



**MANYETİK DEMİR NANOPARTİKÜLLERİN  
YEŞİL SENTEZ METODU İLE  
ÜRETİLMESİ VE NANOBIYOSENSÖR  
OLARAK KULLANIMININ İNCELENMESİ**

**Sümevra GÜNDÜZ**

**Yüksek Lisans Tezi**

**Nano Bilim ve Nano Mühendislik Anabilim Dalı**

**Nanobiyoteknoloji Bilim Dalı**

**Prof. Dr. Azize ALAYLI GÜNGÖR**

**2018**

**Her hakkı saklıdır**

**ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**MANYETİK DEMİR NANOPARTİKÜLLERİN YEŞİL SENTEZ  
METODU İLE ÜRETİLMESİ VE NANOBIYOSENSÖR OLARAK  
KULLANIMININ İNCELENMESİ**

**Sümevra GÜNDÜZ**

**NANO BİLİM ve NANO MÜHENDİSLİK ANABİLİM DALI  
Nanobiyoteknoloji Bilim Dalı**

**ERZURUM  
2018**

**Her hakkı saklıdır**



T.C.  
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



TEZ ONAY FORMU

MANYETİK DEMİR NANOPARTİKÜLLERİN YEŞİL SENTEZ METODU İLE  
ÜRETİLMESİ VE NANOBİYOSENSÖR OLARAK KULLANIMININ  
İNCELENMESİ

Prof. Dr. Azize ALAYLI GÜNGÖR danışmanlığında, Sümeyra GÜNDÜZ tarafından hazırlanan bu çalışma, 03/07/2018 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Nano Bilim ve Nano Mühendislik Anabilim Dalı – Nanobiyoteknoloji Bilim Dalı'nda Yüksek Lisans tezi olarak **oybirliği / oy çokluğu (.../...)** ile kabul edilmiştir.

Başkan : Prof Dr. Hayrunnisa NADAROĞLU

İmza :

Üye : Prof Dr. Hasan TÜRKEZ

İmza :

Üye : Prof. Dr. Azize ALAYLI GÜNGÖR

İmza :

Yukarıdaki sonuç;

Enstitü Yönetim Kurulu ..12../07.../2018 tarih ve .28../.32..... nolu kararı ile onaylanmıştır.

Prof. Dr. Mehmet KARAKAN  
Enstitü Müdürü

**Not:** Bu tezde kullanılan özgün ve başka kaynaklardan yapılan bildirişlerin, çizelge, şekil ve fotoğrafların kaynak olarak kullanımı, 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunundaki hükümlere tabidir.

## ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

### MANYETİK DEMİR NANOPARTİKÜLLERİN YEŞİL SENTEZ METODU İLE ÜRETİLMESİ VE NANOBİYOSENSÖR OLARAK KULLANIMININ İNCELENMESİ

Sümeyra GÜNDÜZ

Atatürk Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Nano Bilim ve Nano Mühendislik Anabilim Dalı

Nanobiyoteknoloji Bilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Azize ALAYLI GÜNGÖR

Bu çalışma, çevreyi korumak ve atıkları en aza indirmek için çevre dostu, basit ve ekonomik yeşil biyosentez metodu ile sütleğen (*Euphorbia amygdaloides*) bitkisi kullanılarak, Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> manyetik nanopartiküllerinin üretilmesi ve nanobiyosensör olarak uygulamalarının araştırılmasına planlanmıştır. Yeşil sentez metodu ile Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> manyetik nanopartikülleri (MNP) sütleğen bitki ekstresi kullanılarak sentezlenmiştir. Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> MNP'lerin sahip olduğu manyetik özellikler nedeniyle çeşitli uygulama alanlarında bir den fazla sayıda kullanılabileceği düşünülmüştür. Spektrofotometre, SEM, XRD ve FT-IR cihazları kullanılarak yapılan analiz sonuçları ile sütleğen (*Euphorbia amygdaloides*) bitki ekstresi kullanılarak sentezlenen Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> MNP karakterize edilmiştir. Daha sonra Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> MNP'nin mimetik (enzim benzeri aktivite gösterme) özellikleri araştırılmıştır. Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> MNP'lerin gerçek enzimleri taklit eden bir özellik sergileyerek, doğal peroksidazlara benzer kataliz gücüne sahip olduğu aktivite ölçümleri ile belirlenmiştir. Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> MNP'ler kullanılarak geliştirilen metodun, glukoz miktarı için 0.25-1 g/L konsantrasyon aralığında doğrusal olduğu görülmüştür. Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> MNP kullanılarak geliştirilen nanobiyosensörün optimal çalışma parametreleri; sıcaklık (40±5°C), pH (4), metal iyonu konsantrasyonu (5 mM) ve H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> konsantrasyonu (1,25 mM) olarak bulunmuştur. Geliştirilen nanobiyosensör sistemi kullanılarak, gıda ve klinik alanda (kan ve serum numunelerinde) oldukça, hassas ve kararlı enzim mimetik ve spektrofotometrik tabanlı analizler yapılmıştır. Ayrıca, sakkaroz, laktoz, fruktoz ve rafinoz gibi diğer şekerlere kıyasla glukozu karşı yüksek seçicilik elde edilmiştir.

**2018, 87 sayfa**

**Anahtar Kelimeler:** Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> Manyetik Nanopartikül (MNP), Yeşil Sentez, Glukoz Nanobiyosensörü

## ABSTRACT

Master Thesis

### MAGNETIC IRON NANOPARTICLES PRODUCTION BY GREEN SYNTHESIS METHOD AND INVESTIGATION OF USAGE AS A NANOBIOSENSOR

Sümeyra GÜNDÜZ

Ataturk University  
Graduate School of Natural and Applied Sciences  
Department of Nanoscience and Nanoengineering  
Department of Nanobiotechnology

Supervisor: Prof. Dr. Azize ALAYLI GÜNGÖR

This work is based on the use of an eco-friendly, simple and economical green biosynthesis method to protect the environment and to minimize wastes and to investigate the usage of Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> magnetic nanoparticles as a nanobiosensor synthesized using Euphorbia plant (*Euphorbia amygdaloides*). The Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> magnetic nanoparticles (MNPs) were synthesized by the green synthetic method using euphorbia plant extract. It is thought that Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> MNPs can be used in many applications due to their magnetic properties. Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> MNP synthesized using wood spurge (*Euphorbia amygdaloides*) plant extract was characterized by the results of analysis using spectrophotometer, SEM, XRD and FT-IR devices. Then mimetic (enzyme-like activity) properties of Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> MNPs were investigated. Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> MNPs were found to have catalytic power similar to that of natural peroxidases, mimicking real enzymes and exhibiting similar properties. The method developed using Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> MNPs was found to be linear at a concentration range of 0.25-1 g/L for the amount of glucose. Optimal operating parameters of the biosensor were found to be temperature (40±5°C), pH (4), metal iron concentration (5 mM) and H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> concentration (1,25 mM). Using the developed nanobiosensor system, sensitive and stable enzyme mimetic and spectrophotometric based analyzes were performed in the food and clinical field (blood and serum samples). In addition, a high selectivity towards glucose has been achieved compared to other sugars such as sucrose, lactose, fructose and raffinose.

**2018, 87 pages**

**Keywords:** Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> Manyetik Nanoparticles (MNP), Green syntsensis, Glucose Nanobiosensor.

## TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim boyunca akademik açıdan bilgilenmemi sağlayan, her türlü desteği esirgemeyen, tezin hazırlanmasında değerli zamanını bana ayıran, engin bilgi birikiminden ve tecrübesinden yararlandığım, ilgi ve sevgisiyle her konuda bana yardımcı olan danışman hocam Sayın Prof. Dr. Azize ALAYLI GÜNGÖR'e teşekkürü bir borç bilirim.

Bu çalışma süresince bana destek veren, hiçbir zaman yakın ilgi ve yardımlarını esirgemeyen Sayın Prof. Dr. Hayrunnisa NADAROĞLU'na sonsuz teşekkürlerimi sunarım. Deneysel çalışmalarında yardımlarını esirgemeyen Sayın Dr. Aynur BABAGİL'e ve doktora öğrencisi Sayın Hicran ÖNEM'e teşekkürlerimi sunarım.

Eğitim hayatım boyunca göstermiş olduğu desteğinden dolayı abim Sayın Dr. Öğt. Üyesi Ali ÇAKMAK'a ve bu araştırma ve hayatımın her anında yanımda olan çalışmalarım için cesaret ve destek veren, her daim sonsuz sevgi ve güven ile maddi/manevi desteğini esirgemeyen başta annem olmak üzere çok değerli aileme sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

**Sümevra GÜNDÜZ**

**Temmuz, 2018**

## İÇİNDEKİLER

ÖZET .....	i
ABSTRACT .....	ii
TEŞEKKÜR.....	iii
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ .....	viii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	ix
ÇİZELGELER DİZİNİ .....	xi
<b>1. GİRİŞ.....</b>	<b>1</b>
1.1. Nanoboyut ve Nanoboyuttaki Malzemeler.....	1
1.2. Nanobilim ve Nanoteknoloji .....	2
1.3. Nanoteknolojinin Tarihsel Gelişimi .....	2
1.3.1. Türkiye’de nanoteknoloji .....	4
1.4. Nanoteknolojinin Uygulama Alanları .....	4
1.4.1. Havacılık ve uzay araştırmaları.....	4
1.4.2. Nanoelektronik ve bilgisayar teknolojileri .....	5
1.4.3. Malzeme ve imalat sektörü.....	5
1.4.4. Tıp ve sağlık sektörü .....	6
1.4.5. Tekstil sektörü .....	6
1.4.6. Çevre ve enerji.....	6
1.4.7. Biyoteknoloji ve tarım.....	7
1.4.8. Savunma sektörü .....	8
1.5. Nanoteknolojinin Hedefleri ve Sağlayacağı Olanaklar .....	8
1.5.1. Nanoboyutun çok önemli olmasının sebepleri ve sağlayacağı olanaklar.....	8
1.5.2. Nanoteknolojinin hedefleri arasında .....	9
1.6. Nanopartiküller.....	9
1.6.1. Nanopartiküllerin avantajları.....	10
1.6.2. Nanopartiküllerin kullanım alanları .....	10
1.6.3. Nanopartikül sentezinde kullanılan yöntemler.....	11
1.7. Nanopartikül Sentezinde Yeşil Sentez Metodu ve Önemi .....	14

1.7.1. Yeşil sentez metodunun metal nanopartiküllerin sentezinde sağlayacağı avantajlar .....	15
1.8. Biyosensör Kavramı .....	15
1.8.1. Bir biyosensörde dikkat edilmesi gereken özellikler .....	16
1.8.2. Biyosensörün yapısı ve fonksiyonu.....	16
1.9. Biyosensör Teknolojisinde Kullanılan Nanomalzemeler.....	17
1.10. Nanobiyosensörlerin Genel Kullanım Alanları.....	19
1.11. Biyosensör Grupları .....	20
1.12. Manyetik Demir Nanopartiküller .....	21
1.12.1. Manyetik demir nanopartiküllerin kullanım alanları.....	22
1.13. Enzim Benzeri Manyetik Demir Nanopartikül Sensörleri .....	23
1.14. Glukoz Tayini İçin Biyosensör Geliştirilmesi.....	24
<b>2. KAYNAK ÖZETLERİ .....</b>	<b>25</b>
<b>3. MATERYAL ve YÖNTEM.....</b>	<b>38</b>
3.1. Materyaller .....	38
3.1.1. Kullanılan cihazlar ve aletler.....	38
3.1.2. Kullanılan kimyasallar .....	39
3.1.3. Kullanılan biyolojik materyal.....	39
3.2. Yöntem .....	40
3.2.1. Manyetik nanopartiküllerin yeşil sentezi .....	40
3.2.1.a. Bitki örneklerinin toplanması ve bitki ekstraktının hazırlanması.....	40
3.2.1.b. Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> nanopartiküllerinin sentezi .....	40
3.2.1.c. Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> nanopartiküllerinin karakterizasyonu .....	41
3.2.2. Çözeltilerin hazırlanması.....	41
3.2.2.a. ABTS çözeltisinin hazırlanması .....	41
3.2.2.b. H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> çözeltisinin hazırlanması.....	42
3.2.2.c. Asetat tampon çözeltisinin hazırlanması .....	42
3.2.2.d. Fosfat tampon çözeltisinin hazırlanması .....	42
3.2.2.e. Sodyum hidroksit çözeltisinin hazırlanması.....	42
3.2.2.f. Hidroklorik asit çözeltisinin hazırlanması .....	42
3.2.2.g. Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> MNP stok çözeltisinin hazırlanması.....	43
3.2.2.h. GO <sub>x</sub> çözeltisinin hazırlanması.....	43



3.2.2.1. Glukoz standart çözeltisinin farklı konsantrasyonlarının hazırlanması .....	43
3.2.3. Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> MNP'lerin peroksidaz benzeri aktivitesinin araştırılması .....	44
3.2.4. Nanobiyosensör için optimizasyon çalışmaları.....	44
3.2.4.a. Optimum dalga boyu taraması.....	45
3.2.4.b. Optimum pH değeri.....	46
3.2.4.c. Optimum sıcaklık değeri .....	46
3.2.4.d. Metal iyon konsantrasyonu .....	47
3.2.4.e. Optimum H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> konsantrasyonu tayini .....	47
3.2.5. Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> MNP esaslı glukoz nanobiyosensörü.....	48
3.2.6. Karşılaştırma için glukoz analiz kiti yöntemi ile glukoz tayini.....	49
3.2.7. Örneklerin hazırlanması .....	50
<b>4. ARAŞTIRMA BULGULARI .....</b>	<b>52</b>
4.1. Manyetik Nanopartiküllerin Yeşil Sentez Sonuçları.....	52
4.1.1. Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> nanopartiküllerin yeşil sentez sonuçları .....	52
4.1.2. Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> manyetik nanopartiküllerin karakterizasyon sonuçları .....	53
4.1.2.a. Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> manyetik nanopartiküllerin UV spektrumları.....	53
4.1.2.b. Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> manyetik nanopartiküllerin SEM karakterizasyonu.....	53
4.1.2.c. Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> manyetik nanopartiküllerin XRD karakterizasyonu.....	54
4.1.2.d. Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> manyetik nanopartiküllerin FT-IR karakterizasyonu .....	55
4.2. Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> MNP'lerin Peroksidaz Benzeri Aktivite Araştırma Sonuçları .....	56
4.3. Nanobiyosensör için Optimizasyon Çalışma Sonuçları .....	57
4.3.1. Optimum dalga boyu taraması tayin sonuçları.....	57
4.3.2. Optimum pH değeri tayin sonuçları .....	58
4.3.3. Optimum sıcaklık değeri tayin sonuçları.....	59
4.3.4. Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> Manyetik nanopartiküllerinin konsantrasyonu tayin sonuçları .....	60
4.3.5. H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> konsantrasyonu tayin sonuçları.....	61
4.4. Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> Manyetik Nanopartikül Esaslı Glukoz Nanobiyosensör Sonuçları .....	62
4.5. Glukoz Kiti Esaslı Glukoz Tayin Sonuçları.....	64
4.7. Glukoz Nanobiyosensörü Spesifiklik Analiz Sonuçları.....	66
4.8. Gıda Örneklerinde Glukoz Nanobiyosensör Sonuçları .....	68
4.9. Serum Analiz Örneği Glukoz Nanobiyosensör Sonuçları.....	72
4.10. Kan Klinik Analiz Örneği Glukoz Nanobiyosensör Sonuçları .....	73

<b>5. TARTIŞMA ve SONUÇ.....</b>	<b>75</b>
KAYNAKLAR .....	82
ÖZGEÇMİŞ .....	88



## SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

<b>ABTS</b>	: 2,2'-Azino-bis (3-etilbenzotiazilon-6-sülfonik asit) diamonyum tuzu
<b>AFM</b>	: Atomik Kuvvet Mikroskobu (Atomik Force Mikroskobe)
<b>EDX</b>	: Enerji Yayılımlı X-Işını Analizi
<b>FDA</b>	: Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi (U.S. Food and Drug Administration)
<b>FE-SEM</b>	: Emisyon Taramalı Elektron Mikroskobu
<b>FT-IR</b>	: Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektrofotometresi
<b>IBM</b>	: Uluslararası İş Makineleri (International Business Machines)
<b>IONP</b>	: Demir Oksit Nanopartiküller
<b>MEM</b>	: Mikroelektronik Sistem
<b>MNP</b>	: Manyetik Nanopartikül
<b>MRG</b>	: Manyetik Rezonans Görüntüleme
<b>NP</b>	: Nanopartikül
<b>SEM</b>	: Taramalı Elektron Mikroskobu
<b>SPION</b>	: Süperparamanyetik Demir Oksit Nanopartikül
<b>STM</b>	: Taramalı Tünelleme Mikroskobu (Scanning Tunneling Microscope)
<b>UV-VIS</b>	: Ultraviyole ve Görünür Işık Spektrofotometresi
<b>XRD</b>	: X-Işını Kırınım Yöntemi

## ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1. Boyutlar arasındaki farkın gösterimi. ....	1
Şekil 1.2. Yukarıdan aşağıya yaklaşımı (Top-down) ve Aşağıdan yukarıya yaklaşımı (Bottom-up).....	12
Şekil 1.3. Nanopartikül sentezinde yeşil sentezin önemi ve çeşitli yaklaşımlarının genel akış şeması.....	13
Şekil 1.4. Biyosensörlerin genel çalışma mekanizması. ....	17
Şekil 1.5. Çözelti ortamındaki Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> nanopartiküllerin üzerine manyetik alanın etkisi. ....	22
Şekil 3.1. Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> nanopartiküllerin elde edildiği sütleğen ( <i>Euphorbia amygdaloides</i> ) bitkisi.....	39
Şekil 3.2. Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> nanopartiküllerinin sentezi .....	41
Şekil 4.1. Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> nanopartiküllerin oluşumunu gösteren renk değişimleri.....	52
Şekil 4.2. Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> nanopartikül yapısının UV spektrumu .....	53
Şekil 4.3. Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> nanopartikül yapısının SEM görüntüsü.....	54
Şekil 4.4. Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> manyetik nanopartikül yapısının XRD grafiği .....	55
Şekil 4.5. Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> manyetik nanopartikül yapısının FT-IR analiz grafiği.....	56
Şekil 4.6. Optimum dalga boyu taraması.....	58
Şekil 4.7. Optimum pH değeri .....	59
Şekil 4.8. Optimum sıcaklık değeri .....	60
Şekil 4.9. Optimum Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> Manyetik nanopartikül konsantrasyonu .....	61
Şekil 4.10. H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> konsantrasyon tayini kalibrasyon grafiği.....	62
Şekil 4.11. Farklı glukoz konsantrasyonları ile glukoz tayini sırasında gözlenen renk değişimi.....	63
Şekil 4.12. Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> manyetik nanopartikül esaslı glukoz nanobiyosensörü kalibrasyon grafiği .....	64
Şekil 4.13. Glukoz kiti tayini kalibrasyon grafiği.....	65
Şekil 4.14. Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> MNP'leri kullanılarak geliştirilen kolorimetrik yöntemle glukoz nanobiyosensöründe gözlenen renk değişimi.....	66
Şekil 4.15. Kolorimetrik yöntemle glukoz saptama için tipik emilim profilleri.....	67

<b>Şekil 4.16.</b> Glukoz nanobiyosensörü spesifiklik analizi. Hata çubukları üç ölçümün standart sapmasını göstermektedir. ....	68
<b>Şekil 4.17.</b> Farklı gıda örnekleri ile yapılan glukoz tayini sırasında gözlenen renk değişimleri.....	69
<b>Şekil 4.18.</b> Farklı gıdalarda iki yöntem ile karşılaştırmalı glukoz deneyi sonuçları.....	70
<b>Şekil 4.19.</b> Farklı kan konsantrasyonları ile yapılan glukoz tayini sırasında gözlenen renk değişimi .....	73



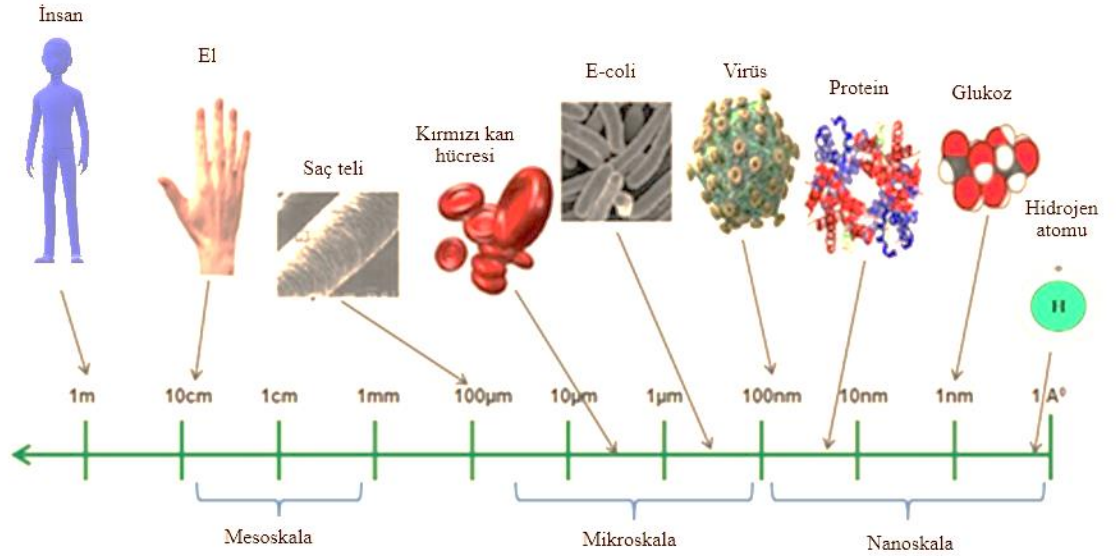
## ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 1.1. Nanomalzeme türleri ve örnekleri. ....	18
Çizelge 1.2. Biyosensör grupları ve kapsadıkları analiz alanları.....	20
Çizelge 3.1. Kullanılan cihazlar ve aletler .....	38
Çizelge 4.1. Farklı gıda örneklerinde nanobiyosensör ile ölçülen glukoz sonuçları .....	71
Çizelge 4.2. Serum analiz örneğinde glukoz nanobiyosensör sonuçları.....	72
Çizelge 4.3. Kan analiz örneğinde glukoz nanobiyosensör sonuçları. Kan örneği ½ oranında fosfat tampon tuzu ile seyreltilmiştir. ....	74
Çizelge 5.1. Kan klinik analiz örneklerinde glukoz nanobiyosensörü literatür sonuçları.....	79

## 1. GİRİŞ

### 1.1. Nanoboyut ve Nanoboyuttaki Malzemeler

Nanoteknoloji terimi “nano” ve “teknologia” kelimelerinin birleşiminden oluşmaktadır. Nano kavramı, Yunanca cüce manasında olan “nannos” kelimesinden gelmekte olup herhangi bir fiziksel büyüklüğün milyarda birini göstermektedir. 1 nm ( $10^{-9}$  metre) yaklaşık olarak 2-3 atomun yanyana dizilmesiyle meydana gelmektedir. Nano ölçeklerde yaklaşık 100-1000 atom bir araya gelerek bir nesneyi oluşturmaktadır (Özdoğan vd 2006). Bir insan saçının yaklaşık 80.000, bir insan kanı hücresinin ortalama 7.000 nanometre genişliğinde olduğu düşünülürse ne kadar küçük boyutlardan bahsedildiği daha iyi anlaşılacaktır (Ulutepe 2010). Nanoboyutta malzemelerin özellikleri makroskobik ve mikroskobik boyuttan oldukça farklıdır. Maddeler nanoboyuta yaklaştıkça yeni pek çok fiziksel ve kimyasal özellikler ortaya çıkmaktadır (Ekli 2010).



Şekil 1.1. Boyutlar arasındaki farkın gösterimi (Nguyen 2013).

## 1.2. Nanobilim ve Nanoteknoloji

Nanoteknoloji, metrenin bir milyarda biri olan nanometre ölçeğinde şekil ve boyutla ilgilenecek maddenin atom seviyesinde işlenmesiyle yapıların, cihazların ve sistemlerin tasarımı, karakterizasyonu, üretimi ve uygulaması olarak tanımlanmıştır (Royal Society 2004).

Nanoteknoloji ile doğadaki atomik dizilim taklit edilerek atomlar veya moleküller tek tek alınıp hassas şekilde birleştirilerek istenilen her ürün elde edilmiştir. Bütün maddeler atomlardan oluşmakta ve özelliklerini de atomların dizilişlerinden almışlardır. Çünkü maddeleri farklı kılan; en küçük birim olan atomların dizilişlerindeki çeşitliliğidir. Örneğin aynı atomlardan oluşan elmas ve maden kömürü atomlarının düzenlenmesi ile farklı maddeler olarak ortaya çıkmıştır. Külçe altın başka maddelerle reaksiyona girmezken nano altın diğer maddelerle kolayca reaksiyona girebilmiştir. Nanoteknoloji doğada meydana gelen bu olaylar çerçevesinde, farklı maddeleri atom seviyesinde işleyerek yeni maddeler elde edilmesine olanak sağlamıştır (Özer 2008).

Nanobilim; malzemelerin atomik, moleküler ve makromoleküler ölçeklerden özelliklerin önemli derecede farklı olduğu fenomenin ve manipülasyonun hakkında yapılan çalışma olarak tanımlanmıştır (Royal Society 2004).

Nano mühendislik, üç boyutlu malzeme, cihaz ve sistem mimarisi, tıp, enerji transferi ve dönüşümü, büyük ölçekli atom modelleme ve simülasyon, çevre güvenliği ve nanoboyut düzeyinde üretim gibi konularda çalışma yapan mühendislik alanı olarak belirtilmiştir (Özer 2008).

## 1.3. Nanoteknolojinin Tarihsel Gelişimi

Nanoteknoloji özellikle son on yıldır gelişme göstermesine rağmen konu ile ilgili araştırmalar 1950'li yıllara dayanmakta ve nanoboyuttaki malzemelerin olağanüstü özelliklere sahip olacağı tahmin edilmiştir. Ancak nanoteknoloji fikri ilk olarak, kuantum



elektrodinamiği sahasında yapmış olduğu çalışmalarla ünlü fizikçi Richard P. Feynman'ın (1918-1988) 29 Aralık 1959 tarihinde American Physical Society toplantısında yapmış olduğu “Aşağıda Bir Sürü Yer Var (There's Plenty of Room at the Bottom)” başlıklı konuşmasında maddelerin minyatürleştirilmesini vurgulayarak bilim insanlarının dikkatlerini nanometre boyutlarına çekmesiyle ortaya çıkmıştır (Özer 2008). “Nanoteknoloji” terimi ilk defa 1974 yılında Tokyo Üniversitesi'nde araştırmacı olan Norio Taniguchi nanometre seviyesinde malzemeyi tamir edebilme yeteneğini anlatmasına dayalı konuşmasında (On the Basic Concept of Nanotechnology) kullanmıştır (Royal Society 2004).

**80'ler mikroskopların geliştirilmesi;** Boyutlar küçüldükçe, araştırmacılar tarafından yapılan çalışmaları izlemek zorlaşmıştır. 1981'de IBM (Binnig ve Rohrer) tarafından Taramalı Tünelleme mikroskobu (STM) ve Atomik Kuvvet Mikroskobunun (AFM) keşfedilmesiyle nanoboyutta ölçüm yapılabilmesi ve iletken bir yüzeydeki atomların yerinin değiştirilmesi mümkün hale gelmiştir. Geliştirilen yeni STM sayesinde araştırmacılar 1986'da Nobel Fizik ödülünü almışlardır (Ekli 2010). Eric Drexler 1986 yılında yayımlanan “Engines of Creation: The coming Era of Nanotechnology-Motorların Yaratılışı: Nanoteknolojinin Yaklaşan Çağı” isimli kitabında atomlarla, mevcut makinalardan çok daha güçlü, hafif ve kendi kendini kopyalayan nanoboyut seviyesinde makinalar üretilebileceğini öne sürmüştür (Özer 2008).

**90'lar-Fullerene-Karbon Nanotüpler:** Rice Üniversitesinde Richard Smalley öncülüğündeki araştırmacılar 60 karbon atomunun simetrik biçimde sıralanmasıyla elde edilen futbol topu şeklindeki “fullerene” moleküllerini keşfetmişlerdir. Bu molekülün, 1 nano metre büyüklüğünde, çelikten daha güçlü, plastikten daha hafif, elektrik ve ısı geçirgen özelliklerine sahip olduğu anlaşılmıştır. 1991 yılında Sumio Iijima Fullerene molekülünün esnetilmiş bir şekli olup, çelikten 100 kat daha güçlü ve ağırlığı çeliğin ağırlığının 6'da 1'i kadar olan karbon nano tüplerini keşfetmiştir. 1999 yılında Amerikan hükümeti nanoteknolojinin stratejik önemini anlayarak araştırma, geliştirme ve ticarileştirme faaliyetlerinin hızını artırmak için Ulusal Nanoteknoloji Adımı (National Nanotechnology Initiative) ile harekete geçmiştir (Özdoğan vd. 2006).

**2000'ler:** 2001 yılında Avrupa Birliği, Çerçeve Programına nanoteknoloji çalışmalarını öncelikli alan olarak eklemiştir. Japonya, Tayvan, Singapur, Çin, İsrail, İsviçre, Norveç, İrlanda ve Rusya'nın benzer programlar başlatarak 21.yüzyılın ilk küresel teknoloji yarısında önlerde yer almak için araştırmalarına hız vermeleriyle tüm dünya genelinde bir yarış başlamıştır. Dünyada IBM, Fujitsu, Intel gibi şirketler nanoteknoloji araştırma ve geliştirme üzerine milyonlarca dolar harcamaktadır (Duran 2015). National Science Foundation'n yaptığı çalışmaya göre 2020 yılında 6 milyon nanoteknoloji çalışanı olacaktır.

### **1.3.1. Türkiye'de nanoteknoloji**

Dünya çapında 1990'lı yıllardan itibaren başlayan nanoteknolojiye yönelik çalışmaları Türkiye uzun bir süre sadece izlemekle kalmıştır. Önce bilim alanında sonrasında sanayi kuruluşlarında önemi anlaşılmış ve 2000 yılından itibaren nanoteknolojiye yönelik araştırma ve çalışmalara başlanmıştır. Dünya çapında makalelerin yayınlandığı veri tabanında (Web of Science) ilk defa 1992 yılında Türkiye tarafından nanoteknoloji içerikli makale yayınlanmış, 2000 yılından itibaren ise daha yoğun ve sistematik çalışmalar başlamıştır.

## **1.4. Nanoteknolojinin Uygulama Alanları**

Yenilikçi ürünler ve yeni pazar potansiyelleri için mevcut yüzyılın anahtar teknolojisi olarak gösterilen nanoteknolojiden beklentiler oldukça yüksektir. Bu potansiyel nanoteknoloji temelli alanlara bazı örnekler aşağıda verilmiştir.

### **1.4.1. Havacılık ve uzay araştırmaları**

Havacılık ve uzay araçlarının imalatı sırasında kullanılan malzemelerin ağırlığı bu teknolojinin maliyetinin çok yüksek olmasına sebep olmuştur. Nanoteknoloji malzemelerin ağırlığını azaltarak maliyetin düşürülmesini sağlamaktadır.

Çekme gücü çelikten çok yüksek nanotüpler sayesinde dünyadan atmosfere kadar yükselebilen uzay asansörünün inşa edilmesi planlanmıştır. Bu sayede uzay araştırmalarının yüksek maliyetli olmasına sebep olan fırlatma maliyetleri de düşürülebilmektedir (Coşkun 2014).

#### **1.4.2. Nanoelektronik ve bilgisayar teknolojileri**

Elektrik devre elemanlarının nanoboyutta üretilmesi ile yapılan bilgisayarlar günümüz teknolojisi ile yapılan bilgisayarlara kıyasla hız ve kapasite olarak daha büyük, boyutları daha küçük, harcadığı enerji bakımından çok daha ekonomik olduğu görülmüştür. Nanoteknoloji kullanılarak üretilen kuantum bilgisayarlar günümüz teknolojisi ile üretilen en modern bilgisayar olan pentium bilgisayarlarla kıyaslanamayacak kadar işlem gücü yüksek olacaktır. Günümüz bilgisayarları ile hesaplanması 300 yıl sürebilecek karmaşık bir hesabı, on altı bitlik işlem kapasitesine sahip bir kuantum bilgisayar bir ay gibi kısa sürede bitirebilecektir (Ulutepe 2010). Ayrıca elektronik sistemler için geliştirilen sensör, gösterge sistemleri ve sinyal iletimi alanlarında da büyük ilerlemeler olacaktır (Kutlay 2015).

