



**T.C.
DÜZCE ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

KİMYA ANABİLİM DALI

**TERBİYUM/EUROPIYUM ŞELATLI ALTIN NANOPARÇACIKLAR
KULLANARAK DİPİKOLİNİK ASİDİN FLORESANS YÖNTEMİ İLE
BELİRLENMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

MERT DÖNMEZ

OCAK 2016

DÜZCE

KABUL VE ONAY BELGESİ

Mert DÖNMEZ tarafından hazırlanan ‘Terbiyum/Europiyum Şelatlı Altın Nanoparçacıklar Kullanarak Dipikolinik Asidin Floresans Yöntemi İle Belirlenmesi’ isimli lisansüstü tez çalışması, Düzce Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu’nun tarih ve sayılı kararı ile oluşturulan jüri tarafından Kimya Anabilim Dalı’nda Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Üye
(Tez Danışmanı)
Doç. Dr. Benan Kılbaş
Düzce Üniversitesi

Üye
Doç. Dr. Ümit Ergun
Düzce Üniversitesi

Üye
Yrd. Doç. Dr. M. Deniz Yılmaz
Konya Gıda ve Tarım Üniversitesi

Tezin Savunulduğu Tarih : 06 Ocak 2016

ONAY

Bu tez ile Düzce Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu Mert DÖNMEZ’in Kimya Anabilim Dalı’nda Yüksek Lisans derecesini almasını onamıştır.

Prof. Dr. Haldun MÜDERRİSOĞLU
Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün aşamalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını beyan ederim.

06 Ocak 2016

(İmza)

Mert DÖNMEZ



Sevgili Anneme

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans öğrenimim ve bu tezin hazırlanma süresince gösterdiği her türlü destek ve yardımdan dolayı çok değerli hocam Doç. Dr. Benan Kılbaş'a en içten dileklerle teşekkür ederim.

Bu çalışma boyunca yardımlarını ve desteklerini esirgemeyip bilgi birikimlerini benimle paylaşan sayın M. Deniz Yılmaz, Ümit Ergun ve Ece Ergun hocalarıma teşekkür ederim. Maddi veya manevi olarak hep yanımda olan sevgili anneme ve supramoleküler kimya laboratuvarı çalışma arkadaşlarıma sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Bu tez çalışması, Tübitak 114Z088 numaralı proje ile desteklenmiştir.

06 Ocak 2016

Mert Dönmez

İÇİNDEKİLER

Sayfa

TEŞEKKÜR SAYFASI.....	i
İÇİNDEKİLER.....	ii
ŞEKİL LİSTESİ.....	iv
ÇİZELGE LİSTESİ.....	vi
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	vii
ÖZET	1
ABSTRACT	2
EXTENDED ABSTRACT.....	3
1.GİRİŞ.....	5
1.1. ALTIN NANOPARÇACIKLAR	5
1.1.1. Altın Nanoparçacıkların Gelişimi	5
1.1.2. Altın Nanoparçacıkların Sentez Yöntemleri.....	6
1.1.2.1. Sitrat İndirgemesi	7
1.1.2.2. Brust-Schiffrin Metodu	8
1.2. FLORESANS SPEKTROSKOPİSİ	11
1.3. ENDOSPOR (SPOR)	15
2. MATERYAL VE YÖNTEM.....	17
2.1. ALTIN NANOPARÇACIKLARININ SENTEZİ.....	17
2.1.1. Amin-Tiyol Fonksiyonlu Altın Nanoparçacıkların Sentezi	18
2.1.2. Şelatlaştırıcı Yapının Altın Nanoparçacıklara Eklenmesi.....	19
2.1.3. Lantanit Gruplarının Altın Nanoparçacıklarla Kompleksleştirilmesi..	19
2.1.3.1. Europiyum Kompleksli Altın Nanoparçacıkların Sentezi	19
2.1.3.2. Terbiyum Kompleksli Altın Nanoparçacıkların Sentezi.....	20
2.2. B -DİKETON (4,4,4 – TRİFLORO – 1 - (2-NAFTİL) - 1,3 - BUTANDİON)	
KOMPLEKSLİ ALTIN NANOPARÇACIKLARIN SENTEZİ.....	20

2.3. FLORESANS ÖLÇÜMLERİ İÇİN DİĞER ÇÖZELTİLERİN HAZIRLANMASI	20
3. BULGULAR VE TARTIŞMA.....	22
3.1. ALTIN NANOPARÇACIKLARIN SENTEZİ	22
3.2. ALTIN NANOPARÇACIKLARIN KARAKTERİZASYONLARI	24
3.2.1. TEM Analizleri	24
3.2.2. Zeta – Potansiyel Ölçümleri	28
3.3. FLORESANS ÖLÇÜMLERİ	30
4.SONUÇLAR VE ÖNERİLER	44
5. KAYNAKLAR.....	45
ÖZGEÇMİŞ.....	49

ŞEKİL LİSTESİ

	<u>Sayfa No</u>
Şekil 1.1. Lycurgus Kupası	6
Şekil 1.2. İçten dışa oluşum metodu	7
Şekil 1.3. Sitrat indirgenme basamağı	8
Şekil 1.4. Brust-Schiffirin sentez basamağı	9
Şekil 1.5. Diğer nanoparçacık sentez yöntemleri	10
Şekil 1.6. Jablonski diyagramı	12
Şekil 1.7. Floresans etki gösteren kompleksin oluşması	13
Şekil 1.8. DPA –Tb Floresans etkileşimi	14
Şekil 1.9. DPA-Tb kompleksinin renk değişimi	14
Şekil 1.10. Bakteri endosporu	15
Şekil 2.1. Tiyol ligandı ile altın nanoparçacık oluşumu	18
Şekil 2.2. EDTA grubu eklenmiş nanoparçacıklar	19
Şekil 2.3. Lantanit ile Kompleks oluşturmuş nanoparçacıklar	19
Şekil 2.4. β -diketon ile kompleksleştirme	20
Şekil 3.1. Altın nanoparçacıkların sentezindeki renk değişimi	22
Şekil 3.2. Altın çekirdeğinin ligand ile kaplanması	23
Şekil 3.3. Tiyol ligandlı altın nanoparçacıkların TEM görüntüleri	25
Şekil 3.4. AuNP-EDTA TEM görüntüleri	26
Şekil 3.5. AuNP-EDTA + Eu (üst) ve AuNP-EDTA + Tb (alt) TEM görüntüleri	27
Şekil 3.6. DPA eklendiğinde görülen renk değişimleri	30
Şekil 3.7. Altın nanoparçacık-DPA floresans etkileşimleri	30
Şekil 3.8. mM DPA/Eu floresans spektrum grafiği	31
Şekil 3.9. μ M DPA/Eu floresans spektrum grafiği	32
Şekil 3.10. DPA/Eu kompleksinin kalibrasyon eğrisi	33
Şekil 3.11. mM DPA/Tb (üst) ve μ M DPA/Tb (alt) floresans spektrum grafiği	34
Şekil 3.12. DPA/Tb kompleksinin kalibrasyon eğrisi	35

Şekil 3.13.	DPA ile lantanitin elektron yoğunluk dağılımları	36
Şekil 3.14.	Kompleks oluşturabilecek diğer ligandlar	37
Şekil 3.15.	Farklı ligandların seçiciliklerin kıyaslanması	37
Şekil 3.16.	Farklı dikarboksilik asitlerin AuNP-Eu ile kompleksleşmesi	38
Şekil 3.17.	Dikarboksilik Asitlerin karşılaştırılması	39
Şekil 3.18.	Ligand yer değiştirme şeması	40
Şekil 3.19.	350 nm'de β -diketon ile DPA ligand değiştirme grafiği	41
Şekil 3.20.	280 nm'de β -diketon ile DPA ligand değiştirme grafiği	42



ÇİZELGE LİSTESİ

		<u>Sayfa No</u>
Çizelge 2.1.	Nanoparçacık Oluşumu İçin Yapılan Konsantrasyon Denemeleri	17
Çizelge 3.1.	Lantanit Şelatlı Altın Nanoparçacıkların Zeta-Potansiyel Sonuçları	28



SİMGELER VE KISALTMALAR

AuNP	Altın nanoparçacık
DPA	Dipikolinik asit
Eu	Europiyum
Tb	Terbiyum
β -diketon	(4,4,4-Trifloro-1-(2-naftil)-1,3-butandion)
TEM	Transmisyon Elektron Mikroskobu
mM	Milimolar
μ M	Mikromolar
mV	Milivolt
eV	Elektronvolt

ÖZET

TERBİYUM/EUROPIYUM ŞELATLI ALTIN NANOPARÇACIKLAR KULLANARAK DİPİKOLİNİK ASİDİN FLORESANS YÖNTEMİ İLE BELİRLENMESİ

Mert DÖNMEZ
Düzce Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Anabilim Dalı
Yüksek Lisans Tezi
Danışman: Doç. Dr. Benan KILBAŞ
Ocak 2016, 61 sayfa

Bakteri sporları en zor yaşam koşullarında bile hayatlarını sürdürebilen organizmalardır. Özellikle patojen bakterilerin sporları sağlık, gıda, biyoterörizm ve uzay araştırmaları gibi birçok alanda dikkat edilmesi gereken türlerdir. Bunların tehlike sınırlarının altında belirlenmesi ve miktarlarının tayini oldukça önemlidir. Floresans sensörler, floresans olmayan iyonların ya da biyomoleküllerin tespitinde oldukça sık kullanılmaktadır. Bu metod, floresans ışık yayan moleküllerin kovalent olmayan etkileşimlerle iyonlara veya biyomoleküllere bağlanması ile birlikte molekülün spektral özelliklerinin değişmesi prensibine dayanır. Lantanit iyonu bazlı floresans spektroskopisi, lantanitlerin üstün özelliklerinden dolayı son yıllarda büyük ilgi görmektedir. Nanoparçacıklar, son yıllarda boyutlarına bağlı optik, elektriksel, fiziksel ve kimyasal özellikleri nedeniyle sensör ve ilaç taşınım/salınım uygulamalarında oldukça fazla kullanılmaktadırlar. Bu anlamda birçok nanoteknolojik yapı olmasına rağmen altın nanopartiküller çok özel bir yer tutmaktadır. Bu çalışmada, modüler bir nanosensör sistemi oluşturularak istenilen dalga boyunda belirleme yöntemi geliştirilip hızlı, kolay ve ucuz bir şekilde, patojenik bakteri sporlarında bulunan dipikolinik asidin, floresans özellikleri olan nanosensörler aracılığıyla belirlenmesi ve miktarının tayin edilmesi sağlanmıştır. Böylece analitik olarak belirleme ortamına bir iç standart ekleme işlemi ortadan kaldırılıp, kendi kendine kalibre olan, yüksek belirleme hassasiyetinde bir nanosensör sistemi oluşturulmuştur.

Anahtar sözcükler: Bakteri sporları, Dipikolinik asit, Altın nanoparçacıklar, Lantanitler, Floresans, Nanosensörler.

ABSTRACT

FLUORESCENT DETECTION OF THE DIPCOLINIC ACID AS A UNIQUE BIOMARKER OF BACTERIAL SPORES USING TERBIUM/EUROPIUM CHELATED GOLD NANOPARTICLES

Mert DÖNMEZ

Duzce University

Graduate School of Natural and Applied Sciences, Department of Chemistry

Master of Science Thesis

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Benan KILBAŞ

January 2016, 61 pages

Bacterial spores are structures produced by bacterial cells in order to survive harsh conditions. Detecting bacterial spores and determining their concentration are very useful in applications from space science to national security, as well as health and food industry. Detection of endospores below the dangerous level and determination of their concentration are very important. Fluorescent sensors are used for detection biomolecules or non-fluorescent ions. This method is based on spectral changes of molecules which has a interaction with biomolecules or ions. In recent years fluorescent spectroscopy of lanthanides has been used for these methods. Gold nanoparticles are being currently used in nanobiotechnology and nanomedicine because of their biocompatibility and optoelectronic properties. In this thesis, gold nanoparticles, active ligands and their lanthanide complexes were synthesized and used for the fluorescent detection of dipicolinic acid, a unique biomarker of bacterial spores. We designed lanthanide chelated modified gold nanoparticles to use for sensing and detecting dipicolinic acid.

Keywords: Bacterial spores, Dipicolinic acid, Gold nanoparticles, Lanthanides, Fluorescence, Nanosensors.

EXTENDED ABSTRACT

FLUORESCENT DETECTION OF THE DIPICOLINIC ACID AS A UNIQUE BIOMARKER OF BACTERIAL SPORES USING TERBIUM/EUROPIUM CHELATED GOLD NANOPARTICLES

Mert DÖNMEZ

Duzce University

Graduate School of Natural and Applied Sciences, Department of Chemistry

Master of Science Thesis

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Benan KILBAŞ

January 2016, 61 pages

1. INTRODUCTION:

Gold nanoparticles are one of the common nanomaterials which used different kind of fields. It can be used for delivering drugs, bindings biomolecules, detecting DNA and sensing molecules. Some bacterial spores are dangerous for humans. Detecting these bacterial spores which are extremely hazardous for health and food industry can save our life. All of the bacterial spores mainly contain dipicolinic acid.

