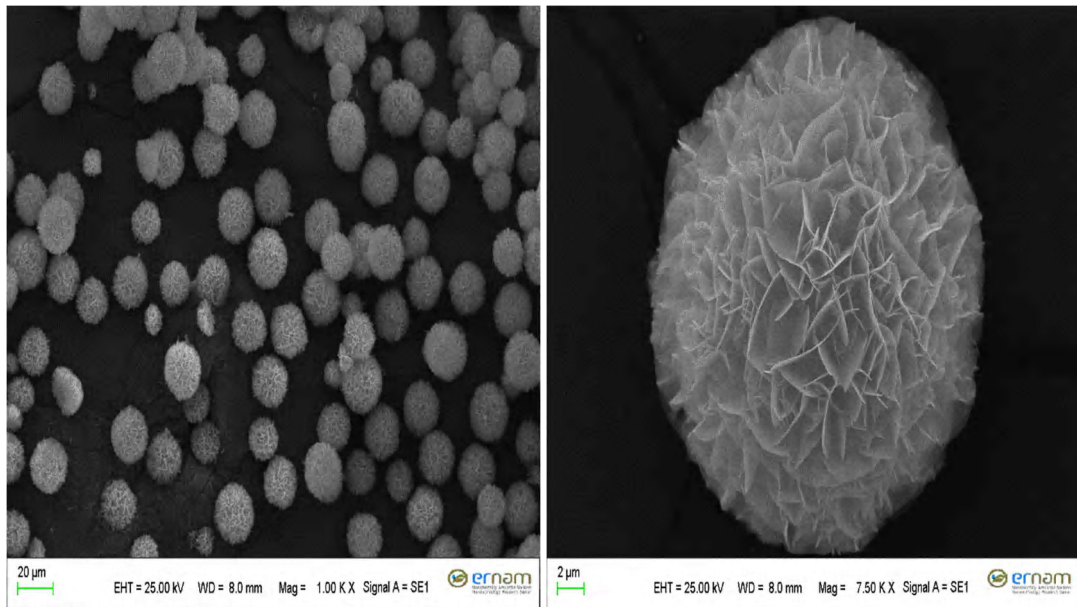
Her bir pH değerinde sentezlenen APBA-Cu²⁺ hibrit nano yapıların yüzey morfolojileri Şekil 4.1.-4.7.'de verilen SEM görüntüleri ile incelendiğinde; en düzdün morfolojiye sahip çiçek şekilli hibrit nano yapıların pH 5 ve pH 6'da oluştuğu gözlemlendi. Aksine, pH 7, 9 ve 10'da sentezlenen hibrit yapıların çiçek şekilli bir nano yapıya sahip olmadığı, pH 4 ve 8'de ise çiçek benzeri bir görüntüye sahip olsa da nano yaprakların oluşumunun tamamlanmadığı görülmektedir. pH 5 ve 6'da sentezlenen çiçek şekilli hibrit nano yapılar karşılaştırıldığında ise pH 5'te sentezlenen nano yapıların pH 4, 6, 7, 8, 9 ve 10'da sentezlenen nano yapılara kıyasla daha düzdün morfolojiye ve daha fazla nano yaprak sayısına sahip olduğu görüldü. APBA-Cu²⁺ hibrit nano yapıların optimum sentez pH'sı olarak pH 5 seçildi. Daha sonra yapılan çalışmalarda pH 5'te (Şekil 4.2) sentezlenen APBA-Cu²⁺ hibrit nano yapılar kullanıldı.

pH 4 ile pH 10 arasında değişen pH'larda sentezlenen MPBA-Cu²⁺ çiçek şekilli hibrit nano yapıların SEM görüntüleri Şekil 4.8-4.14'te verilmektedir. Hibrit nanoyapıların SEM görüntüleri incelendiğinde; en düzdün morfolojiye sahip çiçek şekilli hibrit nano yapıların pH 5 ve pH 6'da oluştuğu gözlemlendi. pH 7, 9 ve 10'da uygulanan sentez prosedürlerinde çiçek şekilli bir nano yapının oluşmadığı, pH 4 ve pH 8'de ise çiçek

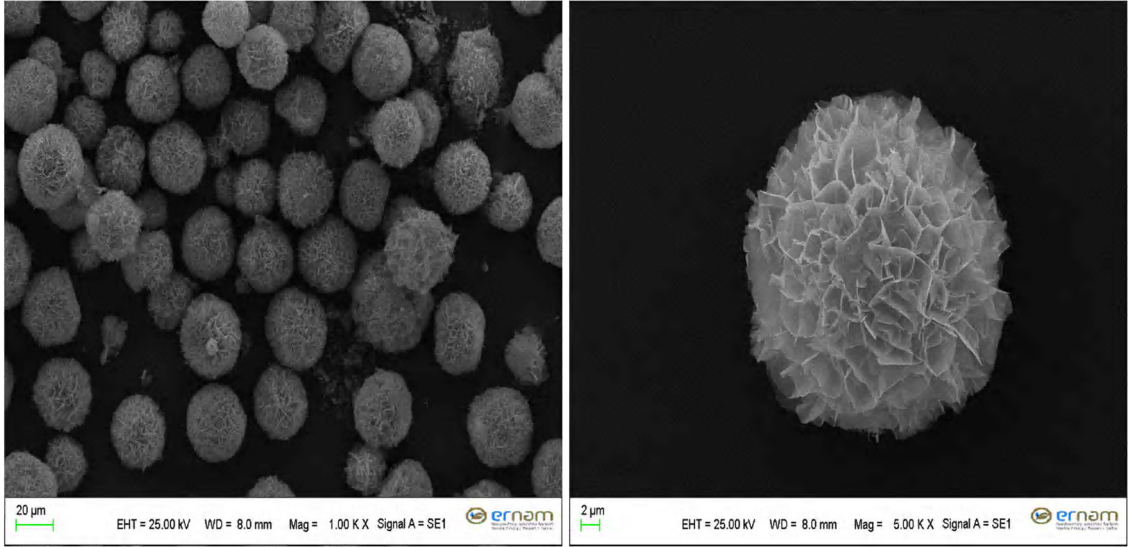
benzeri bir görüntüye sahip olsa da nano yaprakların oluşumunun tamamlanmadığı görülmektedir. pH 5 ve 6'da sentezlenen çiçek şekilli hibrit nano yapılar karşılaştırıldığında ise pH 6'da sentezlenen nano yapıların pH 4, 5, 7, 8, 9 ve 10'da sentezlenen nano yapılara kıyasla daha düzgün morfolojiye ve daha fazla nano yaprak sayısına sahip olduğu görüldü. MPBA-Cu²⁺ hibrit nano yapıların optimum sentez pH'sı olarak pH 6 seçildi. Daha sonra yapılan çalışmalarda pH 6'da (Şekil 4.10) sentezlenen MPBA-Cu²⁺ hibrit nano yapılar kullanıldı.



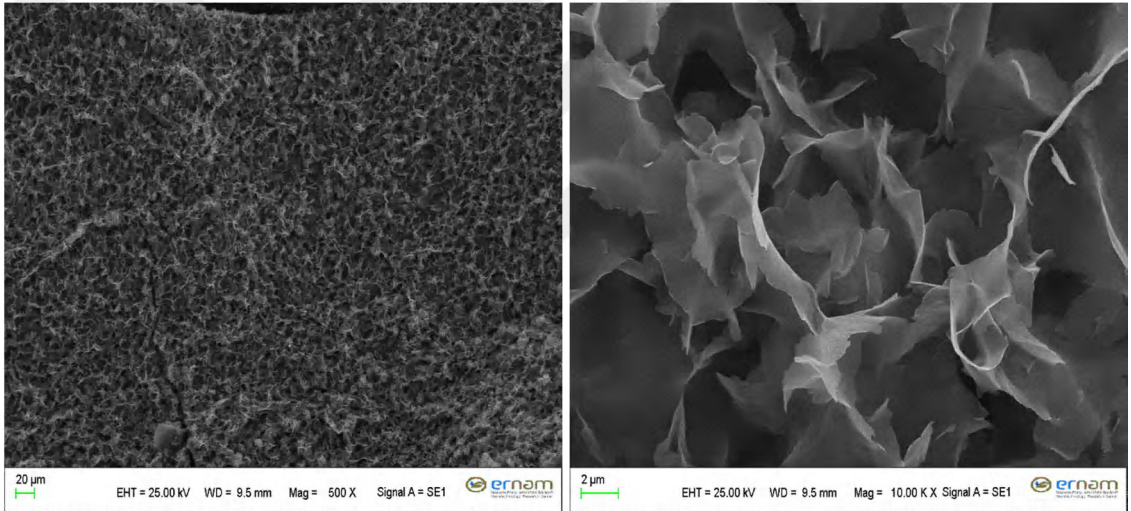
Şekil 4.1. pH 4'te sentezlenen APBA-Cu²⁺ ÇHNY'ların SEM görüntüleri



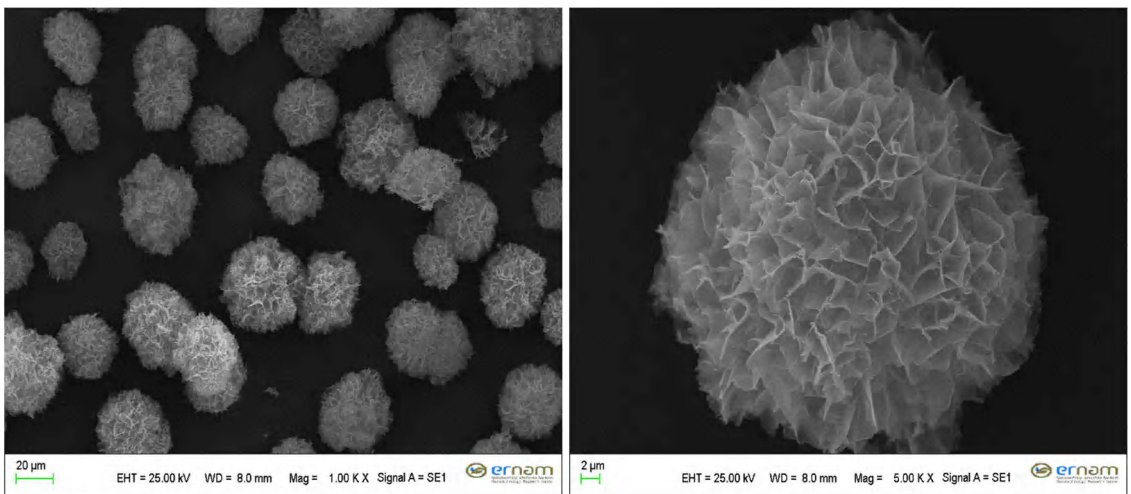
Şekil 4.2. pH 5'de sentezlenen APBA-Cu²⁺ ÇHNY'ların SEM görüntüleri



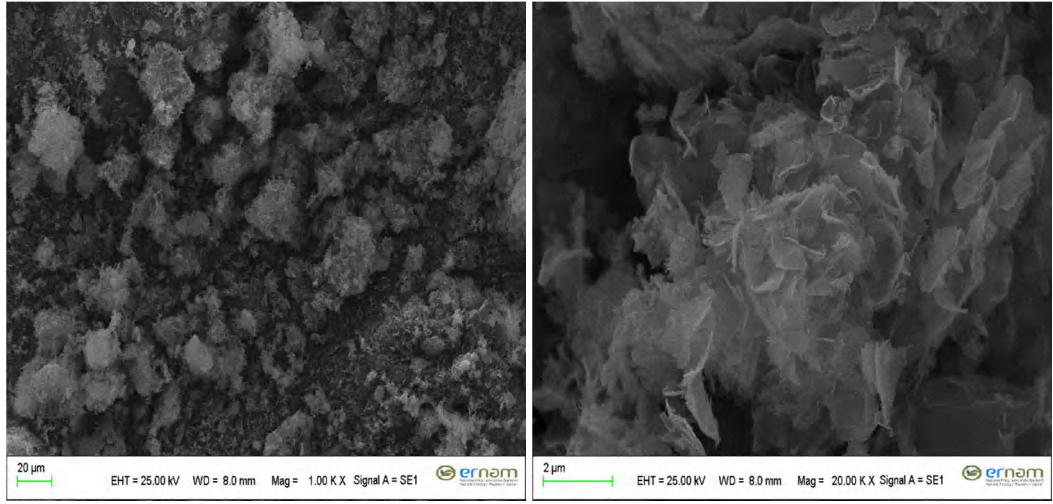
Şekil 4.3. pH 6'da sentezlenen APBA-Cu⁺² ÇHNY'ların SEM görüntüleri