#### **1.4.3. Malzeme ve imalat sektörü**

Atomik ve moleküler boyutlardan başlayarak inşa edilen, nano ölçekte işlevi olan malzeme ve aygıtlar, diğer metotlarla elde edilen malzemelere oranla daha hafif ve mükemmel dayanıklı maddelerin ortaya çıkmasını sağlamıştır (Coşkun 2014). Nano ölçekteki malzemelerin daha az malzeme kullanımı, daha düşük hata seviyesi, programlanabilir malzemeler olması, artık malzeme üretmemesi, üretim safhasında daha az enerji gereksinimi vb. avantajlarından dolayı nano imalatta önemli bir yer almıştır. Daha sonra işlenmeye gerek duyulmadan tam olarak istenen şekli sağlayan nanoyapıda metal, polimer, seramik malzemeler; nanoboyutta kaplama yapılmış malzemeler ve baskı yöntemleri malzeme ve imalat sektöründe yapılması muhtemel uygulama alanlarına örnek olarak gösterilmiştir (Erkoç 2007).

#### **1.4.4. Tıp ve sağlık sekt6r6**

Nanoteknoloji, canlı organizmalar ile etkileşime geçebilecek molek6ler boyutlarda sistemler, araçlar oluşturulması ile sağlık alanında erken teşhis ve tedavi yöntemlerinin gelişmesini mümkün kılmıştır. Nanotıp, nanomakineler ve nano yapılardan faydalanarak insan vücudunu molek6ler boyutta izleme, tedavi etme, yeniden yapılandırma gibi imkânlar sağlayabilmiştir (Tuncel 2013).

İnsan vücudunda yalnızca hastalığın bulunduğu veya yayıldığı alana yönelik ilaç veren makineler, teşhis ve tedavi amaçlı nanorobotlar, hastalıkları daha önceden tespit ederek erken tedavi imkânı sağlayan nano algılayıcılar geliştirilmiştir. Ayrıca, belirli bir sıcaklık derecesinde patlayarak insan vücudundaki kanserli dokuları yok eden nano bombalar, nanoteknolojinin tıp ve sağlık alanındaki potansiyel uygulamaları olarak gösterilmiştir (Saygı vd 2011).

#### **1.4.5. Tekstil sekt6r6**

Tekstil ürünlerinin var olan özelliklerini ve yüzey yapısını geliştirmek ve çeşitli alanlarda kullanılabilirliğini artırmak için nanolif kaplama yapılmıştır (Taylan 2011). Tekstil sanayinde nanoliflerin kullanımı ile ışık, basınç, kimyasal özellikler vb. gibi dış etkenlerdeki değişimlerle renk değiştiren ürünler, vücut işlevlerimizi kontrol edebilen, gerek görüldüğünde ilaç veren ilaç yüklü PCL nano lifli ürünler, nabız, tansiyon, sıcaklık gibi vücudumuzdaki değişimleri belirleyip kişiyi uyarabilen ürünler üretilebilmektedir. Nanoteknoloji kullanımı ile tekstil ürünlerine anti-mikrobiyallık, anti-statiklik, leke tutmazlık, daha iyi boyanabilirlik, UV koruyuculuk, yanmazlık vb. özellikler kazandırılmıştır (Şafak 2012).

#### **1.4.6. Çevre ve enerji**

Nano-kompozitler enerji depolamak için en iyi malzemeler olduğundan güneş pili teknolojisi geliştirerek, güneşten gelen enerjiyi elektriğe çevirme, sistemindeki

zorlukların üstesinden gelinecek ve verimliliği artırabilecektir (Ulutepe 2010). Nanomalzemelerin ve nano-kompozitlerin fosil yakıt endüstrisindeki verimliliği artırmasından faydalanarak daha yüksek verimliliğe sahip motorlar geliştirilip ve böylece çevre dostu ulaşım sistemleri kurularak daha temiz çevre olması sağlanabilmiştir (Coşkun 2014).

Ayrıca bir başka araştırmada, nanomagnetit kullanılarak Fenton işlemi ile endüstriyel atık suların çevreye zararlı bir boya olan Basic Red (BR9)'un giderimi araştırılmış ve iyi bir yöntem olarak tanımlanmıştır (Gungor *et al* 2015).

#### 1.4.7. Biyoteknoloji ve tarım

Nanoteknolojik ürünler kullanılarak tarım, çiftçilik alanlarında ve gıda endüstrisinde pek çok ilerleme kaydedilmiştir. Kullanılan malzemelerden bazıları nanokompozitler, nanopartiküller ve metal nanopartiküller olarak bildirilmiştir.

**Tarımda;** Nanoteknoloji zirai ilaç kullanımını azaltma, bitki ve hayvan ıslahı geliştirme, bitki hastalıklarını önleme ve hastalıkların moleküler tedavisi ile daha erken hastalık teşhisi ve yeni nano-bioendüstriyel ürünler oluşturma gibi yeni çalışmalarla gelecek vadettmiştir (Yüksel 2011).

**Çiftçilikte;** Tarım alanlarına yerleştirilen akıllı sensörler sayesinde, çevresel değişkenler, yapılan uygulamalar ve ürün yetiştirilmesi takip edilerek, daha az gübre, pestisit, herbisit kullanılarak üretkenliğin yükseltilmesi hedeflenmektedir. Ayrıca kullanılan akıllı biyosensörler ve kontrollü salım sistemleri tarım endüstrisinin virüslerle ve diğer patojenlerle savaşmasına yardımcı olmuştur (Demirbilek 2015).

**Gıda endüstrisinde;** Gıdaların paketlerine antibakteriyel ve antifungal nanopartikül veya nano kompozitlerin eklenmesiyle mekanik dayanıklılığı, sıcaklığa direnci artırılmıştır. Ayrıca UV, ışık ve bozulma engellenmiştir. Gıdaların hazırlanması sırasında nanokapsüllerin eklenmesiyle gıdaların ve içeceklerin lezzet ve rengi korunmuştur. Nanopartiküller antioksidan ve karotenoid gibi bazı fonksiyonel maddelerin suda ve

meşrubatlarda dağılmasını sağlayarak besinlerin kalitesini artırmıştır. Gıdaların güvenliği; üretimde, işlemede veya gıdaların taşınmasında bakterilerin ve mantarların saptanmasını sağlayan nanobiyosensörler ile artırılması mümkün kılınmıştır. Antikor takılı nanotellerin mikrobiyodetektör olarak kullanılmasıyla kimyasal bozulmalar, patojenler ve toksinler saptanabilmiştir (Demirbilek 2015).

#### **1.4.8. Savunma sektörü**

Nanoteknoloji diğer alanlarda olduğu gibi savunma sektöründe de geniş bir alanda kullanılmaya başlanmıştır. Askeri kara, hava ve deniz araçlarında, askeri uydularda, zırh, kalkan, siper vb./vs. geliştirilmiş, kamuflaj ve akıllı sistemler kullanılmaya başlanmış ve zamanla kullanımı daha da artacağı görülmüştür. Özellikle geliştirilmiş kamuflaj sayesinde düşman askeri lazer silahıyla nişan aldığı anda haber vermesi, zehirli biyolojik ve kimyasal gazları tespit etmesi, enerjiye ihtiyacı olduğunda güneş pili gibi çalışacak ve gece karanlığında kendi askeri tarafından tanınabilecek, ama aynı zamanda çok hafif ve ucuz olacağı yapılan araştırmalar sonucunda anlaşılmıştır (Taylan 2011).

### **1.5. Nanoteknolojinin Hedefleri ve Sağlayacağı Olanaklar**

#### **1.5.1. Nanoboyutun çok önemli olmasının sebepleri ve sağlayacağı olanaklar**

- Fizik ve kimya kurallarının mümkün kıldığı hemen hemen her şeyi atom seviyesinde üretebilme ve her atomu tam istenilen yere yerleştirme imkânı sağlamıştır.
- Nanometre ölçeğinde maddenin kimyasal özelliklerini değiştirmeden; erime sıcaklığı, mıknatıslanma, şarj kapasitesi vb. temel özellikleri değiştirilebilmiştir.
- Nanometre boyutundaki değişmelerden madde içerisindeki elektronların dalgalanma özellikleri etkilenmiştir.
- Nanoboyutun yüzey gerilimi ve lokal elektromanyetik etkileri; nano yapı malzemeleri daha sert ve daha az kırılabilir olmasını sağlamakta büyük önem taşımıştır.
- Nanoboyutlu bileşenler çok yüksek yüzey alanına sahip olduklarından; kompozit malzemeler, çekirdek reaktörleri, ilaç dağıtımı ve enerji depolamada kullanmak için

idealdirler.

➤ Üretim maliyetlerinin hammadde maliyetlerini geçmediği ekonomik üretim imkânı sağlamıştır (Celep 2007; Yalçın 2010)

### **1.5.2. Nanoteknolojinin hedefleri arasında**

- Yeni nanoölçekli aletlerin geliştirilmesi (Yalçın 2010),
- Farklı Nanometre ölçekli yapıların analizi (Türkan 2014),
- Pekçok anlamda kullanılmak üzere, nano hassasiyetli cihazların geliştirilmesi (Yalçın 2010),
- Nanometre boyutunda yapıların fiziksel özelliklerinin anlaşılması ve geliştirilmesi (Yalçın 2010),
- Daha az malzeme ve enerji kullanımını sağlayarak çok daha kullanışlı ve istenen özelliklerin eklenebilir olduğu malzemeler üretilebilirliğinin araştırılması (Uğurlu 2010),
- Nanometre ölçekli yapıların imalatı ile daha dayanıklı, daha hafif, daha hızlı yapılar üretmek, yapı bölümlerinin kontrollü biçimde kendi kendilerini kopyalamalarını ve büyümelerini araştırılması (Uğurlu 2010),
- Nanotüplerin kullanımını artırarak, gelecekte daha çok kullanılması planlanan hidrojen yakıtının depolanabilirliğini kolaylaştırmak (Uğurlu 2010),
- Elektronik, tarım, sağlık, endüstri, malzeme bilimi vb. birçok alandaki nanoteknolojik gelişmeleri yaygınlaştırarak pekçok alternatif çözüm yolu oluşturmak (Uğurlu 2010),
- Uygun yöntemler bulunarak nanoskobik ve makroskobik dünya arasındaki bağın kurulmasını sağlamak (Türkan 2014),
- Alışıldan farklı üretim süreçlerinin elde edilmesi ile üstün malzeme özelliklerine sahip ürünler elde etmek sayılabilir (Türkan 2014).

### **1.6. Nanopartiküller**

Nanopartiküller boyutları 1-100 nm aralığında değişen tozlar veya taneciklerden meydana gelmekte olup nanoteknolojinin temelini oluşturmaktadır. Her bir taneciğin milyonlarca atom içerdiği nanopartiküller farklı ve üstün özellikler göstermesi ile dikkat

çekmiştir. Nanoboyuttaki malzemelerin sahip olduğu yüzey etkisi ve kuantum etkisinden dolayı normal boyutlardaki malzemelere göre tamamen farklı özellikler göstermiştir. Nanopartiküller kuantum boyut etkileri, yüzey atomlarının benzersiz karakterleri, elektronik yapısının boyut bağımlılığı ve yüksek yüzey/hacim oranı ile benzersiz fiziksel, kimyasal ve mekanik özelliklere sahip olmuşlardır (Muhcu 2015).

### **1.6.1. Nanopartiküllerin avantajları**

Nanopartiküllerin immobilizasyonları (kısaca hareketsiz hâle getirilmesi) sonucunda kullanılan çevirici sistemler, biyomoleküllerin yüzey alanını genişleterek daha hassas ve seçimli bir şekilde analizlerin yapılmasını sağlamıştır (Yalgın 2014).

Nanopartiküller, bazı araştırmalarda yüzeyin iletkenliğini arttırmış ve yüzeyin büyüklüğü ve morfolojisi üzerinde modifikasyon (boyutları değiştirilerek ve çeşitli polimerik kaplamalarla kararlılık kazandırma) yapabilmeyi sağlamıştır (Yalgın 2014).

Ayrıca nanopartiküller, DNA analizlerinde sinyal amplifikasyonunu sağlamış ve herhangi bir taşıyıcıya gerek kalmadan hedef bölgeye enjeksiyon yoluyla ulaştırılabilmıştır (Etcı 2011; Yalgın 2014).

### **1.6.2. Nanopartiküllerin kullanım alanları**

Nanopartiküller in kullanım alanlarından bazıları, yüzey aktif madde, yüksek aktiviteli katalizör ve aşınmaya karşı güçlü katkı olarak kullanılmıştır. Ayrıca, Optik uygulamalar için özel malzemeler ile birlikte süper iletkenler olarak ve yüksek yoğunluklu veri depolama hücreleri ile malzemelerin nano boyut seviyesinde kontrolünde kullanılmıştır (Gürmen vd 2008).

Nanoboyutta kodlanmış, paketlerin vücudun ilgili bölgesine ulaştırılmasına imkân sağlayacak akıllı taşıyıcı sistemler geliştirilmiştir (Pekdemir 2011).



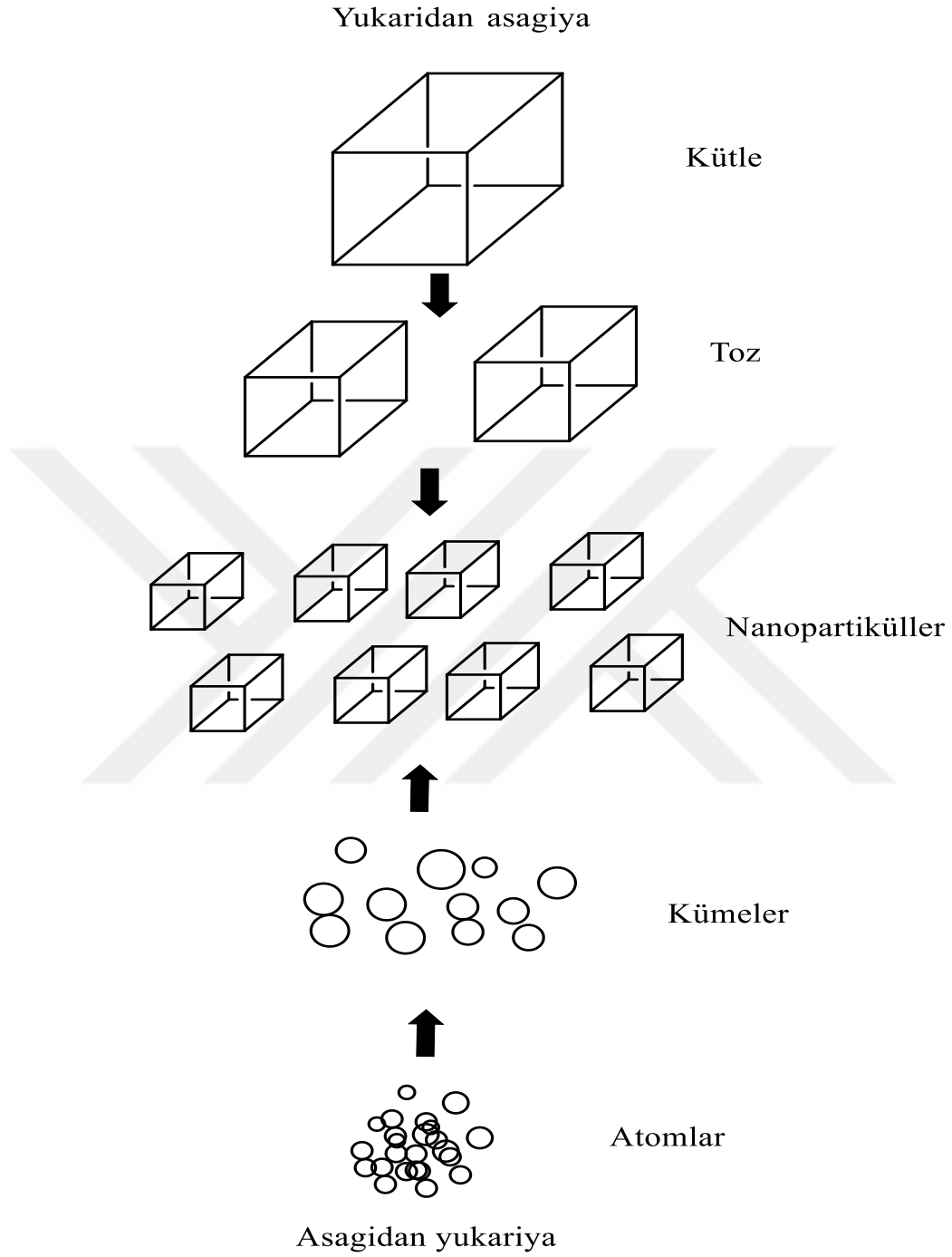
Mikroelektromekanik (MEM) sistemlerdeki önemli gelişmeler sonucunda mikro düzeyde pompalar, motorlar üretilmeye başlanmıştır. Posta pulundan daha küçük biyoçipler nano düzeye indirilmeye çalışılarak ve nano makine üretimi araştırılmıştır (Pekdemir 2011).

Tarım ve gıda sistemlerinde çok düşük miktarda olduğu için tayini kolay olmayan kimyasal kontaminant, patojen ve virüslerin belirlenmesi için biyoanalitik nanosensörler üretiminde kullanılmıştır (Pekdemir 2011).

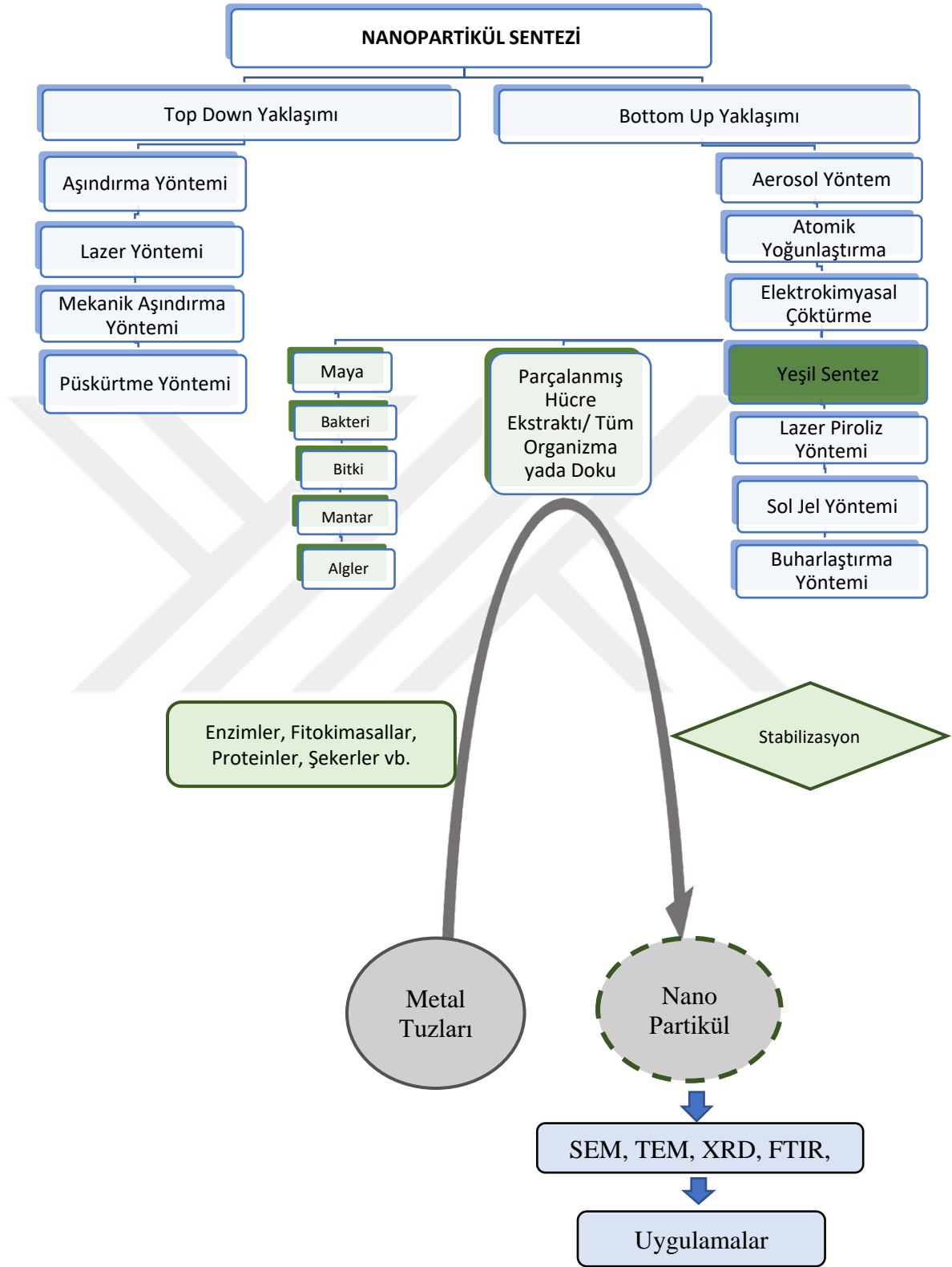
### **1.6.3. Nanopartikül sentezinde kullanılan yöntemler**

**1) Aşağıdan yukarıya yaklaşımı (Bottom-up):** Atomik veya moleküler boyuttaki yapıları kimyasal reaksiyonlar ile büyütürken nanopartikül oluşumu sağlanmıştır. Bu yaklaşımda kullanılan en genel yöntemler; atomik yoğunlaştırma, kaplama, buharlaştırma, sol jel ve sprej piroliz yöntemleridir (Ballı 2015).

**2) Yukarıdan aşağıya yaklaşımı (Top-down):** Hacimsel malzemeye dışardan mekaniksel, kimyasal işlemler ve/veya enerji verilmesi sonucunda malzemenin nano boyuta kadar inebilecek küçük parçalara ayrılması sağlanmıştır. Verilebilecek en genel örnek mekanik aşındırma yöntemidir. Bu tekniklerde klasik öğütme işlemlerinden çok daha fazla enerji tüketimi meydana gelmiştir (Gürmen vd 2008).



**Şekil 1.2.** Yukarıdan aşağıya yaklaşımı (Top-down) ve Aşağıdan yukarıya yaklaşımı (Bottom-up)



**Şekil 1.3.** Nanopartikül sentezinde yeşil sentezin önemi ve çeşitli yaklaşımlarının genel akış şeması (Hussain *et al.* 2016)

### 1.7. Nanopartikül Sentezinde Yeşil Sentez Metodu ve Önemi

Nanopartiküllerin daha kolay ve etkili sentezi için gün geçtikçe çok sayıda teknik geliştirilmiştir. Nanopartiküllerin sentezi için fiziksel metot, kimyasal metot ve biyolojik metot olmak üzere üç temel teknik kullanılmıştır. Metal nanopartiküllerin sentezlenmesinde önemli olan metal iyonlarının indirgenmesinde kullanılan indirgeyici ve stabilize ajanların geliştirilmesidir. Fiziksel ve kimyasal sentez yönteminde oldukça toksik ve tehlikeli kimyasallar indirgeyici ve stabilizör ajan olarak kullanılmakta çevre ve hücre için toksisite riski taşımaktadır. Dolayısıyla bu yöntemler insan için yararlı ve uygulanabilir değildir. Ancak yeşil sentez yönteminde, bu ajanlar kullanılan biyolojik organizmalarda doğal olarak bulunmakta ve genel olarak toksik olmayan ve çevresel etki olarak faydalı, biyolojik olarak geliştirilmiş biyouyumluluk özelliğine sahip maddeler veya kimyasallar kullanılmıştır. Ayrıca fiziksel ve kimyasal yöntemlerin karmaşık ve çok pahalı olması, toksik madde kullanımı gerektirmesi gibi sebeplerden dolayı en kabul edilebilir yöntem çevre dostu ve toksik olmayan yeşil sentez yöntemi olarak sunulmuştur (Kumar *et al.* 2015).

Yeşil sentez yöntemi ile nanopartiküllerin sentezinde yaygın olarak mikroorganizmalar (bakteriler, mayalar, küfler ve algler) ve bitki özleri kullanılmıştır. Nanopartikül sentezini bitkilerde ve mikroorganizmalarda bulunan proteinler, enzimler, aminler, fenolik bileşikler ve alkaloidler gibi moleküller kullanılarak indirgeme mekanizması üzerinden gerçekleştirmiştir (İnci 2017). Nanopartiküllerin geniş ölçekli biyosentezi için bitkilerin kullanıldığı sentez metotlarının uygulama açısından daha kolay olduğu görülmüştür. Bitkiler tarafından üretilen nanopartiküller daha kararlı ve sentez hızı mikroorganizmalara kıyasla daha hızlı olduğu anlaşılmıştır. Bitki ekstraktlarının varlığında kimyasal indirgeme ile nanopartiküllerin üretimi sırasında kullanılan bileşiklerin (örn., hidrazin hidrat, sodyum borohidrit, DMF ve etilen glikol) ve toksisite sorununu artıran nanopartiküllerin bitkisel kaynak tarafından tutularak toksisitenin azalması sağladığı araştırmacılar tarafından rapor edilmiştir (Padil *et al.* 2016).

### **1.7.1. Yeşil sentez metodunun metal nanopartiküllerin sentezinde sağlayacağı avantajlar**

Çok sayıda çalışmada, yeşil sentez ortamı kullanılarak, çevre dostu bir teknikle ve iyi karakterize edilen farklı özelliklere sahip metal nanopartiküller sentezlenebilmiştir. **Yeşil sentez metodu**, büyük ölçekli üretim yapılabilmesi ve hızlı ve kararlı nanopartikül sentezi gibi avantajlara sahip olduğu görülmüştür (Zaitsev *et al.* 1999). Kimyasal sentez yönteminde kullanılan metal tuzları ve indirgeyici ajanlar gibi pekçok kimyasal oldukça pahalı ve temini oldukça zordur. Ancak yeşil sentez metodunda kullanılacak kimyasallardan en önemli olan metal tuzlarının maliyeti olarak bildirilmiştir. Makarov ve grubu bitki atıkları indirgeyici ajan olarak kullanılmış ve bu da nanosentez maliyetini oldukça düşürmüştür (Makarov *et al.* 2014).

Manyetik nanopartiküllerin biyosentezi üzerine çok sayıda farklı grup, manyetik depolama ortamı, tıbbi kullanımlar, biyolojik tespit uygulamaları, jet baskı için manyetik mürekkepler, manyetik rezonans görüntüleme (MRI), ilaç transferi ve kontrast araçları olarak kullanılmak üzere yoğun şekilde çalışılmıştır (Zaitsev *et al.* 1999).

Ayrıca yeşil sentez metodu ile sütlegen (*Euphorbia amygdaloides*) bitkilerinden demir nanopartikülleri sentezlenerek glukoz miktarının belirlenmesi için nanobiyosensör teknolojisinde kullanılabileceği yaptığımız araştırmalar sonucunda görülmüştür (Gunduz *et al.* 2016).

### **1.8. Biyosensör Kavramı**

Tüm canlılar yaşamlarını sürdürebilmek için yaşadıkları çevredeki değişimleri anında algılayıp değişimlere uymaya çaba göstermektedirler. Bu algılama mekanizması biyosensörlerin *in vitro* kullanımı için temel oluşturmaktadır. Canlılar, bilim adamlarının hayal bile edemeyeceği duyarlık özelliğine sahiptir. Örneğin; genel olarak köpeklerin koku almaları duyuları insanlardan 100.000 kat daha duyarlı, yılan balıkları tonlarca su içerisine ilave edilen birkaç damla yabancı maddeyi derhal algılayacak kadar hassas,

algiler ise zehirli maddelere karşı çok duyarlı olduğu bildirilmiştir. Canlıların bu uyarıları algılamayı mümkün kılan biyolojik maddelerin analiz sistemleri ile birleştirilmesi biyosensörlerin oluşumunu sağlamıştır (Tüylek 2017). Klasik elektrokimya ile sadece anyon ve katyonları belirleyen sensör hazırlanabilirken sisteme biyomateryalin de katılması ile diğer birçok maddenin tayini mümkün olmuştur (Özdemir 2010).

Fiziksel bir özelliği belirleyerek kaydeden cihaza “sensör”, biyokimyasal bir bileşenin fizikokimyasal çeviriciyle birleştirilmesiyle oluşan sensör sistemleri ise biyosensör (biyoalgılayıcılar) olarak tanımlanmıştır. Bir biyosensörün görevi, bir analitin (Analiz edilecek madde) miktarıyla orantılı olarak sürekli sayısal elektrik sinyali üretmiştir. Bir sensör kullanılarak, fiziksel boyuttaki değişimler elektriksel boyuttaki değişimlere dönüştürülerek ölçülmüştür. Bu değişimlerden bazıları; akım, gerilim, sıcaklık vb. olarak bildirilmiştir (Şenarslan 2017).

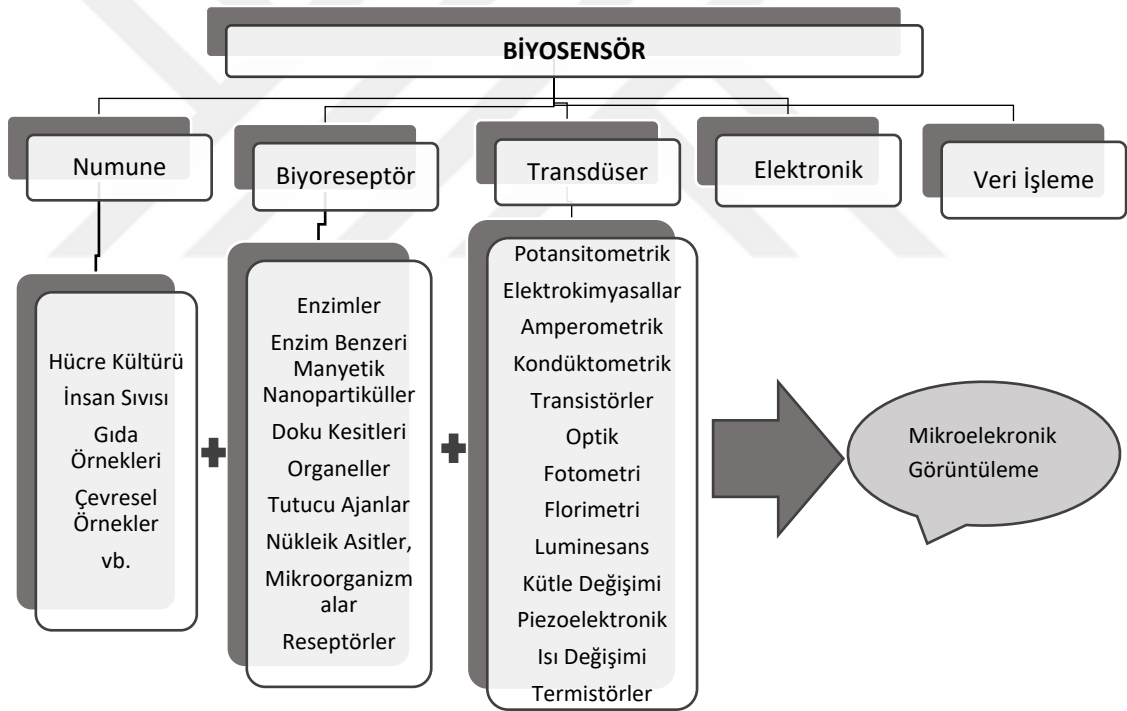
### **1.8.1. Bir biyosensörde dikkat edilmesi gereken özellikler**

- Biyoaktif bileşen spesifik ve kararlı aynı zamanda küçük ve bazen biyoyumlu olmalı,
- Biyosensördeki temel reaksiyon fiziksel parametrelerden olabildiğince az etkilenmeli,
- Biyosensör cevaplarının doğru, duyarlı ve tekrarlanabilir olması büyük önem taşımaktadır,
- Biyosensörü karakterize eden ve performansını belirleyen en önemli parametreler; hassasiyet, dinamik cevap, doğrusallık, ölçüm limiti, seçicilik ve dinamik olması şeklinde tanımlanmıştır (Tüylek 2017).

### **1.8.2. Biyosensörün yapısı ve fonksiyonu**

Biyosensör sistemleri; biyoreseptör (algılayıcı), transdüser (dönüştürücü) ve elektronik bölüm olmak üzere üç temel bileşenden oluşmaktadır. Seçici tanıma mekanizmasına sahip biyoreseptör, biyosensörün hassasiyeti ve seçiciliğinde etkili, tek bir partiküler substratı bağlayacak ve diğer substratlara bağlanmayacak özellikte duyarlı biyolojik bir bileşiktir. Dokular, mikroorganizmalar, organeller, hücre reseptörleri, enzimler, anti-

badiler, nükleik asitler bu amaçla kullanılmışlardır. Enzimler ve antikorlar bu bileşiklerin içinde en yaygın olarak kullanılan biyolojik ölçüm elementidir. Transdüserler, reseptörlerin biyolojik reaksiyonunu anlamlı, ölçülebilir fiziksel bir sinyale dönüştüren kısımdır. Biyokimyasal reaksiyona göre transdüser seçilirken, biyoreseptörün seçimi spesifiklik, depolama, işlevsellik ve çevresine karşı olan kararlılığına göre yapılmıştır. Reseptörlerin transdüserler üzerinde immobilizasyonu fiziksel (adsorbsiyon, polimer, matriste tutuklama vb.) veya kimyasal (kovalent bağlama, bi veya multi fonksiyonel reaktifler ile çapraz bağlama) yöntemleri ile gerçekleştirilmiştir (Özdemir 2010; Kızıltan 2016). Özetle bir biyosensör, örnekleme, algılama, çevirme ve hesaplama içeren bir sistemden oluşmaktadır.