Fluorescence spectroscopy is cheaper and quicker than other analysis methods. It can be easily useable for detecting molecules. Dipicolinic acid-lanthanide chelates have luminescence properties. Using this features, nanosensor systems provides unique analytical method which can detect dipicolinic acid at low concentrations.

2. MATERIAL AND METHODS:

Modified gold nanoparticles were synthesized for detecting and sensing purposes. Amine-thiol ligands were attached to gold nanocore for stabilize and determine nanoparticles sizes. In second step chelating groups were added to gold nanoparticles. Those chelate groups provide interaction with lanthanides. Both europium and terbium were complexed with gold nanoparticles. The resulting complexes were used to investigate and to detect dipicolinic acid by fluorescence spectroscopy.

3. RESULTS AND DISCUSSIONS:

Characterization of synthesized gold nanoparticles was performed by Transmission Electron Microscopy (TEM) and zeta-potential analysis. Fluorescence measurements were performed with different concentrations of dipicolinic acid. We also made comparisons with different dicarboxylic acids to see if our gold nanoparticles acted selectively for dipicolinic acid. The results showed us that our lanthanide chelated gold nanoparticles were sensitive and selective for dipicolinic acid. At last, we made ligand displacement experiments with dipicolinic acid/ (4,4,4-Trifluoro-1-(2-naphthyl)-1,3-butandione). This experiment proved strong interactions with dipicolinic acid with lanthanides.

4. CONCLUSION AND OUTLOOK:

In this study, lanthanide chelated gold nanoparticles were synthesized and used for detecting dipicolinic acid via fluorescence spectroscopy. The precision of the results was shown fluorescence method can be used as sensor for dipicolinic acid. With different chemical modifications of gold nanoparticles, novel nanosensor systems can be designed for sensing other molecule types in the future.

1.GİRİŞ

1.1. ALTIN NANOPARÇACIKLAR

1.1.1. Altın Nanoparçacıkların Gelişimi

Antik zamanlardan bu yana altın birçok alanda kullanılmaktadır. Bilimde ise son yıllarda hakkında yapılan yayınlar artmaktadır. Özellikle nanoteknolojinin gelişmesi ile nanoparçacıklar ve kendiliğinden oluşabilen mono yüzeylerde altının kullanım alanı artmıştır.[1] Altın nanoparçacıklar (AuNP) ayrıca altın kolloitler olarakta literatürde yer almaktadır. Altın nanoparçacıklar geçiş metalleri içerisinde en kararlı metal nanoparçacıkları olup, malzeme bilimi dalında farklı özelliklere sahip materyallerle kolay ve kararlı bileşikler oluşturması yönünden önemlidir. Bu özelliklerinin yanı sıra parçacıkların boyutuna göre elektriksel, manyetik, optik davranışlarının değişmesi ve sentezlerde katalitik etki göstermesi kullanım alanlarının genişlemesini sağlamıştır.[2-5]

21. Yüzyılda nanoteknolojik atılımların kilit noktası haline gelmesi bu özelliklerinden kaynaklanmaktadır. İlk olarak topraktan çıkarılıp işlenmesi M.Ö. 5. Yüzyılda Bulgaristan'da başlayıp, milattan sonra antik Mısırda işlenme miktarı 10 tona yaklaşacak şekilde kullanılmıştır. [6] Kolay işlenip şekil verilebildiğinden Mısır ve Çin'de heykel, lahit gibi eserlerin yapımında yer almıştır. Sadece estetik açıdan kullanılmış olmasalar da altının özelliklerinden dolayı günümüze ilk günkü haliyle aktarılmıştır. Eski çağlarda cama kırmızı rengini vermek için kullanılan koloidal altın, günümüzde de bu işlemlerde kullanılmaktadır. Belki en meşhur örneği "Lycurgus Kupası" dır. Bu kupa ışığı direk geçirdiğinde kırmızı, yansıttığında ise yeşil renk almaktadır. Koloidal altınla işlenmiş bu antik Roma döneminden kalma eser bize nanoparçacık boyutunda aslında altının farklı fotofiziksel özellikler gösterebildiğinin kanıtıdır. [7-12]



Şekil 1.1. Lycurgus Kupası

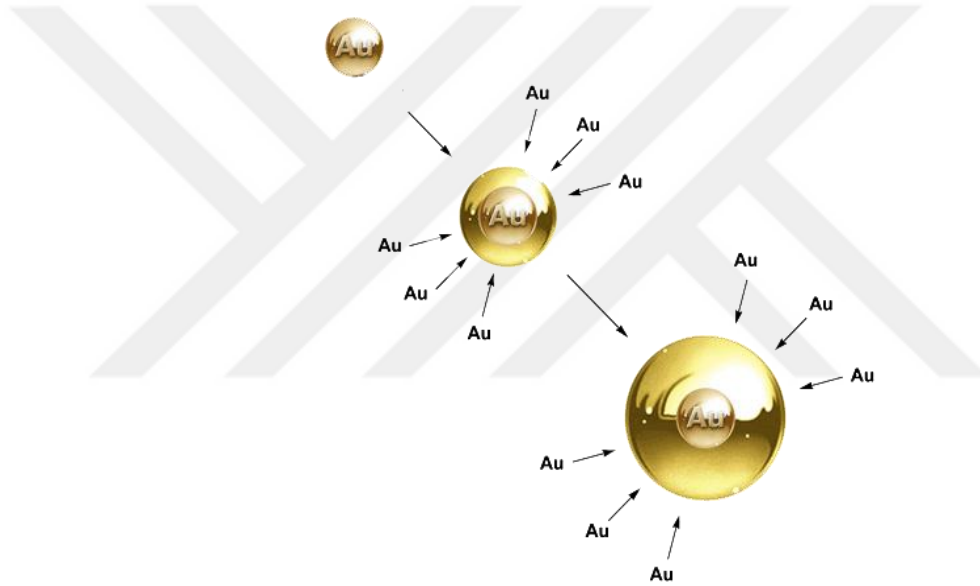
Orta çağlarda ise koloidal altın çözeltileri kalp ve damar hastalıkları, dizanteri, epilepsi ve tümör gibi hastalıkların tedavisinde kullanılan kuvvetli bir ilaç halini almıştır. 1618 de filozof ve medikal doktor olan Francisci Antonii koloidal altınla ilgili detaylı bir kitap yayınlamıştır.[13] Bu kitap koloidal altın ile ilgili ilk yayın olarak bilinmektedir. Kitaptaki verilerde farklı miktarlar kullanılarak hazırlanan koloidal altın çözeltilerinin farklı hastalıklarda nasıl kullanılacağı anlatılmaktadır. 1676 da Alman kimyager Johann Kunckels ikinci bir kitap yayınlamıştır. Kitapta koloidal altından hazırlanan pembe renkli çözeltinin içilebilir olduğunu ve bu sayede bazı hastalıkları içeriden tedavi ve bu parçacıkların gözle görülemeyecek kadar ufak olduğundan bahsetmiştir. Yine bu dönemlerde renkli camların yapımında “Cassius Moru” olarak adlandırılan renk paletini oluşturmak için altın nanoparçacıklar kalay dioksit ile tepkimeye sokulmuş, konsantrasyonlarının farkı sayesinde farklı tonlarda mor renk elde edilmiştir. 1718 yılında koloidal altın adıyla Hans Heinrich Helcher tarafından yayınlanan tezde kaynatılmış nişasta ile altın solüsyonu karışımından kararlı ve içilebilir ilaçlar hazırladığını açıklamıştır. Bu kullanım alanı 18. Yüzyılda giderek yaygınlaşmış, içilebilir koloidal altın çözeltileri satılmıştır. 1794’te Mrs. Fuhlame yayınladığı kitapta koloidal altın ile ipek boyama işlemlerinin kolaylığından bahsetmiştir.[14-19]

1.1.2. Altın Nanoparçacıkların Sentez Yöntemleri

1818’de Jeremias Benjamin Richters koloidal altın çözeltilerinin farklı renklerde olmasını eklenen altın miktarına ve bunların çözünmeleriyle orantılı olarak değiştiğine, hatta çözünmenin gerçekleşmediği ortamlarda topaklaşmanın olma sebebinin altının

parçacık boyutundan kaynaklandığını açıklamıştır. 1857'de Faraday iki fazlı bir sistem kullanarak kloroaurat (AuCl_4) çözeltisini karbon disülfür (CS_2) ve fosfor ile tepkimeye sokup altının indirgenerek kolloidal hale geçtiğini belirtmiştir.[20-22] Araştırmasının devamında ince filmlere kolloidal altın çözeltileri kaplayıp renk değişimlerini incelemiştir. Orta çağda ilaç olarak kullanılan kolloidal altın günümüzde de ilaç kimyasında önemli bir yer almaktadır.[23]

Birden çok kolloidal altın sentez metodu bilinmektedir. Temelde iki yol izlenerek elde edilmektedir. İlk metot içten dışa, ikinci metot ise dıştan içe olarak tanımlanabilir. İçten dışa sentez yönteminde altın(III) tuzları indirgeme ajanları ve kararlılık kazandıracak farklı moleküller varlığında gerçekleşmektedir.[24-26]



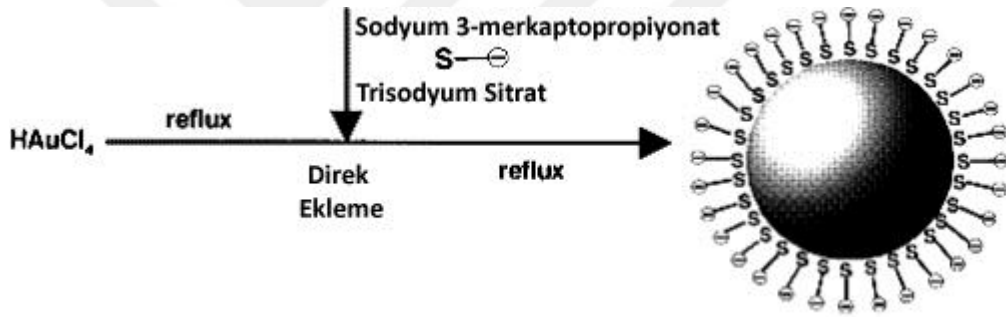
Şekil 1.2. İçten dışa oluşum metodu

1.1.2.1. Sitrat İndirgemesi

Altın(III) türevlerinin indirgenmesi ile oluşturulan altın nanoparçacıklarda kullanılan en genel yöntemdir. Uzun zamandır kullanılan bu metot 1951 yılında Turkevitch tarafından bulunan tetrakloroaurat iyonlarının sulu çözeltisine sitrat indirgen ajanı eklenerek sentezlenmesidir. Sulu ortamda HAuCl_4 çözeltisinin sitrat iyonları ile indirgenmesi prensibine dayanır. Fakat parçacıkların homojen olarak oluşması ve topaklanması engellenememektedir. Ortalama 20 nm boyutlarda nanoparçacıklar elde edilmesine olanak sağlayan bu metot sonralarda konsantrasyon denemeleri yapılarak optimize edilmiştir.[26-29]

Kontrollü ve kararlı altın nanoparçacıklar sentezlemek için 1993 yılında Mulvaney ve Giersig alkantiyoller kullanmıştır. Altın ve kükürt arasındaki yumuşak karakterli etkileşimler oluşan parçacığı kararlı kıldığı gibi kullanılan alkantiyol zincirinin uzunluğu da parçacıkların topaklanmasını engellemiştir. Altın tuzunun trisodyum sitrat tuzuna olan konsantrasyon oranı üzerinde değişiklikler yapılarak 6 nm ile 147 nm arasında altın nanoparçacıklar oluşturabildiği literatürde belirtilmiştir. Ayrıca nanoparçacık yüzeyinin modifikasyonunda da kullanılan genel yöntemlerden biridir. 3-merkaptopropiyonat kullanılarak tiyol modifiyeli altın nanoparçacıklarda elde edilebilmektedir.[30]

Kullanılan ligandın, sitrat tuzunun ve altın tuzunun konsantrasyonu ayarlanarak parçacık boyutu istenilen büyüklüğe ayarlanabilmektedir.