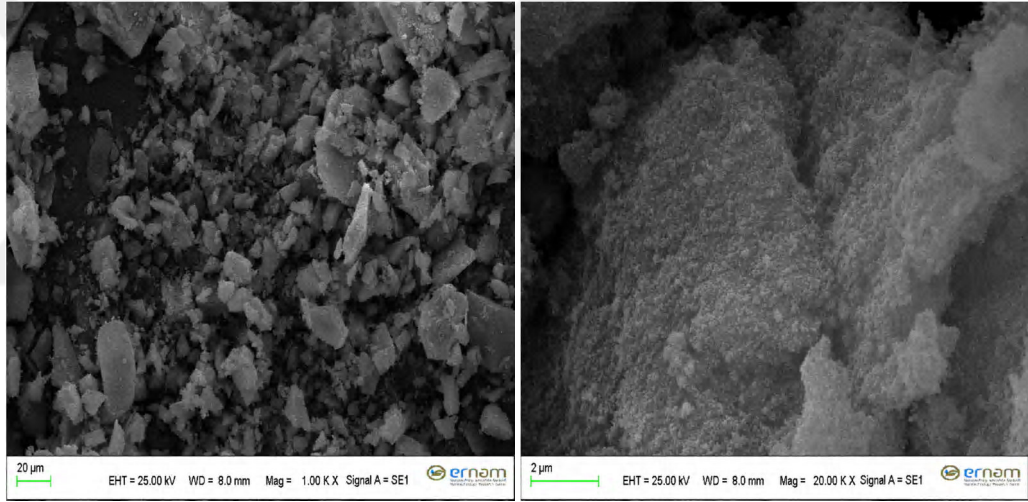
Şekil 4.4. pH 7'de sentezlenen APBA-Cu⁺² ÇHNY'ların SEM görüntüleri



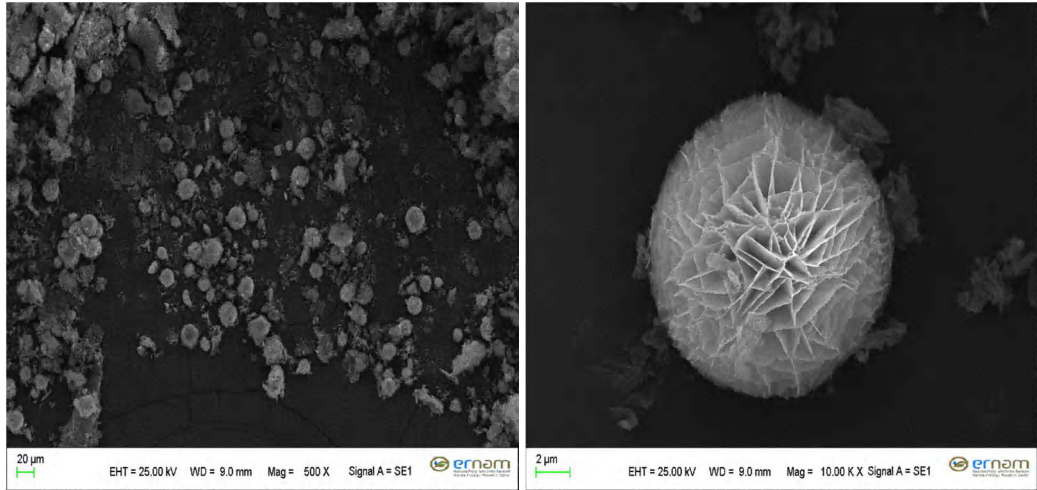
Şekil 4.5. pH 8'de sentezlenen APBA-Cu⁺² ÇHNY'ların SEM görüntüleri



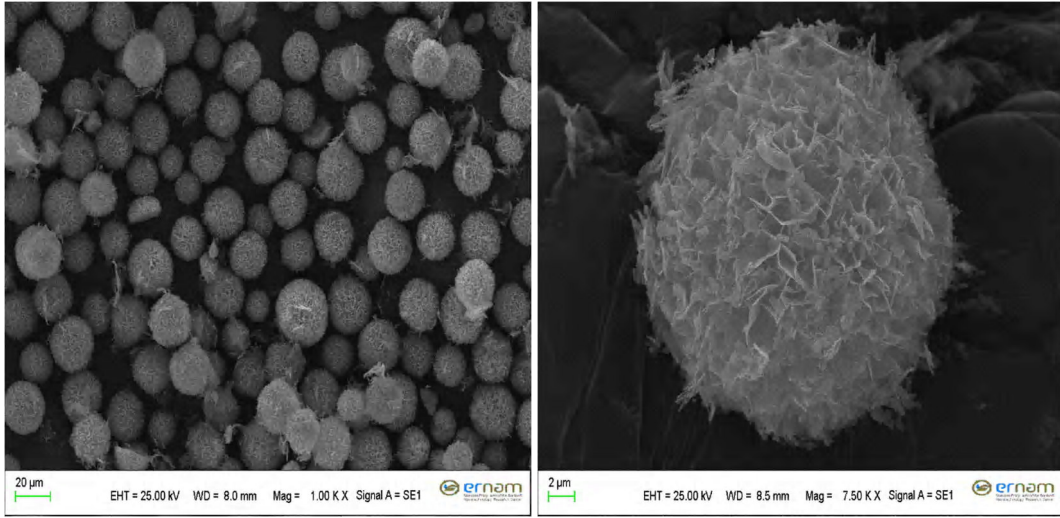
Şekil 4.6. pH 9'da sentezlenen APBA-Cu⁺² ÇHNY'ların SEM görüntüleri



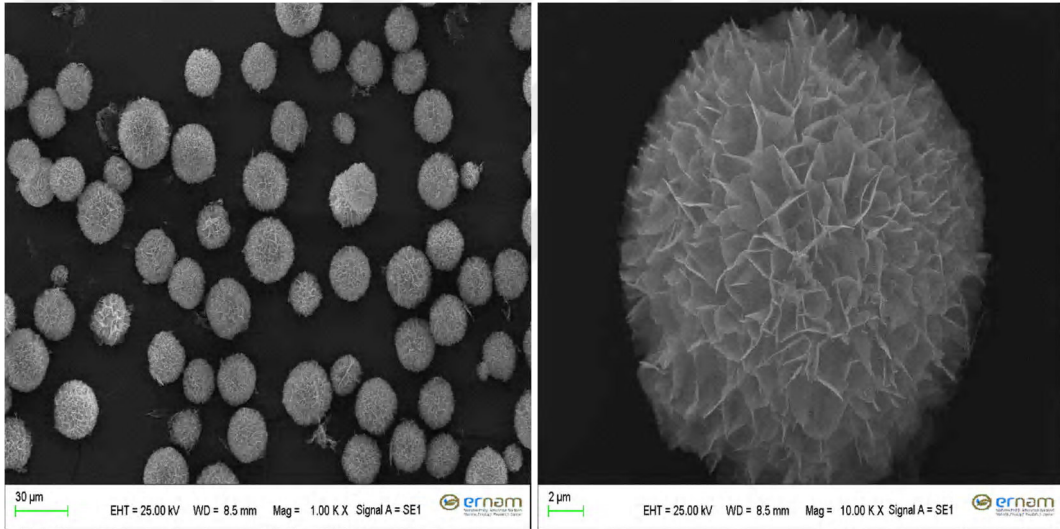
Şekil 4.7. pH 10'da sentezlenen APBA-Cu⁺² ÇHNY'ların SEM görüntüleri



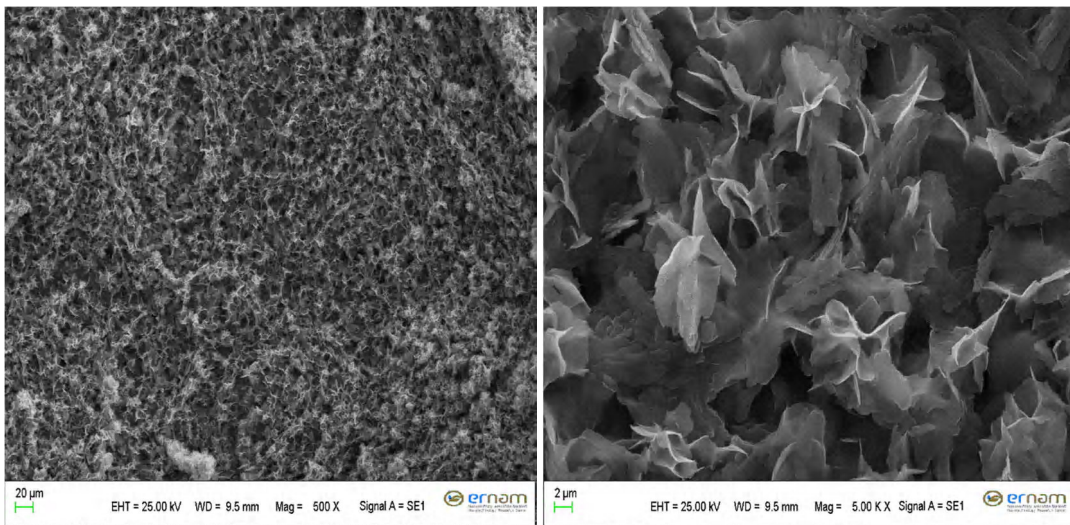
Şekil 4.8. pH 4'de sentezlenen MPBA-Cu⁺² ÇHNY'ların SEM görüntüleri



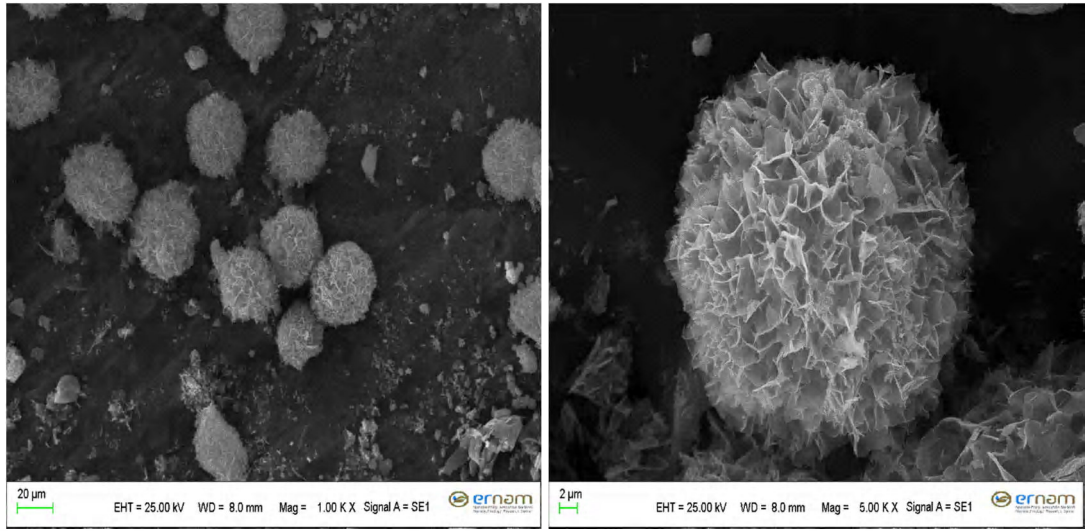
Şekil 4.9. pH 5'de sentezlenen MPBA-Cu⁺² ÇHNY'ların SEM görüntüleri