**Şekil 1.4.** Biyosensörlerin genel çalışma mekanizması (Tüylek 2017).

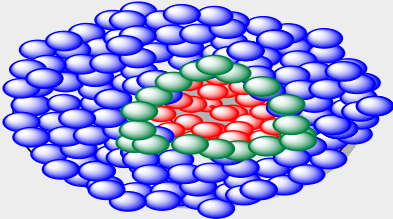
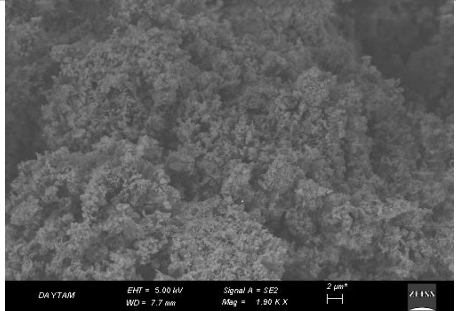
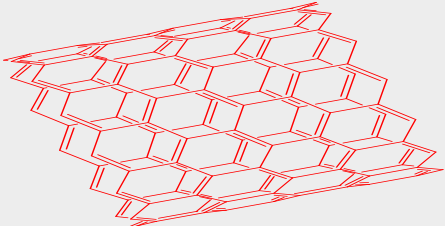
### 1.9. Biyosensör Teknolojisinde Kullanılan Nanomalzemeler

Nanoboyutlu malzemeler 0,1 nm'den 100 nm'ye kadar olan yapısal uzunluk ve karakterizasyondaki malzemeleri kapsamıştır (Ozkan 2006). Kuantum Boyut Etkisi

olarak adlandırılan teoriye göre malzemelerin özellikleri partikül boyutuna ve şekle bağlı olarak değişmiştir. Malzemenin daha küçük boyuta indirgenmesi ile mikro ve makro boyuttaki malzemelere göre pek çok özelliğinde iyileşmeler, olağandışı özellikler ve işlevsellik sergilediği görülmüştür (Ozkan 2006).

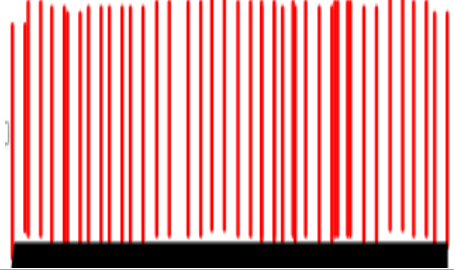
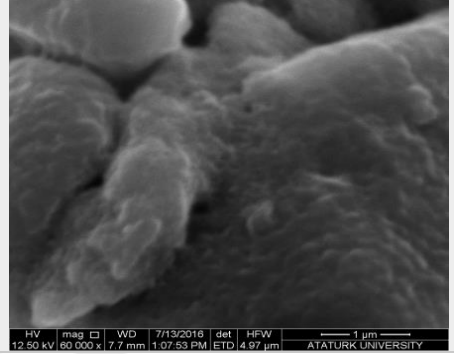
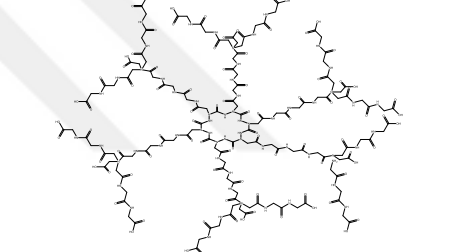
Biyosensör teknolojisinde kullanılan nanomalzemeler; büyük boyutlarda elde edilemeyen kuantum, yüzey ve makro-kuantum tünel etkisi gibi spesifik fiziksel ve kimyasal özelliklerin kullanımı ve artan hassasiyetler özellikle *in vivo* analizlerin gerçekleştirilmesini kolaylaştırmıştır (Yalgın 2014).

**Çizelge 1.1.** Nanomalzeme türleri ve örnekleri (Yalgın 2014).

NANOBOYUTLU MALZEMELER	ÖRNEKLER	YAPI
<b>Nanokristaller</b>	Metaller, Yarı iletkenler, Manyetik materyaller	
<b>Nanopartiküller</b>	Metaller, Seramik oksitler	
<b>Nanotüpler</b>	Karbon	



Çizelge 1.1. (devam)

<b>Nanoteller</b>	<b>Metaller, Yarı iletkenler, Oksitler, Nitritler</b>	
<b>Manyetik Nanopartiküller</b>	Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> (manyetit) γ-Fe <sub>2</sub> O <sub>3</sub> (maghemit), α- Fe <sub>2</sub> O <sub>3</sub> (hematit)	
<b>Dendrimerler</b>	Poly (amidoamine) Poly (peptide)	

### 1.10. Nanobiyosensörlerin Genel Kullanım Alanları

Biyosensörler analit ile ilgili bilgi gerektiren, hızlı ve analitik sonuç alınması gereken her alanda kullanılmıştır. Bu alanlardan bazıları; Tıp, tarım, gıda, eczacılık, çevre kirliliği, savunma ve pekçok endüstri olarak bildirilmiştir. Özellikle kalite kontrol, durum tespiti ve enerji saklanması önemli rol oynamıştır. Tıp alanında metabolitlerin ölçülmesi (kolesterol, şeker, vb. hastalıkların ölçülmesinde ve miktarlarının analizinde) kullanılmıştır. Endüstride biyoreaktörlerin kontrolü, giren hammadde ve çıkan ürünlerin ölçülmesi vb. nanobiyosensörlerden yararlanılmıştır. Ayrıca, endüstriyel süreçlerin kontrolünde; çevresel denetim olarak hava ve su tahlillerinde; asit yağmurları, pestitler, çevresel kirlenmelerin kontrolünde, askeri ve sivil savunma alanında olası bir biyoterör veya biyosaldırı sonrası erken tespit için çok güçlü, hasas ve taşınabilir biyosensörler

geliştirilmiştir (Mindivanlı 2014).

Ayrıca gıdaların mikrobiyal aktiviteleri yükseldiğinde uyarı veren nanosensörler sayesinde bozulan gıdalar tespit edilebilmiştir. Gün geçtikçe gıda zehirlenmelerinin artması toksik ve mikrobiyal kontaminantların hızlı tayinini zorunlu hale getirmiştir. Proteinlerin tespitinde harcanan zaman nanosensör kullanımıyla oldukça azalmıştır. Gıda ambalaj malzemelerine nanosensörler doğrudan eklenebilir. Gıda proteinleriyle temasa geçtiğinde farklı renklerde ışık yayan nanopartiküllerden oluşan ışık kütlesi bir çeşit elektronik dil kullanılarak ya da burun görevi görerek bozulmuş gıdalardan yayılan kimyasalları tespit etmekle görevli nanosensörler tasarlanabilmiştir (Whitaker 1994).

Biyosensörler; gıda maddeleri, vitaminler, metabolitler, antibiyotikler ve ilaçlar gibi organik maddeler, bunların yanı sıra enzimler, virüsler ve mikroorganizmaların analizlerinde kullanılmıştır (Dolmacı 2009).

### 1.11. Biyosensör Grupları

**Çizelge 1.2.** Biyosensör grupları ve kapsadıkları analiz alanları (Tüylek 2017).

<b>BİYOSENSÖR GRUBU</b>	<b>KAPSADIĞI ANALİZ ALANI</b>
<b>Enzim Sensörleri</b>	Küçük moleküllü organik ve anorganik maddeler (ilaçlar, gıda maddeleri, vitaminler, antibiyotikler vb.)
<b>Enzim Benzeri Manyetik Nanopartikül Sensörleri</b>	Glukoz miktarının belirlenmesi için sensörler, hidrojen peroksit miktarının belirlenmesi için sensörler
<b>Mikrobiyal Sensörler</b>	Enzim sensörlerinin kapsadığı alanlar, Biyolojik oksijen gereksinimi (BOD), toksisite ve mutajenite)
<b>DNA-Sensörleri</b>	Virüsler ve patojen mikroorganizmalar
<b>Immuno Sensörler</b>	Virüsler ve patojen mikroorganizmalar

## 1.12. Manyetik Demir Nanopartiküller

Manyetik nanopartiküller manyetik alan kullanılarak yönlendirilebilen nanopartiküllerin bir sınıfı olup genellikle Fe, Ni, Co ve bunların bileşimleri olan manyetik elemanlardan oluşmaktadır (Yalgın 2014).

Manyetik malzemeler farklı sınıflar altında incelenmiştir. Birçok manyetik malzeme bulunmasına karşın ilk keşfedilen manyetik yapı olan manyetit ( $Fe_3O_4$ ), geçmişten günümüze kadar üzerinde en çok çalışma yapılan manyetik yapı olma özelliğine sahiptir. Bu nedenle araştırmalarda demir oksitler büyük önem taşımaktadır. Farklı manyetik özellikte ve değişik bileşenlerden oluşan demir oksitlerin en önemlileri;  $FeO$  (vustit),  $Fe_3O_4$  (manyetit),  $\gamma-Fe_2O_3$  (maghemit),  $\alpha-Fe_2O_3$  (hematit)'dir. Demir oksitler oksidasyona daha az duyarlı olduğundan kararlı manyetik etkilerini daha iyi korumuşturlar. Aynı fiziksel özelliklere sahip olan manyetit ( $Fe_3O_4$ ) ve maghemit ( $\gamma-Fe_2O_3$ ) en çok kullanılan demir oksit bileşiklerindedir. Ancak maghemitin ( $\gamma-Fe_2O_3$ ) mıknatıslık özelliği daha düşük olduğundan manyetit ( $Fe_3O_4$ ) araştırmalarda daha çok tercih edilmiştir (Gündoğdu 2016).

Manyetik nanopartiküller manyetik alan içerisinde hedef doku bünyesinde kolayca yönlendirilebilmekte ve istenilen bölgede kolayca yoğunlaştırılabilmektedir. Manyetik alan kaldırıldığında ise hemen tekrar dispers olup kolayca ortamdan ayrılabilirler. Manyetik nanopartiküllerin bazıları süperparamanyetik özellikte parçacıklar olduğundan dolayı işlem sonrası içerisinde herhangi bir manyetik partikül kalmamakta, partikül birikim riski bu şekilde dahada azaltılmıştır. Manyetik demiroksit nanopartiküller, duyarlılıkları yüksek olduğu için biyolojik uygulamalarda ve daha birçok uygulama alanında kullanılmışlardır (Yalgın 2014).



**Şekil 1.5.** Çözelti ortamındaki  $Fe_3O_4$  nanopartiküllerin üzerine manyetik alanın etkisi (Altundaş vd 2017).

Manyetik demir nanopartiküllerin kimyasal olarak aktif olduğu ve çevresel faktörlerden kolayca etkilenebildiği görülmüştür. Yüzey alanının geniş olması sebebiyle de havayla kolayca okside olurlar ve bir araya gelerek enerjilerini azaltma eğilimi göstermişlerdir. Metalik nanopartiküller sentez öncesi veya sonrasında kimyasal olarak çeşitli organik veya polimer malzemelerle modifiye edilerek bu oksitlenmenin önüne geçilmiştir. Nanopartiküller surfaktan ya da polimerle, inorganik olarak silika ya da karbonla kaplanarak oksidasyon engellenebilmiştir (Köçkar 2009).

### 1.12.1. Manyetik demir nanopartiküllerin kullanım alanları

- Biyomedikal alan uygulamalarında; manyetik özellik gösteren parçacıklara ilaç molekülleri yüklenerek ilacın vücutta yönlendirilmesinde kullanılmıştır (Özdemir 2010).
- Biyoteknoloji alanında magnetik ayırma işlemi kullanılmaktadır. Süperparamanyetik özelliğe sahip  $Fe_3O_4$  nanopartikülleri sayesinde proteinleri ya da diğer biyomolekülleri kolay ve hızlı bir şekilde ayırmak mümkün olmuştur. (Köçkar 2009).
- Biyosensör teknolojisinde  $Fe_3O_4$  nanopartiküllerinin, biyoyumlu, katalitik aktiviteye sahip olması ve düşük toksisite göstermesinden dolayı biyosensör alanında kullanılması uygun görülmüştür.
- Ayrıca manyetik nanopartiküllerin çeşitli etkilerinden dolayı enzim substrat etkileşiminin daha hızlı gerçekleştiği ve böylece daha hızlı sonuç alındığı gözlemlenmiştir (Özdemir 2010).

- Gıdalardaki glukoz miktarının belirlenmesi için  $Fe_3O_4$  nanopartikülleri kullanılarak nanobiyosensör geliştirilmesi mümkün olmuştur.
- Bakterilerin tespiti ve manyetik veri depolamada kullanılmışlardır.
- Çevresel arıtım ve atık su arıtımında kullanılmıştır (Gungor *et al* 2015).

### 1.13. Enzim Benzeri Manyetik Demir Nanopartikül Sensörleri

Biyosensörler geliştirirken biyoreseptör olarak en çok kullanılan yapı enzimlerdir. Enzimler substratlarına karşı oldukça yüksek bir özgünlüğe ve afiniteye sahip olduğundan binlerce kimyasalın arasından ilgili oldukları substratı seçer ve reaksiyonu katalizlerler. Biyoreseptör molekülü olarak uygun bir enzimin bulunamaması, enzimin kararsız olması veya birden çok maddenin tayini gibi olumsuz durumlarda hücre sistemleri ya da mikroorganizmalar kullanılmıştır. Tüm biyosensör sistemlerinde olduğu gibi enzimatik reaksiyonlarda da ortamın sıcaklığı, pH'sı, iyonik şiddeti ve diğer çevre şartları önemli rol oynamıştır (Tüylek 2017).

Doğal enzimlerin katalitik aktiviteleri kolaylıkla kaybedebilme (inhibe olma) ve proteazlar tarafından sindirilebilme gibi bazı ciddi dezavantajlar taşıdığı görülmüştür.  $Fe_3O_4$  manyetik nano parçacıklarının (MNP) gerçek enzimleri taklit eden ve enzim benzeri katalitik aktiviteye sahip yapılar oldukları bulunmuştur. Genellikle bilimin farklı alanlarında, manyetik nanopartiküllerin (MNP) ve özellikle metaloksit bileşiklerinin çok fazla etkinlik gösteremeyeceği kanısı yaygındır. Ancak mevcut yüksek lisans tez çalışmasında, yeşil sentez metodu ile sentezlenen  $Fe_3O_4$  manyetik nanopartiküllerin kazandığı peroksidaz enzimini taklit etme (mimic) özelliğinden dolayı tercih edilmiştir. Yaptığımız araştırmada, elde ettiğimiz  $Fe_3O_4$  manyetik nanopartiküllerin kazandığı bu özelliklerinden yararlanılarak farklı örneklerdeki glukoz miktarını tespit etmeyi amaçladık.

#### 1.14. Glukoz Tayini İçin Biyosensör Geliştirilmesi

Biyosferde en bol bulunan organik bileşik olan karbonhidratların, metabolik sistemlerde çok önemli rollere sahip olması nedeniyle, analizlerinin yapılması özellikle; gıda, tarım ve sağlık alanlarında büyük öneme sahiptir. Geleneksel tayin yöntemlerinin seçiciliği oldukça az ve duyarlılığı oldukça düşüktür. Kromatografik ya da kapiler elektroforez yöntemlerinde ise çok fazla sinyal algılanması ve/veya bazı analitler için tayin limitlerinin uygun olmaması gibi olumsuzluklardan dolayı analitlerin türevlendirilmesine ihtiyaç duyulmuştur. Yapılan bu ön işlemler geliştirilen yöntemlerin uygulanışını oldukça güçleştirmiştir (Özdemir 2010).

Biyolojik sıvıların içinde bulunan glukoz tayininin, hastalıkların tanısı ve ilaçların etkilerinin belirlenmesinde oldukça önemli bir yeri vardır. Mesela şeker hastalığının takibi için rutin olarak kan glukoz konsantrasyonunun belirlenmesini sağlayan cihazlar ev ortamında dahi kullanılmıştır. Bu cihazlar genellikle iki temel prensibe göre çalışmaktadır. Birincisi glukozun glukuronik aside dönüşmesi ve ikincisi glukozun glukuronolaktone dönüştürülerek ölçümünün yapılması prensibine göre çalışır (Gündüz vd 2017). Yaptığımız araştırmada birinci metot modifiye edilerek kullanılmıştır. Yeşil sentezle elde ettiğimiz manyetik metal nanopartiküllerin peroksidaz benzeri aktiviteleri ile glukozoksidaz (GOx) enzimi kombine edilerek farklı numunelerdeki (gıda, serum ve kan) glukoz miktarının daha hassas, güvenli ve kararlı tayin edilebilmesi amaçlanmıştır.

## 2. KAYNAK ÖZETLERİ

Nanoteknoloji, biyomedikal alanında ve yeni malzemelerin üretiminde çok sayıda uygulama içeren yeni bir bilimsel disiplin olarak tanımlanmıştır. Farklı biyolojik alanlarda uygulanacak potansiyele sahip olmakla beraber özellikle tıbbi uygulamalara odaklanmıştır. Örneğin; non-invazif görüntüleme araçları, hastalıkların erken tespiti için diagnostik test analizleri, ilaç geliştirme ve sekonder sistemik olumsuz etkileri azaltmak için hedefe yönelik ilaç verme sistemleri yapılan uygulamalar arasında sayılmıştır. Nanopartiküller diğer kullanım alanlarında olduğu gibi tıbbi alanın ilerlemesine de çok katkıda bulunmuştur. Altın nanopartiküller yeşil biyosentez tekniği kullanılarak sentezlenmiştir. Yeşil biyosentezin kontrol edilebilir şekli, boyutu ve eşitsizliği, büyük fiziksel ve kimyasal inertliği, yüzey plazmon rezonansı ile ilgili optik özellikleri, yüzey modifikasyonu, uygun maliyeti, çevre dostu preparatları moleküler problemler ile yüzey biyo-konjugasyonu, mükemmel biyouyumluluk ve daha az toksisite özellikleri sayesinde kullanımı artmıştır. Biyomedikal uygulamalarda doku ve hücrelerin görüntülenmesi, hedef moleküllerin algılanması, ilaç iletimi gibi nanopartiküllerin önemli bir potansiyeli yeşil biyosentezin kullanılması ve işlevselleştirilmesiyle gelişmiştir. Örneğin, demir oksit nanopartiküller MRG'de kontrast klinik madde olarak uygulanmıştır (Amjad *et al.* 2015).

Manyetik demir oksit nanopartiküller, geniş yüzey alanı ve manyetik alanla basit ayrıştırma gibi benzersiz özellikleri nedeniyle çeşitli alanlarda kullanılmıştır. Gıda ile ilgili uygulamalarda enzim immobilizasyonu, protein saflaştırması ve gıda analizleri için uygulanmıştır. Gıda mühendisliğine vazgeçilmez katkıları olan demir oksit nanopartiküllerin enzim immobilizasyonu, protein saflaştırması ve gıda analizlerinde manyetik temel prensipleri ve başarıları gün geçtikçe daha fazla artmaktadır (Cao *et al.* 2012).

Manyetik nanopartiküllerin sürdürülebilir çevre uygulamaları kapsamında kamu sorunlarına yol açan kirli suları iyileştirmede kullanımı giderek artmaktadır. Bu amaçla, sıfır-valent demir (nZVI), manyetit ( $Fe_3O_4$ ) ve maghemit ( $\gamma-Fe_2O_3$ ) nanopartiküllerinin çalışmalarını vurgulayarak kirleticilerle nasıl reaksiyona girdiğinin anlaşılması ve

uygulamalar sırasında çevreyle etkileşime girmesi sağlanmıştır. Manyetik nanotanecekler tarafından kirletici uzaklaştırma mekanizmaları, kirletici desorpsiyon yeteneğini etkileyen faktörlerle birlikte sunulmuştur. Manyetik parçacık koleksiyonunun zorluklarını açıklayan manyetik nanopartiküllerin geri kazanımını etkileyen faktörler özetlenmiştir. Manyetik nanopartiküllerin agregasyonu tarif edilmiş ve stabiliteyi arttırmaya yönelik yöntemler özetlenmiştir. Ayrıca manyetik nanopartiküllerin kullanımının toksikolojik etkileri tartışılmıştır. Bu tartışılan faktörlerin detaylı bir şekilde ele alınmasından sonra manyetik nanopartiküllerin sürdürülebilir bir şekilde uygulanması mümkün kılınmıştır (Tang *et al.* 2013).

Gungor *et al.* (2015) yayınladıkları makalede atık sularda yüksek konsantrasyonlarda çevre üzerine olumsuz etkisi olan organik kimyasal boya, yerli manyetik aktif karbon nanopartiküllerini veya apolakkaz bağlı manyetik aktif karbon nanopartikülleri ni kullanarak başarıyla uzaklaştırılmıştır. Bu çalışmada, endüstriyel atık sudan Basic Red 9 (BR9)'un uzaklaştırılması için, aktif karbon üzerine immobilize edilmiş ve apolakkaz kullanılarak modifiye edilmiş nano magnetit ( $\text{FeO} \cdot \text{Fe}_2\text{O}_3$ ) kullanılmıştır. Nano manyetit ( $\text{FeO} \cdot \text{Fe}_2\text{O}_3$ ) aktif karbon üzerine immobilize edilmiş ve apolakasa ile modifiye edilmiştir. Böylece, Fenton ve Fenton'a benzeri diğer prosedürler kullanıldı. Aktif karbonun yüzey değişimi SEM, FTIR, XRD ve EDX kullanılarak gösterilmiştir. Ayrıca, bu deneyler, adsorbe maddenin, yeniden işletilebilir, ucuz, çevre dostu, hazırlanması kolay, güvenli (nano magnetit,  $\text{H}_2\text{O}_2$  ve aktif karbon) ve enzimsiz, apolakkazla da hazırlanan suda çözünmeyen materyallerdir.

Manyetik nanopartiküllerin birçok benzersiz özelliğinden ötürü çevresel ve biyomedikal uygulamalarda kullanıldığı bir başka çalışmada; sıfır-değerli demir, manyetit ( $\text{Fe}_3\text{O}_4$ ) ve maghemit ( $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$ ) nanopartiküllerin kullanımına odaklanılarak, kirletici maddelerin uzaklaştırılması, iyileştirilmesi ve su arıtımı gibi çevresel sorunlar için MNP'lerin kullanımı araştırılmıştır. Biyo-bozunabilirlik gibi birçok arzulanan özelliğinden dolayı son zamanlarda araştırma odağı kazanmış olan süperparamanyetik demir oksit nanopartiküllerin (SPIONs) uygulanmasına özel dikkat gösterilerek biyomedikal ve klinik alanlardaki MNP'lerin kullanımı üzerine odaklanılmıştır. MNP'lerin özellikleri,



sentez kolaylığı ve bunların hem hücrenel hem de moleküler düzeyde çalışma kabiliyetleri, ilaç verme, hipertermi tedavisi, radyo-terapötikler, gen dağıtımı ve biyoterapötikler dahil olmak üzere *in vitro* ve *in vivo* uygulamalarına izin vermiştir. Boyut, şekil, yüzey ve manyetik özellikler gibi fizyokimyasal özellikler ile MNP'lerin aglomerasyonu ve kararlılıklarını artırma yöntemleri tartışılmıştır (Mohammed *et al.* 2017).

Manyetik nanopartiküllerin sentezi ve işlenmesi konulu bir çalışmada; inorganik nanomalzemeler ve eşsiz fiziksel özellikleri, potansiyel teknolojik önemi nedeniyle modern malzeme biliminde büyük önem taşıdığı vurgulanmıştır. Mevcut yapılar arasında manyetik demir oksit nanoparçacıkları (MNP'ler), manyetit ( $Fe_3O_4$ ) ve maghemit ( $\gamma-Fe_2O_3$ ) dahil olmak üzere 'süperparamanyetizma' olarak adlandırılan olağanüstü manyetik özellikler sergilerler ve bu nano yapıları çok çeşitli uygulamalar için uygun hale getirmiştir. Fiziko-kimyasal özellikleri büyük uygulamalarda önemli rol oynadığı için, bu inceleme senteze odaklanmıştır (Stanicki *et al.* 2015).

Çevre dostu yeşil nanoteknolojilerin materyal sentezinde geliştirilmesi, biyolojik uygulamalarını yaygınlaştırmak için büyük önem taşımaktadır. Günümüzde, iyi tanımlanmış kimyasal bileşime, büyüklüğe ve morfolojiye sahip çeşitli nanopartiküller farklı yeşil sentez yöntemlerle sentezlenmiş ve birçok teknolojik boyutta uygulama alanları araştırılmıştır. Yapılmış bu derlemede, canlı organizmalar tarafından metal nanopartiküllerin biyosentezine özel önem veren sınıflandırmalarını vurgulamıştır. Ayrıca biyosentezlenmiş nanopartiküller, tıbbi biyoloji, kataliz, hedefe yönelik ilaç verme, kanser tedavisi, antibakteriyel ajan ve biyosensörler gibi geniş bir uygulama alanında kullanılmıştır (Nath *et al.* 2013).

Yapılan bir diğer çalışmada; son gelişmeler üzerinde durularak yeşil sentezle elde edilen sıfır değerli metallere, metal oksitler ve tuzlardan oluşan nanoparçacıklar incelenmiştir. Doğada bulunan ürünler ya da çeşitli bitkilerin veya bitki kısımlarının özleri, çay, kahve, muz, basit amino asitler, şarap, sofr şeker ve glukoz gibi doğal ürünlerden elde edilen ekstraktlar sentez sırasında indirgeyiciler olarak kullanılmıştır. Bitki materyalinde bulunan

polifenoller genellikle bu süreçlerde önemli bir rol oynamıştır. İlgili teknikler basit, çevre dostu ve genellikle tek basamalı süreçler olarak bildirilmiştir. Yüksek polifenol içerikli çay özleri, nanopartiküller için şelatlama/indirgeme ajanları olarak görev yapmıştır. Bu alanda kullanılan önemli malzemelerden, gümüş, altın, demir, metal alaşımlar, oksitler ve tuzları gibi nanopartiküller sentezlenmiştir (Kharissova *et al.* 2013).

Bir başka araştırmada ise, sütleğen (*Euphorbia amygdaloides*) bitkisinden kısmen saflaştırılmış peroksidaz enzimi kullanılarak gümüş nanoparçacıkların yeşil sentezi basit yöntemle yapılmıştır. Peroksidaz enzimi kullanılarak gümüş nanopartiküllerin elde edilmesi için optimum pH, sıcaklık ve zaman periyodu belirlenmiştir. Sonuçlar, gümüş nanoparçacıkların 4 saat boyunca, 20°C'de ve pH 8'de sentezlendiğini göstermiştir. Ayrıca, metal iyonlarının optimum konsantrasyonu 0,5 mM olarak bulunmuştur. Sentezlenen gümüş nanoparçacıklar UV spektrumu, taramalı elektron mikroskopu (SEM) ve X ışını kırınımı ile karakterize edilmiştir. *Serratia marcescens*, *Yersinia pseudotuberculosis*, *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Streptococcus pyogenes*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhimurium*, *Listeria monocytogenes* ve *Escherichia coli* gibi bazı mikroorganizmalara karşı gümüş nanopartiküllerin antibakteriyel aktivitesi ölçülmüştür. Sentezlenmiş gümüş nanoparçacıklar, düşük konsantrasyonda geniş spektrumlu antibakteriyel aktivite gösterdiği rapor edilmiştir. Gelecekte tıp ve farmasötik alanlarında iyi bir alternatif ve terapötik yaklaşım olabileceği sonucuna varılmıştır (Cicek *et al.* 2015).

Demir oksit nanopartiküllerin yeşil sentezi çalışmasında; yeni manyetik hibrid materyaller, demir oksit nanopartiküllerinin bir kitosan matriksine kapsüllenmesiyle üretilmiştir. Metalik nanopartiküller elde etmek için yeşil sentez yöntemi, indirgeyici madde olarak okaliptüs ekstresi kullanılarak gerçekleştirilmiştir. İyi biçimlendirilmiş demir oksit nanopartiküller başarıyla sentezlenmiştir. Kesin koşullar altında, sentezlenmiş demir oksit nanopartiküllerin kitosan taneciklerinin kapsüllenmesi, manyetik hibrit organik/inorganik materyallerin oluşumuna yol açmıştır. Bu malzemelerin XRD kromatogramı, manyetik özellik gösteren malzemeler içinde maghemite benzer yapıya uyan zirveleri göstermiştir. Yeni melez malzemeler, iyi

özellikler ve sorpsiyon kapasitesi göstererek arsenik giderme çalışmasında (pH bağımlılığı, kinetik ve denge deneyleri ile) sorbent olarak kullanılabileceğini kanıtlamıştır. Yeni malzemenin geniş ölçekli sorpsiyon kapasitesi, hibrit manyetik malzemenin boncukları ile doldurulmuş bir kolon kullanılarak sürekli akış çalışmasında da başarılı bir şekilde yapılarak yeni bir reaktör geliştirilebileceği savunulmuştur (Cabanas *et al.* 2016).

Ce<sub>2</sub>O<sub>3</sub> nanopartiküllerinin yeşil sentezi ve antioksidan aktivitesinin belirlenmesi çalışmasında; biyo-indirgeme yöntemiyle seryum nanopartiküllerinin (NP) sentezi ve anti oksidatif etkinliği araştırılmıştır. İndirgeyici ve stabilize edici ajanlar olarak, sütleğenin (*Euphorbia amygdaloides*) su ekstraktı kullanılmıştır. Sütleğen su ekstraktı (*E. amygdaloides*) indirgeyici ve stabilize edici madde olarak kullanılmıştır. Ultraviyole görünür (UV-VIS) spektroskopisi, seryum oksit NP'lerinin kantitatif oluşumunu izlemek için kullanılmıştır. Elde edilen seryum dioksitlerinin özelliklerini taramalı elektron mikroskobu (SEM), X-ışını kırınımı (XRD) ve Taramalı elektron mikroskopu (TEM) kullanarak belirlenmiştir. Sentezlenen seryum (III) oksit (Ce<sub>2</sub>O<sub>3</sub>) NP'ler başlangıçta açık sarı seryumdan (III) renksiz soluk sarı seryuma (IV) görsel renk değişikliği ile kaydedilmiş ve UV-VIS spektroskopisini kullanarak bandı 345 nm'de doğrulamıştır. Hazırlanan NP'lerin ortalama çapı yaklaşık 8,6-10,5 nm olarak ölçülmüştür. Buna ek olarak, sentezlenen Ce<sub>2</sub>O<sub>3</sub> NP'leri, ferrik indirgeyici antioksidan gücü, kuprik indirgeyici antioksidan kapasitesi, demir iyonları kenetleme aktivitesi, antioksidan ve antioksidan aktiviteleri, süperoksit anyon radikal süpürme ve 2-2'-azinobis 3-etilbenzotiyazol-6-sülfonik asit temizleme aktivitesi göstermiştir. Sütleğen (*E. amygdaloides*) ekstraktının ticari olarak kullanılabilir, antioksidan ve anti-bakteriyel Ce<sub>2</sub>O<sub>3</sub> nanopartiküllerin üretiminde yararlanılabileceği sonucuna varılmıştır (Nadaroglu *et al.* 2016).

(Nadaroglu *et al.* (2017) yayınladıkları başka bir makalede; bıldırcın yumurta sarısı kullanarak platin nanopartiküllerin yeşil sentezi ve karakterizasyonu gerçekleştirilmiştir. Yeşil sentez reaksiyonu için yüksek vitamin ve protein içerikli bıldırcın yumurta sarısı hazırlanmış ve reaksiyon ortamında platin nanopartiküllerin sentezi için kullanılmıştır. Bıldırcın yumurta sarısı kullanılarak yapılan reaksiyon şartlarını optimize etmek için, pH,

sıcaklık, zaman ve konsantrasyon gibi parametreler optimize edilmiştir. Sonuçlar, en yüksek platin nanopartiküllerinin 20°C'de ve pH 6.0'da 4 saatte sentezlendiğini göstermiştir. Ayrıca, metal iyonlarının optimal konsantrasyonu 0,5 mM olarak belirlenmiştir. Sentezlenen platin nanoparçacıklar UV spektrumu, X ışını kırınımı ve taramalı elektron mikroskopu kullanılarak karakterize edilmiştir.