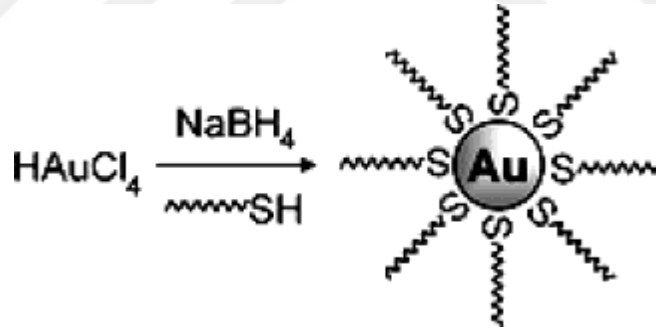
Şekil 1.3. Sitrat indirgenme basamağı

1.1.2.2. Brust-Schiffrin Metodu

En popüler olan Brust-Schiffrin metodu Faraday'ın iki-faz sisteminden esinlenerek oluşturdukları yöntemdir. Çok düşük konsantrasyonlarda ve boyutları kontrol edilebilen, termal olarak kararlı, organik çözücülerde çözünebilen ve saklanabilen altın nanoparçacıklar sentezlemişlerdir. Altın nanoparçacıklar tetrakloroaurat iyonlarını sodyum borhidrür ile tiyol ve tetraoktilamonyumbromür (TOAB) faz transfer ajanının bulunduğu ortamda indirgeyerek sentezlenir. Altın nanoparçacıkların alkantiyol türevleri kullanılarak kararlı hale getirilebilmesinden sonra farklı zincir uzunluklarının oluşan nanoparçacığın boyutuna etki ettiği gözlemlenmiştir. Termal ve havaya karşı kararlı altın nanoparçacıkların sentezlenmesi için kullanılan bu metotta ilk olarak altın

metali indirgen sayesinde 1.5 – 5.2 nm'ler arasında olacak şekilde gruplandırılır. Organik fazda bulunan alkantiyol ligandı ile faz transfer katalizörü sayesinde etkileşime girer. Bu sayede aniden tepkimeye girmediğinden çökme veya topaklanma görülmez. Kükürt ile altın arasındaki etkileşimin kuvvetli olması faz arasındaki geçişlerde ürünün bozulmasını engellemektedir.[31-35]

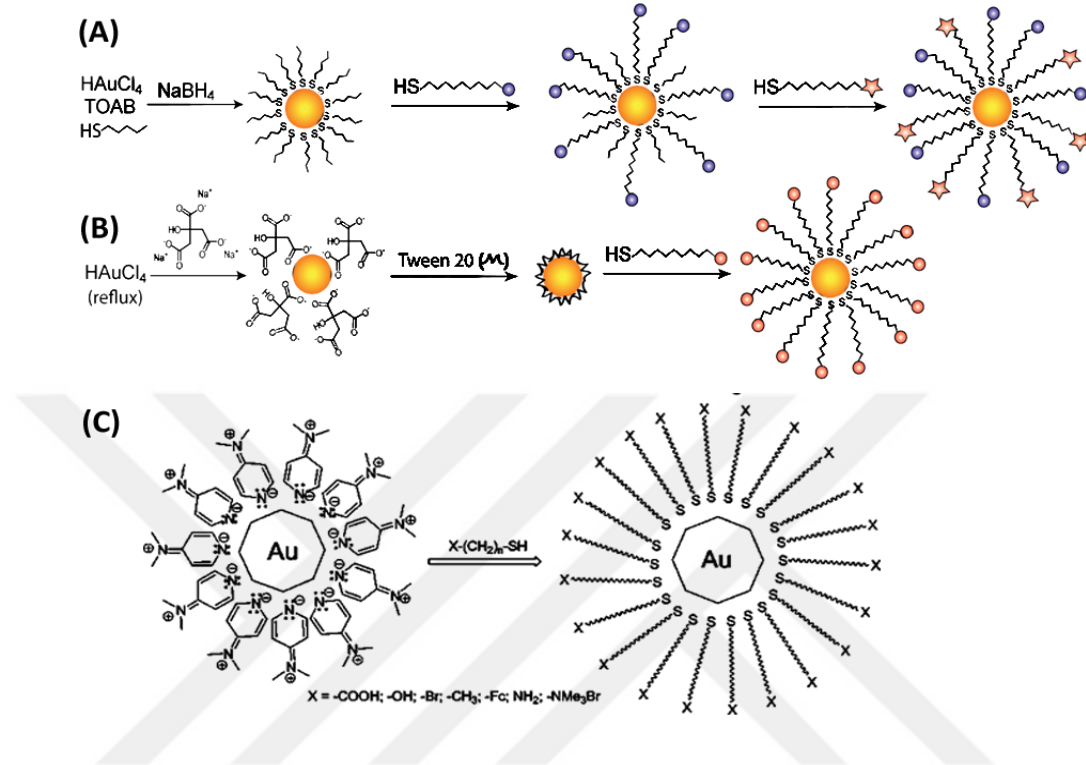
Tiyol/altın oranı değiştirildiğinde ise yüksek konsantrasyonlarda küçük çekirdekli yüzeyi tamamen kaplanmış nanoparçacıklar elde edilebilirken, düşük konsantrasyonlarda büyük çekirdekli parçacıklar elde edilebilmektedir. Küçük çekirdekli oluşan nanoparçacıkların bir süre sonra topaklandığı ve karakteristik özelliklerini yitirdikleri saptanmıştır. Yöntemin tek dezavantajı indirgeme ajanının fazlası ortamdan uzaklaştırılmadığından altın nanoparçacıkları kontamine etmesidir. Bu faz transfer ajanından kurtulmak için metot tek fazlı sisteme entegre edilmiştir. Su ve etanol, metanol gibi alkollerin varlığında çözünen altın tuzları ve suda çözünebilen ligandlar sayesinde altın nanoparçacıklar kolaylıkla elde edilmektedir. Tetrahidrofuran (THF) varlığında ise indirgen ajan lityum borhidrür (LiBH_4) kullanılarak organik çözücülerde çözünebilen altın nanoparçacıklar sentezlenebilmektedir. [14]



Şekil 1.4. Brust-Schiffrin sentez basamağı

Revize edilen metot iki faz sisteminden tek faz sistemine dönüştürülerek daha kararlı ve farklı çeşitlerde fonksiyonel gruplar kullanarak altın nanoparçacıklar elde edilebilmesine olanak sağlamıştır. Tek faza düşürülen metot hem faz transfer katalizörlerinden kaynaklanan safsızlıklardan kurtulmuş olup, hem de oda koşullarında kolayca sentez yapılabilecek bir hale dönüşmüştür. [7]

Ayrıca bu metotta disülfidler, tritiyoller, tiyoeterler, politiyoeterler, fosfinler, aminler ve karboksilatlar altın nanoparçacıkları kararlı ve modifiye hale getirmek için kullanılabilir.[21]



Şekil 1.5. Diğer nanoparçacık sentez yöntemleri

Kimyasal metotlarla Au(III) 'ü Au(0) 'a indirgemenin dışında fiziksel metotlar da kullanılabilir. Fotokimya, Sonokimya, Radyoliz ve Termoliz metotları ile altın tuzları UV ışınları, yakın IR lazerleri, ultrasonik dalgalar ve spesifik radikaller gibi zor koşullar altında tutularak altın nanoparçacık haline getirilebilmektedir. [6]

Bu içten dışa metotların hepsi sayesinde parçacık boyutunun kontrolü, uyarlanabilen reaksiyon koşulları, fonksiyonlu ligandlar içermesi gibi farklı özelliklere sahip altın nanoparçacıklar elde edilebilir.

Avantajların yanında bahsedilen sentez metotlarında maddeleri safsızlıklara karşı korumak zor olmakla beraber reaksiyon koşullarının hassaslığı, ekipmanın dizaynı ve teknolojik açıdan risklerin bulunmasından dolayı büyük ölçeklerde çalışılmamaktadır.

Dıştan içe metotta ise büyük boyutlardaki altından aşındırma, parçalama ve piroliz yöntemleri sayesinde makro veya mikro boyuttan nano boyutlara geçilebilmektedir. Bu

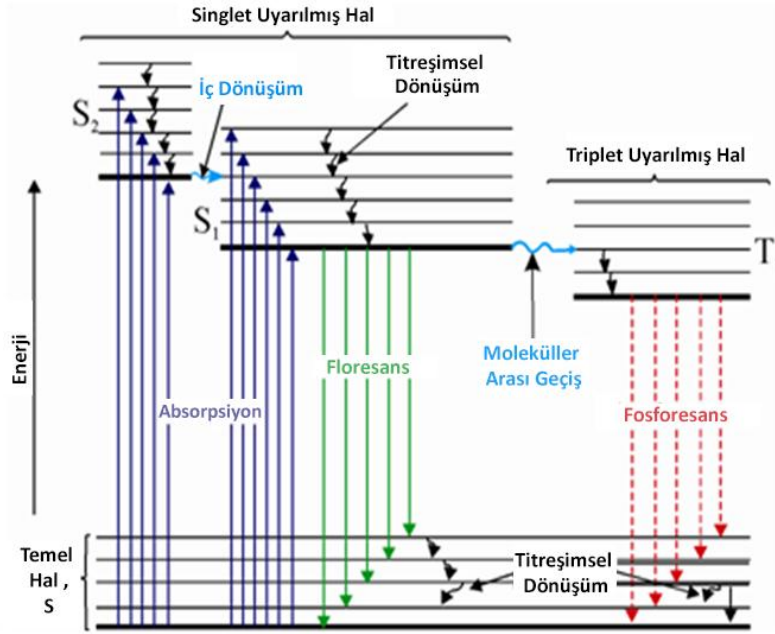
işlemlerde metal yüksek sıcaklıklarda işleme tabi tutulmaktadır. Büyük ölçeklerde çalışmaya olanak sağlayan bu metotlar altın ile etkileşime girecek ligandların kuvvetli bağlar kurmasına gerek duyar. Bu dezavantajdan dolayı çeşitlendirme yapılması içten dışa metottaki kadar kolay olmamaktadır. [16]

Sentez metotları incelenip çalışmamızda kullanmak üzere seçilen metodun Brust-Schiffirin metodu olduğuna karar verilmiştir. Bu metodu kullanan literatür örnekleri dikkate alınmıştır. Chen ve ekibi tarafından yapılan çalışmada gen taşımada görev alabilecek katyonik altın nanoparçacıkların sentezi yapılmıştır. Uygun boyutlarda ve fonksiyonlarda altın nanoparçacık sentezlemek için başlangıç maddelerinin konstantrasyonlarının önemli rol aldığı, maddeler arasında belirli bir oranın bulunduğu ve bu oranın dışında altın nanoparçacıkların oluşmadığı veya topaklanarak işlevselliklerini yitirdikleri tespit edilmiştir. Elde edilen bu bilgiler sayesinde çalışmamızın laboratuvar ortamında yapılacak olmasından dolayı küçük ölçeklerde kolayca çalışılabilecek, tek fazlı sistem sayesinde yabancı maddelerden uzak bir şekilde sentezlenebilecek bir çalışma yolu izlenmiştir. [4]

1.2. FLORESANS SPEKTROSKOPİSİ

Florofoz özellik gösteren maddelerin seyreltilmiş çözeltilerinin üzerinden ölçüm yapılmasına olanak sağlayan bir analiz yöntemidir. Dalga boyuna karşılık o dalga boyundaki floresans şiddetini ölçmeye dayanır. Florofoz maddelere gönderilen ultraviyole ışın molekülleri uyarır. Uyarılan moleküllerin elektronları bir üst seviyeye geçer. Her molekül için gereken enerji farklı olduğundan florofoz maddeleri spesifik dalga boylarında yapılan ölçümlerle ayırt edebilmek mümkündür. [23]

Uyarılmış molekül birden farklı yöntemle tekrar temel hale gelmektedir. En kolay ve kısa olan yöntemler molekülün titreşmesiyle enerjinin salınması veya ısı enerjisine dönüştürüp bulunduğu ortamı ısıtmasıdır. Bu yolların dışında farklı bir yol izlenirse molekül floresans veya fosforesans özellik göstermektedir denilebilir.



Şekil 1.6. Jablonski diyagramı

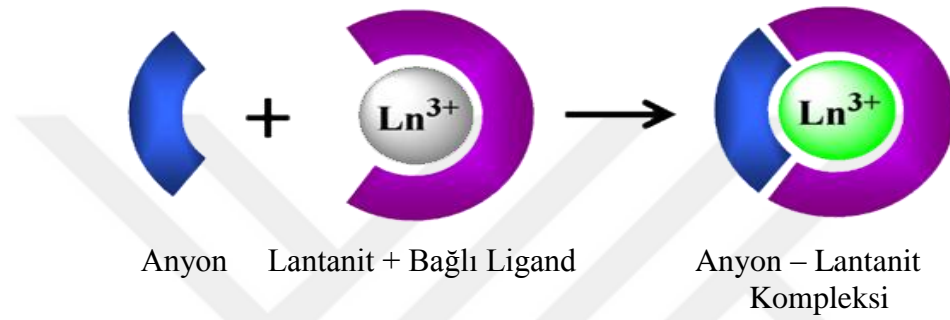
Uyarılan elektronlar emdiği enerji miktarına göre temel seviyeden singlet uyarılmış haldeki seviyelere (S_1 veya S_2) çıkar. Singlet uyarılmış haldeki alt enerji seviyelerine çıkan elektronlar bu fazla enerji yükünü diğer alt enerji seviyelerine inerken titreşerek üzerinden atar. S_2 de bulunan bir elektron titreşerek ana seviyeye geldiğinde S_1 singlet hale geçebilme olanağına sahip olur. Bu geçişin olabilmesi için molekülün enerji seviyelerinin birbirine yakın veya S_1 seviyesinin daha düşük enerjide olması gerekir. Elektronlar bu iç dönüşümü yaparak uyarılmış S_1 seviyesine geçtiklerinde enerjilerinin bir kısmını daha boşaltmış olurlar. Bu seviyenin herhangi bir yerine geçen elektronlar daha sonra temel hale yani S_0 seviyesine titreşerek dönebilirler. Bu S_0 seviyesine geçişte yaydıkları enerji dalgalarına temel olarak floresans denir. [11]

Florofor maddelerin çoğu görünür bölge ışınlarıyla uyarılabilmektedir. Bu sebepten dolayı gözle görünür renk değişimleri yaşanır. Renk değişimleri uyaran ışın kaynağı kapatıldığında kesiliyorsa floresans özellik, ışın kaynağı kapatıldığı halde devam ediyorsa fosforesans özellik olarak tanımlanır.