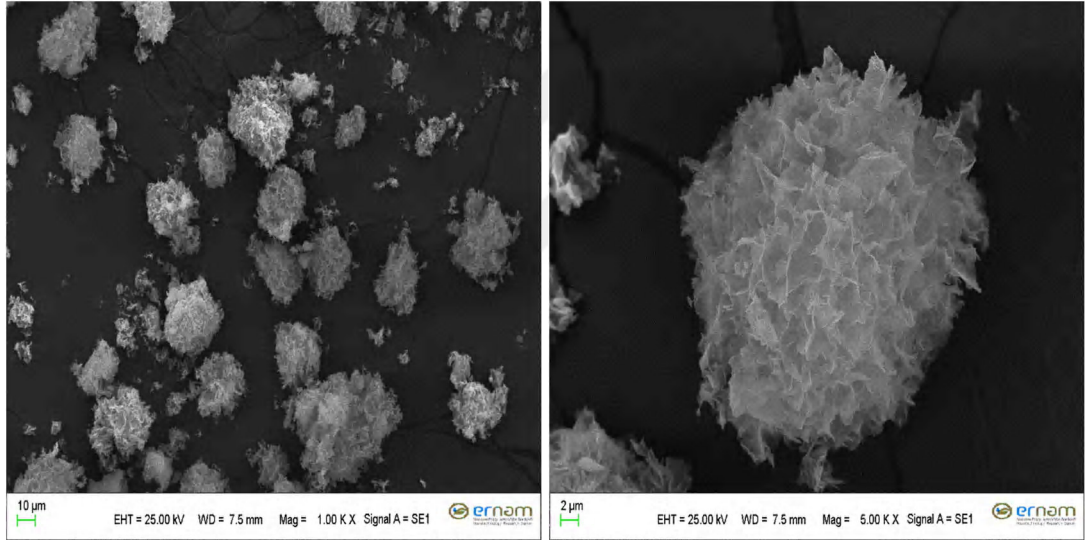
Şekil 4.10. pH 6'de sentezlenen MPBA-Cu⁺² ÇHNY'ların SEM görüntüleri



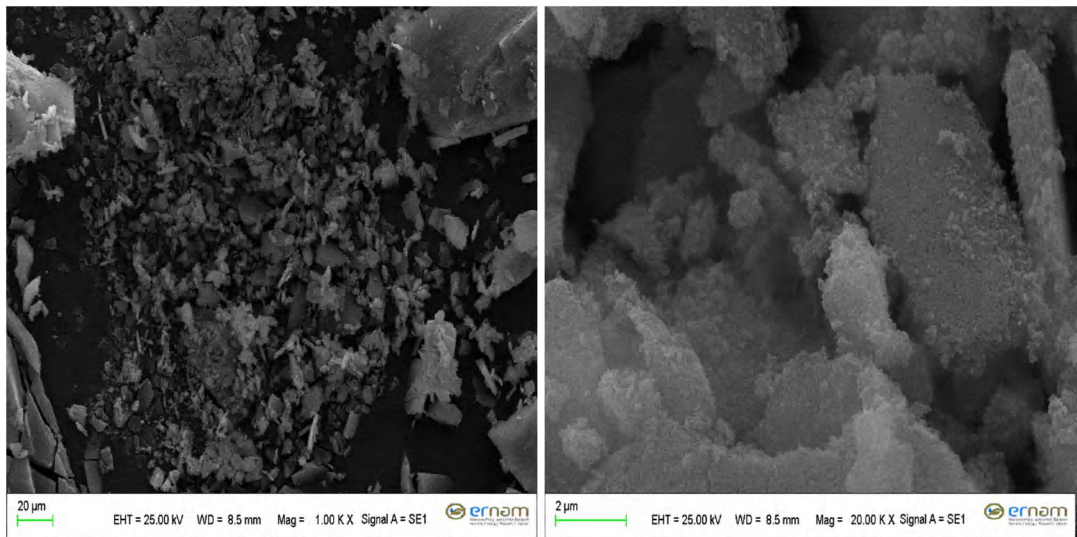
Şekil 4.11. pH 7'de sentezlenen MPBA-Cu⁺² ÇHNY'ların SEM görüntüleri



Şekil 4.12. pH 8’de sentezlenen MPBA-Cu²⁺ ÇHNY’ların SEM görüntüleri



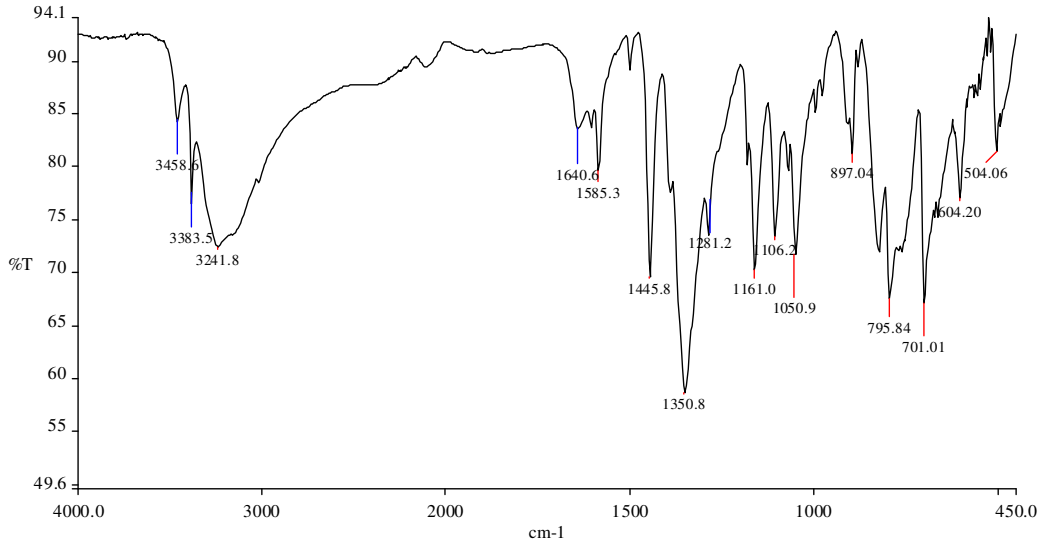
Şekil 4.13. pH 9’da sentezlenen MPBA-Cu²⁺ ÇHNY’ların SEM görüntüleri



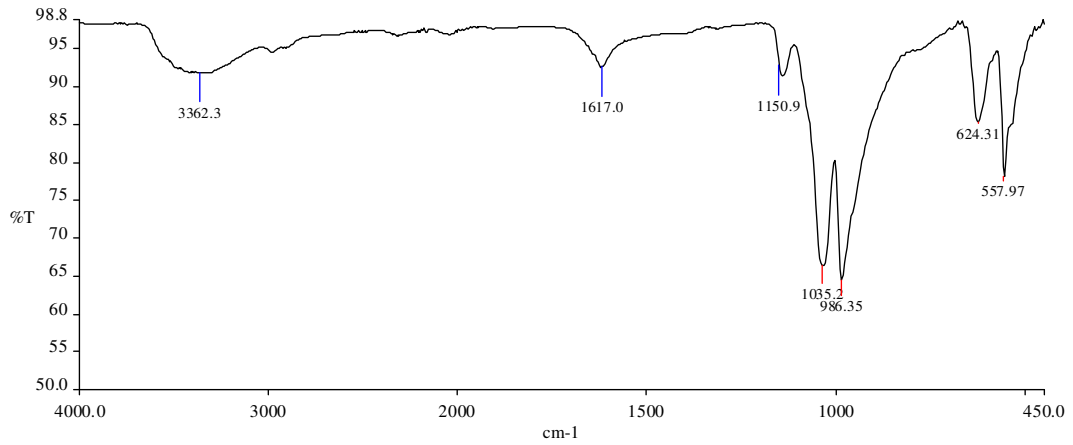
Şekil 4.14. pH 10’da sentezlenen MPBA-Cu²⁺ ÇHNY’ların SEM görüntüleri

4.1.2. FT-IR Spektrumları

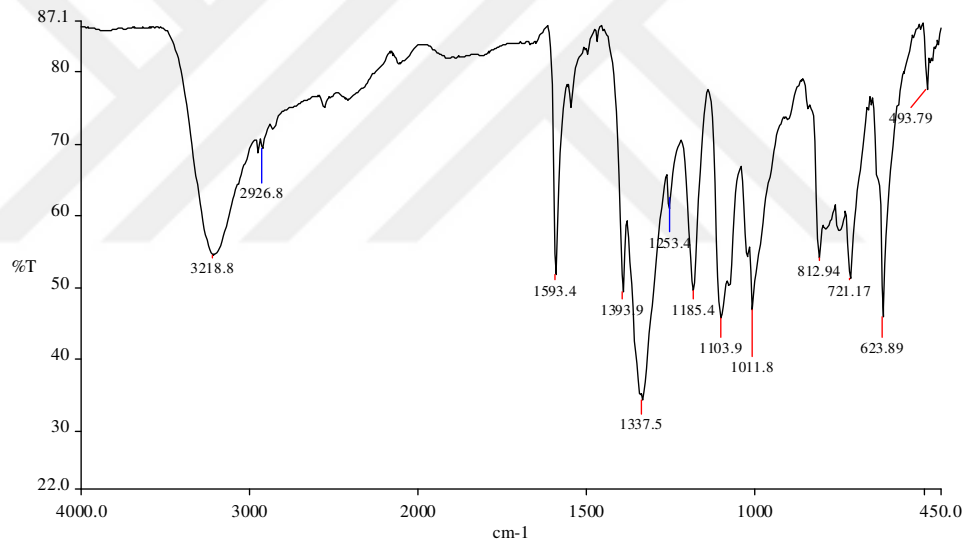
APBA, MPBA, ve APBA-Cu⁺² ve MPBA-Cu⁺² ÇHNY'ların FT-IR spektrumları şekil 4.15-4.18'de verilmektedir. Şekil 4.16 ve şekil 4.18'de görüldüğü gibi APBA-Cu⁺² ve MPBA-Cu⁺² ÇHNY'ların benzer FT-IR spektrumları verdiği görülmektedir. Her iki hibrit nano yapının yüksek miktarda bakır-fosfat kristalleri, az miktarda APBA ve MPBA içermesinden dolayı benzer FT-IR spektrumlarına sahiptir. pH 5'te sentezlenen APBA-Cu⁺² hibrit nano yapıların şekil 4.16'da gösterilen FT-IR spektrumu analizinde; 557,97 ve 624,31 cm⁻¹'de görülen absorpsiyon bantları O=P=O grubuna aittir. 986,35 ve 1035,20 cm⁻¹'de görülen absorpsiyon bantları P-O ve P=O gruplarına aittir. 3362,30 cm⁻¹'de görülen absorpsiyon bandı APBA'nın yapısında bulunan hidroksil gruplarına (-OH) ait olabilir. pH 6'te sentezlenen MPBA-Cu⁺² hibrit nano yapıların şekil 4.18'de gösterilen FT-IR spektrumu analizinde; 557,37 ve 623,81 cm⁻¹'de görülen absorpsiyon bantları O=P=O grubuna aittir. 984,57 ve 1031,50 cm⁻¹'de görülen absorpsiyon bantları P-O ve P=O gruplarına aittir. 3218,8 cm⁻¹'de görülen absorpsiyon bandı MPBA'nın yapısında bulunan hidroksil grubuna (-OH) ait olabilir.