Karaduman *et al.* (2017) yaptıkları çalışmada; metan gaz sensörü olarak kullanılmak üzere  $\gamma$ -Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> nanopartiküllerini yeşil sentez metoduyla elde etmişlerdir. *Ficus carica* ve sütlegün (*Euphorbia amigdaloides*) bitkilerinin yaprak ekstrelerinden elde edilen peroksidaz enzimi  $\gamma$ -Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> nanopartiküllerinin (NP) sentezi için kullanılmıştır.  $\gamma$ -Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> NP'lerinin yapısal, morfolojik ve metan gazı algılama özellikleri araştırılmıştır. İncir bitki peroksidaz enziminden elde edilen  $\gamma$ -Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> NP'ler, 150°C de 150 ppm'de 1 ppm metan gazı için %15 yanıt veren, *Euphorbia* bitki peroksidaz enziminden elde edilen  $\gamma$ -Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> NP'lere göre daha yüksek bir yanıt, seçicilik ve kısa yanıt/iyileşme zamanı göstermiştir. Empedans spektroskopisi analizi, tane sınırları nedeniyle oluşan direncin, gaz algılama özelliklerine önemli ölçüde katkıda bulunduğunu göstermiştir. Sonuçlardan, incir bitkisinden saflaştırılan peroksidaz enzimlerinden üretilen  $\gamma$ -Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> NP'lerin endüstriyel uygulamalar için büyük potansiyele sahip olduğu görülmüştür.

Yeşil sentez ile elde edilmiş Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> nanopartiküllerin geliştirilmiş manyetizasyon ve yaşam döngüsü değerlendirilmiştir. Manyetik nanopartiküller glutatyonun indirgeyici ve stabilizatör olarak kullanıldığı yeni bir çevre dostu yöntemle sentezlenmiştir. Bu malzemenin üretiminin neden olduğu çevresel etkiyi değerlendirmek için sentez sürecinde yaşam döngüsünün dikkatli bir çalışması yapılmıştır. Sonuçlardan, çevresel etkinin, geleneksel yollardan, özellikle de karşılaştırıldığı birlikte-çökeltme yönteminden daha az önemli olduğu sonucuna varmak mümkündür. 85.4 emu / g'lık bir doygunluk manyetizasyonuna sahip olan nanoparçacıklar elde edilmiş; bu, birlikte çökeltme yöntemiyle elde edilen maksimum değere benzediği belirtilmiştir. Bu yöntemin ana avantajlarından biri, serbest ve reaktif -SH gruplarının kaplanması ile manyetik nanoparçacıkların oluşmasıdır, bu da çevresel iyileştirme görevlerinde, özellikle cıva gibi ağır metallerin adsorbe edilmesinde kullanımı için ilginç olanaklar sunmaktadır. Sonuç

olarak çevresel etkinin, geleneksel yollardan, özellikle de karşılaştırıldığı birlikte-çökeltme yönteminden çok daha önemli olduğu sonucuna varmak mümkün olmuştur (Bolivar *et al.* 2018).

*Moringa oleifera* ekstraktları kullanılarak yeşil sentezle demir nanopartiküllerin elde edildiği bir çalışmada; nanopartiküllerin bitki ekstreleri kullanılarak üretilmesinin, geleneksel yöntemlere alternatif olarak, ekonomik, toksik olmayan, biyo-uyumlu ve çevre dostu olmasının önemi vurgulanmıştır. Ayrıca, sentezlenmiş nanopartiküllerin yeşil sentez uygulaması kullanılarak yüzey ve yeraltı suyundan nitrat iyonunun ( $\text{NO}_3^-$ ) uzaklaştırılması için de araştırılmıştır. Yığın adsorpsiyonu sonuçları *M. oleifera* ekstreleri ile karşılaştırıldığında, sırasıyla %85 MOS-Fe NP ve %26 ve MOL-Fe NP'lerin farklı oranlarda nitratı uzaklaştırdığını göstermiştir. Ayrıca, antibakteriyel aktivite, *Escherichia coli* 'ye karşı maksimum inhibisyon bölgesinin MOS-FeNP'ler için (6 mm) olarak bildirilirken, MOL-FeNP'lerin içinse (5 mm) olarak bildirilmiştir. *M. oleifera* ekstraktlarından elde edilen Fe NP'ler kullanılarak alternatif bir yöntemle başarılı bir şekilde yüzey ve yeraltı suyundan nitrat giderilmiştir (Seru *et al.* 2018).

Biyosensörlerin tarihi 1962 yılında Cincinnati'deki Çocuk Hastanesinde Clark ve Lyons tarafından glukoz enzim elektrodu fikrinin önerilmesine dayanmaktadır. İlk glukoz enzim elektrotları konseptiyle diyabet kontrolü için güvenilir cihazların geliştirilmesine yönelik muazzam bir etkinliğe başlanmıştır. Clark ve Lyons Glukoz oksidaz (GOD) enzimini oksijen elektrodu ile kombine ederek kanın glukoz düzeyini ölçmeyi başarmışlardır (Türemiş 2010). Bu yeni cihaz, bir oksijen elektrodu (yarı geçirgen diyaliz membranı üzerinden) üzerinde sıkışmış ince bir GOx tabakasına ve enzim katalizli reaksiyonla tüketilen oksijenin izlenmesine dayanmaktadır. Glukoz enzim elektrotlarının işletilmesinde çeşitli yaklaşımlar araştırılmıştır. Bu tür cihazlar diyabet kontrolüne ek olarak, gıda analizinden biyoproses izlemeye kadar diğer önemli uygulamalar için büyük bir vaat sunmuştur. Bununla birlikte, glukoz biyosensörlerinde etkileyici ilerlemelere rağmen, klinik olarak doğru şekilde glukozun izlenmesine dair birçok zorluk bulunmuştur (Wang *et al.* 2000).

Enzimlerin nanopartikülleri ve nanomalzemeleri nasıl karşıladığı hakkında genel bir bakış açısı sunan bir çalışmada; enzimler, biyolojik düzenleme ve metabolizmadan sorumlu temel biyolojik katalizörler olarak tanımlanmıştır. 2014'den bu yana enzimler, nanopartikül/nanomateriyalleri modifiye etmek, bozmak veya yapmak için kullanılırken, çok sayıda nanopartiküller/nanomateriyaller enzimatik immobilizasyon ve biyosensörler için materyaller ve enzim taklitleri olarak kullanılmıştır. Çeşitli nanopartiküller ve nanomalzemeler arasında metal nanopartiküller ve karbon nanomalzemeler, büyüleyici özellikleri nedeniyle yoğun ilgi görmüştür (Chen *et al.* 2017).

Nanomalzemeler, elektroanalitik biyosensörlerin hazırlanmasında yaygın olarak kullanılmıştır. Küçük boyut etkisi, kuantum boyutu etkisi, yüzey ve arayüz etkisi nedeniyle nanomateriyaller stabilite, tekrarlanabilirlik ve hassasiyet gibi biyosensörlerin önemli performans indekslerini önemli ölçüde geliştirebilmiştir. Ayrıca, her türlü nanomalzemenin büyüklüğü, farklı kompozisyon ve morfolojisi nedeniyle, biyosensörlerin yapım sürecinde farklı roller oynamışlardır (Zhang *et al.* 2016).

Glukoz oksidaz bazlı bir glukoz biyosensörü çalışmasında, altın (Au)'la elektrokimyasal olarak ko-polimerize edilen bir polikompozit film ve carbon nanotüp ile glukoz oksidazın (GOD) immobilizasyonuna dayanan bir amperometrik glukoz biyosensörü geliştirilmiştir.

Hacim başına yüksek yüzey oranı ve karbon nano tüplerinin mükemmel elektriksel iletkenliği nedeniyle, bir Au/POAP/CNT/GOD elektroduna dayalı biyosensör düşük saptama sınırına (0,01 mM), daha büyük maksimum tepki akımına (0,24 mA cm<sup>-2</sup>) ve daha yüksek bir Au/POAP/GOD elektrotuna dayalı biyosensörün değerlerinden daha duyarlı olarak geliştirilmiştir (11.4 mA M<sup>-1</sup> cm<sup>-2</sup>). Ek olarak, biyosensör hızlı tepki süresi, büyük tepki akımına sahipken askorbik asit, ürik asit ve asetaminofen için iyi anti-girişim yeteneği göstermiştir. Ayrıca iyi tekrarlanabilirlik ve biyosensör stabilitesi de gözlenmiştir (Pan *et al.* 2005).

Wei *et al.* (2008) tarafından yayınlanan makaleye göre; Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> manyetik nanoparçacıkların (MNP) doğal peroksidazlarda bulunana benzer bir intrinsik mimetik aktivitesi göstermektedir. Peroksidazları taklit eden Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> manyetik nanopartiküllerin uygulamaları ve H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ve glikoz tespiti üzerine çalışma yapılmıştır. Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> MNPS peroksidaz enzimini taklit ederek yeni özelliklerinin kullanımı ile H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ve glukoz tespiti gerçekleştirilmiştir. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> kolorimetrik tespitini sağlayan Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> MNPS bir çökelme yöntemi yolu ile hazırlanmıştır. Daha sonra hazırlanan Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> MNP'ler, bir peroksidaz substrat 2,2'-azino-bis (3-etilbenzo-tiyazolin-6-sülfonik asit) diamonyum tuzunun (ABTS) H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ile oksitlenmiş renkli ürüne oksidasyonunu katalizlemek için kullanılmıştır. Bu yöntemde düşük miktarlardaki 3×10<sup>-6</sup>- 5×10<sup>-6</sup> mol/L H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> doğrusal olarak tespit edilebilmiştir. Daha da önemlisi, glikoz tespiti için duyarlı ve seçici bir yöntem, glikoz oksidaz (GOx) ve hazırlanan Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> MNP'leri kullanılarak geliştirilmiştir. Bu çalışmada geliştirilen H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ve glikoz için tespit platformları, Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> MNP'lerin biyomimetrik peroksidaz benzeri aktiviteye sahip olduklarını doğrulamakla kalmayıp aynı zamanda gelecekteki basit, sağlam ve kolay yapılması gereken analitik yaklaşımların çeşitliliğinde de büyük potansiyel uygulamalar göstermiştir.

Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> nanopartiküller ve kitosan/nafion kompozitten üretilmiş film bazlı pratik bir glikoz biyosensörü çalışmasında; Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> nanopartiküllerin (Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NP'ler) biyomimetrik peroksidaz benzeri aktivitesinin ve nafion filmin anti-parazit yeteneğinin birleştirilmesiyle pratik bir glikoz biyosensörü geliştirilmiştir. Glikoz oksidaz (GOD), Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NP'leri ile basitçe karıştırılmış ve glutaraldehit ile kitosan (Cs) ortamında platin (Pt) elektrodu üzerinde çapraz bağlanmış ve daha sonra ince bir nafion film ile kaplanmıştır. Biyosensör, yüksek duyarlılık (11.54 µA cm<sup>-2</sup> mM<sup>-1</sup>), düşük tespit sınırı (6×10<sup>-6</sup> M) ve iyi depolama kararlılığı göstermiştir. Geniş bir konsantrasyon aralığında 6×10<sup>-6</sup> ile 2.2×10<sup>-3</sup> M arasında doğrusal kalibrasyon çizimi elde edilmiştir. Modifiye edilmiş elektrot, glikozun saptanması sırasında girişimi fiilen ortadan kaldıracaktır. Ayrıca, serum örneğindeki glikozu tespit etmek için biyosensör başarıyla uygulanmıştır. Glikoz biyosensörünün bu şekilde üretilmesi, pratik uygulamada koşulların optimize edilmesi ve uygulana prosedüründeki kolaylık nedeniyle büyük ilgi çekmiştir (Yang *et al.* 2009).

Gao *et al.* (2011) yayınladıkları çalışmada; hidrojen peroksit ve glikoz tayini için katalizör olarak Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> manyetik nanopartiküllerin kullanıldığı fluorometrik yöntem araştırmıştır. Hidrojen peroksit ve glukoz tayini için Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> manyetik nanoparçacıkların (MNP) içgüdüsel peroksidaz benzeri özelliği kullanılarak yeni bir fluorometrik yöntem oluşturulmuştur. Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> MNP'lerin peroksidaz mimetik katalizörü olarak H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> mevcudiyetinde, CdTe QD'lerin floresanını daha etkili ve hızlı bir şekilde söndürmek için radikal olarak ayrıştırılmıştır. Daha sonra glukoz oksidaz tarafından glikozun oksitlenmesi, glikozu tespit etmek için kullanılabilen Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> MNP katalizörü ile H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> üreticisi tarafından CdTe QD'lerin floresan söndürülmesiyle birleştirilmektedir. Optimum reaksiyon koşulları altında, floresans yoğunluğu oranı I<sub>0</sub> /I ve 1.8×10<sup>-8</sup> mol/L saptama sınırı ile 1.8 × 10<sup>-7</sup> ila 9 × 10<sup>-4</sup> mol/L arasındaki H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> konsantrasyonu arasında doğrusal bir korelasyon kurulmuştur. Ve floresan yoğunluğu oranı I<sub>0</sub>/I ve 1.6x10<sup>-6</sup>'dan 1.6x10<sup>-4</sup> mol /L'ye kadar glikoz konsantrasyonu arasında 1.0×10<sup>-6</sup> mol/ L saptama sınırı ile lineer bir korelasyon belirlenmiştir. Önerilen yöntem, insan serum örneklerinde glikozun belirlenmesinde uygulanmış ve tatmin edici sonuçlar alınmıştır (Gao 2011).

Bir başka çalışmada; glikoz oksidaz nanokompozit ve peroksidaz benzeri protein-Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> esaslı, verimli kolorimetrik glukoz biyosensörü araştırılmıştır. Çıplak MNP'ler ile karşılaştırıldığında, peroksidaz-benzeri kazein-MNP'ler iyi katalitik özellikler, stabilite ve dispersiyon sergilemiştir. MNP'lere dahil edilen kazein, özellikle belirlenen kinetik parametrelerde varyasyon ile ispatlanan H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ve TMB'ye karşı afiniteyi geliştirmiştir. 0,2 µM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> kadar düşük bir değer 0,5 µM ila 200 µM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> arasında lineer bir aralık ile tespit edilebilmiştir. Daha da önemlisi, kazein/MNP nanokompoziti, GOx'i hareketsiz hale getirmek ve tek adımda glukozun belirlenmesi için bir glikoz biyosensörü oluşturmak için kullanılmıştır. Bu yöntem basit, ucuz, son derece hassas ve glikoz tespiti için seçici olup, 3 µM ila 1000 µM arasında lineer bir aralıkta 1.0 µM saptama sınırına sahip olduğu görülmüştür (Liu 2014).

Glikoz biyosensörü uygulamaları için demir oksit nanopartiküller (IONP'ler) ve nafion ile modifiye edilmiş indiyum kalay oksit (ITO) cam elektrodunun modifiye edilmesi rapor edilmiştir. IONP'ler, çökeltme yöntemi kullanılarak sentezlenmiş ve glikoz oksidaz



(GOx) enzim immobilizasyonu için hidrofilik yüzey ve fonksiyonel grup sağlamak üzere sitrik asit (CA) ile fonksiyonel hale getirilmiştir. CA-IONP'lerin yapısal ve morfolojik çalışmaları X-ışını kırınımı (XRD) ve transmisyon elektron mikroskobu (TEM) kullanılarak karakterize edilmiştir. TEM görüntüsünden ölçülen IONP'lerin büyüklüğü ~17 nm dir. Nafion/GOx/CA-IONPs/ITO olarak adlandırılan biyoelektrot, ITO camında CA-IONPs, GOx ve nafionun damlatılmasıyla geliştirilmiştir. Nafion/GOx/CA-IONPs/ITO biyoelektrot, glikoz tespiti için iyi elektrokimyasal performans göstermiştir. Fonksiyonelleştirilmiş CA-IONP'ler katalizör görevi görmüş ve GOx ile ITO elektrotu arasındaki elektron transfer oranını iyileştirmeye yardımcı olmuştur. Ek olarak, enterferansı önlemek ve kimyasal stabiliteyi geliştirmek için ince nafion film elektrot üzerine kaplanmıştır. Nafion/GOx/CA-IONPs/ ITO biyoelektrot, 1.0-8.0 mM glukoz konsantrasyonlarının lineer aralığı için  $70,1 \mu\text{M mM}^{-1}\text{cm}^{-2}$ 'nin yüksek duyarlılığını göstermiştir (Nor *et al.* 2016).

Bir başka çalışmada; glikozun hassas tespiti için  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  nanopartiküller-polivinil alkol kompozit bazlı yeni bir elektrokimyasal biyosensör yapılmıştır. Demir oksit nanopartikülleri ( $\text{Fe}_3\text{O}_4$ ) birlikte çökeltme yöntemi ile sentezlenmiştir. Polivinil alkol- $\text{Fe}_3\text{O}_4$  nanokompoziti, polivinil alkol (PVA) çözeltisinde sentezlenmiş nanopartiküllerin dağıtılmasıyla hazırlanmıştır. Glukoz oksidaz (GOx), fiziksel adsorpsiyon yoluyla PVA- $\text{Fe}_3\text{O}_4$  nanokompozit üzerinde immobilize edilmiştir. PVA,  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  nanopartikülleri ve GOx karışımı bir kalay (Sn) elektrot yüzeyinde (GOx/PVA-  $\text{Fe}_3\text{O}_4$ /Sn) dökülmüştür.  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  nanopartikülleri X-ışını difraksiyonu (XRD) ile karakterize edilmiştir. Ayrıca, PVA- $\text{Fe}_3\text{O}_4$  ve GOx/PVA- $\text{Fe}_3\text{O}_4$  nanokompozitlerini değerlendirmek için Fourier transform infrared (FTIR) spektroskopisi ve alan emisyon taramalı elektron mikroskobu (FE-SEM) teknikleri kullanılmaktadır. Modifiye biyosensörün elektrokimyasal performansı elektrokimyasal empedans spektroskopisi (EIS) ve siklik voltametri (CV) kullanılarak araştırılmıştır. PVA matriksindeki  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  nanopartiküllerin varlığı, enzim ve elektrot yüzeyi arasındaki elektron transferini arttırmış ve immobilize edilen GOx, glikoza karşı mükemmel katalitik özellikler göstermiştir. GOx/PVA- $\text{Fe}_3\text{O}_4$ /Sn biyoelektrot, glukozu  $5 \times 10^{-3}$  ila 30 mM aralığın da  $9.36 \mu\text{A mM}^{-1}$  hassasiyetle ölçebileceği ve sinyal-gürültü oranında  $8 \mu\text{M}$ 'lik bir daha düşük tespit limiti

sergileyebileceği anlaşılmıştır. Modifiye edilmiş biyosensör ayrıca glikoz tespiti, hızlı tepki (10 s), iyi tekrarlanabilirlik ve tatmin edici stabilite sırasında ayrıca iyi bir anti-girişim yeteneğine de sahiptir. Son olarak, GOx/PVA- Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>/Sn biyoelektrotun gösterdiği sonuçların biyosensör yapımında ümit verici olduğu görülmüştür (Sanaeifar *et al.* 2017).

Song *et al.* (2017) çalışmalarında hidrojen peroksit ve glikoz tespiti için manyetik hidrojellere dayanan Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> nanopartiküllerin peroksidaz mimetik aktivitesini araştırılmıştır. Uyaranlara yanıt veren manyetik hidrojeller, manyetik sürfaktanların (C<sub>n</sub>TAFB (C), n = 12, 14, 16) ve kiral amfifillerin, sodyum kolat (SC) karışımlarında hazırlanmıştır. C<sub>n</sub>TAFB(C)/SC'nin jelasyon davranışı ayrıntılı olarak incelenmiştir. Sonuçlar, sürfaktanların hidrofobikliğin ve anyonların hidrasyon yarıçapının (Rh) jelasyon proses işleminde hayati bir rol oynadığını kanıtlamıştır. Hidrojellerin mikro yapılarının üç boyutlu lifli agregat ağı olduğu belirlenmiştir. Hidrojel fibrillerin oluşumu, esas olarak, hidrofobik etkileşim, elektrostatik etkileşim, hidrojen bağlanması, van der Waals kuvveti ve SC molekülünün sterik etkisi dahil olmak üzere çoklu kovalent olmayan etkileşimlerin hassas bir dengesiyle gerçekleştirilmiştir. Reolojik ölçümler, hidrojellerin yüksek mekanik mukavemet malzemeleri olduğunu göstermektedir (2000 Pa'ı aşan akma gerilmesi). Hidrojellerin mekanik mukavemeti, iki bileşenin oranının, toplam konsantrasyonun ve yüzey aktif maddelerin zincir uzunluğunun değiştirilmesiyle düzenlenebilen lif yoğunluğuna bağlı olarak bulunmuştur. C<sub>12</sub>TAFB/SC karışımlarının manyetik hidrojelleri, 7.2 nm çapındaki kübik Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> nanopartiküllerini hazırlamak için öncüler olarak görev yapmıştır. Hazırlanan Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> nanopartikülleri mükemmel ferromanyetik karakteristik ve yüksek peroksidaz benzeri aktivite sergilemekte ve hidrojen peroksit (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) ve glikoz tespiti için biyosensör olarak kullanılabilmiştir. Glikoz tespiti için umut verici bir biyosensör adayı olarak kullanılabilen yeşil sentezle uygun bir şekilde hazırlanan Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> nanopartikülleri geliştirilmiştir.

Zhao *et al.* (2017) yayınladıkları çalışmada; canlı hücrelerden salınan H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'nin yerinde tespiti için biyomimetik enzim olarak 3D grafen destekli Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> kuantum noktalarına dayalı biyosensör için araştırma yapılmıştır. Canlı hücrelerden salınan hidrojen

peroksidin ( $H_2O_2$ ) gerçek zamanlı tespiti, biyolojik fenomenleri ve oksidatif stresle ilişkili hastalıkları incelemek için önemli hale gelmiştir. Ancak,  $H_2O_2$ 'nin canlı hücrelerde seçici tespiti ve doğru yerinde monitörü, düşük konsantrasyonu, geniş difzivitisi ve yüksek reaktivitesi nedeniyle hala büyük bir sorun olduğu grlmştir. Elektrokimyasal lm sonuçları,  $Fe_3O_4/3DG$  NC'lerin yüksek seçicilik ve duyarlılık ( $274.15 \text{ mA M}^{-1} \text{ cm}^{-2}$ ), düşük tespit limiti ( $\sim 78 \text{ nM}$ ), hızlı tepki (2.8 s) ve mükemmel tekrarlanabilirlik ile  $H_2O_2$ 'ye karşı mükemmel katalitik aktivite sergilediğini göstermiştir. Bu enzimsiz biyosensör, hücre sayılarını ve stimlasyon ilaç dozunu kontrol ederek canlı hücrelerden salınan  $H_2O_2$ 'yi yerinde tespit etmek için başarılı bir şekilde kullanılmıştır. Bu alışma, kanser hücrelerinin kritik patolojik sürecini anlamak için  $H_2O_2$ 'i *in vivo* olarak tespit etmenin bize önemli ölçüde faydalı olduğunu göstermiştir.

### 3. MATERYAL ve YÖNTEM

#### 3.1. Materyaller

##### 3.1.1. Kullanılan cihazlar ve aletler

Çizelge 3.1. Kullanılan cihazlar ve aletler

Cihazlar ve Aletler	Marka /Model
Santrifüj	Allegra X-30R +4c 1200 rpm
Otoklav	Lica
Buzdolabı	Bosch
Manyetik Karıştırıcı	Stuart
Saf Su Cihazı	GFL
Su Banyosu	P selecta
Spektrofotometre	Epoch nanodrop UV-VIS
Kurutma Fırını	DIGITHEAT
Çalkalayıcı	Heidolph Titramax 100
Hassas Terazi	Kern Abs
Blender	Waring-8011 EB
pH-metre	CRISON Basic 20
UV-VIS-NIR Spektrofotometre	Shimadzu UV-3600 Plus
Yüksek Devirli Santrifüj	Beckman coulter
Vorteks	IKA Vorteks 4 dijital
Evaporatör	IKA RV 10 basic
SEM (Taramalı Elektron Mikroskobu)	Zeiss Sigma 300
XRD (X Işını Kırınım Cihazı)	PANalytical Empyrean
FT-IR	Bruker VERTEX 70v

### 3.1.2. Kullanılan kimyasallar

Sodyum fosfat, 2,2'-azino-bis diamonyum tuzu (ABTS),  $\text{FeCl}_2$ ,  $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3$ , sodyum asetat ( $\text{NaCH}_3\text{COO}$ ),  $\text{GO}_x$  (Glukoz oksidaz), sodyum karbonat ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ), sodyum hidroksit ( $\text{NaOH}$ ), hidroklorik asit ( $\text{HCl}$ ), potasyum fosfat ( $\text{K}_3(\text{PO}_4)$ ), hidrojen peroksit ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ), etilendiamin tetra asetik asit (EDTA), sodyum karbonat ( $\text{Na}_2(\text{CO}_3)$ ), glukoz analiz kiti, sakkaroz, laktoz, fruktoz ve rafinoz kullanıldı. Maddelerin temini analitik saflıkta Sigma Aldrich ve Merck firmalarından yapılmıştır. Bütün deney boyunca saf su kullanılmıştır.

### 3.1.3. Kullanılan biyolojik materyal

Bu çalışmada  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  manyetik nanopartikülleri sütleğen (*Euphorbia amygdaloides*) bitkisinden yeşil sentez metodu ile sentezlenerek elde edilmiştir. Kullanılan *Euphorbia amygdaloides* bitkisi Erzurum ili Atatürk Üniversitesi kampüs alanından temin edilmiştir.



**Şekil 3.1.**  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  nanopartiküllerin elde edildiği sütleğen (*Euphorbia amygdaloides*) bitkisi

## 3.2. Yöntem

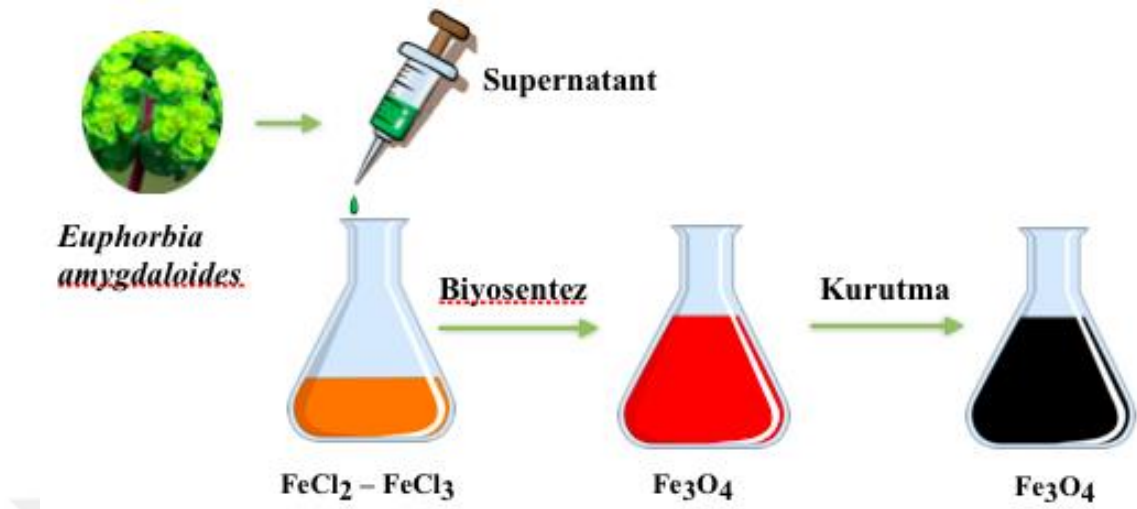
### 3.2.1. Manyetik nanopartiküllerin yeşil sentezi

#### 3.2.1.a. Bitki örneklerinin toplanması ve bitki ekstraktının hazırlanması

Bitki yaprakları üzerindeki toz ve toprakların temizlenmesinin ardından önce musluk suyu ile daha sonra saf su ile yıkanmıştır. Daha sonra bitkiler küçük parçalara ayrılmıştır. Küçük parçalar (50 g), 250 mL, 10 mM sodyum fosfat tamponu (pH: 6.5) kullanılarak parçalayıcıda homojen bir karışım oluşturmak üzere iyice parçalanmıştır. Ardından, 30 dakika boyunca 5000x g'de santrifüj edilmiştir. Böylece süpernatant, Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> manyetik nanopartikül sentezinde kullanılmak üzere hazır hale getirilmiştir (Demir *et al.* 2008).

#### 3.2.1.b. Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> nanopartiküllerinin sentezi

Sütleğen (*Euphorbia amygdaloides*) bitkisinden elde edilen süpernatantın 5 mL'si 100 mL, 1mM FeCl<sub>2</sub>-FeCl<sub>3</sub> çözeltileri üzerine eklenmiş ve manyetik karıştırıcıda karıştırıldıktan sonra 4 saat boyunca kapalı bir ortamda inkübe edilmiştir. Bu sürenin sonunda, reaksiyon karışımının rengi açık kahverengiden Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> nanopartiküllerinin oluşumunu gösteren koyu kırmızı-kahverengiye dönüştüğü gözlemlenmiştir. Bu işlem ardından evaporatör yardımıyla su uzaklaştırılmış, elde edilen Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> nanopartikülleri 24 saat boyunca 50°C'de kurutulmuştur (Gungor *et al.* 2011).



Şekil 3.2.  $Fe_3O_4$  nanopartiküllerinin sentezi

### 3.2.1.c. $Fe_3O_4$ nanopartiküllerinin karakterizasyonu

Yeşil sentez metoduyla elde edilen manyetik nanopartikülleri UV-VIS-NIR spektrofotometre (Shimadzu UV-3600 Plus) cihazı kullanılarak 290-500 nm dalga boyu arasında tarama yapılmıştır.  $Fe_3O_4$  manyetik nanopartiküllerinin topografik yapısının incelenmesi amacıyla SEM (Taramalı Elektron Mikroskobu) (Zeiss marka) ile görüntüleri alınmıştır. Ayrıca  $Fe_3O_4$  manyetik nanopartiküllerin boyutlarını tespit etmek amacıyla XRD (Panalytical Empyrean marka) cihazı ve FT-IR (Fourier Dönüşümlü Infrared) spektrofotometre cihazı kullanılarak analiz yapılmıştır (Gungor *et al.* 2011).

### 3.2.2. Çözeltilerin hazırlanması

#### 3.2.2.a. ABTS çözeltisinin hazırlanması

10 mL hacminde 60 mM'lık ABTS çözeltisi hazırlamak için 0,329 g ABTS tartılmış ve 5 mL saf su eklenerek oda sıcaklığındaki manyetik karıştırıcı ile homojen hale getirilmiştir. Son hacim saf su ile 10 mL'ye tamamlanmıştır.

**3.2.2.b. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> çözeltisinin hazırlanması**

100 mM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> çözeltisi hazırlamak için; 0,102 mL H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> alınmış ve 5 mL saf su eklenerek oda sıcaklığında manyetik karıştırıcı ile homojen hale getirilmiştir. Son hacim saf su ile 10 mL'ye tamamlanmıştır.

**3.2.2.c. Asetat tampon çözeltisinin hazırlanması**

300 mL hacminde 0,2 mM'lık asetat tampon çözeltisi hazırlamak için; 4,9218 g NaCH<sub>3</sub>COO hassas terazide tartılmış ve oda sıcaklığında 100 mL saf su eklendikten sonra manyetik karıştırıcıda karıştırılarak çözülmüştür. Son hacim, saf su ile 300 mL'e tamamlanmıştır.

**3.2.2.d. Fosfat tampon çözeltisinin hazırlanması**

100 mL hacminde 1 mM'lık (pH:7) fosfat tampon çözeltisi hazırlamak için; 0,098 gr H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> hassas terazide tartılmış ve oda sıcaklığında 80 mL saf su eklendikten sonra manyetik karıştırıcıda karıştırılarak çözülmüştür. 1 mM NaOH çözeltisi ile pH 7'ye ayarlandıktan sonra son hacim saf su ile 100 mL'ye tamamlanmıştır.

**3.2.2.e. Sodyum hidroksit çözeltisinin hazırlanması**

100 mL hacminde 0,1 M'lık sodyum hidroksit çözeltisini hazırlamak için katı sodyum hidroksitten 0,408 gr hassas terazide tartılmış 80 mL saf su ile çözüldükten sonra manyetik karıştırıcıda karıştırılarak çözülmüş olan çözeltinin son hacim 100 mL'ye saf su ile tamamlanmıştır.

**3.2.2.f. Hidroklorik asit çözeltisinin hazırlanması**

100 mL hacminde 1 M'lık hidroklorik asit çözeltisini hazırlamak için %70'lik HCl



çözeltisinden 4.3 mL alınıp belli bir miktar saf su üzerine damla damla eklenmiştir. Saf su ile toplam hacim 100 mL'ye tamamlanmıştır.

### **3.2.2.g. Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> MNP stok çözeltisinin hazırlanması**

10 mL hacminde 0,1 mM'lık Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> çözeltisini hazırlamak için; oda sıcaklığında 0,037 gr Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> hassas terazide tartılmış distile su ile 10 mL'ye tamamlanmıştır. Manyetik karıştırıcıda karıştırılarak çözülmüş olan Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> MNP stok çözeltisi hazırlanmıştır.

### **3.2.2.h. GO<sub>x</sub> çözeltisinin hazırlanması**

20 mg/mL hacminde GO<sub>x</sub> çözeltisi hazırlamak için 20 mg GO<sub>x</sub> tartılmış ve 1 mL saf su eklenerek oda sıcaklığında homojen hale gelene kadar manyetik karıştırıcı ile karıştırılmıştır. Kullanılan GO<sub>x</sub> enzimi Pakmaya firmasından alınmış ve içeriğinde peroksidaz enzimi olmamasına dikkat edilmiştir.