Floresans şiddetini etkileyen faktörlerin başında sönmüleme gelmektedir. Sönmüleme uyarılan elektron veya elektronların diğer moleküllere aktarılmasından kaynaklanır. İyonların oluşmasına sebep olan bu aktarma enerjinin elektronun taşınmasında harcanmasından dolayı enerji seviyeleri arasında bir geçiş olmaz ve beklenilenden daha

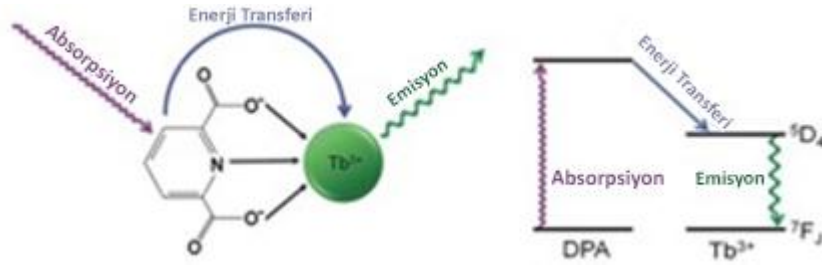
az bir enerji yayılımı söz konusu olur. Bu sönümlene etkisini en aza indirmek için moleküllerin floresans ölçümleri yapılırken seyreltik çözeltiler kullanılır. [31]

Lantanit grubu geçiş metalleri floresans sensör yapımında en çok kullanılan malzeme gruplarından biridir. Lantanitlerin yapılarında f orbitalleri bulundurması ve bu orbitallerin enerji seviyelerinin birbirine yakın olması floresans etkiyi artırır. Fazladan bu f orbitalleri hem lantanitleri diğer geçiş metallerinden ayırırken hem de spektrofotometrik özellik katar.



Şekil 1.7. Floresans etki gösteren kompleksin oluşması

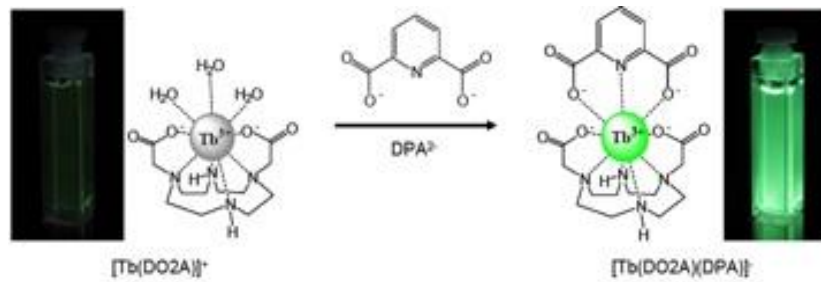
Kompleks oluşturduğu maddelerle arasında kolayca enerji dönüşümlerini sağlayabilmesi ve bu enerji dönüşümleri sonrasında salınan enerjinin görünür bölgeye denk gelmesi lantanit komplekslerinde renk değişimine sebep olmaktadır. Floresan özellik gösteren lantanit kompleksleri oluşturmak için Europiyum, Terbiyum ve Samaryum lantanitleri kullanılmaktadır. Bu üç geçiş metalinin d ve f orbitalleri enerji seviyeleri açısından birbirine en yakın olan elementlerdir. Karşılıklarına gelen ligand uyarıldığı seviyeden lantanitin orbitallerine enerjiyi kolayca aktarabilmektedir. Salınım yaptıkları enerji dalga boyları sabit olduğundan lantanitler floresans spektroskopisinde spesifiklik gösterirler. Terbiyumun salınım yaptığı temel dalga boylarından biri olan 595 nm yeşil renge denk gelirken, europiyum lantanitinin salınım yaptığı temel dalga boylarından biri olan 616 nm kırmızı renge denk gelmektedir. [28]



Şekil 1.8. DPA –Tb floresans etkileşimi [45]

Lantanit kompleksi oluşturulurken dikkat edilecek nokta ligandın singlet uyarılmış enerji seviyesi (S_1) ile lantanitin triplet uyarılmış enerji seviyesi (T_1) arasında kolayca geçişin sağlanabiliyor olmasıdır. Bu sayede uyarılan ligand enerjisini uygun olarak seçilen lantanite aktarır ve sonucunda florofor özellik gösteren kompleks ortaya çıkmış olur.

Literatürde bulunan bir çalışmada Esplin ve çalışma grubu tarafından terbiyum 1,4,7,10-tetraazasiklododekan-1,7-bisasetat ile kompleksleştirilmiştir. Tespit edilecek molekülün enerji seviyelerine uygun olduğundan dolayı terbiyum metali seçilmiştir. Oluşturulan bu komplekse koordine kovalent bağ ile etkileşim kurması için eklenen dipikolinik asit sayesinde uyarılan dipikolinik asit enerjisini lantanite kolayca aktarabilmekte ve bu enerji terbiyum üzerinden dışarı salındığı için parlak yeşil renk gözlemlenir. [12]



Şekil 1.9. DPA-Tb kompleksinin renk değişimi [45]

Diğer lantanitler (europiyum ve samaryum) kullanıldığında yine floresans özellik gösterdiği saptanmış olsa da en kolay enerji geçişleri yüzünden terbiyumun seçildiği belirtilmiştir. Bu çalışma istenilen floresans etkiyi yaratmak için uygun materyal seçiminin önemini de göstermektedir.

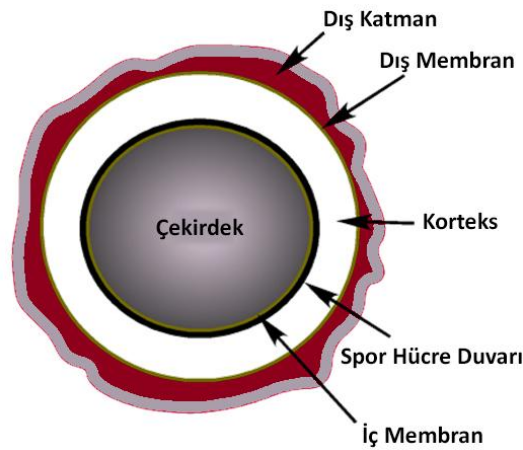
Uygun materyaller ve koşullar hazırlandığında floresans spektroskopisinin daha kullanışlı olabileceğine bir diğer örnek ise Lehiu ve çalışma grubu tarafından

yayınlanan makalede görülmektedir. Kalsiyum dipikolanat molekülünü tespit etme amacıyla sentezlenen komplekste kuvvetli floresans verimi elde edebilme amacıyla europiyum lantaniti seçilmiştir. Europiyum lantaniti barındıran kompleksin tespit edilmek istenen madde için seçici davrandığı, bu seçiciliğin sebebi olarak ligand ile metalin etkileşimi olduğu belirtilmiştir. [15]

Floresans spektroskopisi ile ilgili elde edilen teorik bilgiler ve bu bilgiler kullanılarak yapılan çalışmalar göze alınarak çalışmamızda tespit etmek istediğimiz madde olan dipikolinik asit için uygun lantanitlerin europiyum ve terbiyum olduğu belirlenmiştir.

1.3. ENDOSPOR (SPOR)

Bazı bakteri hücreleri (*Clostridium*, *Bacillus*, *Desulfotomaculum*, *Sporosarcina* cinsleri) içinde "endospor" meydana gelir. Endospor, bir bakterinin uygun olmayan koşullar altında sitoplazma yüzeyini minimuma indirerek metabolizmasını en düşük halde çalıştırmasıyla ortamın dış etkilerinden korunması amaçlı aldığı haldir. Bunlar bakterilerin canlı fakat uyuşuk (dormant) formlarıdır. Endosporlar bakterilerin vejetatif şekillerine (bakterilerin beslenen ve çoğalan şekli) göre fiziksel ve kimyasal etkenlere karşı daha dayanıklıdırlar. [19]



Şekil 1.10. Bakteri endosporu

Endospor oluşumu bir üreme biçimi değildir. Yüksek ve düşük sıcaklık durumlarında meydana gelir. Bakteriler çok düşük sıcaklıklarda endospor halde uzun yıllarca var olabilirken (buzullarda binlerce yıllık bakterilere rastlanmıştır) yüksek sıcaklıklarda

durum böyle değildir; belli sıcaklık değerlerinden sonra endospor korumaya devam edememektedir.

Endosporda, vejetatif hücrede bulunmayan "dipikolinik asit" vardır. Dış kısmının geçirgen olmaması, yüksek miktarda dipikolinik asit ve kalsiyum ihtiva etmesi, su oranının az olması, çok az metabolizma ve enzim faaliyeti göstermesi, sporların vejetatif sekilerinden daha dirençli olmasını sağlar. Dipikolinik asit endospora özel kimyasal yapıdır vejetatif hücrede yoktur. Bu da öz bölgesinde bulunur. Kalsiyum iyonları da dipikolinik asitle birleşir ve endospor kuru ağırlığının %15'ini oluşturur. [2]

Endospor oluşturan bakterilerin bazıları hastalık da yapar: örneğin şarbon hastalığı *Bacillus anthracis* endosporlarının teneffüsüyle kapılabilir, derin saplanma yaralarının *Clostridium tetani* endosporları ile kontamine olması da tetanoza yol açar. Bu tehlikeli endosporların erken tespit edilmesi canlıların hayati risklerini ortadan kaldırmak için önemlidir.

Endosporların tespitinde birçok yöntem kullanılmasına karşın floresans yöntemi kullanıldığında düşük konsantrasyonlarda kolayca nitel ve nicel analizi yapıp önlem alınabilmektedir. [25]

2. MATERYAL VE YÖNTEM

Çalışma metodumuzda kullanılan Altın(III)Klorür, 11-Amino-1-Undekantiyol ve Sodyum Bor Hidrür Sigma-Aldrich firmasından satın alındı. Floresans ölçümleri için SHIMADZU RF-5301PC spectrofluorometer kullanılmıştır. Yapı aydınlatmada G² Spirit Biotwin model Yüksek Kontrastlı Geçirimli Elektron Mikroskobu (CTEM) ve Malvern Zetasizer Nano ZSP cihazlarında analizler yaptırılmıştır.

2.1. ALTIN NANOPARÇACIKLARININ SENTEZİ

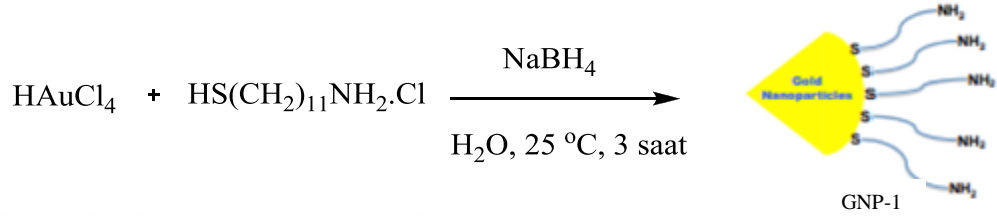
Bu çalışmada hibrit nanomateryallerin sentezlenmesi için literatürde yer alan Chen ve çalışma grubu tarafından yapılan yayın dikkate alınmıştır. Elde edilmesi istenilen nanoparçacığın boyutunu ayarlama amacıyla yaptıkları konsantrasyon deneyleri sonucunda vardıkları sonuçlar aşağıdaki tablodadır.

Çizelge 2.1. Nanoparçacık Oluşumu İçin Yapılan Konsantrasyon Denemeleri[44]

HAuCl ₄ (mM)	0.24	0.36	0.48	0.96	1.2	1.8	2.4
Tiyol(mM)							
0.18	x	x	x	x	x	x	x
0.24	x	x	x	x	x	x	x
0.36	o	o	x	x	x	x	x
0.72	-	o	o	x	x	x	x
1.2	-	-	-	o	o	x	x
1.8	-	-	-	o	o	o	x
2.4	-	-	-	-	o	o	o
3.6	-	-	-	-	-	-	o
4.8	-	-	-	-	-	-	-
7.2	-	-	-	-	-	-	-

Tablodaki veriler incelendiğinde küçük ölçeklerde sentezlenecek altın nanoparçacıkların sorunsuz bir şekilde elde edilmesi ve mümkün olabildiği kadar fazla miktarda oluşabilmesi için gereken oranlar 2.4 mM HAuCl₄ ve 3.6 mM amintiyol bileşiği kullanıldı.