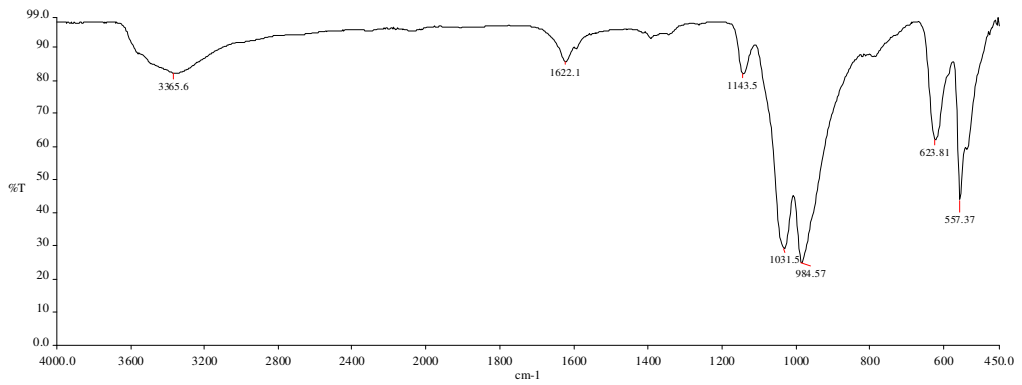
Şekil 4.15. APBA reaktifinin FT-IR spektrumu



Şekil 4.16. pH 5’de sentezlenen APBA-Cu²⁺ ÇHNY’ların FT-IR spektrumu



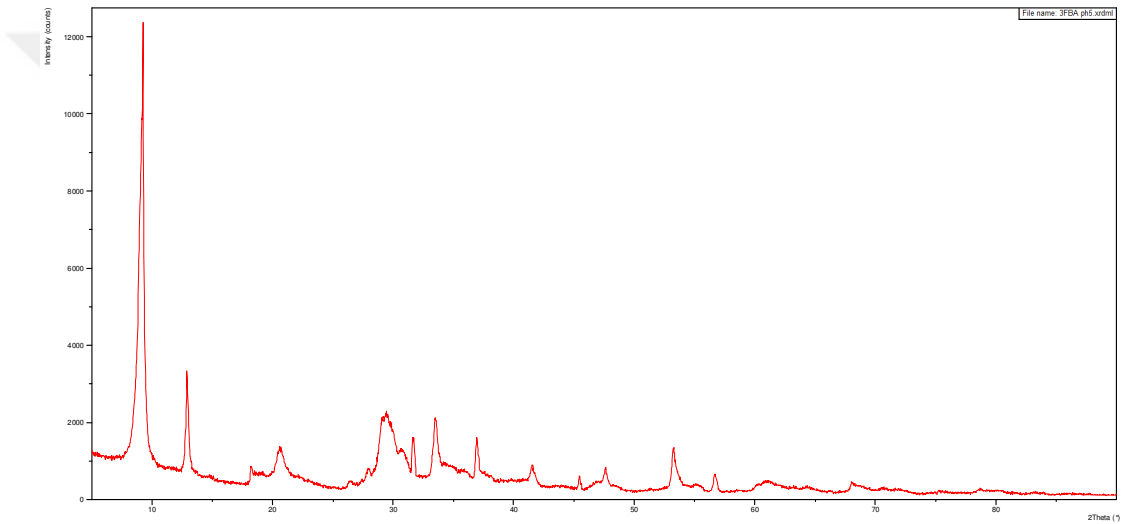
Şekil 4.17. MPBA reaktifinin FT-IR spektrumu



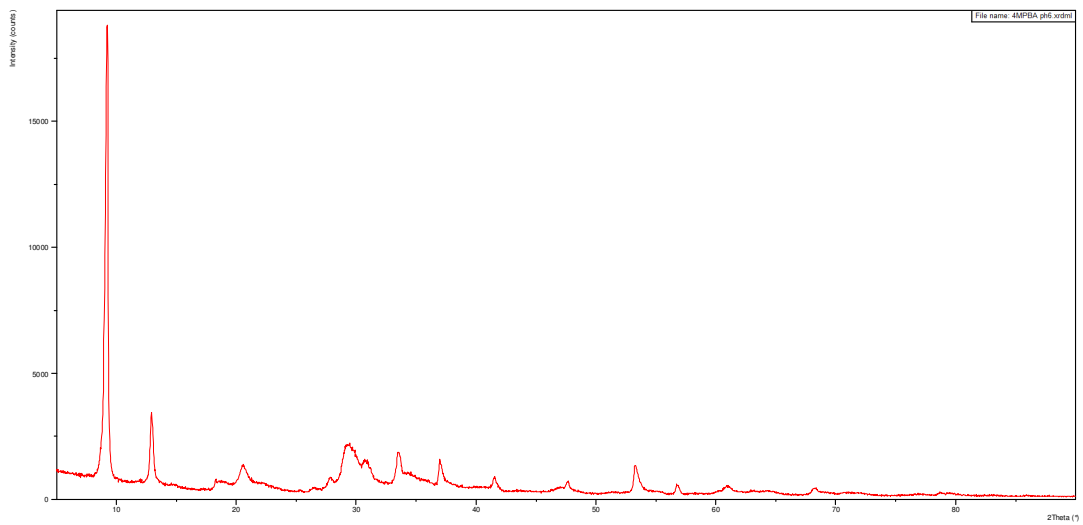
Şekil 4.18. pH 6’da sentezlenen MPBA-Cu²⁺ ÇHNY’ların FT-IR spektrumu

4.1.3. XRD Spektrumları

Şekil 4.19 ve 4. 20 de sırasıyla pH 5’de sentezlenen APBA-Cu⁺² ÇHNY’ların ve pH 6’da sentezlenen MPBA-Cu⁺² ÇHNY’ların XRD spektrumları verilmiştir. XRD analizi ile APBA-Cu⁺² ÇHNY’ların ve MPBA-Cu⁺² ÇHNY’ların kiral yapıları pik pozisyonlarına göre elde edilen spektrumlarda incelenmiştir. Her iki ÇHNY’da da oluşan Cu₃(PO₄)₂ primer nanokristallerin pik pozisyonları görülmektedir. Ayrıca bu spektrumlar ÇHNY’ların Cu₃(PO₄)₂ primer nanokristalleri üzerinden oluşumunu tamamladığının bir göstergesi olmaktadır.



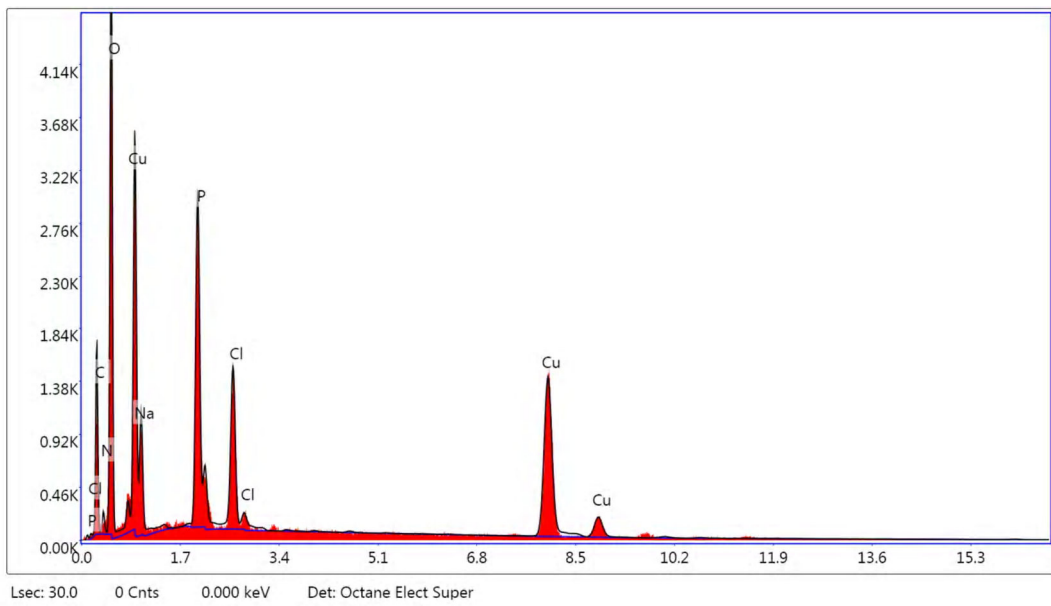
Şekil 4.19. pH 5’de sentezlenen APBA-Cu⁺² ÇHNY’ların XRD spektrumu



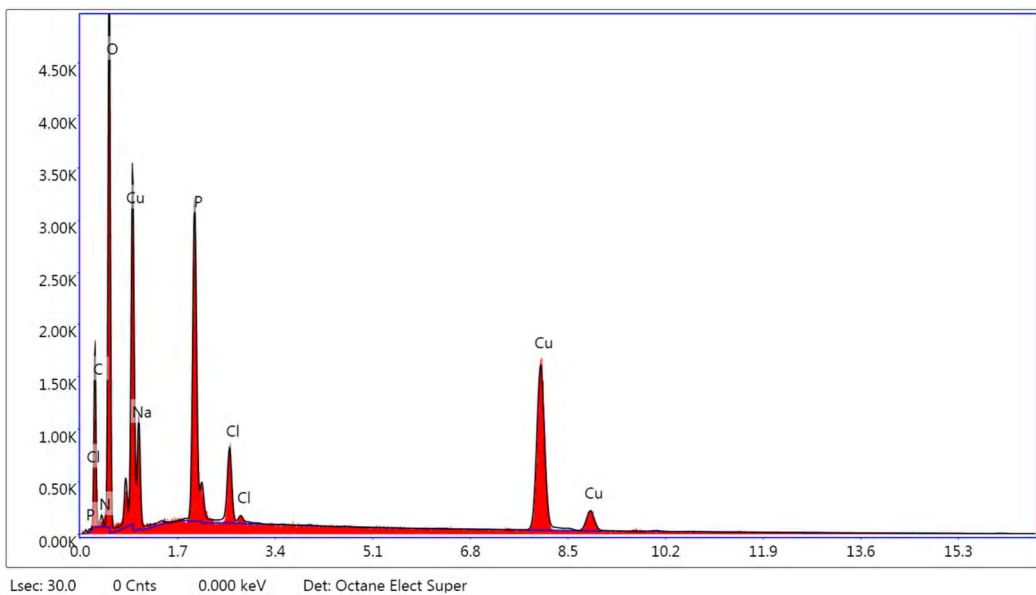
Şekil 4.20. pH 6’da sentezlenen MPBA-Cu⁺² ÇHNY’ların XRD spektrumu

4.1.4. EDX Spektrumları

APBA-Cu⁺² ve MPBA-Cu⁺² ÇHNY'ların EDX spektrumları sırasıyla Şekil 4.21 ve Şekil 4.22'de verilmektedir. Hem pH 5'de sentezlenen APBA-Cu⁺² ÇHNY'ların ve pH 6'da sentezlenen MPBA-Cu⁺² ÇHNY'ların oluşması için kilit rol oynayan Cu metalinin Cu₃(PO₄)₂ primer nanokristal oluşumunda ve ÇHNY'ların yapısında olduğunu kanıtlamak için elemental analiz EDX ile yapılmış olup her iki EDX spektrumunda da Cu metal varlığı açıkça belirtilmiştir.