### **3.2.2.i. Glukoz standart çözeltisinin farklı konsantrasyonlarının hazırlanması**

Glukoz analiz kiti; glukoz analiz reaktifi (1 nolu şişe), glukoz analiz tamponu (2 nolu şişe) ve glukoz standardından (3 nolu şişe) oluşmaktadır. Glukoz analiz kitindeki glukoz standardı (Glukoz 0,5 g (MA=180,42 g/gmol)) kullanılarak 0,25 g/L, 0,50 g/L, 0,60 g/L, 0,75 g/L ve 1 g/L derişimlerdeki glukoz çözeltilerini hazırlamak için sırasıyla 0,0125 g, 0,025 g, 0,03 g, 0,0375 g ve 0,05 g tartılıp üzerine 10 mM olarak hazırlanan fosfat tampon tuzundan (PBS, pH 7.0) 50 mL ilave edilmiştir. Hazırlanan yedi farklı derişimdeki glukoz çözeltileri manyetik karıştırıcıda homojen hale getirildikten sonra analizlerde kullanılmak üzere +4 derece buzdolabında saklanmıştır.

### 3.2.3. Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> MNP'lerin peroksidaz benzeri aktivitesinin araştırılması

Yeşil sentez yöntemiyle hazırlanan Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> manyetik nanopartiküllerin peroksidaz benzeri aktivitesini araştırmak için H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> varlığında peroksidaz substrat ABTS'in katalitik oksidasyonu test edildi. Analiz için; 60 mM olarak hazırlanan ABTS çözeltisinden 24 µL, Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> MNP stok çözeltisi manyetik karıştırıcıda 3 dk. karıştırıldıktan sonra homojen Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>'ten 10 µL, 100 mM olarak hazırlanan H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> çözeltisinden 24 µL ve pH:4.0 da ayarlama yapılan 0,2 M olarak hazırlanan asetat tamponundan 185 µL ilave edilmiştir. Manyetik karıştırıcıda homojen hale getirilen reaksiyon çözeltisi 45°C'ye ayarlanmış su banyosunda inkübasyon için 10 dk. süre ile inkübe edildi. Su banyosundan çıkarılan tüpler santrifüjde 1 dk. boyunca santrifüj edilerek Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> manyetik nanopartiküllerin çözeltiden ayrılması sağlandı. Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> MNP'lerinin ayrıldığı reaksiyon çözeltisinden 100 µL alınarak üzerine 900 µL saf su eklenip karıştırıldı ve UV-VIS spektrofotometrede ölçüm yapıldı.

### 3.2.4. Nanobiyosensör için optimizasyon çalışmaları

Yeşil sentez yöntemiyle elde edilen Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> manyetik nanopartiküllerin peroksidaz benzeri aktivitesi yapılan deney sonunda kesinleştikten sonra glukoz biyosensörlerinin en iyi çalışma koşullarını belirlemek için optimum reaksiyon şartları incelenmiştir.

Analiz için; 60 mM olarak hazırlanan ABTS çözeltisinden 24 µL, Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> MNP stok çözeltisi manyetik karıştırıcıda 3 dk. karıştırıldıktan sonra homojen Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>'ten 10 µL, 100 mM olarak hazırlanan H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> çözeltisinden 24 µL ve pH:4.0 da ayarlama yapılan 0,2 M olarak hazırlanan asetat tamponundan 185 µL karıştırılarak çözelti hazırlanmıştır. Manyetik karıştırıcıda homojen hale getirilen reaksiyon çözeltisi 45°C'ye ayarlanmış su banyosunda inkübasyon için 10 dk. bekletilmiştir. Su banyosundan çıkarılan tüpler santrifüjde 1 dk. boyunca bekletilerek Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> manyetik nanopartiküllerin çözeltiden ayrılması sağlandı. Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> MNP'inin ayrıldığı reaksiyon çözeltisinden 100 µL alınarak üzerine 900 µL saf su eklenip karıştırıldı ve UV-VIS spektrofotometrede ölçüm yapılmıştır.

### 3.2.4.a. Optimum dalga boyu taraması

Optimum dalga boyunun belirlenmesi için 3 deney tüpü alınmış ve aşağıdaki gibi reaksiyon çözeltileri hazırlanmıştır. Her ölçüm standart sapmaların hesaplanması için 3 tekerrür halinde yapılmıştır.

**1. Tüp ( $\text{Fe}_3\text{O}_4$  ve  $\text{H}_2\text{O}_2$  var):** 60 mM olarak hazırlanan ABTS çözeltisinden 24  $\mu\text{L}$ , 10  $\mu\text{L}$  homojen  $\text{Fe}_3\text{O}_4$ , 100 mM olarak hazırlanan  $\text{H}_2\text{O}_2$  çözeltisinden 24  $\mu\text{L}$  ve pH:4.0'e ayarlanan 0,2 M olarak hazırlanan asetat tamponundan 185  $\mu\text{L}$  ilave edildikten sonra manyetik karıştırıcıda homojen hale getirilmiştir.

**2. Tüp ( $\text{Fe}_3\text{O}_4$  yok ve  $\text{H}_2\text{O}_2$  var):** 60 mM olarak hazırlanan ABTS çözeltisinden 24  $\mu\text{L}$ ,  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  yerine 10  $\mu\text{L}$  saf su, 100 mM olarak hazırlanan  $\text{H}_2\text{O}_2$  çözeltisinden 24  $\mu\text{L}$  ve pH: 4.0'e ayarlanan 0,2 M olarak hazırlanan asetat tamponundan 185  $\mu\text{L}$  ilave edildikten sonra manyetik karıştırıcıda homojen hale getirilmiştir.

**3. Tüp ( $\text{Fe}_3\text{O}_4$  var ve  $\text{H}_2\text{O}_2$  yok):** 60 mM olarak hazırlanan ABTS çözeltisinden 24  $\mu\text{L}$ , 10  $\mu\text{L}$  homojen  $\text{Fe}_3\text{O}_4$ ,  $\text{H}_2\text{O}_2$  çözeltisi yerine 24  $\mu\text{L}$  saf su ve ve pH: 4.0'e ayarlanan 0,2 M olarak hazırlanan asetat tamponundan 185  $\mu\text{L}$  ilave edildikten sonra manyetik karıştırıcıda homojen hale getirilmiştir.

Karıştırılan üç reaksiyon çözeltisi 45°C'ye ayarlanmış su banyosunda inkübasyon için 10 dk. bekletilmiştir. Su banyosundan çıkarılan 1 ve 3 nolu tüpler santrifüjde 1 dk. boyunca santrifüj edilerek  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  manyetik nanopartiküllerin çözeltilerden ayrılması sağlanmıştır.  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  MNP çözeltilerden ayrıldıktan sonra ölçüm için sırasıyla 3 deney tüpünden 100'er  $\mu\text{L}$  alınarak üzerine 900  $\mu\text{L}$  saf su eklenip karıştırılmıştır. Hazırlanan reaksiyon çözeltileri 190 -900 nm dalga boyları arasında UV-VIS spektrofotometrede absorbans ölçümü yapılmasıyla  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  MNP'lerinin aktivite gösterdiği en yüksek dalga boyu tespit edilmiştir. Kör numune olarak saf su kullanılmıştır. Reaksiyon süresince kontrole göre meydana gelen renk değişimi fotoğraf ile doğrulanmıştır. UV-VIS spektrofotometrede süreç içinde alınan numunelerden elde edilen absorbans-dalga boyu değerlerini gösteren

grafik çizilmiştir.

#### **3.2.4.b. Optimum pH değeri**

Enzimlerin aktivitesi pH'ya bağlı olarak değiştiği için çalışma ortamının pH değeri biyosensör aktivitesini etkileyen en önemli faktörlerdendir. Biyosensörün aktivitesine pH'nın etkisini araştırmak amacıyla pH 3-5'de (sodyum asetat çözeltisi), pH 6-8'de (sodyum fosfat çözeltisi) ve pH 9-11 (sodyum karbonat çözeltisi) arasındaki farklı pH'larda ölçüm yapılarak pH'nın etkisi araştırılmıştır. pH'yı ayarlamak için 0,1 N HCl ve 0,1 N NaOH çözeltileri kullanılmıştır. Kör numune olarak analizdeki Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> MNP'ler yerine saf su kullanılmıştır. Kullanılan Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> manyetik nanopartikülleri santrifüjle reaksiyon ortamından uzaklaştırıldıktan sonra her pH değerinde numunelerin değişimleri UV-görünür spektrofotometre ile 417 nm dalga absorbans ölçülmüştür. Reaksiyon süresince kontrole göre meydana gelen renk değişimi fotoğraf ile doğrulanmıştır. UV-VIS spektrofotometrede süreç içinde alınan numunelerden elde edilen absorbans-pH değerlerini gösteren grafik çizilmiştir.

#### **3.2.4.c. Optimum sıcaklık değeri**

Sıcaklık enzimatik reaksiyonların hızını etkilemede önemli rol oynamaktadır. Biyosensörün aktivitesine sıcaklığın etkisini araştırmak amacıyla deney tüpleri 20°C, 30°C, 40°C, 45°C, 50°C ve 60°C gibi farklı sıcaklıklarda inkübasyona bırakılarak inceleme yapılmıştır. Her sıcaklıkta numunelerin değişimleri UV-görünür bölge spektrofotometresi ile ölçülmüştür. Her sıcaklık değeri için kör hazırlanmış olup kör numune olarak analizdeki Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> MNP'i yerine saf su kullanılmıştır. Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> manyetik nanopartikülleri santrifüjle reaksiyon ortamından uzaklaştırıldıktan sonra UV-VIS spektrofotometre ile 417 nm dalga boyunda bütün numunelerin absorban değerleri ölçülmüştür. Reaksiyon süresince kontrole göre meydana gelen renk değişimi fotoğraf ile doğrulanmıştır. UV-VIS spektrofotometrede süreç içinde alınan numunelerden elde edilen absorbans-sıcaklık değerlerini gösteren grafik çizilmiştir.

#### 3.2.4.d. Metal iyon konsantrasyonu

$Fe_3O_4$  manyetik nanopartiküllerin etki gösterdiği en yüksek değeri bulmak amacıyla sütleğen bitkisinden yeşil sentezle elde edilen  $Fe_3O_4$  manyetik nanopartiküllerinden 0,1 gr tartılarak 10 mL saf suda çözülmüştür. 10 mM olarak hazırlanan  $Fe_3O_4$  metal iyon konsantrasyonu manyetik karıştırıcıda karıştırılıp homojen hale getirildikten sonra çözeltiden 1mM, 3mM, 5mM, 7mM ve 10 mM oranları hazırlanmıştır. Her metal konsantrasyon değeri için kör hazırlanmış olup kör numune olarak  $Fe_3O_4$  MNP yerine saf su kullanılmıştır.  $Fe_3O_4$  manyetik nanopartikülleri santrifüjle reaksiyon ortamından uzaklaştırıldıktan sonra UV-VIS spektrofotometre ile 417 nm dalga boyunda bütün numunelerin absorbans değişimleri ölçülmüştür. Reaksiyon süresince kontrole göre meydana gelen renk değişimi fotoğraf ile doğrulanmıştır. UV-VIS spektrofotometrede süreç içinde alınan numunelerden elde edilen absorbans-konsantrasyon değerlerini gösteren grafik çizilmiştir.

#### 3.2.4.e. Optimum $H_2O_2$ konsantrasyonu tayini

Optimum  $H_2O_2$  konsantrasyonunun belirlenmesi için 0,156 mM, 0,312 mM, 0,625 mM, 1,25 mM, 2,5 mM ve 5 mM çözeltileri kullanılarak  $H_2O_2$  konsantrasyonunun etkisi incelenmiştir. Her  $H_2O_2$  konsantrasyonu değeri için kör hazırlanmış olup kör numune olarak  $Fe_3O_4$  MNP yerine saf su kullanılmıştır. Analizi gerçekleştirmek için kontrol ve deney reaksiyonlarında kullanılmak üzere steril 14 deney tüpü alınmıştır. Her tüp için sırayla 60 mM olarak hazırlanan ABTS çözeltisinden 24  $\mu$ L,  $Fe_3O_4$  MNP stok çözeltisi manyetik karıştırıcıda 3 dk karıştırıldıktan sonra deney tüplerine homojen  $Fe_3O_4$ 'ten 10  $\mu$ L ve kontrol tüplerine ise 10  $\mu$ L saf su eklenmiştir. Her tüp için sırasıyla 0,156 mM, 0,312 mM, 0,625 mM, 1,25 mM, 2,5 mM ve 5 mM olarak hazırlanan  $H_2O_2$  çözeltilerinden 24  $\mu$ L ve pH:4.0'e ayarlanmış 0,2 M olarak hazırlanan asetat tamponundan 185  $\mu$ L ilave edildikten sonra manyetik karıştırıcıda homojen hale getirildi. Karıştırılan çözelti 45°C'ye ayarlanmış su banyosunda inkübasyon için 10 dk bekletildi. Su banyosundan çıkarılan tüpler santrifüjde 1 dk. boyunca santrifüj edildikten sonra  $Fe_3O_4$  manyetik nanopartiküllerin çözeltiden ayrılması sağlanmıştır.  $Fe_3O_4$  MNP'nin ayrıldığı reaksiyon

çözeltisinden 100 µL alınarak üzerine 900 µL saf su eklenip karıştırılmış ve UV-VIS spektrofotometrede ölçüm yapılmıştır. Reaksiyon süresince kontrole göre meydana gelen renk değişimi fotoğraf ile doğrulanmıştır. UV-VIS spektrofotometrede süreç içinde alınan numunelerden elde edilen absorbans-dalga boyu değerlerini gösteren grafik çizilmiştir.

### 3.2.5. Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> MNP esaslı glukoz nanobiyosensörü

Yeşil sentezle elde edilen Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> manyetik nanopartiküllerinin gösterdiği enzim benzeri aktivitelerinden yararlanılarak glukoz tespiti için spektrofotometrik esasa dayalı biyosensör geliştirilmiştir.

Analizi gerçekleştirmek için kontrol ve deney reaksiyonlarında kullanılmak üzere steril 2 deney tüpü alınmıştır. Her iki tüp için sırayla 20 mg/mL olarak hazırlanan GOx çözeltisinden 20 µL otomatik pipet yardımıyla eklendikten sonra glukoz analizi yapılacak numuneden 200 µL (10 mM pH 7.0 fosfat tampon tuzu ile hazırlandı) ilave edildi. Karıştırılan çözelti 37°C'ye ayarlanmış su banyosunda 30 dk. süre ile inkübe edildi. İnkübasyondan çıkarılan çözeltilerin üzerine 60 mM olarak hazırlanan ABTS çözeltisinden 24 µL, Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> MNP stok çözeltisi manyetik karıştırıcıda 3 dk. karıştırıldıktan sonra deney tüpüne homojen Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>'ten 10 µL ve kontrol tüpüne ise 10 µL saf su, 0,2 mM olarak hazırlanan asetat tamponundan (pH:4.0) 800 µL ilave edilmiştir. Manyetik karıştırıcıda karıştırılan çözeltiler 45°C'ye ayarlanmış su banyosunda 10 dk inkübasyona bırakıldı. Daha sonra santrifüjle veya mıknatısla Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> manyetik nanopartiküllerin çözeltiden ayrılması sağlandı. Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> MNP'nin ayrıldığı reaksiyon çözeltisinden 900 µL alınarak 417 nm dalga boyunda UV-VIS spektrofotometrede ölçüm yapıldı. Dalga boyu ölçümü için 1 cm'lik standart cam küvetler steril edildikten sonra kullanılmıştır. Reaksiyon süresince kontrole göre meydana gelen renk değişimi fotoğraf ile doğrulanmıştır. UV-VIS spektrofotometrede süreç içinde alınan numunelerden elde edilen absorbans-dalga boyu değerlerini gösteren grafik çizilmiştir.

Biyosensörün farklı konsantrasyonlardaki cevabını incelemek amacıyla glukozun 0,25 g/L, 0,50 g/L, 0,60 g/L, 0,75 g/L ve 1 g/L gibi farklı derişimlerdeki konsantrasyonlarından analiz yapılmıştır. UV-VIS spektrofotometre ile 417 nm dalga boyunda bütün numunelerin absorbans değerleri ölçülmüş ve spektrofotometre sıfır ayarı her ölçümden sonra kör çözeltisi kullanılarak yapılmıştır.

### **3.2.6. Karşılaştırma için glukoz analiz kiti yöntemi ile glukoz tayini**

Gıda, serum ve benzeri örneklerde glukoz miktarının ölçümü için üretilmiş olan piyasada satılan glukoz analiz kiti(biasis) kullanılmıştır. Glukoz analiz kiti; glukoz analiz reaktifi (1 nolu şişe), glukoz analiz tamponu (2 nolu şişe) ve glukoz standardından (3 nolu şişe) oluşmaktadır. Glukoz analiz reaktifi, üzerine 2.5 mL glukoz analiz tamponu ilave edilip manyetik karıştırıcıda homojen hale getirilerek analiz için hazırlanmıştır. Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> manyetik nanopartiküllerin enzim benzeri aktivitesini kullanarak yaptığımız glukoz deneyi aktivite tayini, karşılaştırma için glukoz analiz kiti kullanılarak da yapılmıştır.

Analizi gerçekleştirmek için kontrol ve deney reaksiyonlarında kullanılmak üzere steril 14 deney tüpü alınmıştır. Yedi deney tüpüne sırasıyla 0,25 g/L, 0,50 g/L, 0,60 g/L, 0,75 g/L ve 1 g/L farklı derişimlerdeki glukoz çözeltilerinden 50 µL ve yedi kontrol tüpüne ise glukoz konsantrasyonu yerine 50 µL saf su ilave edilmiştir. Kontrol ve deney tüplerine sırasıyla glukoz analiz tamponu ile hazırlanan glukoz analiz reaktifinden 50 µL ve glukoz analiz tamponundan 400 µL otomatik pipet yardımıyla eklenmiştir. Daha sonra kontrol ve deney tüplerinin hepsine 2 mL saf su eklenmiştir. Karıştırılan çözeltiler 37°C'ye ayarlanmış su banyosunda 20 dk. inkübe edilmiştir. İnkübasyondan çıkarılan çözeltilerin UV-VIS spektrofotometrede 505 nm dalga boyunda absorbans değerleri ölçülmüştür. Reaksiyon süresince kontrole göre meydana gelen renk değişimi fotoğraf ile doğrulanmıştır. UV-VIS spektrofotometrede süreç içinde alınan numunelerden elde edilen absorbans-dalga boyu değerlerini gösteren grafik çizilmiştir.

### 3.2.7. Örneklerin hazırlanması

**Glukoz konsantrasyonlarının hazırlanması:** Glukoz standardı (3 nolu şişe) kullanılarak 0,25 g/L, 0,50 g/L, 0,60 g/L, 0,75 g/L ve 1 g/L farklı konsantrasyonlarda glukoz çözeltileri saf su kullanılarak hazırlanmıştır.

**Meyve suyu, süt ve benzeri örnekler:** Glukoz analizi yapabilmek için örneğin berrak ve homojen olması gerekmektedir. Bu amaçla şeftali suyu gibi bulanık yapıda olan meyve suları filtre kağıdından geçirilerek berrak bir görüntü elde edilmeye çalışılmıştır. Örnek 1/2 oranında seyreltildikten sonra glukoz analizi yapılmıştır.

**Gazlı içecekler ve benzeri örnekler:** Örneğin yapısından karbonik asidi ayırmak için örnek 3 dk 35°C'de karıştırılmıştır. Örnek 1/2 oranında seyreltildikten sonra glukoz analizi yapılmıştır.

**Reçel ve benzeri örnekler:** Örnek homojen hale getirildikten sonra 5 g tartılıp saf su ile 20 mL'ye tamamlanmıştır. Isıtıcı yardımıyla çözelti homojenize edildikten sonra filtre kağıdından geçirilmiştir. Örnek 1/4 oranında seyreltilerek glukoz analizi yapılmıştır.

**Bal örnekleri:** Bal karıştırıldıktan sonra spatül yardımıyla 20 gr alınıp hassas terazide tartılmıştır. Isıtıcı yardımıyla 60°C'de 15 dk boyunca karıştırılarak homojen hale getirildikten sonra soğuması beklenmiştir. 5 g bal örneği tartılıp, aşamalı olarak toplamda 20 mL saf su ile çözülmüştür. Örnek 1/4 oranında seyreltilerek glukoz analizi yapılmıştır.

**Sakkaroz, Laktoz, Fruktoz ve Rafinoz örnekleri:** 0,010 gr hassas terazide tartıldıktan sonra üzeri pH:7'ye ayarlanmış fosfat tamponu ile 5 mL'ye tamamlanmıştır. Manyetik karıştırıcı ile homojen hale getirildikten sonra analiz yapılmıştır. Tüm şekerler için aynı işlem yapılmıştır.



**Kan:** Glukoz analizi yapabilmek ve en doğru sonucu almak amacıyla kan örneği 1/2 oranında saf su ile ve 1/2 oranında fosfat tamponu ile seyreltilmiştir. Hazırlanan 2 ayrı çözelti manyetik karıştırıcıda homojen hale getirildikten sonra glukoz analizi yapılmıştır.

**Serum:** Glukoz serumda birincil karbonhidrattır. Örnekten en doğru sonucu almak amacıyla serum örneği 1/2 oranında saf su ile ve 1/2 oranında fosfat tamponu ile seyreltilmiştir. Hazırlanan 2 ayrı çözelti manyetik karıştırıcıda homojen hale getirildikten sonra glukoz analizi yapılmıştır. Ayrıca serum örneğinin seyreltilmemiş halide glukoz analizi yapılmıştır.



## 4. ARAŞTIRMA BULGULARI

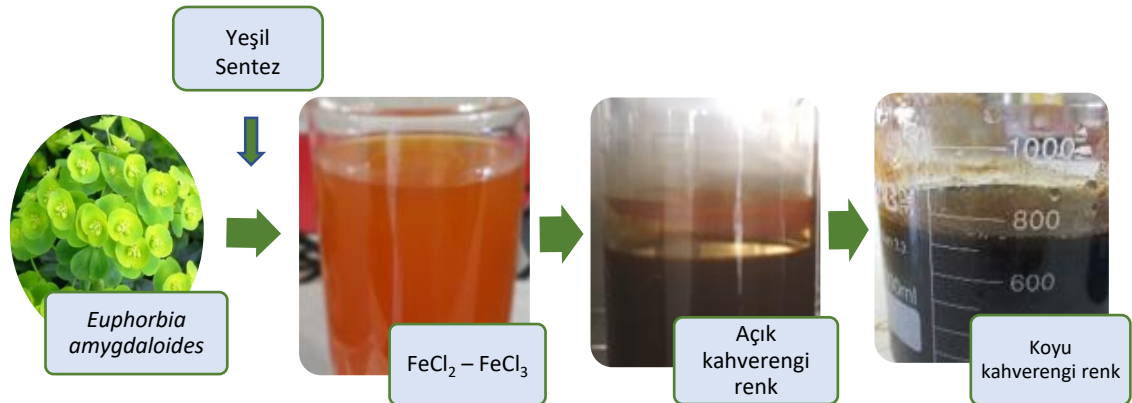
### 4.1. Manyetik Nanopartiküllerin Yeşil Sentez Sonuçları

#### 4.1.1. Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> nanopartiküllerin yeşil sentez sonuçları

Bu araştırmada peroksidaz enziminin benzer özelliğini gösteren Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> nanopartikülleri, *Euphorbia amygdaloides* bitkisinden yeşil sentez methodu ile elde edilmiştir. Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> nanopartikülleri (5µg protein / mL) sütleğen ekstresinin olduğu reaksiyon karışımına 2: 1 oranında (Fe<sup>3+</sup>/Fe<sup>2+</sup>) oranı ile ilave edilmiştir.



Manyetik karıştırıcıda karıştırıldıktan sonra reaksiyon karışımı 4 saat boyunca kapalı bir ortamda inkübe edilmiştir. Reaksiyon karışımının rengi açık kahverengiden Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> nanopartiküllerinin oluşumunu gösteren koyu kırmızı-kahverengiye dönüştüğü gözlemlenmiş ve Şekil 4.1’de verilmiştir. Daha sonra fazla su evaporatör yardımıyla uzaklaştırılmış ve sentezlenen nanopartiküller 24 saat boyunca 50°C’de kurutma fırınında kurutulmuştur.

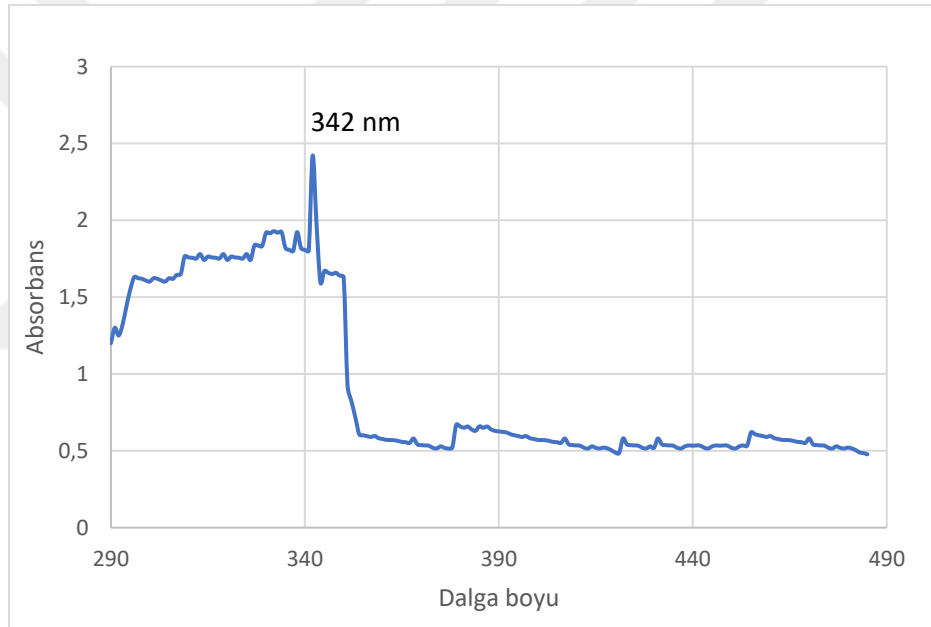


**Şekil 4.1.** Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> nanopartiküllerin oluşumunu gösteren renk değişimleri

#### 4.1.2. Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> manyetik nanopartiküllerin karakterizasyon sonuçları

##### 4.1.2.a. Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> manyetik nanopartiküllerin UV spektrumları

Yeşil sentez yöntemiyle elde edilen Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> nanopartikülleri, UV-VIS spektrofotometre (Shimadzu UV-3600 Plus) kullanılarak 290-500 nm aralığında tarama yapılması ile karakterize edilmiştir. Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> nanopartiküllerin gösterdiği en yüksek pik absorbands değeri 342 nm olarak okunmuştur.

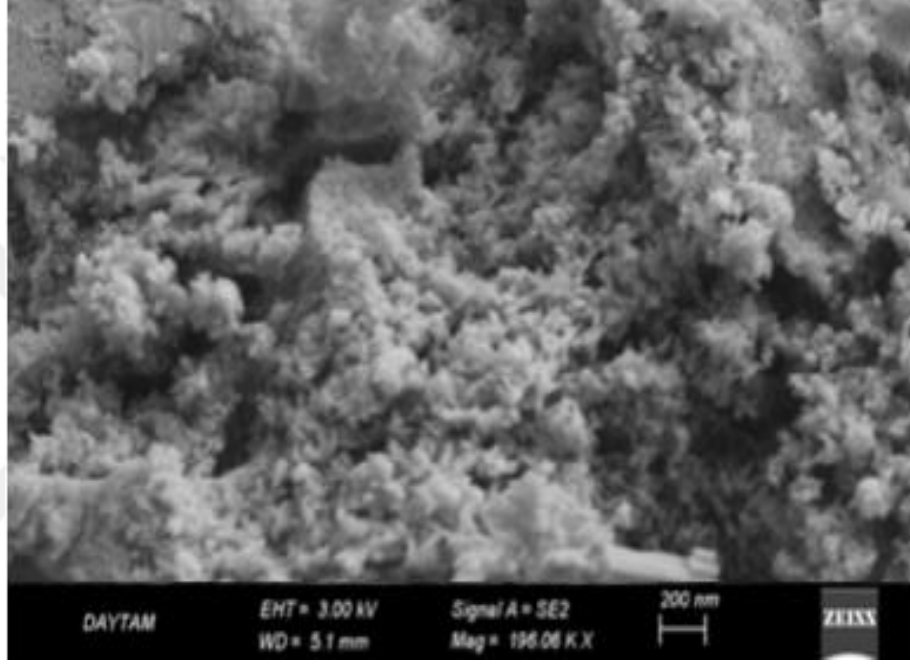


Şekil 4.2. Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> nanopartikül yapısının UV spektrumu

##### 4.1.2.b. Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> manyetik nanopartiküllerin SEM karakterizasyonu

Sentezlenen Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> manyetik nanopartiküllerin karakterizasyonu için topografik görüntü analizi, taramalı elektron mikroskobu (SEM) ile yapılmıştır. SEM (Scanning Electron Microscope) cihazının çalışma esası, görüntüsü alınmak istenen materyalin, yüzey morfolojisinin elektronlar yardımıyla taranması sonucu görüntüler elde etmesine dayanmaktadır.

Zeiss markalı Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) kullanılarak sentezlenen nanopartikül yüzeyinin özelliklerine dair alınan görüntüler incelendiğinde  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  nanopartiküllerinin, birbirleriyle temas halinde bulunan ve yaklaşık 40-70 nm çapında zincirler oluşturan nanosfer formunda olduğu tespit edilmiştir. Elde edilen 200 nm boyutundaki SEM görüntüleri Şekil 4.3’de verilmiştir.



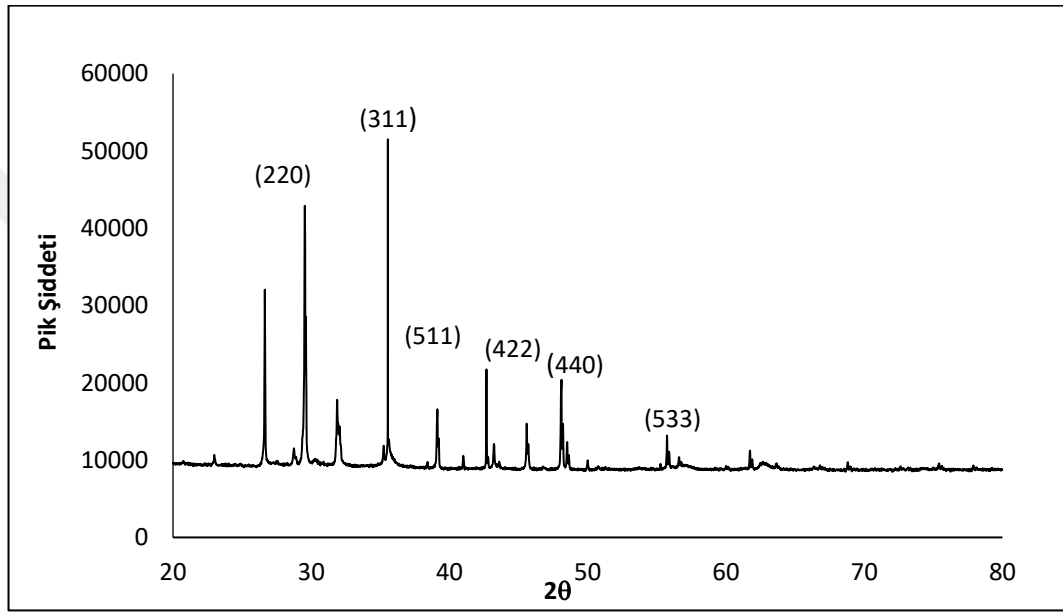
Şekil 4.3.  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  nanopartikül yapısının SEM görüntüsü

#### 4.1.2.c. $\text{Fe}_3\text{O}_4$ manyetik nanopartiküllerin XRD karakterizasyonu

Sentezlenen  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  manyetik nanopartiküllerin karakterizasyonu için XRD tekniği yani X-Işını Kırınım yöntemi kullanılmıştır. XRD tekniği ile her yapının ortaya koyacağı kırınım deseni farklı olacağından, kristal yapılı karmaşık bileşiklerin yapısının tespiti, geometrik düzenin belirlenmesi yani elementlerin düzlemsel yapısının belirlenmesi ve bir kristal düzlemdeki atomlar arasındaki uzaklığın belirlenmesi mümkün olmaktadır.

Bu amaçla sentezlenen  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  nanopartiküllerin XRD cihazı ile yapılan kristalografik incelemeleri sonucunda Şekil 4.4 grafiği elde edilmiştir. Yansıma veren düzlemler (220),

(311), (422), (440), (511) ve (533) olarak indekslenmiştir ve yapının yüzey merkezli kübik bir yapı olduğu belirlenmiştir. XRD grafiğinde indekslenen pikler kullanılarak tane boyutu Scherrer formülü ile hesaplanmıştır. Yapılan hesaplamalarda Euphorbia bitkisinden sentezlenen  $Fe_3O_4$  manyetik nanopartiküllerinin tane boyutu yaklaşık olarak 43-60 nm olarak belirlenmiştir.