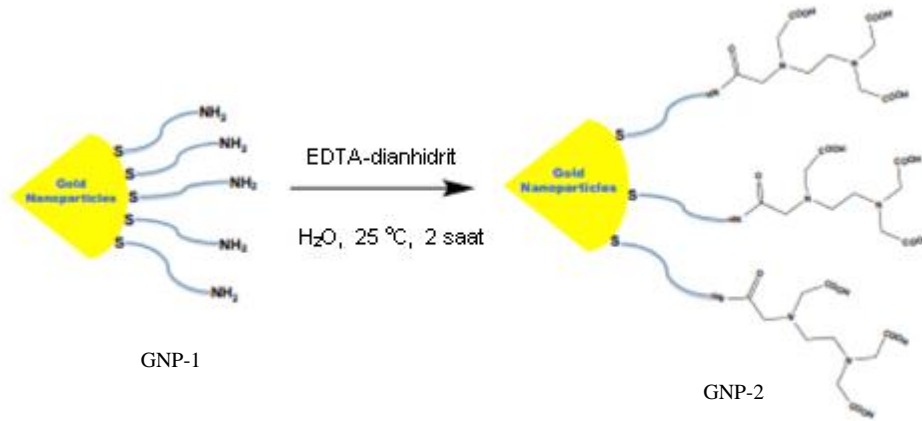
2.1.1. Amin-Tiyol Fonksiyonlu Altın Nanoparçacıkların Sentezi



Şekil 2.1. Tiyol ligandı ile altın nanoparçacık oluşumu

Altın nanoparçacıkların sentezinin ilk basamağında 2.4 mM 5 mL su/etanol (1:1) HAuCl₄ çözeltisi hazırlandı. Ayrı bir balonda 3.65 mM 5 mL su/etanol (1:1) 11-Amino-1-undekantiyol çözeltisi de hazırlanıp HAuCl₄ çözeltisi ile karıştırıldı. Bu konsantrasyonlar literatürdeki değerler göze alınarak belirlendi. İndirgenme ajanı olarak kullanılacak NaBH₄ literatürdeki konstantrasyon oranlarından yararlanılarak 5.3 µM olacak şekilde su/etanol ile hazırlandı. Karıştırılan HAuCl₄ ve 11-Amino-1-Undekantiyol çözeltisinin üzerine damla damla 50 µL NaBH₄ eklendi. Karanlık ortamda 3 saat boyunca oda sıcaklığında karıştırıldı. Süre bitiminde karışım 6000 rpm'de 10 dakikalık periyotlar halinde santrifüj edilip istenilen büyüklüklerde nanoparçacıkların çökmesi sağlandı. Elde edilen nanoparçacıklar içindeki etanolden kurtarılmak için su ile yıkanıp sulu çözelti halinde saklandı.

2.1.2. Şelatlaştırıcı Yapının Altın Nanoparçacıklara Eklenmesi

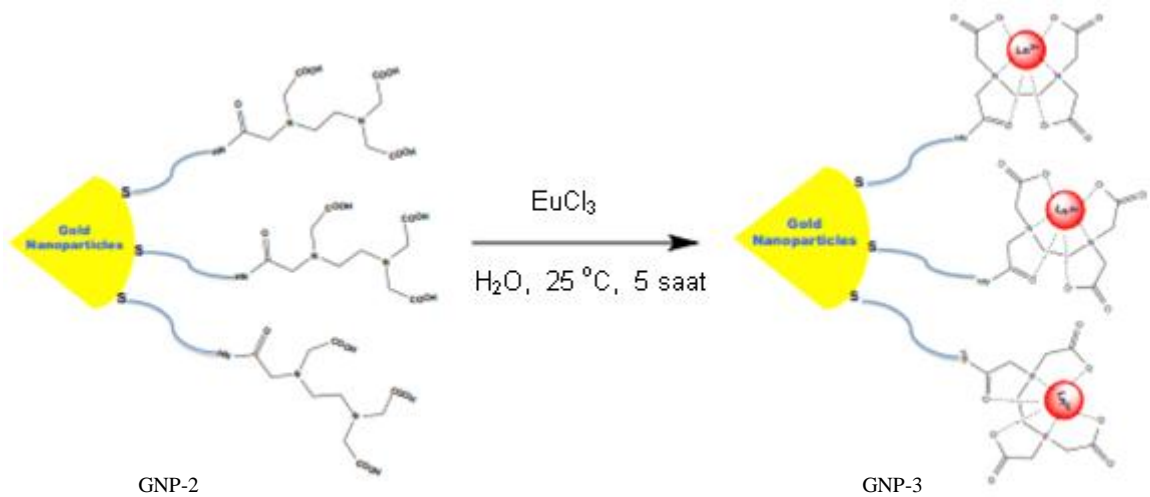


Şekil 2.2. EDTA grubu eklenmiş nanoparçacıklar

Sodyum bikarbonattan pH 9.6 olarak ayarlanmış 20 mL 0.1M tampon çözeltisi hazırlandı. Sentezin ilk basamağında hazırlanan nanoparçacıklar ile karıştırılıp nanoparçacıkların tamamen dağıtılması sağlandı. Nanoparçacıkların konsantrasyonunun 3 katı olacak şekilde etilendiamin tetraasetik asit dianhidrit (EDTA) eklenerek manyetik karıştırıcıda 2 saat boyunca karanlıkta tepkimeye sokuldu. Tepkime sonrasında 4 kere tampon çözeltisi ve 2 kere saf su ile yıkandıktan sonra santrifüjlenip çöken nanoparçacıklar sonraki aşama için saf su içinde saklandı.

2.1.3. Lantanit Gruplarının Altın Nanoparçacıklarla Kompleksleştirilmesi

2.1.3.1. Europiyum Kompleksli Altın Nanoparçacıkların Sentezi



Şekil 2.3. Lantanit ile kompleks oluşturmuş nanoparçacıklar

Nanoparçacıklar saf sulu çözeltide dağıtıldıktan(dispers) sonra üzerine 20 mL 0.01M EuCl_3 eklenip 5 saat boyunca oda koşulları ve karanlıkta karıştırıldı. Tepkime sonrasında oluşan nanoparçacıkları saflaştırmak için saf su ile yıkayıp santrifüj edildi. Elde edilen Europium şelatlı altın nanoparçacıklar sulu çözeltide 5 °C de buzdolabında muhafaza edildi.

2.1.3.2. Terbiyum Kompleksli Altın Nanoparçacıkların Sentezi

Sulu çözeltideki altın nanoparçacıklar homojen hale gelene kadar dağıtıldıktan sonra üzerine 20 mL 0.01M TbCl_3 eklenip 5 saat boyunca karanlıkta ve oda koşullarında tepkimeye sokuldu. Tepkime sonrasında saflaştırmak için saf su ile santrifüj edilip yıkandı. Elde edilen Terbiyum şelatlı altın nanoparçacıklar sulu çözelti içerisinde 5 °C de buzdolabında saklandı.

2.2. β -DİKETON (4,4,4 – TRİFLORO – 1 - (2-NAFTİL) - 1,3 - BUTANDİON) KOMPLEKSLİ ALTIN NANOPARÇACIKLARIN SENTEZİ

Europium kompleksli altın nanoparçacıklar homojen hale gelmesi için dağıtıldıktan sonra aşırı olacak şekilde β -diketon bileşiği lantanit ile şelatlaşması için eklendi. Tepkime 3 saat karanlıkta ve oda koşullarında gerçekleştirildi. Tepkime sonrasında saf su ile yıkandı ve santrifüj edildi. Elde edilen kompleks sulu çözeltide saklandı.



Şekil 2.4. β -diketon ile kompleksleştirme

2.3. FLORESANS ÖLÇÜMLERİ İÇİN DİĞER ÇÖZELTİLERİN HAZIRLANMASI

Tespit etme ve diğer ölçümler için lantanit şelatlı altın nanoparçacıklarla kompleks oluşturması için dipikolinik asitin çözeltileri hazırlandı. Nötral pH aralığında belirlenen

konsantrasyonlarda hazırlanan bu çözeltiler daha sonra floresans ölçümlerinde kullanıldı.

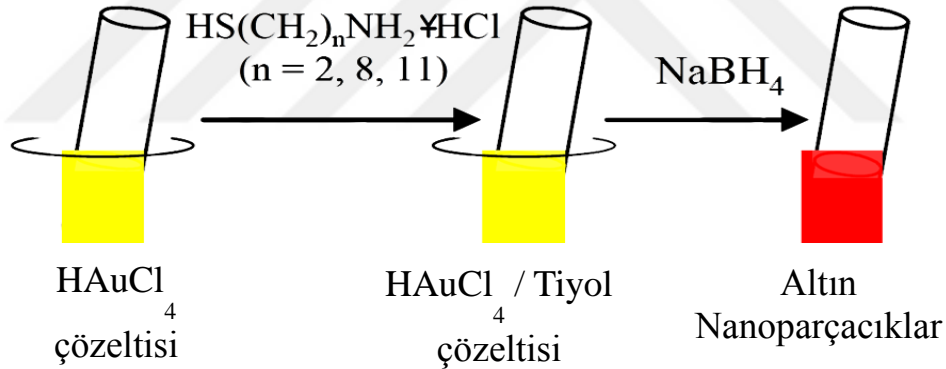
Dipikolinik asitin seçiciliğini göstermek amacıyla dipikolinik asitin yapısına benzer dikarboksilik asitler benzoik asit, izoftalik asit, nikotinic asit, pikolinik asit ve tereftalik asitin 0.1 mM lık çözeltileri hazırlandı.

Floresans ölçümlerinde kullanılmak üzere dipikolinik asit çözeltileri hazırlandı. Literatürdeki çalışmalarda dipikolinik asidin tuzlarının kullanılmasından dolayı ortaya çıkabilecek pH değişikliğini engellemek amacıyla hazırladığımız dipikolinik asit çözeltisi nötral hale getirildi. Mili molar ve mikro molar olmak üzere iki farklı konsantrasyon grupları üzerinde ölçümler yapıldı. Dipikolinik asit miktarının artması floresans şiddetini arttırdığı gibi kompleksin rengini de doğru oranda arttırdığı gözlemlendi.

3. BULGULAR VE TARTIŞMA

3.1. ALTIN NANOPARÇACIKLARIN SENTEZİ

Nanoparçacıkların sentezinde dikkat edilmesi gereken birkaç husus bulunmaktadır. Kullanılacak olan malzemelerin saflığı, hazırlanacak çözeltilerin hassaslığı ve malzemelerin havaya veya ışığa karşı olan dayanımları dikkate alınmalıdır. Nanoparçacığın çekirdeği dediğimiz kısım altın metalinden oluşmaktadır. Bu çekirdeğin oluşması için HAuCl_4 tuzu kullanılır. Tuzun gün ışığına karşı kararsız olması tartma ve çözeltisini hazırlama safhasında daha fazla dikkatli olunmasına neden olmaktadır. Aksi takdirde belirlenilen konsantrasyon oranından sapılmış ve beklenen nanoparçacıkların oluşmamış olduğu görülür. Tepkime sırasında altının esas rengi olan sarı renkten koloidal altına özgü olan kırmızı tonlarında bir renge dönüştüğü gözlemlenmektedir.



Şekil 3.1. Altın nanoparçacıkların sentezindeki renk değişimi

Altın nanoçekirdeğini kararlı kılmak ve fonksiyonlu hale getirme amacıyla seçilen ligandlar da büyük önem taşımaktadır. Altın çekirdeğinin yüzeyi ile kuvvetli etkileşime girecek maddeler seçilmelidir. Geçmişten günümüze bu konu üzerine yapılan birçok araştırma sayesinde kullanılmak istenilen alana göre hangi tür ligandın seçileceği literatürden öğrenilebilir. En kuvvetli etkileşim kuran grupların başında tiyol (-SH) içeren düz zincirli yapılar gelmektedir. Dizayn ettiğimiz nanoparçacıklarda bu bilgilerden yola çıkarak 11-Amino-1-Undekantiyol bileşiğini seçtik. Altın nanoparçacığı kararlı kılmasının yanı sıra, uzun alkan zinciri bulundurması odak noktamız olan

floresans ölçümlerinde tespit etmek istediğimiz madde ile altın çekirdeğinin herhangi bir elektrostatik etkileşime girmesini engellemektedir. Ayrıca diğer açık ucunda bulunan amin grubu sayesinde şelatlaştırıcı yapıya kolay koşullarda tam verimle eklenebilmektedir.