Şekil 4.21. pH 5'de sentezlenen APBA-Cu⁺² ÇHNY'ların EDX spektrumu



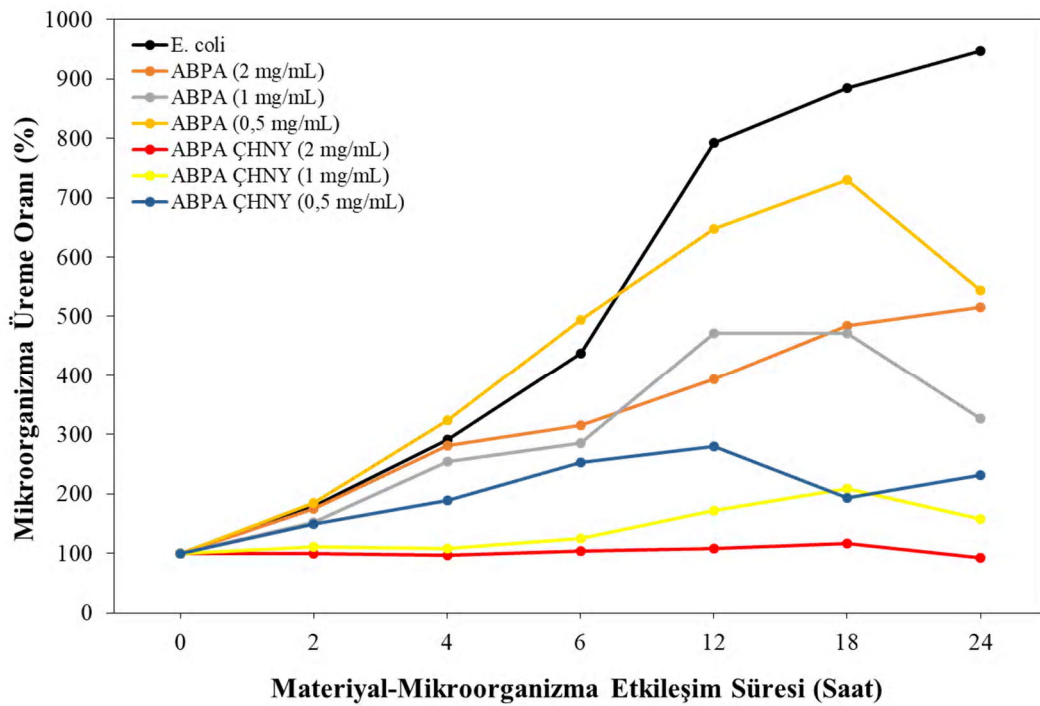
Şekil 4.22. pH 6'da sentezlenen MPBA-Cu⁺² ÇHNY'ların EDX spektrumu

4.2. HİBRİD NANO YAPILARIN ANTİMİKROBİYAL ETKİSİ

Çiçek şekilli hibrit nano yapıların ve serbest APBA ve MPBA moleküllerinin, 0,5 ile 2,0 mg mL⁻¹ arasında değişen konsantrasyonlarda, gram (-) negatif (*E.coli*), gram (+) (*S. aureus*) bakteriler ve mantara (*C. albicans*'a) karşı antimikrobiyal aktivitesi incelendi. Elde edilen sonuçlar aşağıda verilmektedir;

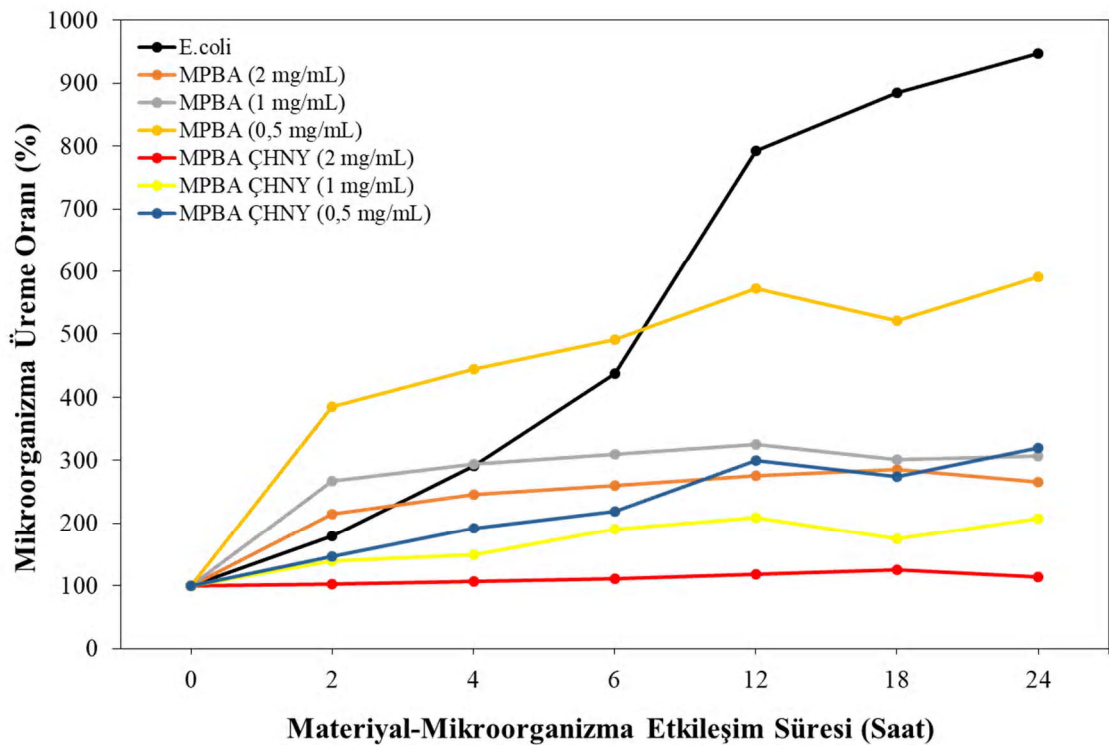
4.2.1. APBA-Cu²⁺ ve MPBA-Cu²⁺ Hibrid Nano Yapıların *E. coli* Bakterisine Karşı Antimikrobiyal Etkisi

Serbest APBA gram (-) negatif *E. coli* ye karşı konsantrasyona bağlı antibakteriyel etki gösterse de bu etki, APBA'dan sentez edilen APBA-Cu²⁺ çiçek şekilli hibrit nanoyapıların antibakteriyel etkisine nazaran daha zayıf bulundu. APBA-Cu²⁺ çiçek şekilli hibrit nanoyapılar konsantrasyona bağlı olarak antibakteriyel etki gösterdi. Özellikle APBA-Cu²⁺ çiçek şekilli hibrit nanoyapıların 2 mg mL⁻¹ konsantrasyonda gram (-) negatif *E. coli* ye karşı güçlü antibakteriyel etkiye sahip olduğu görüldü(Şekil4.23.).



Şekil 4.23. APBA ve APBA-Cu²⁺ ÇHNY'ların *E. coli* ile etkileşim süresinin *E. coli* canlılığı üzerine etkisi

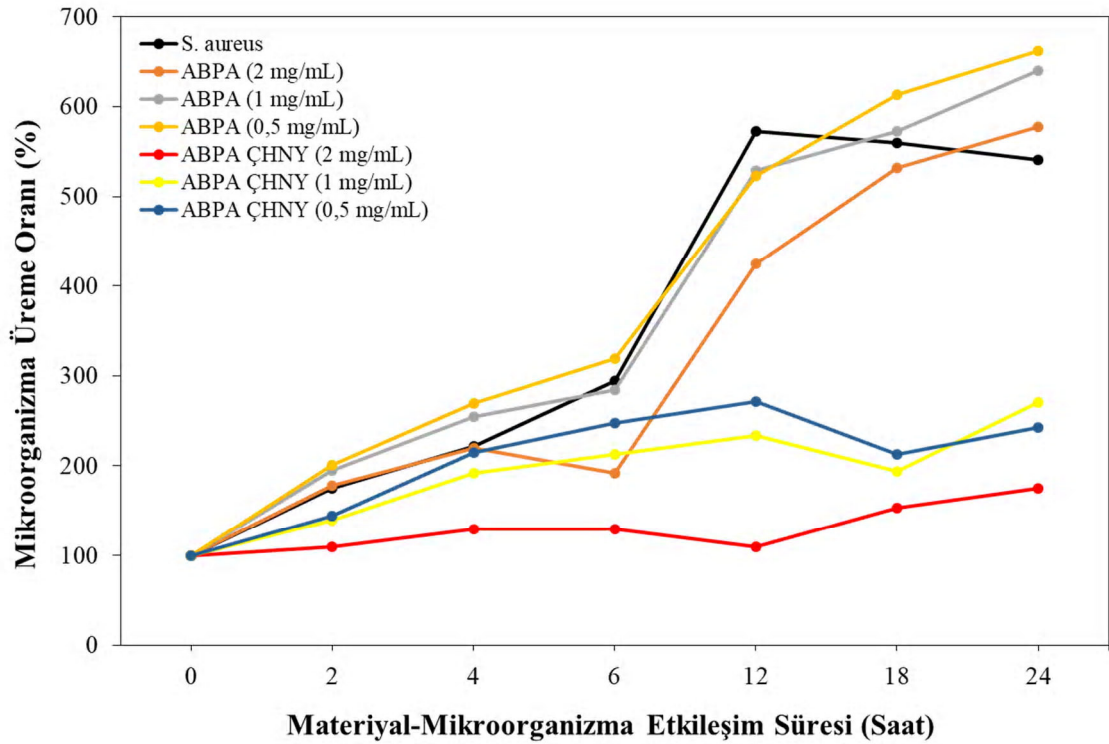
Serbest MPBA gram (-) negatif *E.coli* ye karşı konsantrasyona bağlı antibakteriyel etki göstermiştir. MPBA'nın tek başına uygulaması ile ölçülen antibakteriyel etki, APBA'nın tek başına uygulaması ile ölçülen antibakteriyel etkiden daha güçlü bulundu. Buna ek olarak MPBA'dan sentez edilen MPBA-Cu²⁺ çiçek şekilli hibrit nanoyapılar konsantrasyona bağlı olarak antibakteriyel etki göstermiştir ve bu etki MPBA'nın tek başına uygulanmasına kıyasla çok daha güçlüdür. Özellikle 2 mg mL⁻¹ konsantrasyonda çiçek şekilli hibrit nanoyapılar güçlü antibakteriyel etki göstermiştir(Şekil4.24.).