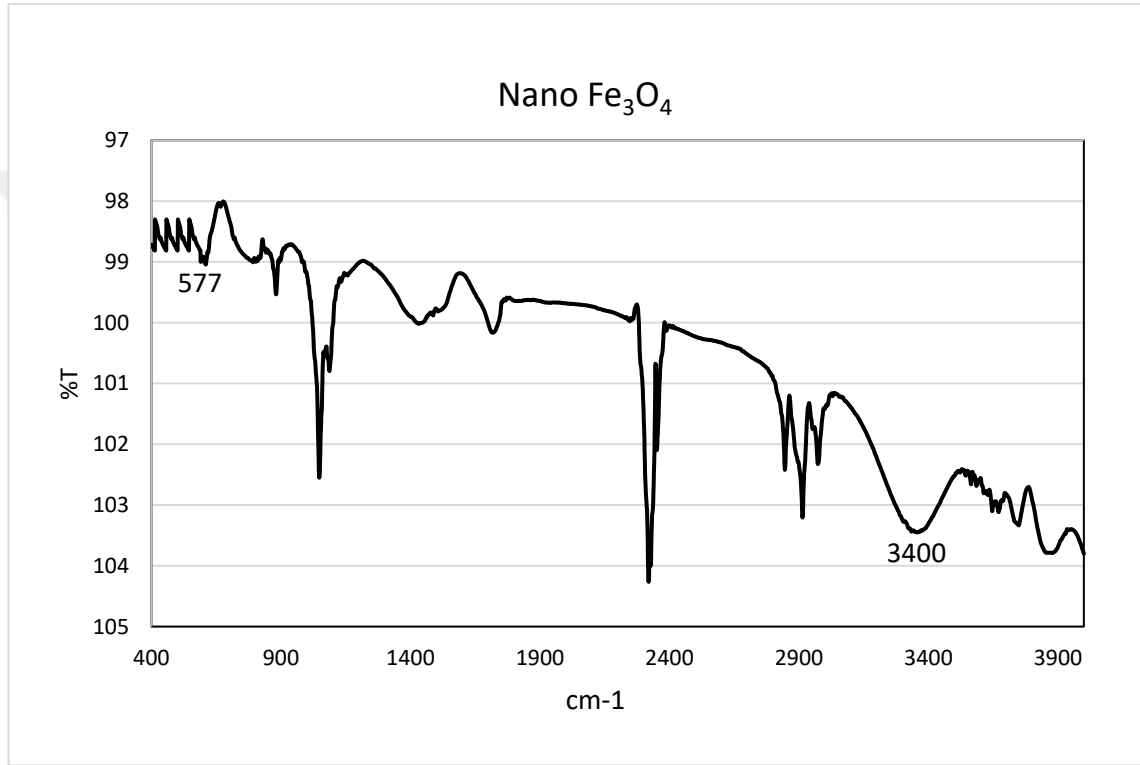
**Şekil 4.4.**  $Fe_3O_4$  manyetik nanopartikül yapısının XRD grafiği

#### 4.1.2.d. $Fe_3O_4$ manyetik nanopartiküllerin FT-IR karakterizasyonu

Yeşil sentez yoluyla sentezlenen  $Fe_3O_4$  manyetik nanopartiküllerin diğer elementlerle oluşturduğu bağları tespit etmek amacıyla 4000-400  $cm^{-1}$  dalga boyu aralığında FT-IR (Four Dönüşümlü Infrared) Bruker VERTEX 70v markalı spektrofotometre cihazı kullanılmıştır. Bu tekniğin amacı yapı içerisinde bulunan bağların belirli frekanslarda yaydıkları titreşimleri ölçmektir.

Bu amaçla Şekil 4.4'de verilen  $Fe_3O_4$  nanopartikül yapılarına ait FT-IR spektrumları analizine bakıldığında demir elementiyle oksijenin oluşturduğu bağ yapılarının salınımları yer almaktadır. Bu nanopartikül yapısının daha çok 578 ile 3400  $cm^{-1}$  değerleri

arasında salınım gösterdiği bilinmektedir (Bandpi 2015). Bu doğrultuda  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  manyetik nanopartikülleri içeren toz grafikte de görüldüğü gibi  $577 \text{ cm}^{-1}$  ile  $3400 \text{ cm}^{-1}$  arasında gerçekleşen salınımlar sergileyerek analiz edilen yapının organik fazda etkileşim gösterdiği ve demir ile oksijen elementleri arasındaki spesifik bağları ihtiva ettiğini açıkça göstermektedir.



**Şekil 4.5.**  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  manyetik nanopartikül yapısının FT-IR analiz grafiği

Yeşil sentezle elde ettiğimiz  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  manyetik nanopartiküllerinin spektrofotometre, SEM, XRD ve FT-IR gibi farklı cihazlar kullanılarak ölçümleri yapılmıştır. Karakterizasyon sonucunda elde edilen verilere göre  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  manyetik nanopartiküllerin nanoboyutta olduğu, morfolojisi ve kimyasal kompozisyonu görülmüştür.

#### 4.2. $\text{Fe}_3\text{O}_4$ MNP'lerin Peroksidaz Benzeri Aktivite Araştırma Sonuçları

Yeşil sentez yöntemiyle hazırlanan  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  manyetik nanopartiküllerin peroksidaz benzeri aktivitesine sahip olduğu görülmüştür. Gerçek enzimleri taklit ederek, peroksidaz

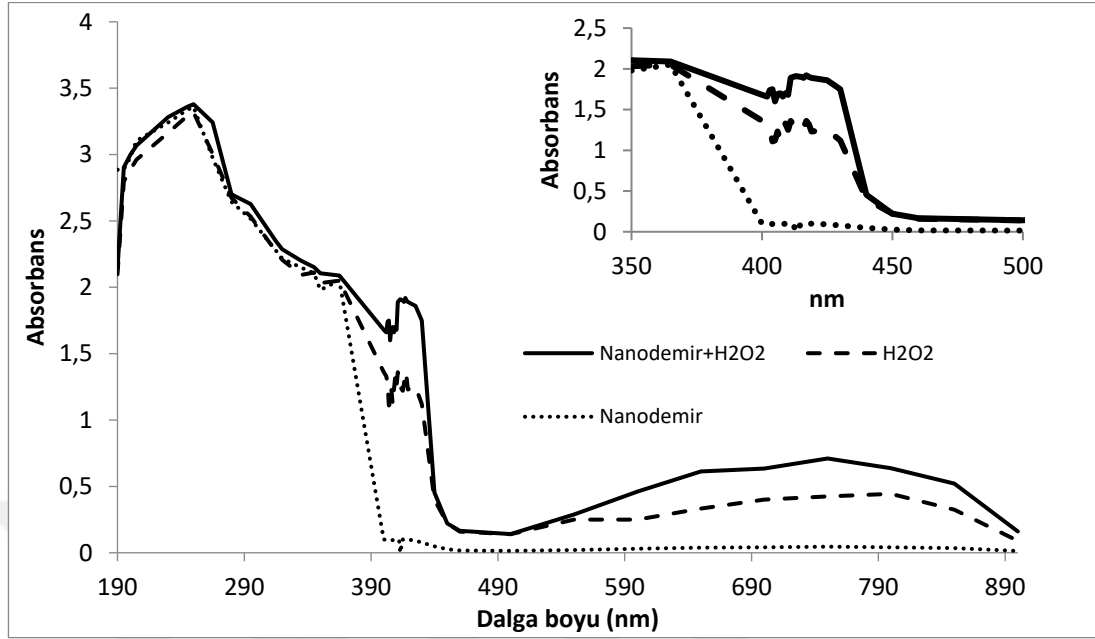
enziminin benzer özelliğini sergilediği denemeler sonucunda tespit edilmiştir.  $Fe_3O_4$  manyetik nanopartiküllerin yüksek katalitik enzim aktiviteleri kullanılarak glukoz tespiti için biyosensör geliştirilebileceği belirlenmiştir.

### **4.3. Nanobiyosensör için Optimizasyon Çalışma Sonuçları**

Geliştirilen biyosensörde  $Fe_3O_4$  manyetik nanopartiküllerinin enzim benzeri aktivitesi kullanılmıştır. Glukoz biyosensörlerinin en iyi çalışma koşullarının belirlenmesi için optimizasyon çalışması yapılmıştır.

#### **4.3.1. Optimum dalga boyu taraması tayin sonuçları**

Yeşil sentez metodu ile sentezlenen  $Fe_3O_4$  manyetik nanopartikülleri kullanılarak hazırlanan reaksiyon sonucunda  $H_2O_2$  (hidrojen peroksit) ve  $Fe_3O_4$  ihtiva eden 1. tüp reaksiyon çözeltisi 417 nm dalga boyunda maksimum absorbans değeri göstermiştir. Sadece  $Fe_3O_4$  içeren 3. tüp reaksiyon karışımında bu dalga boyunda absorbansa rastlanmazken 2. tüpte hazırlanan sadece  $H_2O_2$  içeren reaksiyon karışımında da 417 nm dalga boyunda absorbans değerine rastlanmıştır.



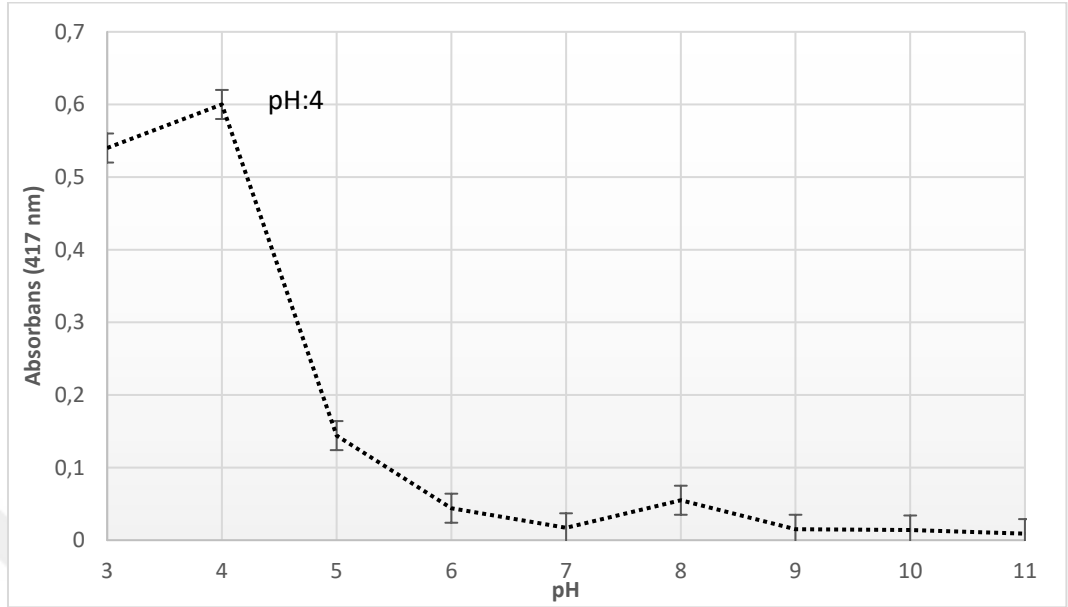
**Şekil 4.6.** Optimum dalga boyu taraması

1. Tüp: 24 µL 60 mM ABTS, 10 µL Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>, 24 µL 100 mM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, 185 µL pH: 4.0 0,2 M asetat tamponu.
2. Tüp: 24 µL 60 mM ABTS, 10 µL saf su, 24 µL 100 mM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, 185 µL pH: 4.0 0,2 M asetat tamponu.
3. Tüp: 24 µL 60 mM ABTS, 10 µL Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>, 24 µL saf su, 185 µL pH: 4.0 0,2 M asetat tamponu

#### 4.3.2. Optimum pH değeri tayin sonuçları

Yeşil sentez metodu ile sentezlenen Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> manyetik nanopartiküllerin katalitik aktivitesi pH'ya bağlıdır. pH:3-5'de (sodyum asetat çözeltisi), pH:6-8'da (sodyum fosfat çözeltisi) ve pH:9-11 (sodyum karbonat çözeltisi) arasında farklı pH değerlerinde analiz yapılmıştır. Hazırlanan reaksiyon çözeltileri inkübe edildikten sonra elde edilen absorban değerlerine göre en yüksek katalitik aktiviteyi 0,2 M, pH 4.0'da gösterdiği tespit edilmiştir.





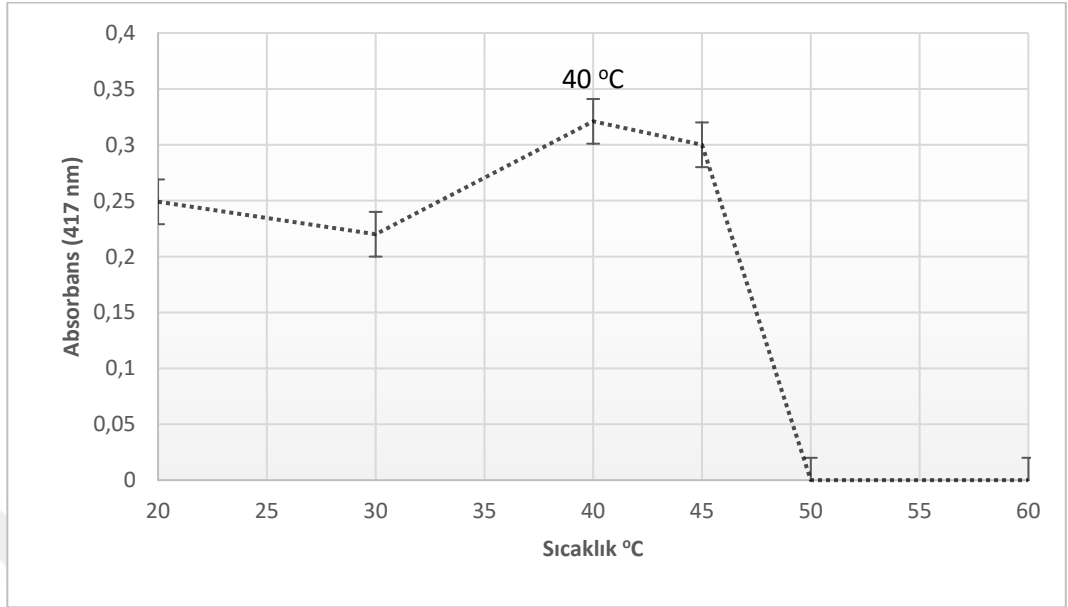
#### Şekil 4.7. Optimum pH değeri

24  $\mu\text{L}$  60 mM ABTS, 10  $\mu\text{L}$   $\text{Fe}_3\text{O}_4$ , 24  $\mu\text{L}$  100 mM  $\text{H}_2\text{O}_2$ , 185  $\mu\text{L}$  pH (3,4,5,6,7,8,9,10,11) 0,2 M tamponu.

Şekil 4.7’de görüldüğü gibi en yüksek biyosensör cevabı 0,2 M pH: 4.0’de alındı. Bunu takip eden çalışmalarda pH:4.0 asetat tampon çözeltisi kullanılmıştır.

#### 4.3.3. Optimum sıcaklık değeri tayin sonuçları

Yeşil sentez metodu ile sentezlenen  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  manyetik nanopartiküllerin sahip olduğu enzim benzeri özelliklerinden dolayı katalitik aktiviteleri sıcaklığa bağlıdır. 20°C, 30°C, 40°C, 45°C, 50°C ve 60°C gibi farklı sıcaklık değerlerinde analiz yapılarak biyosensörün en iyi çalıştığı sıcaklık değeri araştırılmıştır. Deney ve kör numune ile yapılan kontrol reaksiyonları karşılaştırıldığında elde edilen verilere göre hem  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  MNP’lerin varlığında hem de yokluğunda 40°C de en yüksek absorbans değerine rastlanmıştır. Ancak  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  manyetik nanopartiküllerin en iyi çalıştığı 417 nm absorbans değeri göz önünde bulundurularak bunu takip eden çalışmalarda 40±5°C optimum reaksiyon sıcaklığı olarak alınmıştır.

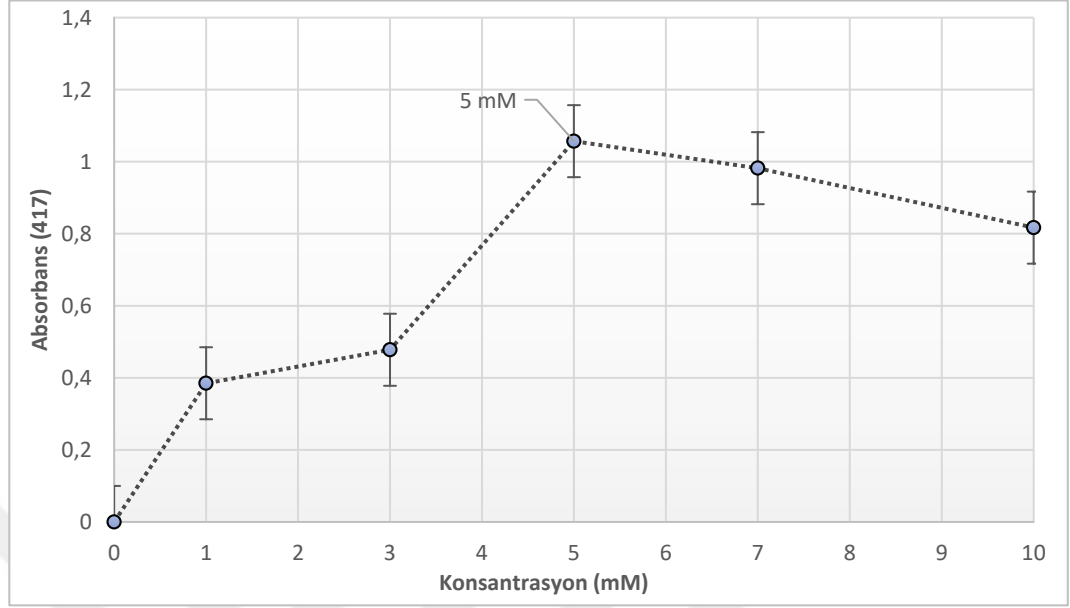


**Şekil 4.8.** Optimum sıcaklık değeri

(24 µL 60 mM ABTS, 10 µL Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>, 24 µL 100 mM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, 185 µL pH = 4.0 ve 0,2 M asetat tamponu)

**4.3.4. Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> Manyetik nanopartiküllerinin konsantrasyonu tayin sonuçları**

Geliştirilen biyosensörde H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> tespit edebilmek için Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> manyetik nanopartikülleri kullanılmaktadır. Yeşil sentez metodu ile sentezlenen Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> manyetik nanopartiküllerin etki gösterdiği en yüksek değeri bulmak amacıyla 1mM, 3 mM, 5 mM, 7mM ve 10 mM gibi farklı Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> metal iyon konsantrasyonlarında analizler yapılmıştır.



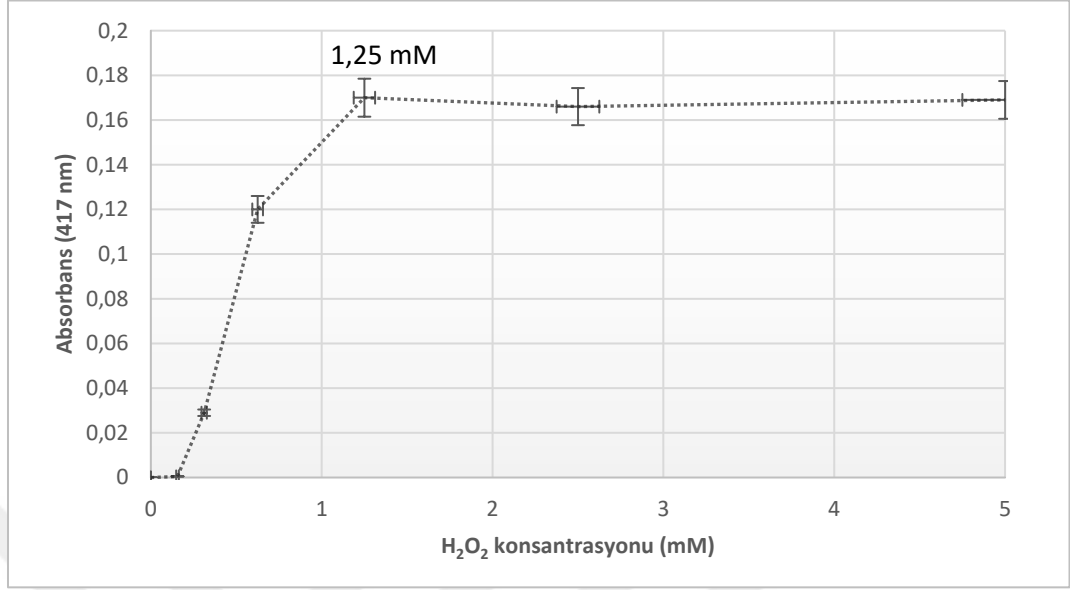
**Şekil 4.9.** Optimum Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> Manyetik nanopartikül konsantrasyonu

(24 µL 60 mM ABTS, 10 µL Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> (1mM, 3mM, 5mM, 7mM ve 10 mM), 24 µL 100 mM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, 185 µL pH:4.0, 0,2 M asetat tamponu)

Şekil 4.9’da görüldüğü gibi en yüksek biyosensör cevabı 5 mM Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> metal iyon konsantrasyonundan elde edilmiştir. Bunu takip eden biyosensör çalışmalarında 5 mM Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> metal iyon konsantrasyonu kullanılmıştır.

#### 4.3.5. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> konsantrasyonu tayin sonuçları

Yeşil sentez metodu ile sentezlenen Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> manyetik nanopartikülleri gerçek enzimleri taklit ederek peroksidaz enziminin benzer özelliğini sergilediği tespit edilmiştir. Geliştirilen sensör için optimum H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> konsantrasyonunun belirlenmesi amacıyla hidrojen peroksitin 0,156 mM, 0,312 mM, 0,625 mM, 1,25 mM, 2,5 mM ve 5 mM gibi farklı derişimlerdeki konsantrasyonlarından analiz yapılmıştır. 417 nm dalga boyunda absorbans değerleri ölçülerek absorbans-H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> Konsantrasyon değerlerini gösteren grafik çizilmiştir. Belirlenen çalışma koşullarında, farklı substrat konsantrasyonlarında elde edilen biyosensör cevapları Şekil 4.10’da verilmiştir.



**Şekil 4.10.** H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> konsantrasyon tayini kalibrasyon grafiği

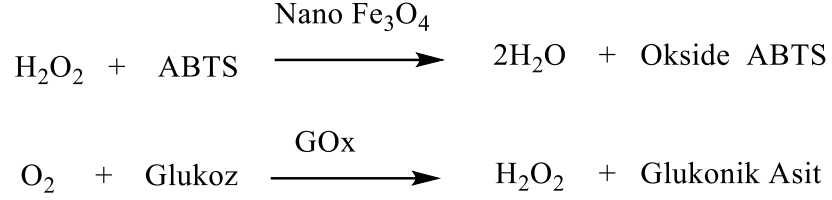
(24 µL 60 mM ABTS, 10 µL Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>, 24 (0,156 mM, 0,312 mM, 0,625 mM, 1,25 mM, 2,5 mM ve 5 mM) H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, 185 µL pH:4.0 0,2 M asetat tamponu)

Şekil 4.10'da görüldüğü gibi en yüksek biyosensör cevabı 1,25 mM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> konsantrasyonundan elde edilmiştir.

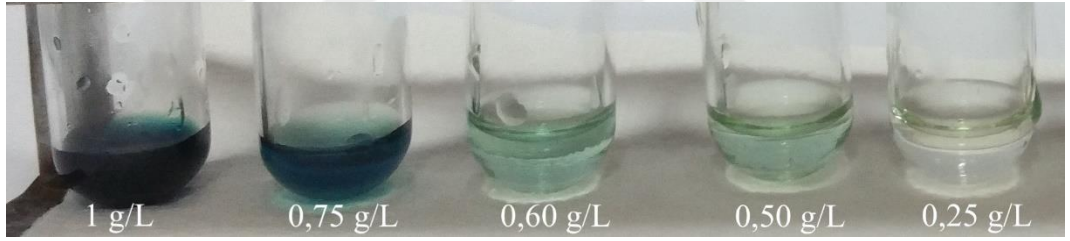
#### 4.4. Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> Manyetik Nanopartikül Esaslı Glukoz Nanobiyosensör Sonuçları

Glukoz tayini yapabilen cihazlar genellikle iki temel reaksiyon üzerine çalışmaktadır. Bunlar glukozun glukuronik aside dönüşmesi ve diğeri glukozun glukuronolaktona dönüştürülerek ölçümünün yapılmasıdır. Geliştirilen biyosensörde bahsedilen birinci metot kullanılarak, yeşil sentezle elde ettiğimiz Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> manyetik nanopartiküllerin peroksidaz aktiviteleri ile glukoz oksidaz (GOx) enzimi kombine edilmiş ve glukoz tayini yapılmıştır.

### Analiz Prensipli

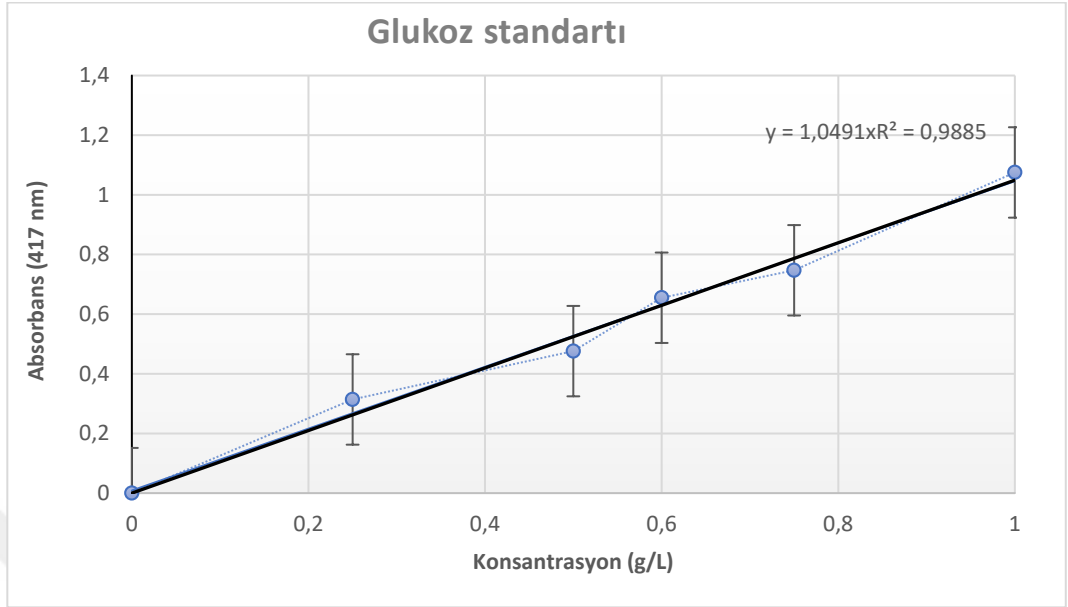


Biyosensörün farklı konsantrasyonlardaki cevabını incelemek amacıyla glukozun 0,25 g/L, 0,50 g/L, 0,60 g/L, 0,75 g/L ve 1 g/L gibi farklı derişimlerdeki konsantrasyonlarından analiz yapılmıştır. Farklı konsantrasyonlarda yapılan analiz sonucunda gözlenen renk değişimi fotoğraflar ile doğrulanmış ve Şekil 4.11’de verilmiştir.



**Şekil 4.11.** Farklı glukoz konsantrasyonları ile glukoz tayini sırasında gözlenen renk değişimi.

Aynı çalışma koşullarında farklı konsantrasyonlarda elde edilen biyosensör cevapları Şekil 4.9’da verilmiştir. Şekil 4.9’da görüldüğü gibi 0,25-1 g/L glukoz konsantrasyonu aralığında doğrusallık gözlenmektedir. Her bir hata çubuğu 3 ölçüme ilişkin standart sapmayı göstermektedir.



**Şekil 4.12.** Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> manyetik nanopartikül esaslı glukoz nanobiyosensörü kalibrasyon grafiği

(20 µL GOx, 200 µL (0,25 g/L, 0,50 g/L, 0,60 g/L, 0,75 g/L ve 1 g/L), 24 µL 60 mM ABTS, 10 µL Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>, 800 µL 0,2 mM asetat tamponu). Her bir hata çubuğu 3 ölçüme ilişkin standart sapmayı göstermektedir.

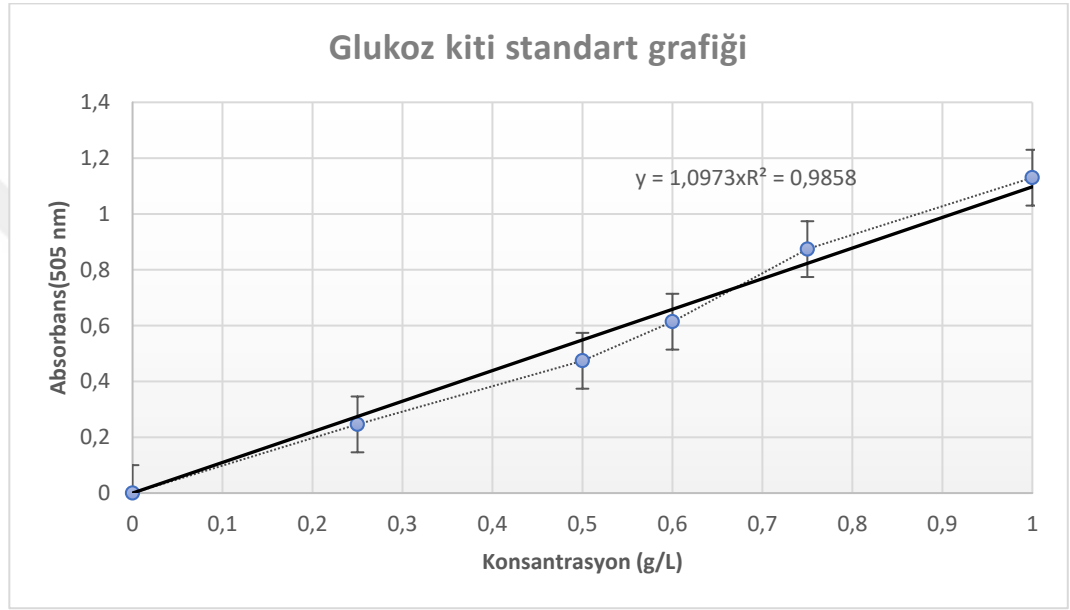
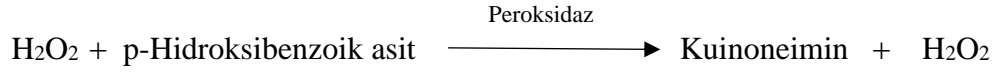
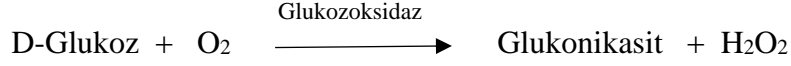
Farklı derişimlerde hazırlanan glukoz standart çözeltileri kullanılarak derişim absorbans grafiği çizilmiş ve örneklerin glukoz derişimleri bu grafik ve aşağıdaki denklem kullanılarak hesaplanmıştır.

$$\text{Örneğin Glukoz Derişimi (g/L)} = \frac{\text{Örnek için Ölçülen Absorbans Artışı}}{\text{Kalibrasyon Grafiğinin Eğimi}}$$

#### 4.5. Glukoz Kiti Esaslı Glukoz Tayin Sonuçları

Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> manyetik nanopartikülleri kullanarak geliştirdiğimiz biyosensörü karşılaştırmak için glukoz analiz kiti yöntemi kullanılarak glukoz analizi yapılmıştır. Glukoz analiz kitinde yüksek saflıkta glukozoksidaz ve peroksidaz enzimleri kullanılarak glukoz analizinin daha doğru yapılması sağlanmıştır.