Şekil 3.2. Altın çekirdeğinin ligand ile kaplanması

Şelatlaştırıcı olarak EDTA (etilendiamin tetraasetikasit dianhidrit) bileşiğinin seçilme sebebi ise geçiş metalleri ile kolay ve kararlı kompleksler oluşturabilmesidir. Yapısında bulunan çoklu elektron verici gruplar sayesinde lantanit metaliyle birden fazla bağ oluşturarak kararlı bir yapı elde edilir. pH'a karşı duyarlı olan EDTA bileşiği altın nanoparçacıkla kolayca tepkimeye girmesi ve yapısının deforme olmaması için 9.6'lık pH değerini sağlama amacıyla tampon çözelti ile desteklenmelidir. Bu sayede altın nanoçekirdeğin yüzeyinde bulunan amin-tiyol gruplarının amin uçları ile tepkimeye girer.

Şelatlaştırıcı grup yapıya eklendikten sonra üzerinde çalışılacak lantanitlerin eklenmesi işlemi uygulanır. Bu tepkime basamağı havaya karşı hassas olan lantanit tuzlarının dikkatli bir şekilde eklenmesi ile gerçekleştirilir. Lantanit tuzları havadaki nem ile kolayca etkileşerek havadaki suyu yapılarına katabilmektedir. Oluşan hidratlı yapı nanoparçacıklar için safsızlık oluşturacağından indirgen gaz altında işlemler yürütülmektedir.

Her iki lantanit metalinin de (europiyum ve terbiyum) altın nanoparçacıklar ile kolayca şelatlaşabileceği literatürde belirtilmiştir. Benzer koşullar ve sistemler kullanılarak lantanit şelatlı altın nanoparçacıkların hem europiyum hem de terbiyum içeren türevleri sentezlenmiştir. Safsızlıklardan arındırıldıktan sonra hibrit nanomateryallerimiz havaya ve ışığa karşı kararlı, sulu çözelti halinde uzun süre bozulmadan saklanabilen ve analizlere hazır halde muhafaza edilmiştir.

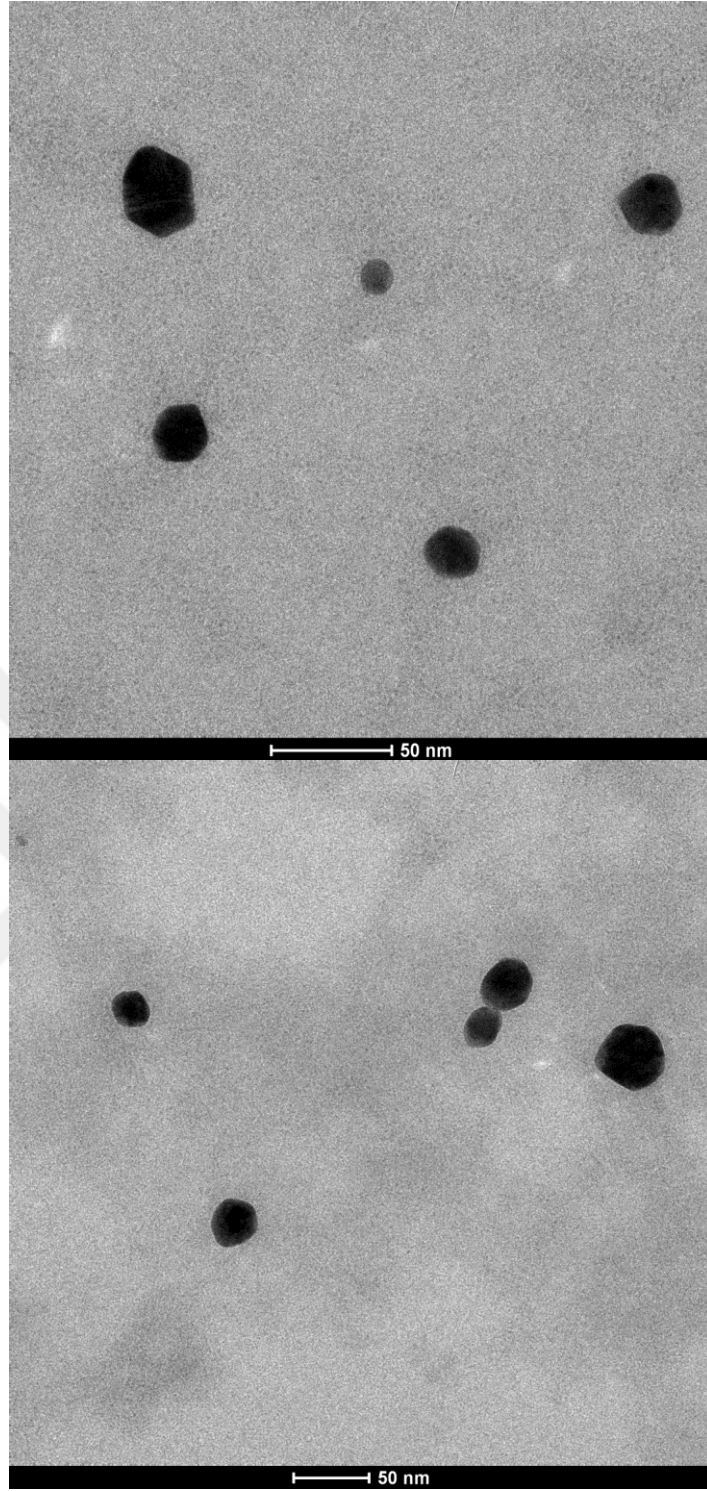
Nanoparçacıkların boyutu mümkün olabildiği kadar küçük boyutta tutulmaya çalışılmıştır. Bu sayede az miktarda olan nanoparçacıkların etkileşime gireceği yüzey alanı arttırılmış olur. Yüzeyin tamamına fonksiyonlu grupların tutunduğu durumda makro boyutlarına göre daha fazla uç barındırır. Makro boyutlarda yapılan analizler kadar kesin ve net bir sonuç almak için küçük boyutlu nanoparçacıklar yeterli olmaktadır.

3.2. ALTIN NANOPARÇACIKLARIN KARAKTERİZASYONLARI

3.2.1. TEM Analizleri

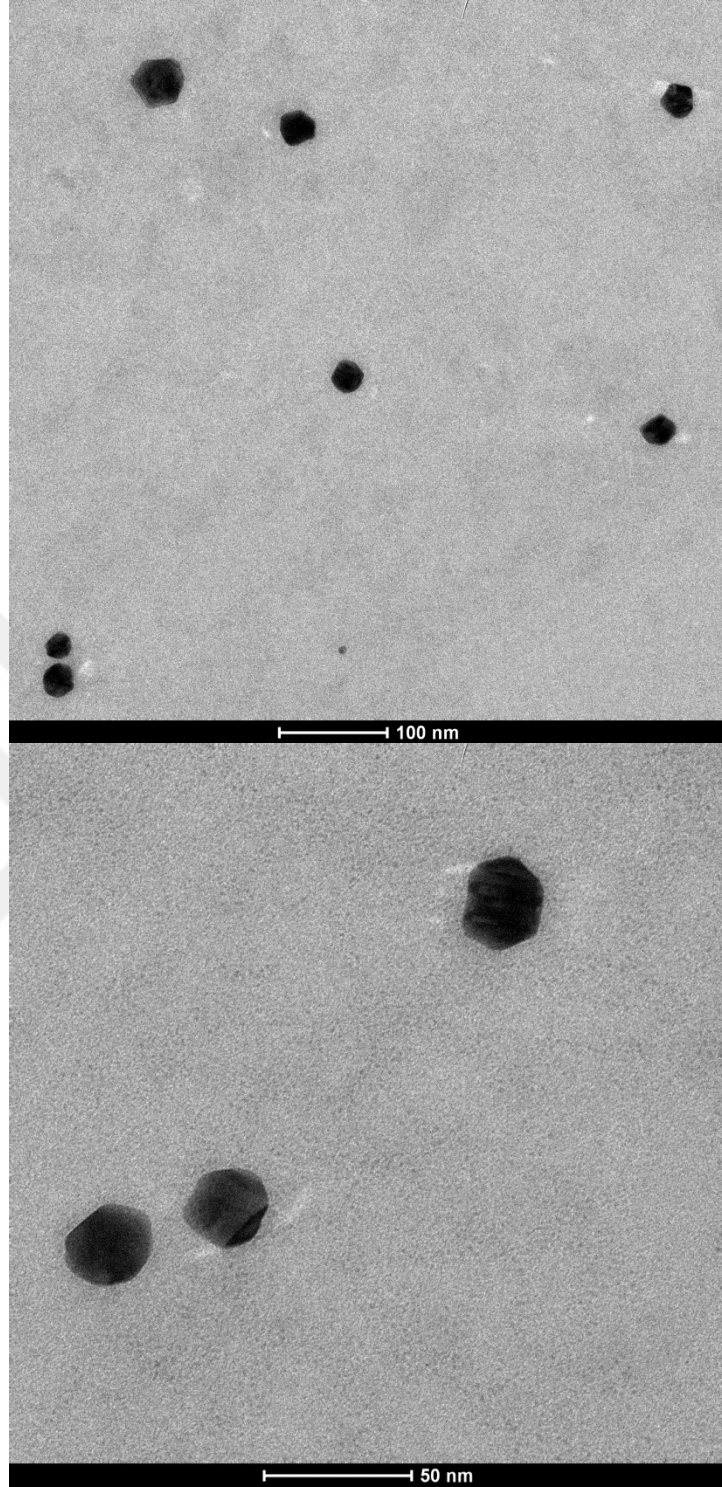
Altın nanoparçacıkların karakterizasyonu makro boyutlardaki moleküllerin karakterizasyonları kadar kolay olmamaktadır. Nanoparçacık çekirdek ve yüzey olarak iki kısımda incelenebilmektedir. Çekirdek nanoparçacığın büyük bir kısmını oluşturduğundan elektron mikroskobu ile boyutları araştırılarak nanoparçacık hakkında bilgi edinilebilmektedir. Transmisyon elektron mikroskopisi (TEM) tekniği nano boyuttaki parçacıkların yapısal karakterizasyonu için kullanılmaktadır. Yüksek çözünürlüklü görüntüleme sistemi sayesinde nanoparçacıklar hakkında çap ve dağılım hakkında bilgi sahibi olmamızı sağlamaktadır.

Seyreltik çözelti halinde bulunan numunelerin üzerlerine elektron bombardımanı yaparak görüntü elde etme prensibiyle çalışmaktadır. Her sentez basamağı tamamlandıktan sonra nanoparçacıkların bir kısmı ayrılarak analizleri yapılmıştır. Buradaki amaç sentez basamaklarında nanoparçacıklara eklenmek istenilen maddelerin yapılar üzerindeki etkileri ve safsızlık, topaklanma gibi negatif etkileri olup olmadığını görmektir. Nanoparçacıkların tamamen dağılmış (monodispers) yapıda bulunması maddenin kullanım alanı olan nanosensörler için dikkat edilmesi gereken bir noktadır. Eğer nanoparçacıklar homojen bir şekilde çözücü içinde dağılmıyorsa sensör olarak kullanılma aşamasında elde edilecek sonuçlarda sapmalara neden olur ve bu da sistemin kullanılabilirliğini olumsuz yönde etkiler.