Şekil 4.24. MPBA ve MPBA-Cu²⁺ ÇHNY'ların *E. coli* ile etkileşim süresinin *E. coli* canlılığı üzerine etkisi

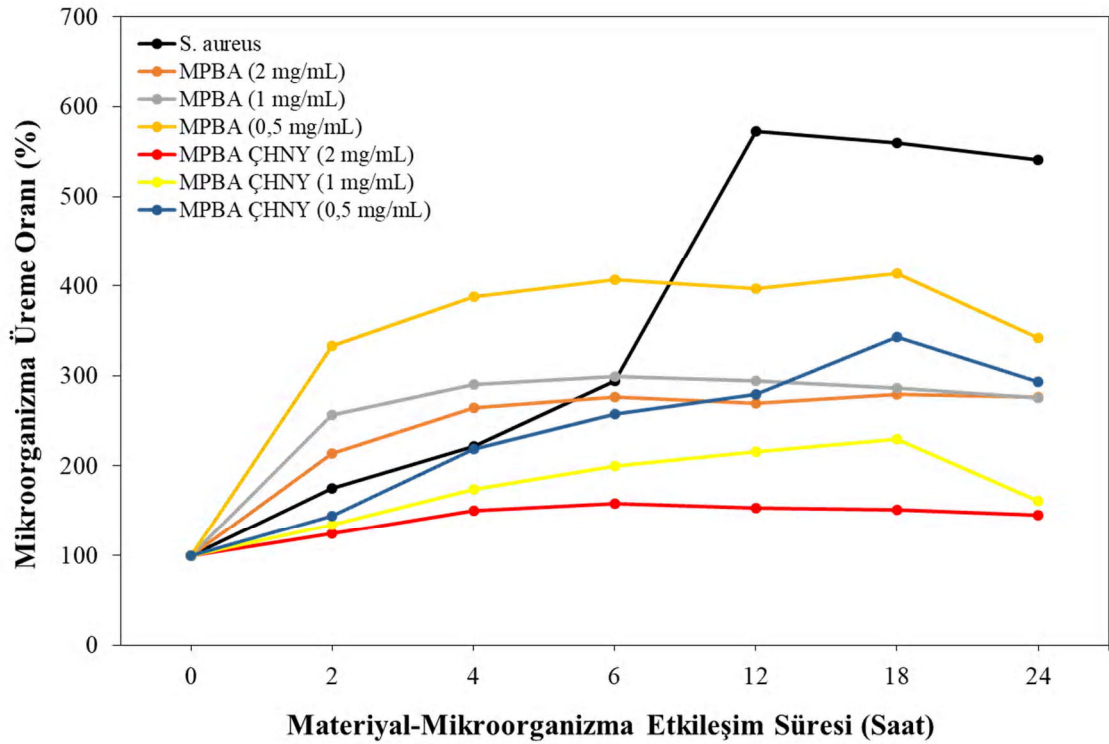
4.2.2. APBA-Cu²⁺ ve MPBA-Cu²⁺ Hibrid Nano Yapıların *S. aureus* Bakterisine Karşı Antimikrobiyal Etkisi

APBA tek başına gram (+) *S. aureus* a karşın antibakteriyel etki göstermemiştir. Ancak APBA'dan sentez edilen APBA-Cu²⁺ çiçek şekilli hibrit nanoyapılar konsantrasyona bağlı olarak antibakteriyel etki göstermiştir. Özellikle 2 mg mL⁻¹ konsantrasyonda APBA-Cu²⁺ çiçek şekilli hibrit nanoyapılar gram (+) pozitif *S. aureus*'a karşı güçlü antibakteriyel etki göstermiştir (Şekil 4.25.).



Şekil 4.25. APBA ve APBA-Cu²⁺ ÇHNY'ların *S. aureus* ile etkileşim süresinin *S. aureus* canlılığı üzerine etkisi

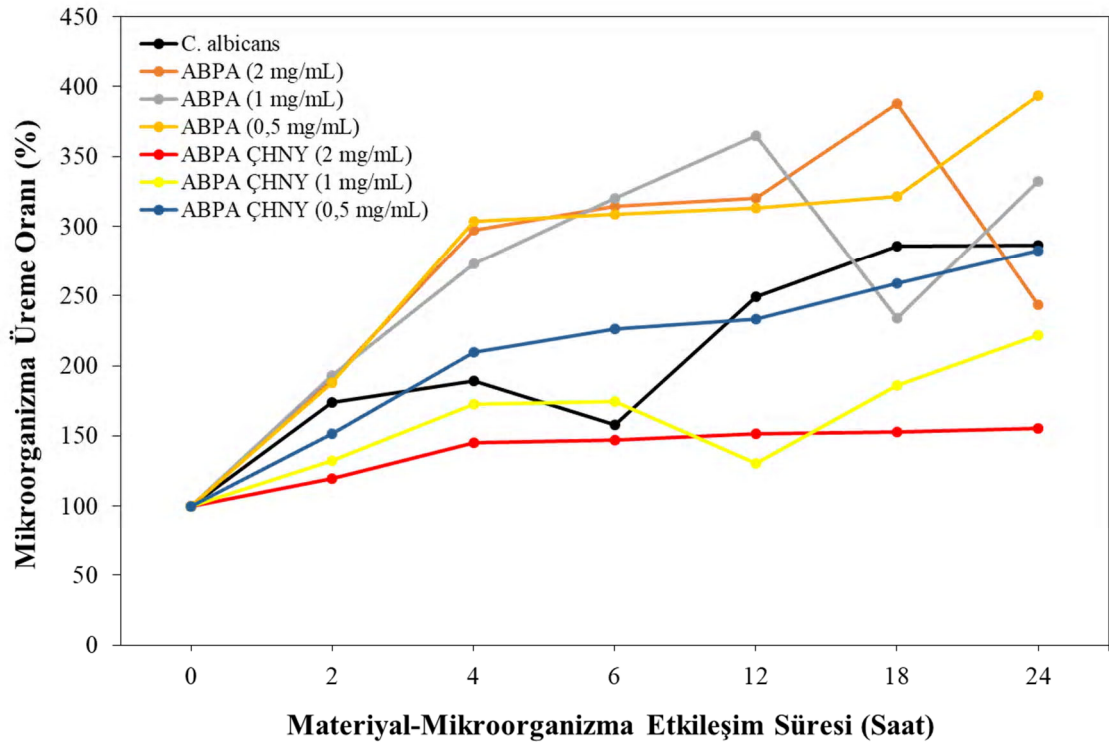
MPBA'nın tek başına uygulanması ve bu yapıdan sentez edilen MPBA-Cu²⁺ çiçek şekilli hibrit nanoyapıların *S. aureus*'a karşı antibakteriyel etkisi, gram (-) negatif *E. coli*'ye karşı ölçülen antibakteriyel etkisine benzer bulunmuştur. MPBA-Cu²⁺ çiçek şekilli hibrit nanoyapıların *S. aureus*'a karşı antibakteriyel etkisi tek başına MPBA ile karşılaştırıldığında; MPBA-Cu²⁺'nin daha güçlü antibakteriyel etkiye sahip olduğu Şekil 4.26'de görülmektedir. Yine sentez edilen MPBA-Cu²⁺ çiçek şekilli hibrit nanoyapılar konsantrasyona bağlı olarak antibakteriyel etki göstermiştir.



Şekil 4.26. MPBA ve MPBA-Cu²⁺ ÇHNY'lerin *S. aureus* ile etkileşim süresinin *S. aureus* canlılığı üzerine etkisi

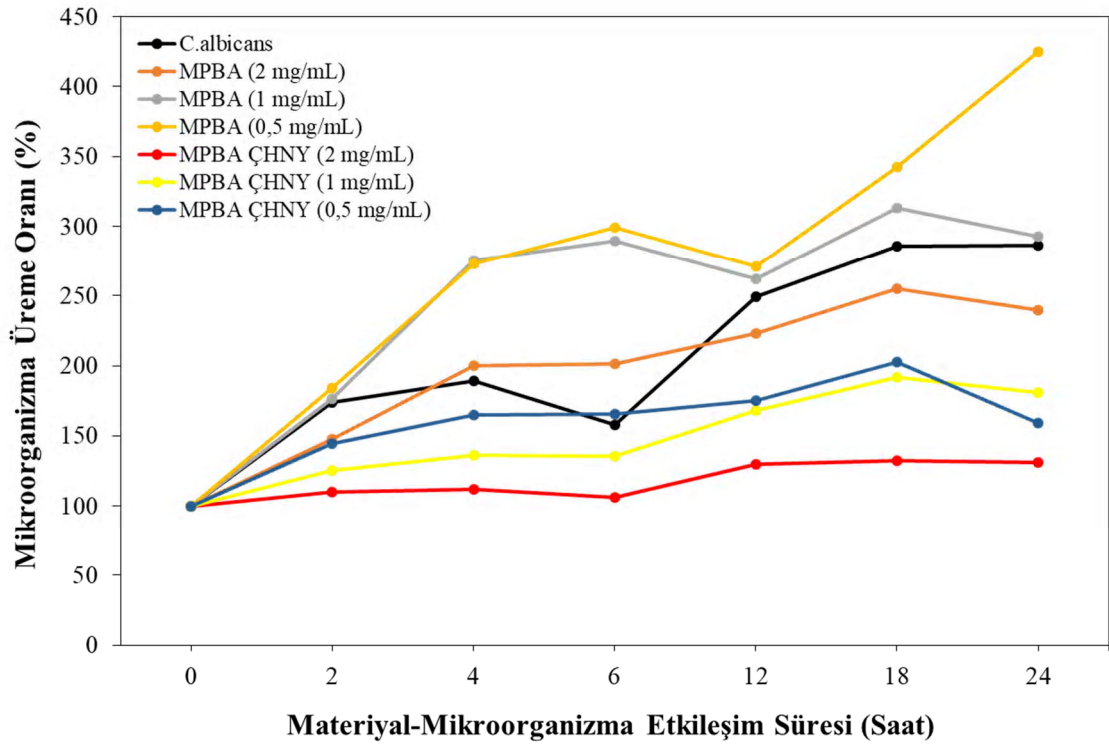
4.2.3. APBA-Cu²⁺ ve MPBA-Cu²⁺ Hibrid Nano Yapıların *C. albicans* Mantara Karşı Antifungal Etkisi

Tek başına APBA'nın *C. albicans*'a karşı antifungal etkisi hemen hemen hiç yoktur. Bununla birlikte APBA'dan sentez edilen APBA-Cu²⁺ çiçek şekilli hibrit nanoyapıların antifungal etkisinin antibakteriyel etkilerine nazaran daha zayıf olduğu görüldü. Yine konsantrasyona bağlı etkinin gözlemlendiği deney sonuçlarında, 2 mg mL⁻¹ konsantrasyonda APBA-Cu²⁺ çiçek şekilli hibrit nanoyapılar en yüksek antifungal etkiye sahip olduğu gözlemlendi (Şekil 4.27.).



Şekil 4.27. APBA ve APBA-Cu²⁺ ÇHNY'ların *C. albicans* ile etkileşim süresinin *C. albicans* canlılığı üzerine etkisi

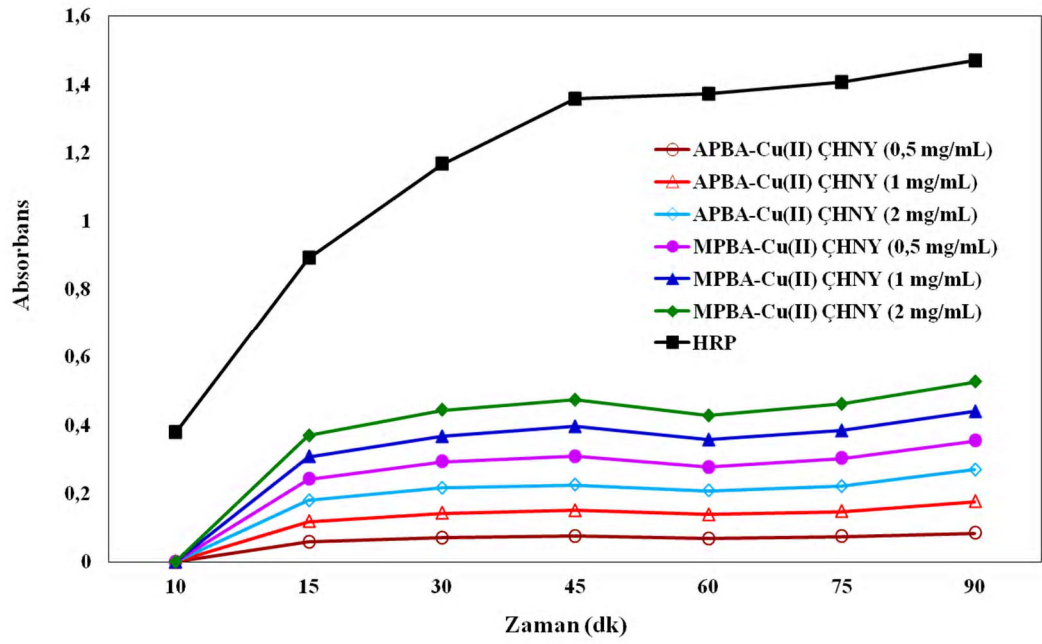
MPBA'nın *C. albicans*'a karşı antifungal etkisi hemen hemen hiç yoktur. Bununla birlikte MPBA'dan sentez edilen MPBA-Cu²⁺ çiçek şekilli hibrit nanoyapıların antifungal etkisi antibakteriyel etkilerine nazaran daha zayıf bulundu. Yine konsantrasyona bağlı etkinin gözlemlendiği deney sonuçlarında, 0,5 mg mL⁻¹ ve 1 mg mL⁻¹ konsantrasyonlarda antibakteriyel etkide anlamlı farklılık ölçülememişken, 2 mg mL⁻¹ konsantrasyonda MPBA-Cu²⁺ çiçek şekilli hibrit nanoyapılar en yüksek antifungal etki göstermiştir (Şekil 4.28.).