### Analiz Prensipli



#### **Şekil 4.13.** Glukoz kiti tayini kalibrasyon grafiği

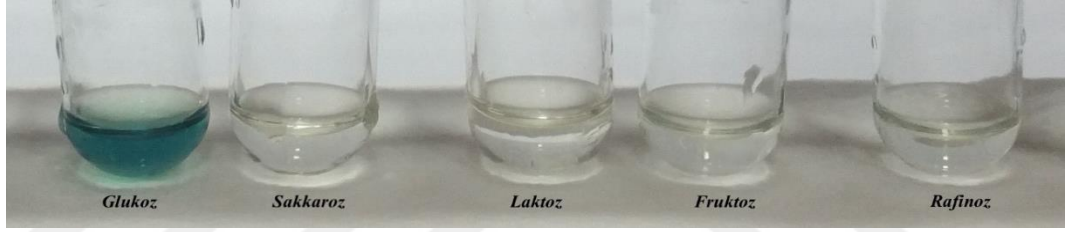
(50 µL glukoz konsantrasyonu (0,25 g/L, 0,50 g/L, 0,60 g/L, 0,75 g/L ve 1 g/L), 50 µL glukoz analiz reaktifi, 400 µL glukoz analiz tamponu ve 2 mL saf su)

Farklı derişimlerde hazırlanan glukoz standart çözeltileri kullanılarak derişim absorbans grafiği çizilmiş ve örneklerin glukoz derişimleri bu grafik ve aşağıdaki denklem kullanılarak hesaplanmıştır.

$$\text{Örneğin Glukoz Derişimi (g/L)} = \frac{\text{Örnek için Ölçülen Absorbans Artışı}}{\text{Kalibrasyon Grafiğinin Eğimi}}$$

#### 4.7. Glukoz Nanobiyosensörü Spesifiklik Analiz Sonuçları

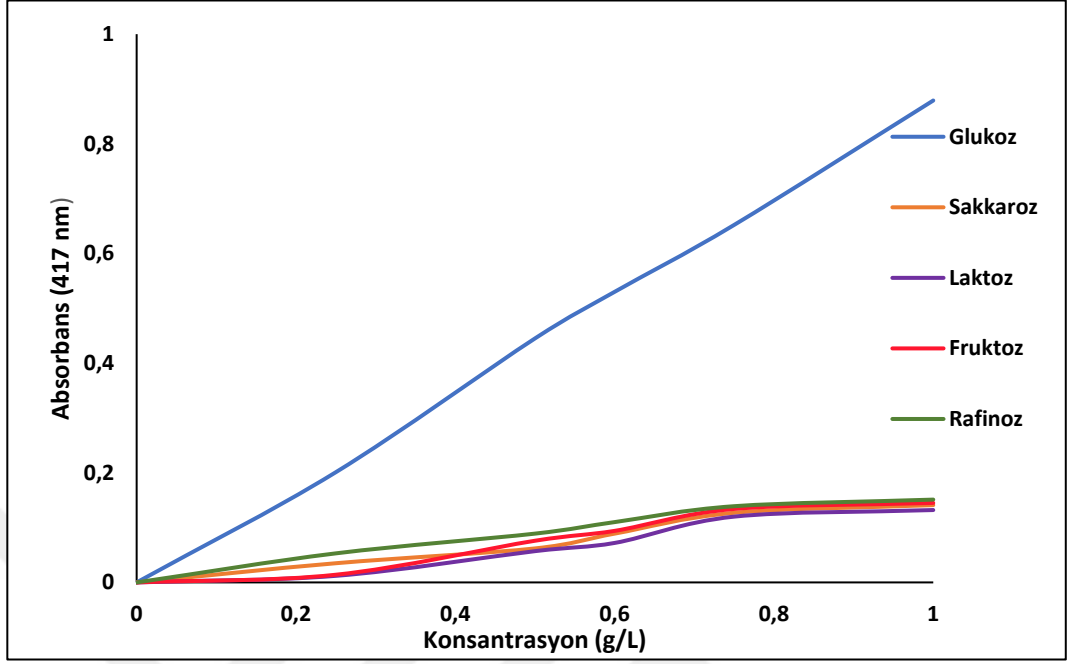
Yeşil sentez metodu ile sentezlenen  $Fe_3O_4$  manyetik nanopartikülleri ve GOx kullanılarak geliştirilen glukoz tayin yönteminin glukoz tespitine özgü olup olmadığını test etmek için farklı şeker örnekleri kullanılarak spesifiklik analizi yapılmış ve biyosensör sisteminin verdiği yanıt ölçülmüştür. Aynı şartlar altında kontrol için sakkaroz, laktoz, fruktoz, rafinoz ve deney için glukoz reaksiyon çözeltilerinin hepsinden 0,010'ar gr tartılmış ve pH:7 fosfat tamponu ile 5 mL'ye tamamlanarak hazırlanmıştır. Farklı şeker konsantrasyonlarında yapılan analiz sonucunda gözlenen renk değişimi fotoğraflar ile doğrulanmış ve Şekil 4.14'de verilmiştir.



**Şekil 4.14.**  $Fe_3O_4$  MNP'leri kullanılarak geliştirilen kolorimetrik yöntemle glukoz nanobiyosensöründe gözlenen renk değişimi

Şekil 4.14'de görüldüğü gibi sakkaroz, laktoz, fruktoz ve rafinoz şeker tespitlerinde renk değişimi gözlemlenmezken kolorimetrik olarak glukoz tespitinde renk değişimi olmaktadır. Aynı çalışma koşullarında farklı şekerlerde yapılan analiz sonucunda biyosensör sisteminin verdiği yanıt ölçülmüştür. Elde ettiğimiz verilere göre  $Fe_3O_4$  manyetik nanopartikülleri ve GOx kullanılarak geliştirilen kolorimetrik tayin yönteminin biyosensör cevapları Şekil 4.15'de gösterilmiştir.

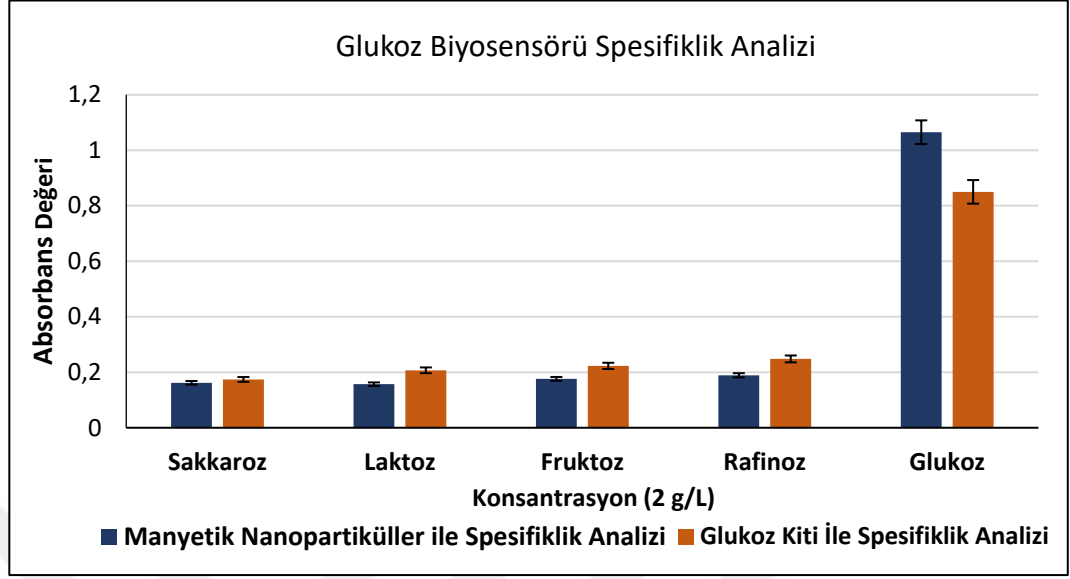




**Şekil 4.15.** Kolorimetrik yöntemle glukoz saptama için tipik emilim profilleri

Tüm şekerlerde aynı şartlar altında analiz yapılmasına rağmen glukoz tespiti diğer şekerlere oranla yüksek seçicilik göstermiştir. Geliştirilen kolorimetrik yöntemin seçiciliği ve glukoz saptamaya yönelik spesifik olduğu görülmüştür.

Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> manyetik nanopartiküller ile yapılan kolorimetrik tayin yöntemini karşılaştırma için glukoz analiz kiti yöntemi ile de analiz yapılmıştır. Elde edilen biyosensör sonuçları glukoz analiz kiti yöntemiyle kıyaslamalı olarak Şekil 4.16'da verilmiştir.

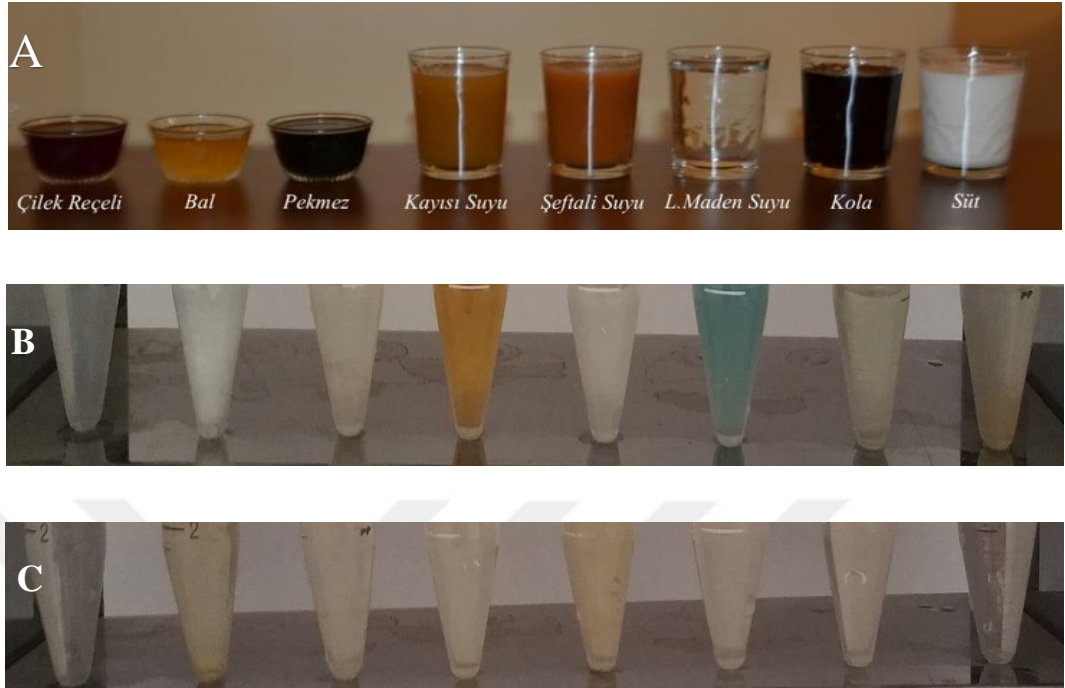


**Şekil 4.16.** Glukoz nanobiyosensörü spesifiklik analizi. Hata çubukları üç ölçümün standart sapmasını göstermektedir. (0,010'ar gr sakkaroz, laktoz, fruktoz, rafinoz ve glukoz çözeltileri pH=7 fosfat tamponu ile 5 mL 'ye tamamlanarak hazırlanmıştır).

Şekil 4.16'da görüldüğü gibi diğer karbonhidrat bileşenleri ile girişim bizim metodumuzda glukoz kiti esaslı metoda göre daha azdır.

#### 4.8. Gıda Örneklerinde Glukoz Nanobiyosensör Sonuçları

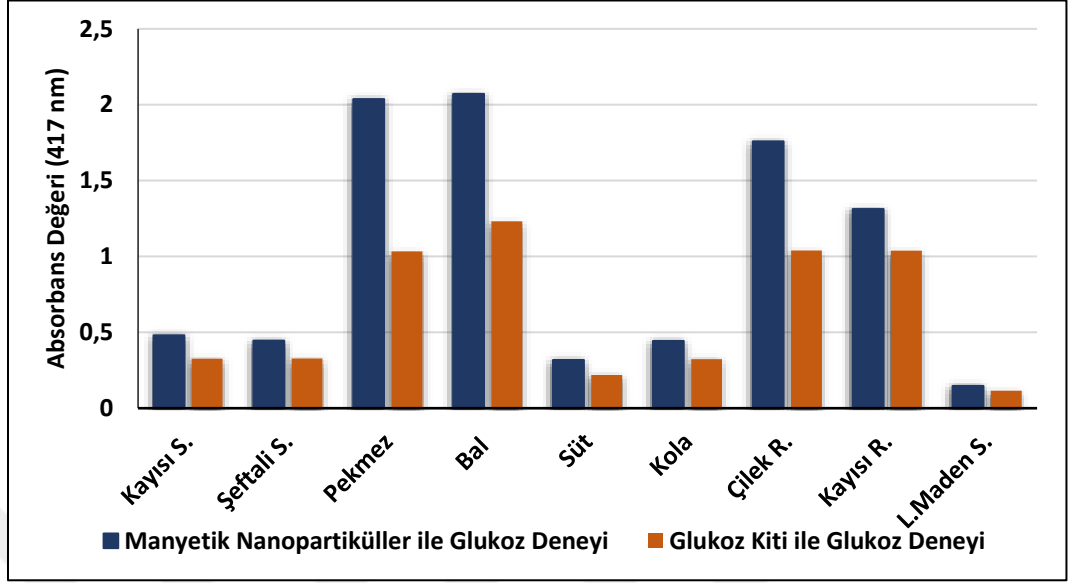
Kayısı suyu, şeftali suyu, pekmez, bal, süt, kola, çilek reçeli, kayısı reçeli, limonlu maden suyu, ekmek gibi gıda örnekleri kullanılarak glukoz tayini yapılmış ve biyosensör sisteminin verdiği yanıt ölçülmüştür. Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> manyetik nanopartikülleri ve GO<sub>x</sub> kullanılarak yapılan glukoz tayini karşılaştırma için glukoz analiz kiti yöntemi ile de yapılmıştır. Reaksiyon süresince farklı gıda örnekleri arasında gözlemlenen renk değişimleri fotoğraf ile doğrulanmıştır.



**Şekil 4.17.** Farklı gıda örnekleri ile yapılan glukoz tayini sırasında gözlenen renk değişimleri

(**A:** Gıda örneklerinin hazırlanması, **B:**  $Fe_3O_4$  MNP'ler ile glukoz tayini sırasında gözlenen renk değişimi. ( $Fe_3O_4$  manyetik nanopartiküller ile glukoz deneyi: 20  $\mu$ L GOx, 200  $\mu$ L gıda örneği, 24  $\mu$ L (60 mM) ABTS, 10  $\mu$ L  $Fe_3O_4$ , 800  $\mu$ L 0,2 mM asetat tamponu). **C:** Glukoz analiz kiti yöntemi ile glukoz tayini sırasında gözlenen renk değişimi. (Glukoz analiz kiti ile glukoz deneyi: 50  $\mu$ L gıda örneği, 50  $\mu$ L glukoz analiz reaktifi, 400  $\mu$ L glukoz analiz tamponu, 2 mL saf su)

Aynı çalışma koşullarında farklı iki yöntemle biyosensör sisteminin verdiği yanıt ölçülmüştür. Ölçümler 3 kez tekrarlanmış ve elde edilen sonuçlar glukoz analiz kiti yöntemiyle kıyaslamalı olarak Şekil 4.18'de grafik halinde verilmiştir.



**Şekil 4.18.** Farklı gıdalarda iki yöntem ile karşılaştırmalı glukoz deneyi sonuçları

Şekil 4.18’de görüldüğü gibi görüldüğü gibi  $Fe_3O_4$  manyetik nanopartikülü ve GOx kullanılarak geliştirilen biyosensör sistemi ve glukoz analiz kiti yöntemi ile elde edilen sonuçlar birbirine oldukça yakın bulunmasına rağmen geliştirilen biyosensör sisteminin yönteminin daha duyarlı ve seçici olduğu tespit edilmiştir. Gıdaların içerisindeki glukoz miktarları Çizelge 4.1’de verilmiştir.

**Çizelge 4.1.** Farklı gıda örneklerinde nanobiyosensör ile ölçülen glukoz sonuçları

Gıda Örnekleri	Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> MNP Esaslı Spektrofotometrik Nanobiyosensörü (gr/L)	Glukoz Analiz Kiti ile Glukoz Spektrofotometrik Deneyi (gr/L)	Gıdalardaki Glukoz Miktarı HPLC (gr/L)
Kayısı Suyu	61,0 ± 2,4	39,6 ± 1,9	68,2
Şeftali Suyu	51,1 ± 2,0	39,7 ± 1,9	56,1
Pekmez	232,9 ± 9,3	112,9 ± 5,6	240,4
Bal	246,7 ± 9,8	134,5 ± 6,7	283,9
Süt	40,4 ± 1,6	26,5 ± 1,3	50,0
Kola	46,8 ± 1,8	39,2 ± 1,9	52,3
Çilek Reçeli	201,1 ± 8,0	157,3 ± 7,8	215,5
Kayısı Reçeli	150,1 ± 6,0	113,4 ± 5,6	149,0
L. Maden Suyu	16,4 ± 0,6	12,6 ± 0,6	-

Gıda örneklerinin içerisindeki glukoz miktarları Ulusal Gıda Kompozisyon Veri Tabanından (Turkomp) alınarak, bulduğumuz biyosensör cevapları ve glukoz analiz kiti yöntemi ile karşılaştırılmıştır. Turkomp Veri Tabanı'nda limonlu maden suyunun glukoz miktarı yer almadığı için tabloda verilememiştir. Çizelge 4.1'de görüldüğü gibi elde ettiğimiz veriler ile gıda örnekleri içerisindeki glukoz miktarlarına paralel sonuçlar elde edilmiştir. Tüm gıda örnekleri için en yüksek biyosensör cevabı Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> manyetik nanopartikül esaslı biyosensör sisteminden elde edilmiştir. Böylece Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> manyetik nanopartiküller ile yapılan glukoz tayin biyosensörü ile daha duyarlı ve seçici ölçümler yapılacağı ve daha yüksek biyosensör cevapları alınacağı görülmüştür.

#### 4.9. Serum Analiz Örneği Glukoz Nanobiyosensör Sonuçları

Analiz örneği olarak içindeki glukoz miktarı daha önceden belirlenmiş klinik serum örneği kullanılarak glukoz tayini yapılmış ve biyosensör cevapları ölçülmüştür. Serumda glukoz tayini için ½ oranında saf su ve fosfat tamponu ile seyreltme işlemleri yapıldı. Seyreltme işlemi sayesinde serumdaki glukoz derişimi biyosensörün doğrusal çalışma aralığına getirilmesi sağlandı. Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> manyetik nanopartikül temelli biyosensör sisteminin hazırlanan farklı derişimlerdeki konsantrasyonlara karşı verdiği cevaplar ve örneklerdeki glukoz miktarı tespit edildi. Aynı derişimlerde glukoz analiz kiti yöntemi ile de glukoz tayini yapılmıştır. Ölçümler 3 kez tekrarlanmış ve elde edilen Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> manyetik nanopartikül esaslı biyosensör sonuçları glukoz analiz kiti yöntemiyle kıyaslamalı olarak Çizelge 4.2’de verilmiştir.

**Çizelge 4.2.** Serum analiz örneğinde glukoz nanobiyosensör sonuçları

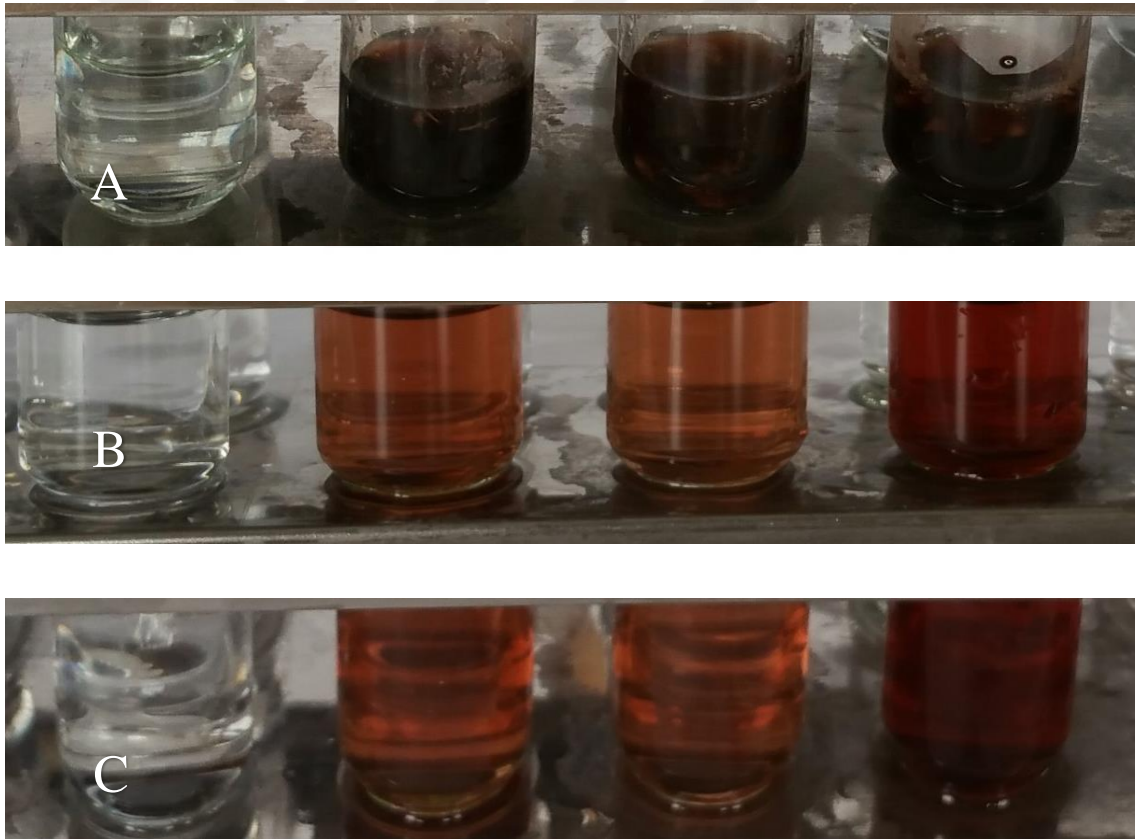
Serum Analiz Örneği (50 mg/dL)	Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> MNP Esaslı Spektrofotometrik Nanobiyosensörü (mg/dL)	Glukoz Analiz Kiti ile Glukoz Deneyi (mg/dL)
½ Saf su ile seyreltme	35,7 ± 0,031	31,3 ± 0,019
½ Fosfat tamponu ile seyreltme	43,1 ± 0,028	34,6 ± 0,023
Seyreltilmemiş hali	44,2 ± 0,043	41,3 ± 0,024

(20 µL GOx, 200 µL serum örneği, 24 µL (60 mM) ABTS, 10 µL Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>, 800 µL 0,2 mM asetat tamponu) (Glukoz analiz kiti ile glukoz deneyi: 50 µL serum örneği, 50 µL glukoz analiz reaktifi, 400 µL glukoz analiz tamponu, 2 mL saf su)

Çizelge 4.2’de görüldüğü gibi tüm konsantrasyonların Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> manyetik nanopartikül esaslı biyosensör cevapları glukoz analiz kiti yöntemi kullanılarak yapılan analiz ile birbirine oldukça yakın sonuçlar bulundu. Serum örneği içerisindeki glukoz miktarına Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> MNP’ler biyosensör sisteminin verdiği yanıt glukoz analiz kiti ile bulduğumuz sonuçlara göre daha yakındır. Geliştirdiğimiz analiz yönteminin klinik verilerine göre daha benzer sonuçlar verdiği tespit edilmiştir.

#### 4.10. Kan Klinik Analiz Örneği Glukoz Nanobiyosensör Sonuçları

Klinik analiz örneği olarak sağlıklı bireylerden alınmış kan örnekleri kullanılarak glukoz tayini yapılıp, biyosensör cevapları ölçülmüştür. Kan için de glukoz tayini için ½ oranında saf su ve fosfat tamponu ile seyreltme işlemleri yapıldı. Seyreltme işlemi sayesinde kandaki glukoz derişimi biyosensörün doğrusal çalışma aralığına getirilmesi sağlandı. Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> manyetik nanopartikül temelli biyosensör sisteminin farklı derişimlerdeki konsantrasyonlara karşı verdiği cevaplar ve örneklerdeki glukoz miktarı tespit edildi. Reaksiyon süresince farklı kan konsantrasyon tüpleri ve kör deney tüpleri arasındaki gözlemlenen renk farkları fotoğraf ile doğrulandı.



**şekil 4.19.** Farklı kan konsantrasyonları ile yapılan glukoz tayini sırasında gözlenen renk değişimi

(A: Seyreltilmemiş kan, B: ½ oranında saf su ile seyreltilmiş kan, C: ½ oranında fosfat tamponu ile seyreltilmiş kan)

Aynı derişimlerde glukoz analiz kiti yöntemi ile de glukoz tayini yapılmıştır. Hastaneden alınan kan örneği kullanılarak ölçümler 3 kez tekrarlanmış ve elde edilen Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> manyetik nanopartikül esaslı biyosensör sonuçları glukoz analiz kiti yöntemiyle kıyaslamalı olarak Çizelge 4.3’de verilmiştir.

**Çizelge 4.3.** Kan analiz örneğinde glukoz nanobiyosensör sonuçları. Kan örneği ½ oranında fosfat tampon tuzu ile seyreltilmiştir.

Kan Örneği	Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> MNP Esaslı Spektrofotometrik Nanobiyosensörü (mg/dL)	Glukoz Analiz Kiti ile Glukoz Spektrofotometrik Deneyi (mg/dL)	Hastane Sonucu Spektrofotometrik (mg/dL)
1	84,3	61,5	75,0
2	99,7	76,6	87,0
3	199,5	138,0	180,0

(20 µL GOx, 200 µL kan örneği, 24 µL 60 mM ABTS, 10 µL Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>, 800 µL 0,2 mM asetat tamponu). (Glukoz analiz kiti ile glukoz deneyi: 50 µL kan örneği, 50 µL glukoz analiz reaktif, 400 µL glukoz analiz tamponu, 2 mL saf su).

Elde ettiğimiz veriler ile karşılaştırmak için kan örneklerinin sonuçları hastaneden alınmıştır. Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> MNP’ler kullanılarak geliştirilen biyosensör sisteminde seyreltilme işlemi ½ oranında saf su ve ½ oranında fosfat tampon tuzu ile yapılarak ve seyreltime işlemi yapılmadan 3 ayrı konsantrasyonda kan numuneleri hazırlanarak analiz yapılmıştır. Seyreltilme işlemi yapılmayan örneklerden sonuç alınamamış ve ½ oranında saf su ile seyreltilme işlemi yapılan örneklerden tatmin edici sonuçlar alınamamıştır. Ancak fosfat tamponu ile seyreltilen örneğin biyosensör cevabı hastaneden alınan sonuçlarla glukoz analiz kitine göre daha benzer olduğu gözlemlenmiştir. Böylece Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> manyetik nanopartiküller ile yapılan glukoz tayin biyosensöründe glukoz analiz kiti yöntemine göre daha duyarlı ölçümler yapılacağı ve daha yüksek biyosensör cevapları alınacağı görülmüştür.



## 5. TARTIŞMA ve SONUÇ

Nanoteknoloji, tüm bilim alanlarında uygulanan en umut verici teknolojilerden biri haline gelmiştir. Nanoteknoloji kullanılarak üretilen metal nanopartiküller, biyomedikal, gıda, kataliz ve biyosensör alanlarındaki yaygın uygulamaları nedeniyle büyük ilgi görmektedir. Nanomalzemelerin entegrasyonu, biyosensörler de dahil olmak üzere, seçiciliğe, çok yönlülüğe, kararlılığa ve özellikle biyoelektronik cihazların hassasiyetine katkıda bulunmuştur. Bu alanda, nanomateryaller, enzim immobilizerleri, enzim stabilizatörleri, yüzey modifiye edicileri ve etiketleme faktörleri olarak kullanılmış ayrıca bireyselleştirilmiş katalitik etkilerinden faydalanılmıştır.

Manyetik nanopartiküller, çeşitli uygulamalar için sensörlerin ve biyosensörlerin geliştirilmesine ve üretilmesine doğan ihtiyaçtan dolayı artan miktarda ilgi çekmişlerdir. Manyetik nanopartiküller, transdüser materyallere entegre edilebilir ve/veya numunede dispersiyon haline getirilebilir, ardından biyosensörün aktif algılama yüzeyi üzerine bir dış manyetik alan uygulanırsa onun tarafında yönlendirilebilirler. MNP'lere dayanan sensörlerin ve biyosensör geliştirmede her geçen gün kat edilen yol onların ileride daha çok alanda kullanılacağını ve üzerine çok sayıda araştırma yapılacağını göstermiştir.

Metal nanopartiküller, elektroanalitik biyosensörlerin hazırlanmasında yaygın olarak uygulanmıştır. Küçük boyut etkisi, kuantum boyutu etkisi, yüzey ve arayüz etkisi nedeniyle, nanomateryaller stabilite, tekrarlanabilirlik ve hassasiyet gibi biyosensörlerin önemli performans indekslerini önemli ölçüde geliştirebilir. Ayrıca, metal nanopartiküller farklı kompozisyon, morfoloji ve boyut nedeniyle, biyosensörlerin yapım sürecinde farklı roller oynamışlardır (Zhang *et al.* 2016).

Nanopartikül sentezi hem kimyasal hem de fiziksel yöntemlerle gerçekleştirilebilmektedir. Bu sentezlerin zor şartlarda yüksek elektrik, basınç ve sıcaklıkta gerçekleştirildiği iyi bilinmektedir. Bu nedenle, daha ılımlı koşulları devam ettiren yeşil sentez yöntemi ile metal nanopartiküllerin sentezi ve uygulanması için çeşitli

biyolojik kaynakların potansiyel kullanımları araştırılmıştır. Son zamanlarda, mikroorganizmalar ve bitkiler kullanılarak metal nanopartiküllerin yeşil sentez metoduyla elde edilmesi üzerine kapsamlı bir şekilde çalışılmıştır (Singh 2016).

Yeşil biyosentezin kontrol edilebilir şekli, boyutu ve eşitsizliği, büyük fiziksel ve kimyasal inertliği, yüzey plazmon rezonansı ile ilgili optik özellikleri, yüzey modifikasyonu, uygun maliyeti, çevre dostu preparatları moleküler problemler ile yüzey biyo-konjugasyonu, mükemmel biyouyumluluk ve daha az toksisite özellikleri sayesinde kullanımı gün geçtikçe artmıştır (Amjad *et al.* 2015). Yeşil sentez aynı zamanda tehlikeli kimyasalları kullanma ihtiyacını en aza indirmekte ve atık maddelerin kullanımı ile sentez maliyetini azaltmaktadır (Singh *et al.* 2016).

Doğa, biyomoleküllerden oluşan bitkiler, yosunlar, mantarlar, maya vb. içeren büyük bir “biyo-laboratuvar” gibi davranmıştır. Doğal olarak oluşan bu biyomoleküllerin, nanopartiküllerin sentezi için daha yeşil, güvenli ve çevresel olarak iyi huylu protokollerin tasarlanması için bir itici güç olarak işlev gören, farklı şekil ve boyutlarda nanopartiküllerin oluşumunda aktif bir rol oynadığı tespit edilmiştir (Sharma 2015). Bitki ekstraktlarında bulunan biyomoleküller, tek aşamalı yeşil sentez sürecinde metal iyonlarını nanopartiküllere indirgemek için kullanılmıştır. Metal nanopartiküllerin yanı sıra gümüş (Ag) ve altın (Au) nanopartikülleri de bitki bazlı sentezlerin odak noktası olmuştur. Nanopartiküllerin yapımında çeşitli bitki türlerinin ekstraktlarına ek olarak sentez için canlı bitkiler de başarıyla kullanılabilmiştir (Mittal *et al.* 2013).

Bu tez kapsamında, yeşil sentez metoduyla Erzurum ilinden temin edilen sütleğen (*Euphorbia amyglodes*) bitkisi ekstresi kullanılarak Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> manyetik nanopartiküllerinin sentezlenmesi sağlanmıştır. Sahip olduğu özellikler spektrofotometre, SEM, XRD ve FT-IR cihazları kullanılarak araştırılmış ve Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> nano yapıda olduğu karakterizasyon basamakları sonucunda görülmüştür. Sahip olduğu manyetik özellik nedeniyle pek çok alanda kullanılabilmesi düşünülmüştür.

Doğal enzimler 200 yıldan fazla bir süredir incelenmekte olup biyokimyada merkezi rol oynamaktadır. Doğal enzimler tıpta, kimya endüstrisinde, gıda işleme ve tarımda önemli pratik uygulamalara sahiptir. Biyolojik katalizör olarak doğal enzimler, hafif koşullar altında yüksek substrat özgüllükleri ve yüksek verimlilik gibi dikkate değer avantajlara sahiptir. Tüm doğal enzimler, katalitik RNA moleküllerinin küçük bir grubu (yani, ribozimler) haricinde protein yapısındadırlar. Bu nedenle, doğal enzimler bazı ciddi dezavantajlara sahiptirler: a) Katalitik aktivitelerinin yerli protein konformasyonlarının bütünlüğüne bağlı olduğu için çevre değişiklikleri ile kolaylıkla denatüre olabilirler; b) proteazlar tarafından sindirilebilirler; c) Hazırlama ve saflaştırma genellikle zaman alıcı ve pahalıdır. Dolayısıyla doğal enzimleri enzim mimetiklerine genişletmek için çok çaba sarf edilmiştir. Doğal enzimler katalitik aktivitelerinin kolayca inhibe edilebilmeleri ve proteazlar tarafından sindirilebilmeleri gibi bazı ciddi dezavantajlar taşıdıklarından dolayı yapay enzim mimetikleri güncel bir araştırma konusu olmuştur. Yeşil sentez yoluyla sentezlediğimiz  $Fe_3O_4$  manyetik nanopartiküllerinde (MNP)ler gerçek enzimleri taklit eden ve benzer özellik sergileyen doğal peroksidazlar olarak bulunmuştur (Wei *et al.* 2008). Yaptığımız çalışmada, peroksidaz mimetikleri olan  $Fe_3O_4$  MNP'lerin yeni özelliklerinden yararlanılarak glukoz tespiti için kullanılmıştır.