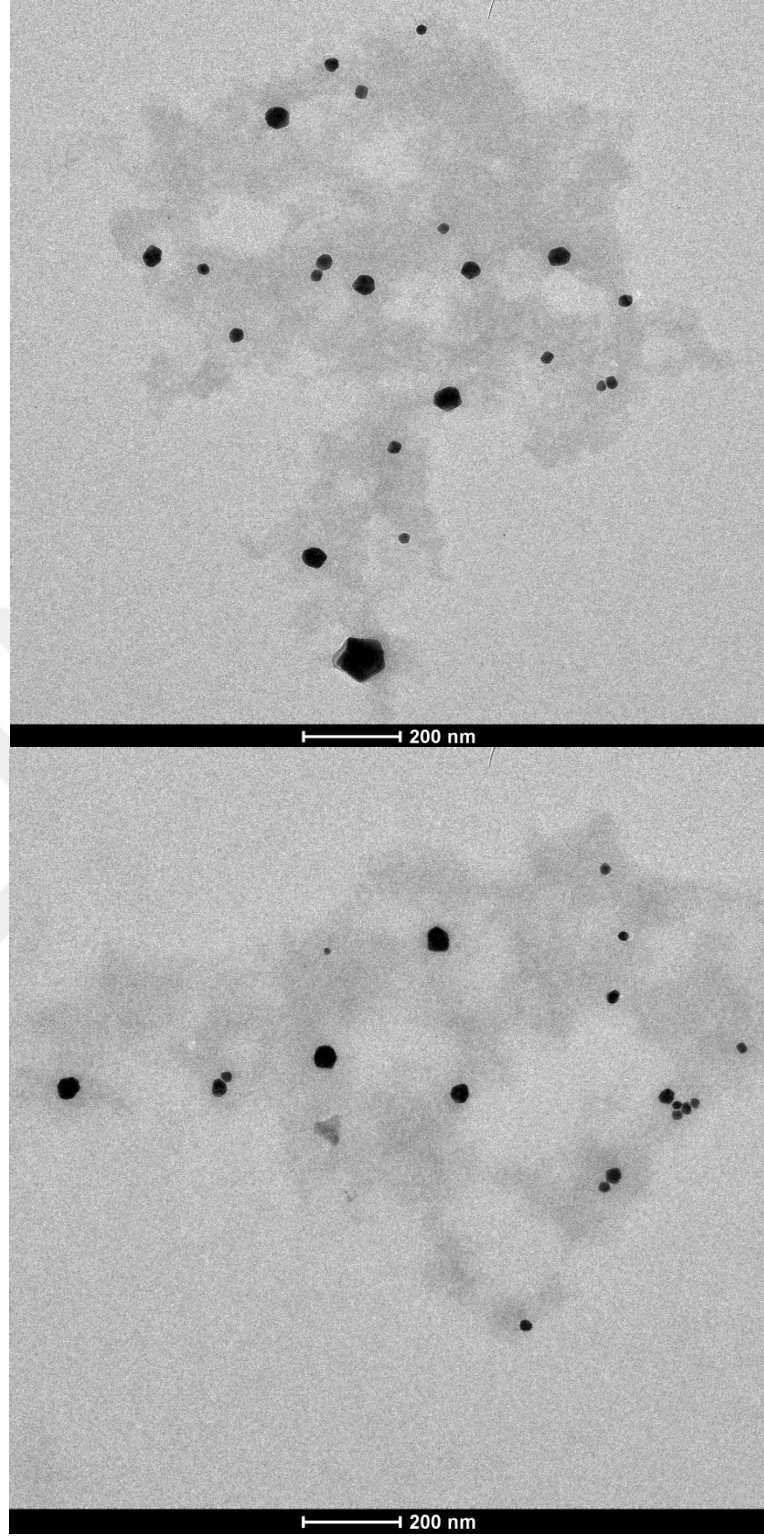
Şekil 3.3. Tiyol ligandlı altın nanoparçacıkların TEM görüntüleri

İlk sentez basamağında nanoparçacıkların ortalama 30 nm boyutlarda sentezlendiği şekillerden hesaplanabilmektedir. Yapıların homojen şekilde dağılmış ve küresel halde bulunmaları istenilen geniş yüzey alanını elde ettiğimizi göstermektedir.



Şekil 3.4. AuNP-EDTA TEM görüntüleri

Şekiller şelatlaştırıcı molekülün yapıya eklenmiş olduğu sentezin ikinci basamağında nanoparçacıkların boyutlarında ve küresel yapılarında herhangi bir değişiklik olmadığı ve homojen dağılımının bozulmadığını göstermektedir.



Şekil 3.5. AuNP-EDTA + Eu (üst) ve AuNP-EDTA + Tb (alt) TEM görüntüleri

İki farklı lantanit metalinin eklenmiş olduğu son sentez basamağından alınan TEM görüntülerinde sistemimizin tüm özelliklerini koruduğu ve sensör olarak kullanılmak için gerekli koşulları sağladığı söylenebilir. Küçük parçacık boyutu geniş bir yüzey alanı sağlamaktadır. Bu geniş yüzey alanı sayesinde düşük konsantrasyonlarda

kullanılabilir haldedir. Ayrıca nanoparçacıkların tamamen homojen dağılmış olmaları analizlerin kesinliği açısından önemli bir noktadır.

3.2.2. Zeta – Potansiyel Ölçümleri

Zeta-potansiyel ölçüm sistemi tamamen moleküllerin dış yüzeyindeki elektriksel yük dağılımını ölçmeye dayalıdır. Nanoparçacıklar önceden de belirtildiği gibi çekirdek ve yüzey olmak üzere iki kısımda incelendiğinden dolayı yüzeydeki değişimleri bu analiz metodu sayesinde ölçmek sentezlerde beklenen sonuca ulaşıp ulaşılamadığı hakkında bilgi sahibi olmamızı sağlamaktadır.

Nanoparçacıkların yüzeylerinde bulunan fonksiyon gruplarının elektronca zengin veya fakir olması molekülün üzerinde bir yük kutuplaşmasına sebep olmaktadır. Bu yüklerin ölçülmesi ile eklenmek istenilen fonksiyonel grubun yapıda bulunup bulunmadığı kanısına varılır.

Çizelge 3.1. Lantanit Şelatlı Altın Nanoparçacıkların Zeta-Potansiyel Sonuçları

Europiyum Şelatlı	GNP-1	GNP-2	GNP-3
Zeta-Potansiyel	+22 mV	-31.8 eV	-23.7 eV
Terbiyum Şelatlı	GNP-1	GNP-2	GNP-3
Zeta-Potansiyel	+21.3 mV	-39.1 eV	-30.4 eV

Tablodaki zeta-potansiyel ölçümlerine bakıldığında ilk basamaklarda elde edilen amin-fonksiyonlu parçacıkların (GNP-1) yüzey yüklerinin +22 mV ve +21.3 mV olduğu görülmektedir. Bu da pozitif yüklü amin gruplarının parçacıkların dış yüzeylerinde konumlandıklarını kanıtlar. Daha sonraki basamakta sentezlenen EDTA-fonksiyonlu parçacıkların (GNP-2) yüzey yükleri -31.8 eV ve -39.1 eV olarak bulunmuştur. Bu da parçacıkların dış yüzeylerinin eksi yüklü karboksilik asit grupları ile fonksiyonlandığını gösterir. Son basamakta bu karboksilik asitlerin Eu^{3+} ve Tb^{3+} (GNP-3) ile koordine olması yük miktarını azaltarak -23.7 eV ve -30.4 eV olmasını sağlamıştır. Teorikte

öngörüldüğü gibi sonuçlar elde etmemiz altın nanoparçacıkları istenilen şekillerde modifiye edebildiğimizi göstermektedir.

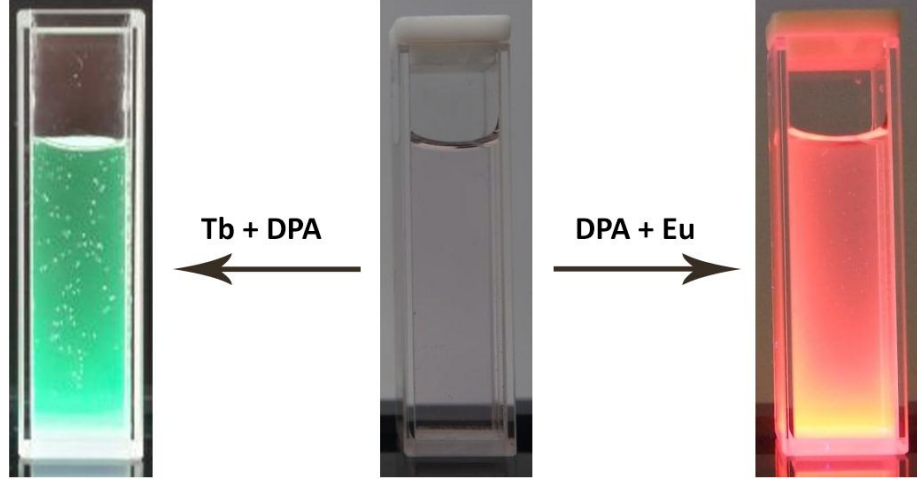
Europiyum ve terbiyum şelatlı altın nanoparçacıklar arasındaki potansiyel farklarının sebebi farklı zaman ve koşullarda ayrı ayrı sentezlenmiş olmalarından kaynaklanmaktadır. Yük değişimlerinin elde edilmesi esas dikkat edilen noktadır. Herhangi bir elektriksel özellik üzerine yoğunlaşmadığından değişimlerin olduğunu bilmek yeterlidir.

Altın nanoparçacıklar tıpkı diğer nanoparçacıklarda olduğu gibi çok küçük boyutlarda bulunduğundan yapısal karakterizasyon konusunda detaylı çalışmaya elverişli değildir. Makro moleküllerde yapıların element yüzdelere kadar yapılabilen karakterizasyonlar nano boyutlardaki parçacıklar için yapılamamaktadır. Bu sebeplerden dolayı nanoparçacıklar çekirdek ve yüzeyi olmak üzere farklı şekillerde analiz edilmektedir.

Nanoparçacığın büyük bir kısmını çekirdek oluşturduğundan parçacığın boyutu, geometrik şekli ve etkileşimi gibi özelliklerinde çekirdek rol oynamaktadır. Bizim sistemimizde çekirdekte bulunan altın metali TEM ile kolayca tespit edilebildiğinden alınan sonuçlar yeterli bulunmaktadır.

Nanoparçacıkların yüzeyindeki yapıları aydınlatma kısmında kullanılan zeta-potansiyel ölçümlerinin kullanılma sebebi nanoparçacığa her sentez basamağında farklı bir karaktere sahip fonksiyonel grupların eklenmesidir. Değişen yük dağılımlarını tespit etmek istenilen fonksiyonel grupların başarıyla yapıya eklendiğini göstermektedir.

İstenilen yapıların oluşup oluşmadığıyla ilgili son bir deneme olarak hazırlanan lantanit şelatlı altın nanoparçacıklara bir miktar dipikolinik asit çözeltisi eklendi. UV ışığı altında numunelere bakıldığında europiyum lantaniti içeren kompleksin kırmızı, terbiyum lantanitini içeren kompleksin ise yeşil renk yaydığı gözlemlendi. Bu gözle görülür renk değişimi modifiyeli altın nanoparçacıklarımızın başarıyla sentezlendiğini gösteren kolorimetrik bir tayin olarak belirtilebilmektedir.

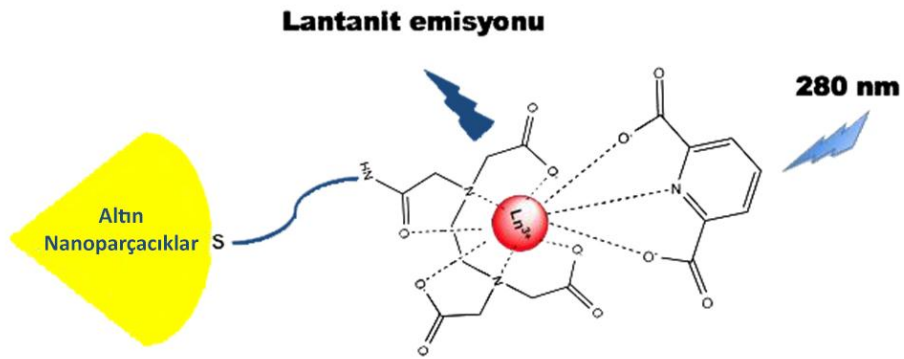


Şekil 3.6. DPA eklendiğinde görülen renk değişimleri

3.3. FLORESANS ÖLÇÜMLERİ

Europiyum ile şelatlaştırılmış olan altın nanoparçacıkların konsantrasyonu 3 nano molar olarak UV-VIS spektroskopisi kullanılarak altın çekirdeğinin büyüklüğüyle değişen karakteristik absorbans pikleri incelenerek belirlendi. Terbiyum içeren nanoparçacıklarda aynı konsantrasyonda hazırlandı. Dipikolinik asitin floresans etki göstermesi için gerekli olan enerji miktarı literatürde belirtildiği gibi 280 nm'dir. Bu dalga boyunda oluşturulan kompleksler uyarılarak dipikolinik asitten lantanit şelatına bir enerji geçişi olması sağlanmış, lantanit üzerine yüklenen fazla enerjiyi floresans etki gösterecek şekilde tekrar ortama salmıştır.

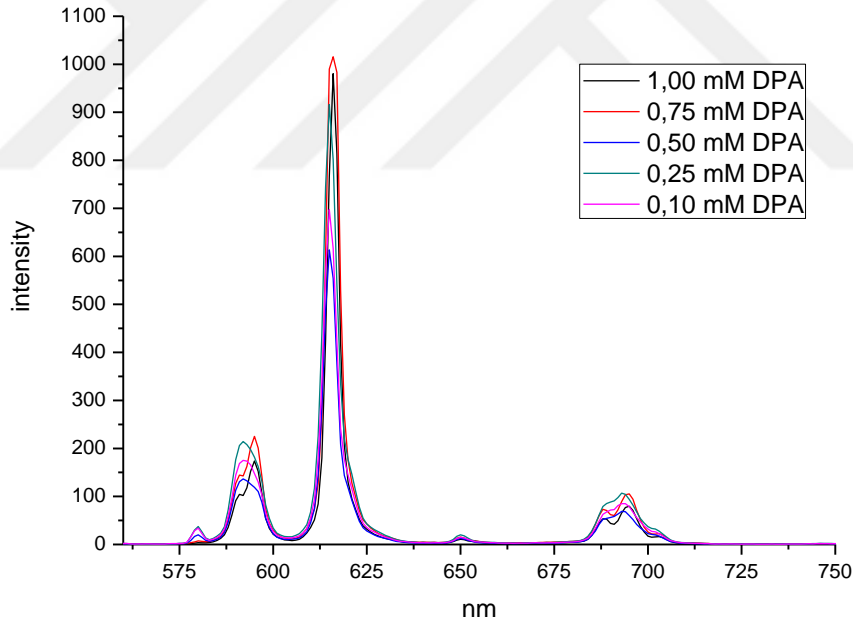
Salınan bu enerji miktarları floresans spektroskopi cihazı sayesinde ölçülerek değişen dipikolinik asit konsantrasyonuna karşılık salınan enerjinin şiddeti ölçülmüştür.