Şekil 4.28. MPBA ve MPBA-Cu²⁺ ÇHNY'lerin *C. albicans* ile etkileşim süresinin *C. albicans* canlılığı üzerine etkisi

4.3. HİBRİD NANO YAPILARIN KATALİTİK AKTİVİTESİ

APBA-Cu²⁺ ve MPBA-Cu²⁺ hibrid nano yapıların farklı derişimlerdeki (0,5-2 mg mL⁻¹) süspansiyonlarının ve HRP enziminin zamana karşı katalitik aktiviteleri Şekil 4.29'da verilmektedir. HRP ile karşılaştırıldığında hibrit nano yapıların daha düşük katalitik aktiviteye sahip olduğu görülmektedir. Hibrit nano yapıların derişime bağı olarak peroksidaz benzeri katalitik aktivite göstermesi ise; hibrit nano yapıların içerisinde bulunan Cu²⁺ iyonlarının hidrojen peroksit varlığında fenton ajanı gibi davranarak önce Cu⁺ iyonuna dönüşmesi, ardından Cu⁺ iyonunun yine hidrojen peroksit varlığında yükseltgenerek Cu²⁺ iyonunu ve reaktif hidroksil radikali oluşturması ve bu hidroksil radikalının ortamdaki guaiacol substratını oksitlemesi sonucu 3,3-dimetoksi-4,4-difenokinon moleküllerini oluşturması ile açıklanabilir (Şekil 4.29).



Şekil 4.29. APBA-Cu²⁺ ve MPBA-Cu²⁺ hibrid nano yapıların katalitik aktivitesi

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

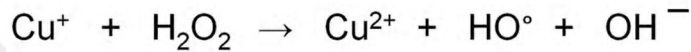
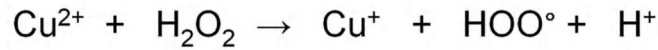
1960'lı yıllarda, enzim immobilizasyon teknolojisinin geliştirilmesi, kimyagerlere son derece kararlı enzimler içeren yeni biyomalzemelerin tasarlanması konusunda ilham vermiştir. Bununla birlikte, geleneksel enzim immobilizasyon teknikleri ile hazırlanan materyaller genellikle enzim aktivitesinin kaybolmasına neden olmuştur. 1990'lara gelindiğinde, nano boyutta elde edilen materyaller üzerinde hareketsiz kılınmış enzimlerin aktivitesi, serbest enzimlerin aktivite düzeylerinde olmuştur. Bu alandaki ilgi, 2012 yılında ilk organik-inorganik hibrit çiçek şekilli nano yapıların ortaya çıkmasıyla yeniden uyanmış ve yeni çiçek benzeri hibrit nanomalzemelerin sentezine ve uygulamalarına odaklanan birçok araştırma devam etmiştir.

Bu tez çalışmasında, APBA-Cu⁺² ÇHNY'lar ve MPBA-Cu⁺² ÇHNY'lar farklı pH değerlerinde sentezlenerek ideal morfolojide ÇHNY'lar elde edilmeye çalışılmıştır. Bu kapsamda pH 5 ve pH 6 arasında tek düzüne, uniform ve kompakt yapıda ÇHNY'lar hem APBA hem de MPBA molekülleri kullanılarak elde edilmiştir. Fakat pH 7 ile 9 arası ÇHNY'ların morfolojisinde bozulmalar SEM resimleri ile gözlenmiştir, bu durumun en önemli etkeni pH'nın artmasıyla APBA ve MPBA moleküllerinin negatif yüklenmesi ve bunun sonucunda kendi aralarındaki negatif itmelerin başlaması bu moleküllerin ÇHNY yapısına girememesinden olabilir. pH 10 ve üzerinde ise ortamın yüksek alkali olması ve moleküller arası yüksek itmeler ÇHNY'ların oluşumunu engellemiştir.

Cu(II)-APBA hibrit nano yapılar bakteriyel (*E. coli* ATCC 35218 ve *S. aureus* ATCC 25923) ve fungal patojenlere (*C. albicans* ATCC 10231) karşı etkili antimikrobiyal aktivite gösterirken, serbest ABPA çalışılan bakteriyel ve fungal patojenlere (*E. Coli.* hariç) karşı antimikrobiyal aktivite göstermemiştir. Serbest MPBA ile karşılaştırıldığında,

MBPA-Cu(II) *E. coli* ve *S. Aureus*'a karşı daha yüksek antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğu görülmüştür. MBPA-Cu(II) 2 mg mL⁻¹ derişiminde *C. Albicans*'e karşı güçlü bir antimikrobiyal aktivite göstermiştir. Aksine serbest MPBA *C. Albicans*'e karşı çalışılan derişimlerde (0,5-2,0 mg mL⁻¹) antimikrobiyal aktivite göstermemiştir.

APBA-Cu⁺² ÇHNY'lar ve MPBA-Cu⁺² ÇHNY'ların peroksidaz benzeri aktivitesi Potansiyel Fenton reaksiyonu üzerinden açıklanmıştır. ÇHNY'lar yapısındaki Cu⁺² iyonları ve ortamdaki hidrojen peroksit (H₂O₂) varlığında Fenton ajanaları gibi davranırlar.



Yukarıda bakır(II) iyonlarının hidrojen peroksit (H₂O₂) varlığında peroksidaz tipi aktivite gösterdiği reaksiyonlar verilmektedir. ÇHNY'ların içerisindeki Cu⁺² iyonları hidrojen peroksit ile reaksiyona girerek Cu⁺¹ iyonlarını oluşturur. Oluşan Cu⁺¹ ile H₂O₂'nin reaksiyonu girerek ise oldukça reaktif hidroksil radikali oluşmaktadır. Oluşan bu serbest hidroksil radikali model gualikol substratını oksitleyerek 3,3-dimetoksi-4,4-difenokinon ürenlerini oluşturular. Çiçek yapılı nano katalizörlerin (ÇHNY'lar) peroksidaz benzeri aktiviteleri H₂O₂ ve katalizör konsantrasyonunun artışı ile önemli ölçüde artmaktadır.

Bu çalışmada sentezlenen APBA-Cu⁺² ve MPBA-Cu⁺² hibrit nano yapıların katalitik aktiviteleri HRP ile karşılaştırıldığında, hibrit nano yapıların HRP enziminden daha düşük katalitik aktiviteye sahip olduğu görülmüştür. Hibrit nano yapıların derişime bağlı olarak peroksidaz benzeri katalitik aktivite göstermesi ise, hibrit nano yapıların içerisinde bulunan Cu⁺² iyonlarının hidrojen peroksit varlığında fenton ajanı gibi davranmasından kaynaklanmıştır.

6.KAYNAKLAR

- A.L. Lehninger, Biochemistry. (Second Edition) New York Worth Publishers, 1103 (1979)
- Arnall, A. H. Future Technologies, Today's Choices.Nanotechnology, Artificial Intelligence and Robotics; A Technical, Political and Institutional Map of Emerging Technologies. Department of Environmental Science and Technology, Environmental Policy and Management Group, Faculty of Life (2003).
- Ates H. , Bahceci E. Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi Part:C, Tasarım Ve Teknoloji GU J Sci Part:C 3(2):483-499 Nano Malzemeler için Üretim Yöntemleri (2015)
- Bernard, K. and Ganesh. S., 1998. Nanostructured Bulk Materials: Synthesis, Processing, Properties and Performance (Erişim 23 Ekim 2017)
- Blake CC, Koenig DF, Mair GA, North AC, Phillips DC, Sarma VR. (1965). "Structure of hen egg-white lysozyme. A three-dimensional Fourier synthesis at 2 Angstrom resolution". *Nature*. **22** (206), s. 757-761. Erişim Tarihi 24 Kasım 2019
- Buzea, Cristina; Pacheco, Ivan; Robbie, Kevin (2007). "Nanomaterials and Nanoparticles: Sources and Toxicity"
- C. Aksoy. Lipaz ve Üreaz Enzimlerinin Çeşitli Taşıyıcılara İmmobilizasyonu. Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Üniversitesi, İstanbul, 26-28 (2003).
- C. Altınkaynak, I. Yılmaz, Z. Koksal, H. Ozdemir, I. Ocsoy, N. Ozdemir. Preparation of lactoperoxidase incorporated hybrid nanoflower and its excellent activity and

- stability. *International Journal of Biological Macromolecules*, 84, 402-409 (2016)
- C. Altınkaynak, I. Yılmaz, Z. Koksall, H. Ozdemir, I. Ocsoy, N. Ozdemir. Preparation of lactoperoxidase incorporated hybrid nanoflower and its excellent activity and stability. *International Journal of Biological Macromolecules*, 84, 402-409 (2016)
- C. Netto, G. C. Toma, H.E. Andrade. Superparamagnetic nanoparticles as versatile carriers and supporting materials for enzymes, *Journal of Molecular CatalysisB: Enzymatic*, 85-86, 71-92 (2013).
- Characterization of horseradish peroxidase immobilized on PEGylated polyurethane nanoparticles and its application for dopamine detection. *Sensors and Actuators B*, 182, 264-272 (2013)
- Edelstein, A. S. and Cammarata, R. C., 2001. *Nanomaterials: Synthesis, Properties and Applications*, Institute of Physics Publishing, Bristol.
- Ewers C., Janssen T., Kiessling S., Philipp H.C., Wieler L.H. (2004); Molecular epidemiology of avian pathogenic *Escherichia coli* (APEC) isolated from colisepticemia in poultry. *Vet. Microbiol.* 104:91-101
- F. Hu, K. W. MacRenaris, E. A. Waters, E. A. Schultz-Sikma, A. L. Eckermann, T. J. Meade. Highly dispersible, superparamagnetic magnetite nanoflowers for magnetic resonance imaging. *Chemical Communications*, 46, 73-75 (2010).
- G. Sanjay and S. Sugunan. Enhanced pH and thermal stabilities of invertase immobilized on montmorillonite K-10, *Food Chem.* , 94, 573-579 (2006).
- H. F. Noller, V. Hoffarth and L. Zimniak, Unusual resistance of peptidyl transferase to protein extraction procedures., *Science*, 256: 1416 - 1419, 1992.
- Hancıoğlu Y., Atay O. *Ankara Üniversitesi SBF Dergisi Cilt 74, No. 2, 2019, s. 511 – 547, İngiltere, Amerika Birleşik Devletleri ve Türkiye'nin Ulusal inovasyon Sistemlerinin İncelenmesi: Türkiye İçin Öneriler* (2019)
- Hosokawa M., "Nanoparticle technology handbook", Elsevier, 622s, Amsterdam, 2007