Glukoz, çoğu organizmada enerji rezervi ve metabolik yakıt görevi gören fotosentez ve solunum işlemlerinde merkezi olarak yerleşmiş bir aldosik monosakkarittir. Yıllar içinde, glukozu tespit etmek ve ölçmek için birçok farklı yöntem geliştirilmiştir. Glukozun saptanması, biyomedikal alanlarda, yaşam kalitesinin iyileştirilmesinde ve özellikle de lezzet veya yapının söz konusu olduğu modern gıda ürünlerinde giderek daha önemli bir rol oynamıştır (Galant *et al.* 2015).

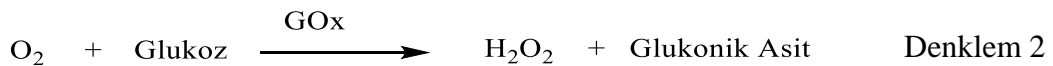
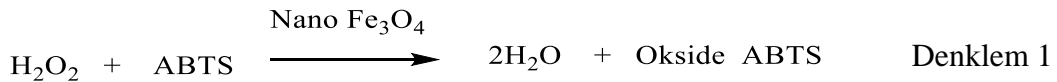
Diğer yandan, glukoz biyosensörleri, dünyadaki en yaygın metabolik bozukluklardan biri olan *diabetes mellitus* da kan-glukoz düzeylerini izlemedeki rolleri nedeniyle özellikle klinik ve endüstriyel öneme sahiptir (Saei *et al.* 2013). Diyabet dünya çapında bir halk sağlığı sorunu haline gelmiştir. Dünyadaki en önemli ölüm ve sakatlık nedenlerinden birisi olarak görülmüştür. Diyabetin (*Diyabetes mellitus*) tanı ve tedavisi, kan glukoz düzeylerinin sıkı bir şekilde izlenmesini gerektirmiştir. Bu kadar sıkı ve güvenilir

glisemik kontrol sağlamanın zorluğu, bu alanın oldukça önemli bir araştırma konusu olmasını sağlamıştır.

Glukoz tespiti için elektrokimyasal biyosensörler bu yönde öncü bir rol oynamıştır. Elektrot transdüktörlerine bağlı glukoz oksidaz (GOx) bazlı amperometrik enzim elektrotları, bu nedenle önemli araştırmaların hedefi olmuştur.

Yaptığımız araştırmada, glukozun glukoz oksidaz (GOx) ile olan reaksiyonu ve yeşil sentezle elde ettiğimiz katalitik Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> MNP'lerin kombinasyon reaksiyonu ile glukoz saptama için spektrofotometrik yöntem geliştirilmiştir (Wei *et al.* 2008).

Gerçekleştirilen çalışmada; öncelikle yeşil sentez yöntemiyle hazırlanan Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> MNP'lerin peroksidaz benzeri aktivitesi araştırılmıştır. Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> MNP'ler bir peroksidaz substrat 2,2'-azino-bis diamonyum tuzunun (ABTS) H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ile oksitlenmiş renkli ürüne oksidasyonunu katalizlemek için kullanılmıştır. Denklem 1'de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'in kolorimetrik tespiti sağlanmaktadır.



Glukoz tespiti için kolorimetrik metod Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> MNP'lerin (denk. 1) ve glukoz oksidasyonun (denk. 2) katalitik reaksiyonu ile glukozun katalitik reaksiyonu kombine edilerek geliştirilmiştir. Optimizasyon çalışması yapılarak glukoz enzim elektrodunun cevabına pH'nın ve sıcaklığın etkisinin yanında dalga boyu, Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> Manyetik nanopartiküllerinin ve H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'in (Hidrojen peroksit) konsantrasyonu araştırılmıştır.

Sonuç olarak; bu araştırmada hazırladığımız glukoz nanobiyosensörünün, doğrusal çalışma aralığı (0,25-1 g/L) olarak bulunmuş ve bu aralık da glukoz tespiti gerçekleştirilmiştir. Daha yüksek çıkan glukoz miktarları için seyreltme işlemi uygulanarak glukoz miktarı belirlenebilmiştir. Piyasada satılan glukoz analiz kiti ile aynı

doğrusal çalışma aralığına sahip olduğu belirlenmiştir. Yapılan deneysel incelemeler sonucunda, nanobiyosensörün optimal çalışma parametreleri; sıcaklık ( $40\pm 5^{\circ}\text{C}$ ), pH (4), metal iyonu konsantrasyonu (5 mM) ve  $\text{H}_2\text{O}_2$  konsantrasyonu (12,5 mM) olarak belirlenmiştir. Geliştirilen yöntem ile içerisinde sabit oranlarda sakkaroz, laktoz, fruktoz ve rafinoz gibi farklı şekerlerin bulunduğu glukoz içeren çözeltiler kullanılarak da analiz yapılmış ve glikoz saptamasına karşı duyarlı ve seçici bir cevap sergilediği deneylerle kanıtlanmıştır.

Daha da önemlisi, glukoz tespiti için duyarlı ve seçici bir yöntem, glukoz oksidaz (GOx) ve hazırlanan  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  MNP'leri kullanılarak geliştirilmiştir. Bu çalışmada geliştirilen  $\text{H}_2\text{O}_2$  ve glukoz için tespit platformları,  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  MNP'lerin biyomimetik peroksidaz benzeri aktiviteye sahip olduklarını doğrulamakla kalmayıp aynı zamanda gelecekteki basit, sağlam ve uygulaması kolay, analitik yaklaşımların çeşitliliğinde de büyük potansiyel göstermiştir. Hedeflenen nanobiyosensör sisteminde, glukoz oksidaz (GOx) ve peroksidazları taklit eden  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  manyetik nanopartikülleri kullanılarak gıda ve klinik alanında (serum ve kan örnekleri) oldukça seçici, hassas ve kararlı enzimatik ve spektrofotometrik glukoz sensörü geliştirildiği, Çizelge 5.1'de verilen literatür sonuçları ile karşılaştırıldığında anlaşılmıştır.

**Çizelge 5.1.** Kan klinik analiz örneklerinde glukoz nanobiyosensörü literatür sonuçları

Nanobiyosensör (mg/dL)	Hastane sonucu (mg/dL)	Literatür Kaynağı (Uzumer 2015)	Hastane sonucu (mg/dL)	Literatür Kaynağı (Ustabaş 2010)	Hastane sonucu (mg/dL)
104,3	75,0	124,2	82,0	190,0	82,7
99,7	87,0	126,0	106,0	170,0	86,7
199,5	180,0	136,8	110,0	184,5	103

Bu tez kapsamında yapılan kan numunelerindeki çalışmaların sonuçları literatürler (Ustabaş 2010; Uzumer 2015) ile kıyaslandığında elde ettiğimiz sonuçların hastaneden alınan sonuçlara daha yakın olduğu ve tatmin edici sonuçlar elde edildiği görülmüştür.

Nanobiyosensör hızlı bir tepki, iyi bir stabilite ve anti-girişim yeteneği sergilemiştir. Ayrıca, nanobiyosensör, insan kan örneklerinde glukozu saptamak için, klinik yöntemle kabul edilebilir doğruluğu gösteren başarılı bir şekilde uygulanmıştır.

Sonuç olarak; farklı numunelerde yaptığımız deneylerle yeşil sentez metoduyla elde edilen peroksidazları taklit eden  $Fe_3O_4$  manyetik nanopartiküllerin kullanımı ile glukoz tespiti üzerine çalışmalar yapılmış ve başarılı olunmuştur. Bu metotla geliştirilecek yeni bir nanobiyosensörün gıda, klinik ve diğer birçok alanda kullanılabilmesi yaptığımız incelemeler sonucunda belirlenmiştir. Glukoz sensörü, duyarlılık, seçicilik ve uzun vadeli kararlılık ile tatmin edici bir performans sergilemiştir. Ayrıca bu nanobiyosensörün manyetik olma ve bozulmama özelliğinden dolayı defalarca kullanılabilmesi çevre dostu ve ekonomikliği açısından tercih edileceği düşünülmektedir.

Bu konudaki öneriler;

- Glukoz tayini yapılmadan önce numune de seyreltme işlemi saf su yerine fosfat tampon tuzu ile yapılırsa sonuç daha hassas ve doğru olacaktır.
- Ayrıca geliştirdiğimiz yöntemle  $H_2O_2$  tespiti için nanobiyosensör geliştirilmesi de mümkündür.  $H_2O_2$ , yüksek ürün kalitesini koruyarak, ürünlerin raf ömründen daha uzun süre saklanabilmesini sağlamaktadır. Yiyeceklerin paketlenmesinde kullanılan plastik kaplarda ve aseptik paketleme ünitelerinde, materyallerin sterilasyonu ve atık su arıtımında organik yabancı maddeleri sudan uzaklaştırmak için kullanılmaktadır (Yavuz 2016). FDA'a; gıdaların paketlenmesinde kullanılan plastik ambalajların sterilizasyonunda kullanılması önerilen maksimum  $H_2O_2$  konsantrasyonu %35 (w/w) ve aseptik paketleme sonrası kalıntı miktarı  $0,5 \text{ mg.L}^{-1}$  olarak sınırlandırmaktadır. Bunun yanı sıra kurutma sırasında paketin içinde hapsolan  $H_2O_2$  buharı ciddi problemlere sebep olmaktadır (Tarhan 2011). Bu ve benzeri sebeplerden dolayı  $H_2O_2$  tespiti insan sağlığı açısından büyük önem taşımaktadır. Yeşil sentezle elde ettiğimiz  $Fe_3O_4$  manyetik nanopartiküllerin gerçek enzimleri taklit ederek, peroksidaz enziminin benzer özelliğini sergilediği tespit edilmiş ve  $H_2O_2$  tayininin bu metotla yapılabilmesi belirlenmiştir.

- Tekrar kullanılabilirlik; yapılan analiz sonuçlarında  $Fe_3O_4$  manyetik nanopartikülleri 20 ölçüme kadar kullanılabilceği görölmüştür. Doğrusal çalışma aralığındaki analit derişimleri nanobiyosensörün tekrarlanabilir cevaba sahip olduğunu ve güvenilir analiz için kullanılabilceğini göstermiştir. Maliyeti düşüreceğinden nanobiyosensörün diğer yöntemlere göre daha ekonomik olacağı belirlenmiştir.
- Dayanıklılık; yüksek derişimler duyarlığın daha çabuk kaybolmasına sebep olduğundan ölçülen analit derişimine ya da yapılan ölçüm sayısına bağlı olarak dayanıklılık süresi değişmektedir. Ancak gerekli saklama koşulları sağlanarak buzdolabında saklandığında nanobiyosensör daha uzun süre kullanılabilir.
- Kararlılık; tez çalışması süresi boyunca biyosensörün performansı korunduğu için uzun süre kararlılığını koruyan ideal bir nanobiyosensör geliştirilebilir.

## KAYNAKLAR

- Altundaş, A., Güngör, A.A. ve Nadaroğlu, H., 2017. Manyetik Nano  $\gamma$ -Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>'ün Enzim Benzeri Aktivitesi Kullanılarak Bazı Numunelerde Hidrojen Peroksit Tayini. 5. İlaç Kimyası: İlaç Etkin Maddesi Tasarımı, Sentezi, Üretimi ve Standardizasyonu Kongresi, Antalya.
- Amjad, S.M., Sadiq N., Quresbi H., Fareed G. and Sabir S., 2015. Nano particles: An emerging tool in biomedicine. *Asian Pacific Journal of Tropical Disease*, 5(10), 767-771.
- Ballı, B., 2015. Nano Partikül Üretim Yöntemleri <https://prezi.com/g8o0w0anichi/nanopartikül-uretim-yontemleri/> (31.12.17).
- Bandpi, A.M., Kakavandi B., Kalantary R.R., Azari A. and Keramati A., 2015. Development of a novel magnetite–chitosan composite for the removal of fluoride from drinking water: adsorption modeling and optimization. *RSC Advances*, Royal Society of Chemistry, (89).
- Bolivar, M.W. and Gonzalez E.E., 2018. Green synthesis with enhanced magnetization and life cycle assessment of Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> nanoparticles. *Environmental Nanotechnology, Monitoring & Management*, (9) 58-66.
- Cabanas M.M., Garcia L.M., Barriada J.G., Herrero R. and Vicente M.E.S., 2016. Green synthesis of iron oxide nanoparticles. Development of magnetic hybrid materials for efficient As(V) removal. *Chemical Engineering Journal*, 301 (1), 83-91.
- Cao, M., Li Z., Wang J., Ge W., Yue T., Li R., Colvin L.V. and Yu W.W., 2012. Food related applications of magnetic iron oxide nanoparticles: Enzyme immobilization, protein purification, and food analysis. *Trends in Food Science & Technology*, 27 (1), 47-56.
- Celep, Ş., 2007. Nanoteknoloji ve Tekstil Uygulama Alanları. (Yüksek Lisans Tezi), Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Tekstil Mühendisliği Anabilim Dalı, Adana.
- Chen M., Zeng G., Xu P., Lai C. and Tang L., 2017. Review; How Do Enzymes ‘Meet’ Nanoparticles and Nanomaterials. *Trends in Biochemical Sciences*, 42(11), 914-930.
- Cicek S., Gungor A.A., Adiguzel A. And Nadaroglu H., 2015. Biochemical Evaluation and Green Synthesis of Nano Silver Using Peroxidase From *Euphorbia* (*Euphorbia amygdaloides*) and Its Antimicrobial Activity, *Journal of Chemistry*, ID 486948, 7.
- Coşkun, Ç., 2014. Nanoteknoloji Hakkında Herşey. <http://slideplayer.biz.tr/slide/1893911/> (01.12.17).
- Demir Y., Güngör A.A. and Demir N., 2008. Purification of Peroxidase from Latex of *Euphorbia* (*Euphorbia Amygdaloides*) and Investigation of Kinetic Properties, *Asian Journal of Chemistry*, 20 (1) 477-482.
- Demirbilek, M.E., 2015. Tarımda ve Gıdada Nanoteknoloji. *Gıda ve Yem Bilimi Teknolojisi Dergisi*, 1303-3107 (15), 46-53.
- Dolmacı, N., 2009. Balık Eti Tazeliğinin Tespiti İçin Ksantin Oksidaz Enziminin Polipirol-Polivinilsülfonat Filme İmmobilizasyonu ile Amperometrik Biyosensör Hazırlanması. (Yüksek Lisans Tezi), Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü,



- Ankara.
- Duran, T., 2015. Nanoteknoloji ve Uygulama Alanları. <http://content.lms.sabis.sakarya.edu.tr/Uploads/78947/32671/nanoteknoloji.pdf> (15.12.2017).
- Ekli, E., 2010. İlköğretim İkinci Kademe Öğrencilerinin Nanoteknoloji Hakkındaki Temel Bilgi ve Görüşleri İle Teknolojiye Yönelik Tutumlarının Bazı Değişkenler Açısından Araştırılması. (Y. Lisans Tezi), Muğla Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü İlköğretim Anabilim Dalı, Muğla.
- Erkoç, Ş., 2007. Nanobilim ve Nanoteknolojide Gelişmeler ve Uygulamalar. Nanobilim ve Nanoteknoloji. ODTÜ Geliştirme Vakfı Yayıncılık, Ankara, 7-29.
- Etcı, K., 2011. Sol-Jel Tekniğine Göre Manyetik Nanopartiküllere Lipaz İmmobilizasyonu ve Bazı Enantiyo seçimli Tepkimelerde Kullanılması. (Yüksek Lisans Tezi), Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı, Konya.
- Galant A.L., Kaufman R.C. and Wilson J.D. 2015. Glucose: Detection and analysis. Food Chemistry, 188(1), 149-160.
- Gao Y., Wang G., Huang H., Hu Junjie, Shah S.M. and Su X., 2011. Fluorometric method for the determination of hydrogen peroxide and glucose with Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> as catalyst. Talanta, 85 (2), 1075-1080.
- Gunduz, S., Nadaroglu H. and Gungor A.A., 2016. Green Synthesis of Magnetic Iron Nanoparticules Using Peroxidase Enzyme from *Euphorbia (Euphorbia amygdaloides)* and Investigation of Antimicrobial Activity. 4th ISEKI\_Food Conference, Vienna Austria.
- Gungor, A.A., 2011. Use of Different Plant Derived Peroxidases for the Removal of Phenol from Water. Asian Journal of Chemistry (ISI), 23(8), pp. 3710-3712.
- Gungor, A.A., Celebi N., Nadaroglu H., 2015. Removal Of Basic Red 9 In Wastewater Using Green Fenton Reaction. Fresenius Environmental Bulletin 24 – No 5b., 1947-1957.
- Gündoğdu, M., 2016. Demir Oksit Nanopartiküller ile Meta İyonlarının Sulardan Uzaklaştırılması, Önderiştirilmesi ve Tayini. (Doktora Tezi), Hacettepe Üniversitesi Kimya Anabilim Dalı, Ankara.
- Gündüz, S., Güngör A.A., Nadaroglu H., ve Altundaş A., 2017. Glukoz Tayini İçin Enzim Benzeri Metal Nanopartiküllerin (MNP) Kullanımının Araştırılması. 5. İlaç Kimyası: İlaç Etkin Maddesi Tasarımı, Sentezi, Üretimi ve Standardizasyonu Kongresi, Antalya.
- Gürmen, S., ve Ebin, B., 2008. Nanopartiküller ve Üretim Yöntemleri-1. İstanbul Teknik Üniversitesi Metalurji ve Malzeme Mühendisliği Bölümü, Metalurji Dergisi, 150 (08), ISSN: 1300-4824, TMMOB Metalurji Mühendisleri Odası, İstanbul.
- Hussain, İ., Singh, A., Singh, H., 2016. Green Synthesis of Nanoparticles and İts Potential Application. Biotechnol Lett, 38(DOI 10.1007/s10529-015-2026-7), 545–560.
- Karaduman, I., Güngör A.A., Nadaroglu H., Altundaş A. and Acar S., 2017. Green synthesis of  $\gamma$ -Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> nanoparticles for methane gas sensing. J Mater Sci: Mater Electron, DOI 10.1007/s10854-017-7510-5.
- Kharissova, V.O., Dias R.H.V., Kharisov I.B., Perez O. and Perez V.M.J., 2013. The greener synthesis of nanoparticles: A Review. Trends in Biotechnology, 31(4), 240-248.
- Kızıltan, D., 2016. Kanser Belirteçlerinin Tayininde Kullanılmak Üzere Titanyum Bazlı

- Elektrokimyasal Nanobiyosensörlerin Geliştirilmesi. (Yüksek Lisans Tezi), Hacettepe Üniversitesi Biyomühendislik Anabilim Dalı, Ankara.
- Köçkar, H., 2009. SüperparaManyetik Nanoparçacık Sentezi ve Karakterizasyonu, Balıkesir Üniversitesi, [http://maycalistaylari.comu.edu.tr/lise1/sunumlar/danisman/Hakan\\_Kockar.pdf](http://maycalistaylari.comu.edu.tr/lise1/sunumlar/danisman/Hakan_Kockar.pdf) (03.01.18).
- Kumar, R., Singh, V.P., Maurya, D., Pandey, K.A., 2015. Bionanoparticles: A Green Nanochemical Approach. Department of Biotechnology, Institute of Engineering and Technology Bundelkhand University, PharmaTutor; 3(9) (28-35).
- Kutlay, A., 2015. Nanoteknoloji. <http://slideplayer.biz.tr/slide/3171272/> (01.12.17).
- Liu, Q., Li H., Zhao Q., Zhu R., Yang Y., Jia Q., Bian B., and Zhuo L., 2014. Glucose-sensitive colorimetric sensor based on peroxidase mimics activity of porphyrin Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> nanocomposites. *Materials Science and Engineering: C*, 41 (1), 142-151.
- Makarov, V.V., Love, A.J., Makarova, S.S., Sinitsyna, O.V., Yaminsky, I.V., Taliansky, M.E., and Kalinina, N.O., 2014. Green Nanotechnologies: Synthesis of Metal Nanoparticles Using Plants. VOL. 6 No. 1 (20) 2014 | *Acta Naturae* (35-44).
- Mindivanlı, Ö., 2014. Et ve Balıklarda Tazelik İndikatörü Olarak Nanobiyosensörlerin Geliştirilmesi. (Yüksek Lisans Tezi), Afyon Kocatepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Malzeme Bilimi ve Mühendisliği Anabilim Dalı, Afyon.
- Mittal A.K., Chisti Y. and Banarjee C.U., 2013. Synthesis of metallic nanoparticles using plant extracts. *Biotechnology Advances*, 31(2), 346-356.
- Mohammed, L., Gomaa H.G., Ragab D. and Zhu J., 2017. Magnetic nanoparticles for environmental and biomedical applications: Particuology (A review) 30, 1-14.
- Muhcu, D., 2015. Ahşap Konservasyon ve Konsolidasyonunda Nano Partiküller. (Yüksek Lisans Tezi), Orman Endüstri Mühendisliği Anabilim Dalı Orman Biyolojisi ve Odun Koruma Teknolojisi Programı İstanbul Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.
- Nadaroglu, H. Gungor A.A., Ince S. and Babagil A., 2017. Green synthesis and characterisation of platinum nanoparticles using quail egg yolk *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy* 172, 43–47.
- Nadaroglu, H., Onem H. and Gungor A.A., 2016. Green synthesis of Ce<sub>2</sub>O<sub>3</sub> NPs and determination of its antioxidant activity *IET Nanobiotechnology* doi:10.1049/iet-nbt.2016.0138. 1-9.
- Nath D. and Banerjee P., 2013. Green nanotechnology – A new hope for medical biology. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 36(3), 997-1014.
- Nguyen, N.T., Shaegh S.A.M., Kashaninejad N. and Phan D.T., 2013. “Design, fabrication and characterization of drug delivery systems based on lab-on-a-chip technology,” *Advanced drug delivery reviews*.
- Nor M. N., Lockman Z. and Razak K.A., 2016. Study of ITO Glass Electrode Modified with Iron Oxide Nanoparticles and Nafion for Glucose Biosensor Application. *Procedia Chemistry*, 19, 50-56.
- Ozkan, M., 2006. Nano Boyutlu Malzemeler. *Bormag*, <http://www.bormag.org/nano-boyutlu-malzemeler/> 07.03.2018.
- Özdemir, Ç., 2010. Farklı Nanomalzemeler ile Glukoz Biyosensörlerinin Hazırlanması ve Uygulama Potansiyellerinin Araştırılması. (Yüksek Lisans Tezi), Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyokimya Anabilim Dalı, İzmir.
- Özdoğan, E., Demir, A. ve Seventekin, N., 2006. Nanoteknoloji ve Tekstil Uygulamaları. *Tekstil ve Konfeksiyon*, 159-168.

- Özer, Y., 2008. Nanobilim ve Nanoteknoloji: Ülke Güvenliği/ Etkinliği Açısından Doğru Modelin Belirlenmesi. (Y. Lisans Tezi), Kara Hava Okulu Savunma Bilimleri Enstitüsü Teknoloji Yönetimi Anabilim Dalı, Ankara.
- Padil, V.V.T., Waclawek S. And Cernik M., 2016. Green Synthesis: Nanoparticles and Nanofibres Based on Tree Gums For Environmental Applications. *View Journal Impact*, 23(4), 533-557.
- Pan D., Chen J., Yao S., Tao W. and Nie L., 2005. An Amperometric Glucose Biosensor Based on Glucose Oxidase Immobilized in Electropolymerized Poly(*o*-aminophenol) and Carbon Nanotubes Composite Film on a Gold Electrode. *The Japan Society for Analytical Chemistry*, 21, 367-371.
- Pekdemir, M.E., 2011. Manyetik Nanopartiküller Kullanılarak Yüzeyde Güçlendirilmiş Raman Spektrometrisi ile İmmunoassay Sisteminin Geliştirilmesi. (Yüksek Lisans Tezi), Gaziosmanpaşa Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı, Tokat.
- Royal Society, 2004. Nanoscience and Nanotechnologies: Opportunities and uncertainties. The Royal Society & The Royal Academy of Engineering [https://royalsociety.org/~media/Royal\\_Society\\_Content/policy/publications/2004/9693.pdf](https://royalsociety.org/~media/Royal_Society_Content/policy/publications/2004/9693.pdf) (25.10.17).
- Saei, A.A., Dolatabati N.E.J., Marandi N.P., Abhari A. Ve Guardia M., 2013. Electrochemical biosensors for glucose based on metal nanoparticles. 42, 216-227.
- Sanaeifar N., Rabiee M., Abdolrahim M., Tahriri M., Vash D. and Tayebi L., 2017. A novel electrochemical biosensor based on Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> nanoparticles-polyvinyl alcohol composite for sensitive detection of glucose. *Analytical Biochemistry*, 519, 19-26.
- Saygı, O., ve Zan U., 2011. Nano Teknoloji ve Tıp Uygulamaları. <https://www.slideshare.net/HabipTaylan/nano-teknoloji-ve-tip-uygulamalar> (02.12.2017).
- Seru, K.L., Moremedi T., Aremu S.O. and Bahadur I., 2018. Green synthesis of iron nanoparticles using *Moringa oleifera* extracts and their applications: Removal of nitrate from water and antibacterial activity against *Escherichia coli*. *Journal of Molecular Liquids*, 256, 296-304.
- Singh P., Kim J.Y., Zhang D. And Yang C., 2016. Biological Synthesis of Nanoparticles from Plants and Microorganisms. *Trends in Biotechnology*, 34 (7), 588-599.
- Song, S., Liu, Y., Song, A., Zhao Z., Lu H. and Hao J., 2017. Peroxidase mimetic activity of Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> nanoparticle prepared based on magnetic hydrogels for hydrogen peroxide and glucose detection. *Journal of Colloid and Interface Science*, 506, 46-57.
- Stanicki D., Elst L.V., Muller R.N. and Laurent S., 2015. Synthesis and processing of magnetic nanoparticles. *Current Opinion in Chemical Engineering*, 8, 7-14.
- Şafak, Ş., 2012. Tekstilde Nanolifler, Kullanım Alanları ve Nanolif Üretim Yöntemleri. Uludağ Üniversitesi, Tekstil Mühendisliği Bölümü. [http://slideplayer.biz.tr/slide/2449956/\(29.11.2017\)](http://slideplayer.biz.tr/slide/2449956/(29.11.2017)).
- Şenarslan, D., 2017. Fenol Tayini için Yeni Bir Biyosensör Hazırlanması. (Yüksek Lisans Tezi), Gazi Üniversitesi Kimya Anabilim Dalı, Ankara.
- Tang, S.C.N. and Lo M.C.I., 2013. Magnetic nanoparticles: Essential factors for sustainable environmental applications. *Water Research*, 47 (8), 2613-2632.

- Tarhan, A.E., 2011. Sıvı Fazda Hidrojen Peroksit Tayini İçin Yeni Bir Yöntem Geliştirilmesi. (Yüksek Lisans Tezi), Marmara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Çevre Bilimleri Anabilim Dalı, İstanbul.
- Taylan, H., 2011. Savunma Alanında Nanoteknoloji. <https://www.slideshare.net/HabipTaylan/savunma-sanayisinde-nano-teknoloji> (25.11.2017).
- Tuncel, H., 2013. Nanoteknoloji ve Tıp Alanında Uygulamaları. İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, İstanbul, (590-598).
- Türemiş, M., 2010. Miyoglobinin Elektrokatalitik İndirgenmesine Dayalı 2. Nesil Biyosensör Geliştirilmesi ve H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> Tayininde Kullanılması. Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü (Yüksek Lisans Tezi), İzmir.
- Türkan, Y., 2014. İmalat İşletmelerinde Nanoteknoloji Yatırımlarının Finansal Performans Üzerine Etkileri ve Bıst Uygulaması. (Doktora Tezi), Atatürk Üniversitesi Sosyal Bilimler Enstitüsü İşletme Anabilim Dalı, Erzurum.
- Tüylek, Z., 2017. Biyosensörler ve Nanoteknolojik Etkileşim. BEU Journal of Science (Review Article), 6(2), 71-80.
- Uğurlu, E., 2010. Hidrojen Depolanmasında Nanoteknoloji Kullanımının İncelenmesi. (Yüksek Lisans Tezi), Kırıkkale Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Makine Anabilim Dalı, Kırıkkale.
- Ulusal Gıda Kompozisyon veri tabanı (TURKOMP) <http://www.turkomp.gov.tr/database>, 10.04.2018.
- Ulutepe, Çağrı., 2010. Üretim İşletmelerinde Nanoteknoloji Kullanımı ve Üretim Maliyetleri Üzerine Etkileri. (Y. Lisans Tezi), Marmara Üniversitesi Sosyal Bilimler Enstitüsü İşletme Anabilim Dalı Muhasebe Finansman Bilim Dalı, İstanbul.
- Ustabaş. S., 2010. Glukoz Tayini İçin Yeni Bir Biyosensör Hazırlanması. (Yüksek Lisans Tezi). Gazi Üniversitezi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- Uzumer, T.Y., 2015. Kanda Glukoz Tayini İçin Yeni Bir Biyosensör Hazırlanması (Yüksek Lisans Tezi). Gazi Üniversitezi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- Wang, J., 2000. Review; Glucose Biosensors: 40 Years of Advances and Challenges. *Elektroanalysis*, 13(12), 983-988.
- Wei H. and Wang E., 2008. Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> Magnetic Nanoparticles as Peroxidase Mimetics and Their Applications in H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> and Glucose Detection. *Analytical Chemistry*, 80 (6), 2250–2254.
- Whitaker, J.R., 1994. The Need for Biosensors in the Food Industry and Food Research. *Food biosensor analysis*, Wagner, G. and Guilbault G.G. Universty of Colifornia, Davis, California, 13-20.
- Yalçın, K.A., 2010. Nanoteknoloji ve Gıda Sanayinde Uygulama Alanları. (Y. Lisans Tezi), Namık Kemal Üniversitesi Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Tekirdağ.
- Yalçın, A., 2014. Biyosensör Teknolojilerinde Kullanılan Nanomalzemeler. Ege Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, İzmir. <https://www.slideshare.net/MehmetAliYalgn/biyosensr-teknolojilerinde-nanomalzemler> (24.12.2017).
- Yang, L., Ren X., Tang F. and Zhang L., 2009. A practical glucose biosensor based on Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> nanoparticles and chitosan/naion composite film. *Biosensors and Bioelectronics*, 25 (4), 889-895.
- Yavuz, T., 2016. Development Of A New Spectrophotometric Method For The

- Determination Of Hydrogen Peroxide. (Msc Thesis), Ege Universty Graduate School Of Naadute School Of Natural and Applied Science, İzmir.
- Yüksel, N.Y., 2011. Gıda Ve Tarım Sektöründe Nanoteknoloji. Tarımsal Ekonomi ve Politika Geliştirme Enstitüsü, 1303–8346 /2, <http://www.tepge.gov.tr/dosyalar/yayinlar/724233160b1f421db5c87e2e45d37cec.pdf> (14.12.2017).
- Zaitsev, V.S., Filimonov D.S., Presnyakov I.A., Gambino R.J. and Chu B., 1999. Physical and Chemical Properties of Magnetite and Magnetite Polymer Nanoparticles and Their Colloidal Dispersions. *Journal Colloid Interface Sci.*, 212, 49-57.
- Zhang Y. and Wei Q., 2016. The role of nanomaterials in electroanalytical biosensors: A mini review. *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 781, 401-409.
- Zhao, Y., Huo D., Bao J., Yang M., Chen M., Hou J., Fa H. and Hou C., 2017. Biosensor based on 3D graphene-supported Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> quantum dots as biomimetic enzyme for in situ detection of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> released from living cells. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 244, 1037-1044.

## ÖZGEÇMİŞ

1990 yılında Erzurum’da doğdu. İlk, orta ve lise tahsilini Erzurum’da tamamladı. 2009 yılında girdiği Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü’nden 2014 yılında mezun oldu. Şubat 2015 yılında Erzurum Bölge Eğitim ve Araştırma Hastanesi’nde Gıda Mühendisi olarak çalışmaya başladı. Haziran 2015 yılında Erzurum Bölge Eğitim ve Araştırma Hastanesi’nde ki görevinden ayrılarak Atatürk Üniversitesi Eğitim ve Araştırma Hastanesi’nde Gıda Mühendisi olarak çalışmaya başladığı görevini sürdürmektedir. Aynı yıl Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü Nano Bilim ve Nano Mühendislik Anabilim Dalı, Yüksek Lisans eğitimine başladı ve halen devam etmektedir.