- <http://eng.thesaurus.rusnano.com/wiki/article1371> (Erişim Tarihi 12/08/2019)
- http://megep.meb.gov.tr/mte_program_modul/moduller/Enzimler.pdf (Erişim Tarihi 02/04/2019)
- http://www.megep.meb.gov.tr/mte_program_modul/moduller_pdf/Enzimlerin%20%C3%96zellikleri.pdf (Erişim Tarihi 01/12/2019)
- <https://biologyreader.com/immobilization-of-enzyme.html> (Erişim Tarihi 27/10/2019)
- <https://cordis.europa.eu/project/rcn/98081/factsheet/en> (Erişim Tarihi 16/10/2019)
- <https://nano.aku.edu.tr/2016/05/12/nano-3/> (Erişim Tarihi 04/04/2019)
- <https://nano.aku.edu.tr/2016/05/12/nano-3/> (Erişim Tarihi 13/05/2019)
- <https://nano.aku.edu.tr/2016/05/12/nano-3/> (Erişim Tarihi 13/05/2019)
- <https://steemit.com/steemstem/@giovaabbaticchio/categorization-of-nanomaterials-0d-1d-2d> (Erişim Tarihi 12/02/2019)
- <https://www.eokultv.com/karbonhidratlarin-proteinlerin-ve-yaglarin-sindirimi-biyolojityt-ayt-yks/37229> (Erişim Tarihi 09/02/2019)
- https://www.gmka.gov.tr/dokumanlar/yayinlar/2017-2018_Nanoteknoloji-Stratejisi-ve-Eylem-Plani.pdf (Erişim Tarihi 13/07/2019)
- <https://www.muhendisbeyinler.net/nano-malzeme-nedir/> (Erişim Tarihi 15/05/2019)
- <https://www.muhendisbeyinler.net/nano-malzeme-nedir/> (Erişim Tarihi 14/06/2019)
- J. Ge, J. Lei and R. Z. Zare. Protein-inorganic hybrid nanoflowers. *Nature Nanotechnology* 7, 428-432 (2012).
- J. Kim, J. W. Grate, P. Wang. Nanostructures for ENZYME Stabilization. *Chemical Engineering Science*, 61, 1017-1026 (2006).
- Jang, H. D., Hwang, D. W., Kim, D. P., Kim, H. C., Lee, B. Y. and Jeong, I. B., 2004.
- Jenkinson, H.F., Douglas, L.J., 2002, Interactions between Candida Species and Bacteria in Mixed Infections, *Polymicrobial Diseases*.
- Kevin, M. Gas Phase Synthesis. (1997) . Erişim 22 Ekim 2019.

- Kikuchi Y. and N. Sasaki, Site-specific cleavage of natural mRNA sequences by newly designed hairpin catalytic RNAs., *Nucleic Acid Research*, 19(24): 6751 - 6755, 1991.
- L. Cao. *Carrier-bound Immobilized Enzyme*, Wiley-VCH, Verlag GmbH &Co. KGaA, Weinheim (2005)
- Lee, K. M. Park, S. T. and Lee, D. J., 2005. Nanogold synthesis by inert gas condensation for immuno-chemistry probes, *Journal of Alloys and Compounds*, 390, 297-300.
- Lee, S.W, Cheon, S. A, Kim, M, Park, T.J 2015. Organic-inorganic hybrid nanoflowers: types, characteristics, and future prospects, *J Nanobiotechnol*, 13 (54), 1-10.
- M. B. Fritzen-Garcia, F. F. Monteiro, T. Cristofolini, J. J. S. Acun, B.G. Zabeti-Ramos, I. R. W. Z. Oliviera, V. Soldi, A. A. Pasa, T. B. Creczynski-Pasa.
- M. J. Song, S. W. Hwang, D. Whang. Non-enzymatic electrochemical CuO nanoflowers sensor for hydrogenperoxide detection, *Talanta*, 80, 1648-1652 (2010).
- Markus, W. 2007. *Nanoparticles Process Technology*. . (Erişim 22 Ekim 2018)
- Metin G.Z., Ozdemir L., *Anadolu Hemşirelik ve Sağlık Bilimleri Dergisi*; 18:3, Nanoteknolojinin Sağlık Alanında Kullanımı ve Hemşirenin Sorumlulukları, (2015)
- Murray, P. R., 2018. Bakteriler, ss. 4-9. In: *Temel Tıbbi Mikrobiyoloji* (Eds: A. D., Us, A., Bağustaoğlu). Güneş Tıp Kitapevleri, Ostim / Ankara.
- N. Vasileva, T. Godjevargova, D.Ivanova, K. Gabrovska. Application of immobilized horseradish peroxidaseontomodified acrylonitrile copolymer membrabe in removing of phenol from water, *International Journal o Biological Macromolecules*, 44, 190-194 (2009)
- Nakazawa Y, Hosono A. 1992. *Functions of Fermented Milk*. Elsevier Science Published Ltd. 245 s, New York.
- Nanoteknolojinedir?,TDK,http://www.tdk.gov.tr/index.php?option=com_gts&arama=gt&s&guid=TDK.G.TS.5a5219eb73fb36.66395274.

- Naomi Lubick and Kellyn Betts “*Silver socks have cloudy lining*” Environmental Science & Technology 2008 42 (11), 3910-3910
- O. Zaborsky. Adsorption Immobilized Enzyme. Ed. By Weast, R. C. CRC Press, Ohio, 37-44 (1973)
- Perker, Z. S. Nanoteknoloji ve Yapı Malzemesi Alanına Etkileri. Journal of New World Sciences Academy Engineering Sciences, 1A0114, 5 (4), 639- 648. (2010)
- Preparation of cobalt nanoparticles by hydrogen reduction of cobalt chloride in the gas phase, Mater. Res. Bull., 39, 63-70
- Ramsden, J., (2009). Nanotechnology. (Nanoteknolojinin Esasları).Çeviren: Alper İnce.1. Basım Ekim 2011 ODTÜ Yayıncılık.
- Rao, C, N, R, Müller, A, Cheetham, A,K, Nanomaterials Chemistry, 18-31, 2007.
- Roth, P., 2007. Particle synthesis in flames, Proceedings of Combustion Institute, 31, 1773-1788.
- S.M. Muhammet. Kolesterol Tayini için Biyosensör Hazırlanması,Doktora Tezi, Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara, 5 (2008).
- Sabzali Parikhani et.al, “Ecological Consequences of Nanotechnology in Agriculture: Researchers' Perspective’”, J. Agr. Sci. Tech. s.1-2., Vol. 20, 2018.
- Sassolas A., Blum L. J., Leca-Bouvier, B. D. ‘Immobilization strategies to develop enzymatic biosensors’ Biotechnology Advances, 30, 489-511 (2012).
- Sheldon, R.A., 2007a. Review, Enzyme Immobilization: The quest for optimum performance. Adv. Synth. Catal., 349:1289-1307.
- Shuoli Zhao et.al, “How Information Affects Consumer Acceptance of Nano-packaged Food Products”, Selected Paper prepared for presentation at the 2016 Agricultural & Applied Economics Association Annual Meeting, Boston, 2016,s.3.
- Smith AD (Ed) *et al.* (1997)) *Oxford Dictionary of Biochemistry and Molecular Biology* Oxford University Press.
- Sperinde, J.J., Griffith, L.G., 1997. Synthesis and Characterization of Enzymatically-crosslinked Poly(ethylene glycol) Hydrogels. Macromolecules, 30:5255–5264

- Şenel A. , Gençoğlu S. Gazi Üniversitesi Endüstriyel Sanatlar Eğitim Fakültesi Dergisi Y.11,No.12,S.45-65 Küreselleşen Dünyada Teknoloji Eğitimi (2003)
- Turunc S., Balıkesir Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Mimarlık Anabilim Dalı, Nanoteknolojik Yapı Malzemelerinin Türk Yapı Sektöründe Kullanımı Yüksek Lisans Tezi Balıkesir, Haziran 2019
- W. Tischerand and F. Wedekind. Immobilized enzymes: Methods and Applications. Topic in Current Chemistry, 200,95-126 (1999).
- Ward, M., B., Brydson R. ve Cochrane. (2006). Mn nanoparticles produced by inert gas condensation. Journal of Physics: Conference Series, 26, 296-299.
- Wolfgang Fritzsche K., “Nanotechnology : an introduction to nanostructuring techniques”, Wiley-VCH, 272s, Weinheim, 2004
- X. Wu, Y. Zhang, C. Wu, H. Wu. Preparation and characterization of magnetic Fe₃O₄/CRGO nanocomposites for enyzme immobilization. Transactions of Nonferrous Metals Society of China, 22, 162-168 (2012)

AMİNO VE MERKAPTO FENİL BORONİK ASİT-Cu(II) HİBRİD NANO YAPILARIN SENTEZİ, ENZİM MİMİK AKTİVİTESİNİN VE HEDEFLİ ANTI-BAKTERİYEL AJAN OLARAK KULLANIMININ İNCELENMESİ

ORIJINALLIK RAPORU

% **16**

BENZERLİK ENDEKSİ

% **9**

İNTERNET
KAYNAKLARI

% **3**

YAYINLAR

% **12**

ÖĞRENCİ ÖDEVLERİ

BİRİNCİL KAYNAKLAR

- 1** Submitted to Gaziosmanpasa Universitesi
Öğrenci Ödevi % **2**
- 2** Submitted to Marmara University
Öğrenci Ödevi % **1**
- 3** www.lexpera.com.tr
İnternet Kaynağı % **1**
- 4** Submitted to Canakkale Onsekiz Mart University
Öğrenci Ödevi % **1**
- 5** dergipark.ulakbim.gov.tr
İnternet Kaynağı % **1**
- 6** anahtar.sanayi.gov.tr
İnternet Kaynağı % **1**
- 7** Submitted to Selçuk Üniversitesi
Öğrenci Ödevi % **1**
- 8** www.biyologlar.com

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı-Soyadı: Kasım BÜYÜKBEZİRCİ
Uyruğu: Türkiye (T.C.)
Doğum Tarihi ve Yeri: 15.06.1988-KONYA
Medeni Durum: Bekar
E-mail: kasim@erciyes.edu.tr
Yazışma Adresi: Turgut Özal cad. Mevlana mah. Gül apt. 36/40
Talas/KAYSERİ

EĞİTİM

| Derece | Kurum | Mezuniyet Tarihi |
|---------------|---|------------------|
| Yüksek Lisans | Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü | 2020 |
| Lisans | Erciyes Üniversitesi Eğitim Fakültesi | 2014 |
| Lise | Adil Karaağaç Anadolu Teknik Lisesi | 2005 |

İŞ DENEYİMLERİ

| Yıl | Kurum | Görev Süresi |
|------------|--|--------------|
| 2012-Halen | Erciyes Üniversitesi Eczacılık Fakültesi | 7 |

YABANCI DİL

İngilizce

YAYINLAR

Demirbaş A. , Büyükbezirci K. , Çelik C. , Kislakci E. , Karaagac Z. , Gokturk E. , et al. , "Synthesis of Long-Term Stable Gold Nanoparticles Benefiting from Red Raspberry (Rubus idaeus), Strawberry (Fragaria ananassa), and Blackberry (Rubus fruticosus) Extracts-Gold Ion Complexation and Investigation of Reaction Conditions", ACS OMEGA, vol.4, pp.18637-18644, 2019

YILMAZ, V., BUYUKBEZİRCİ, K., ÖÇSOY, I., BALDEMİR, A., & İLDİZ, N., (2016). Anthocyanin-rich plants directed gold nanoparticle formation and their antimicrobial activity against bacterial and fungal pathogens . 1st International Mediterranean SCIENCE AND ENGINEERING CONGRESS (pp.3340). Adana, Turkey

YUSUFBEYOĞLU, S., BUYUKBEZİRCİ, K., YILMAZ, V., İLDİZ, N., AVAN, İ., & ÖÇSOY, I., (2016). Küçük peptitlerden Hibrit Nano Yapıların Sentezi, Karakterizasyonu ve Katalitik Aktivite ve Antibakteriyel Özelliklerin İncelenmesi . VI. Ulusal Polimer Bilim ve Teknoloji Kongresi (pp.83). Ankara, Turkey