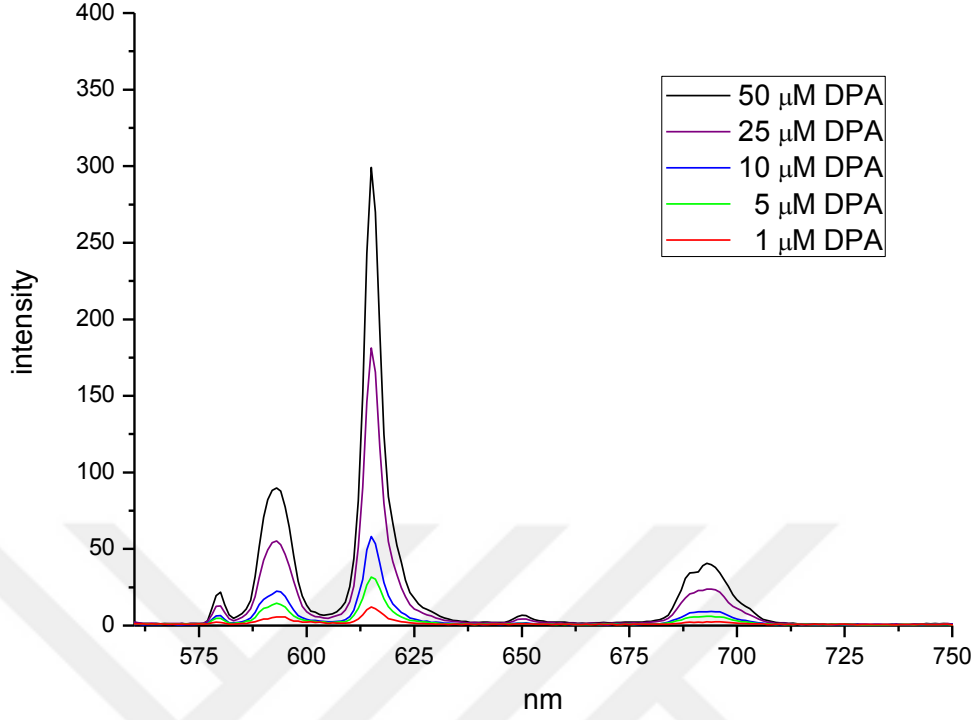
Şekil 3.7. Altın nanoparçacık-DPA floresans etkileşimleri

Ayrıca literatürde yer alan bilgiler dahilinde farklı dalga boylarında da ölçümler alınarak lantanitlerin saldığı enerji şiddetlerine bakılmış ve 280 nm'nin bizim sistemimiz için en uygun değer olduğu kanısına varılmıştır.[45]

Floresans ölçümlerinde altın nanoparçacıkların konsantrasyonu, pH ve oda koşulları sabit tutulup değişken dipikolinik asit konsantrasyonu üzerinden sonuçlar toplanmıştır. Nötral pH değerinde dipikolinik asitin diğer formlarına dönüşmesi engellenmiştir. Ayrıca canlıların bünyesinde veya yiyecek-içeceklerde de bulunabileceği pH değeri nötral olduğundan daha gerçekçi sonuçlar elde etmek istenilmiştir. Europium ve dipikolinik asitin oluşturduğu komplekste lantanitin karakteristik pikleri olan 595, 616, 650 ve 695 nm'lerde asit miktarı artışıyla doğru oranda şiddetlerin arttığı gözlemlenmiştir. 1,00, 0,75, 0,50, 0,25, ve 0,10 mili molar ve 50, 25, 10, 5 ve 1 mikro molar dipikolinik asit içeren iki farklı ölçüm grubu üstünden kıyaslamalar yapılmıştır.



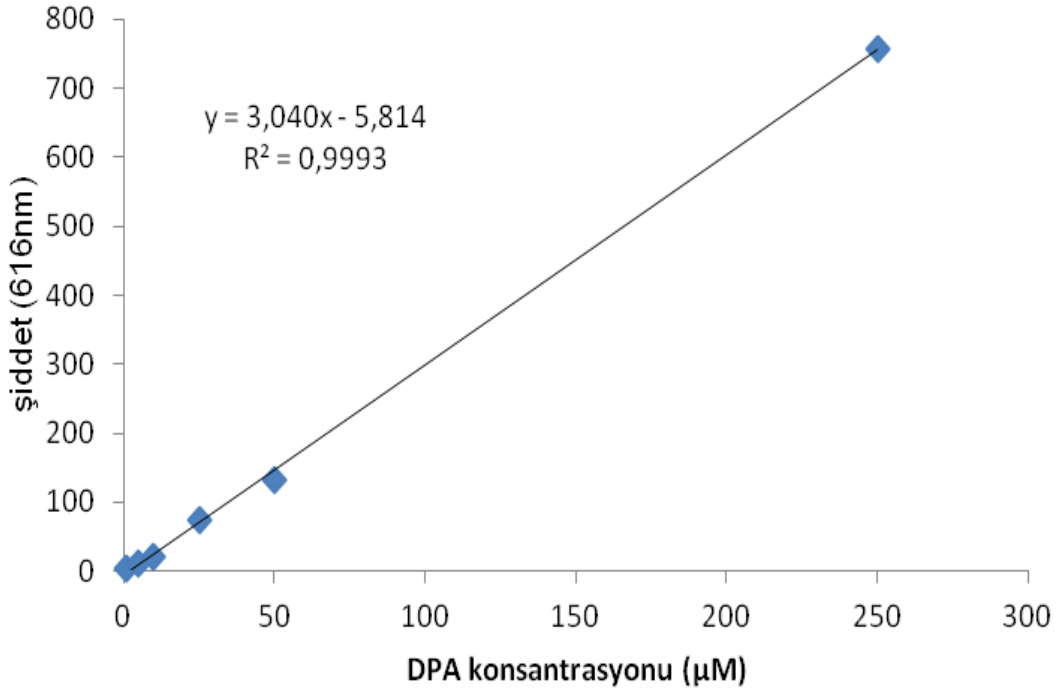
Şekil 3.8. mM DPA/Eu floresans spektrum grafiği



Şekil 3.9. μM DPA/Eu floresans spektrum grafiği

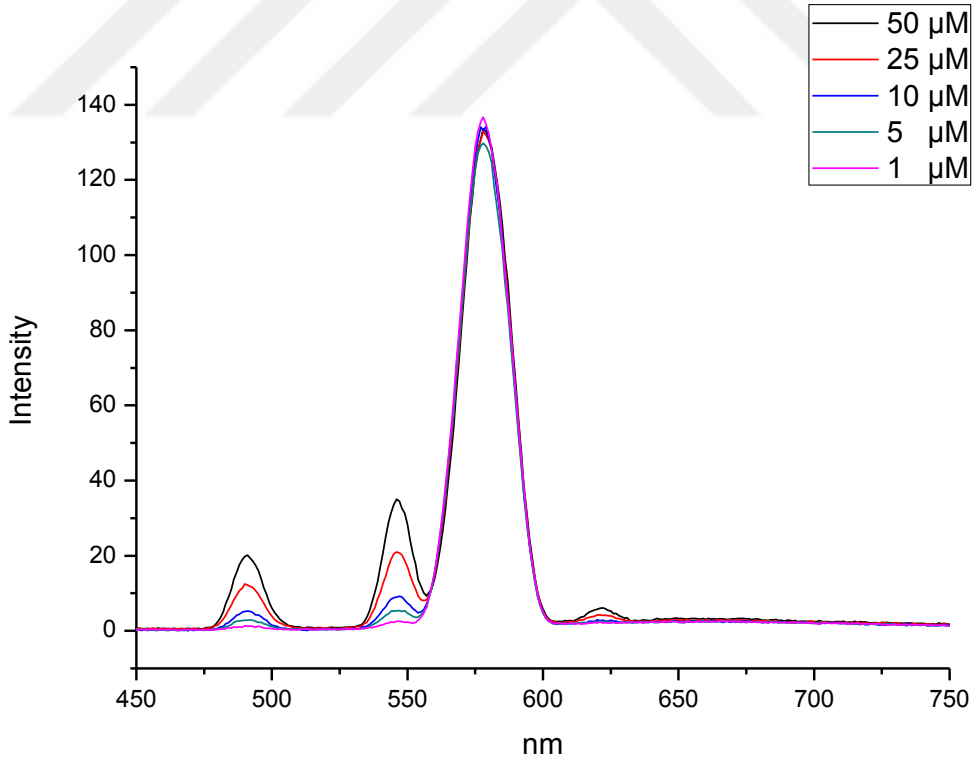
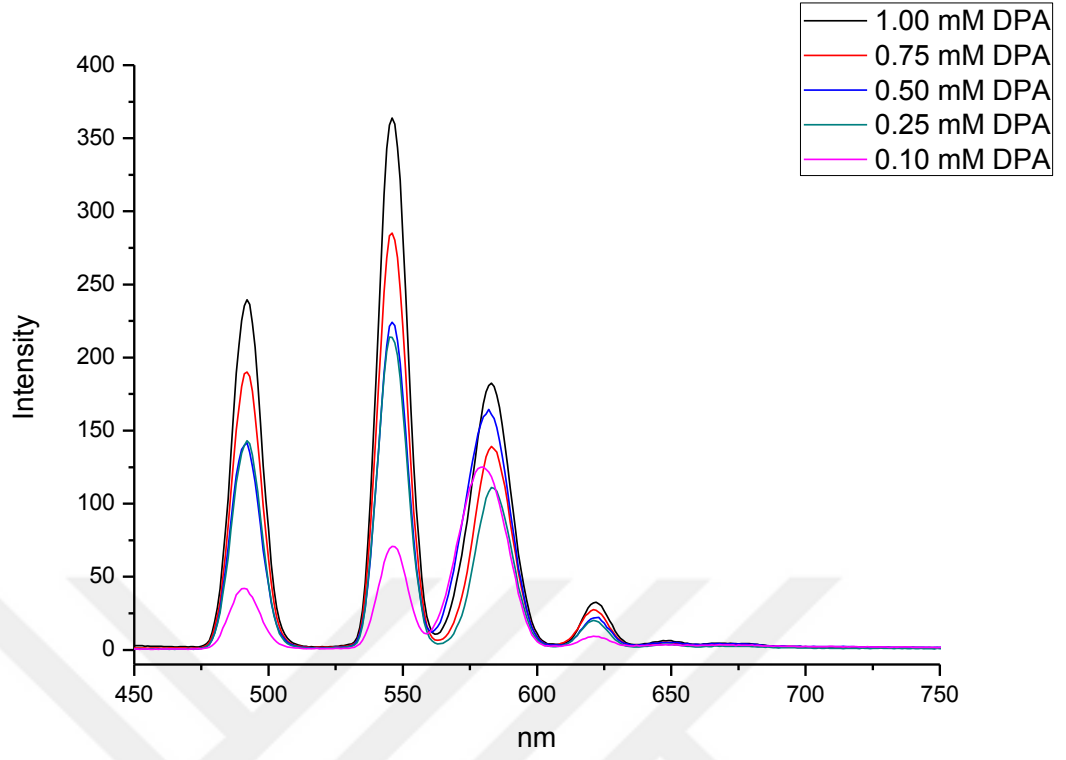
Elde edilen sonuçlar grafiklerdeki gibidir. Mili molar seviyesindeki dipikolinik asit ölçümleri incelendiğinde konsantrasyonun azalmasına karşın şiddetin de doğru orantılı olarak azaldığı görülmektedir. Nano molar nanoparçacıklara karşın mili molar seviyede dipikolinik asit eklenmesine rağmen kompleks oluşum oranları konsantrasyona oranla düzgün bir şekilde artıp azaldığından oluşan kompleksin tam verimle çalıştığı söylenebilir. Mikro molar seviyedeki dipikolinik asit numunelerinin bulunduğu grafik incelendiğinde ise beklenildiği gibi şiddetin azaldığı görülmüştür. Dipikolinik asitin bu kadar düşük seviyelerde olmasına rağmen kompleksin konsantrasyona oranla doğru bir şekilde tepkime vermesi elde ettiğimiz sistemin geniş bir aralıkta kullanılabileceğini göstermektedir.

DPA konsantrasyonuna karşı 616 nm'deki emisyon şiddetleri grafiğe geçirildiğinde düzlemsel bir eğri elde edilmiştir. Bu kalibrasyon eğrisine bağlı olarak bilinmeyen numunelerde DPA miktarı, aynı deney koşullarında olmak şartı ile, yüksek kesinlik ile belirlenebilir.



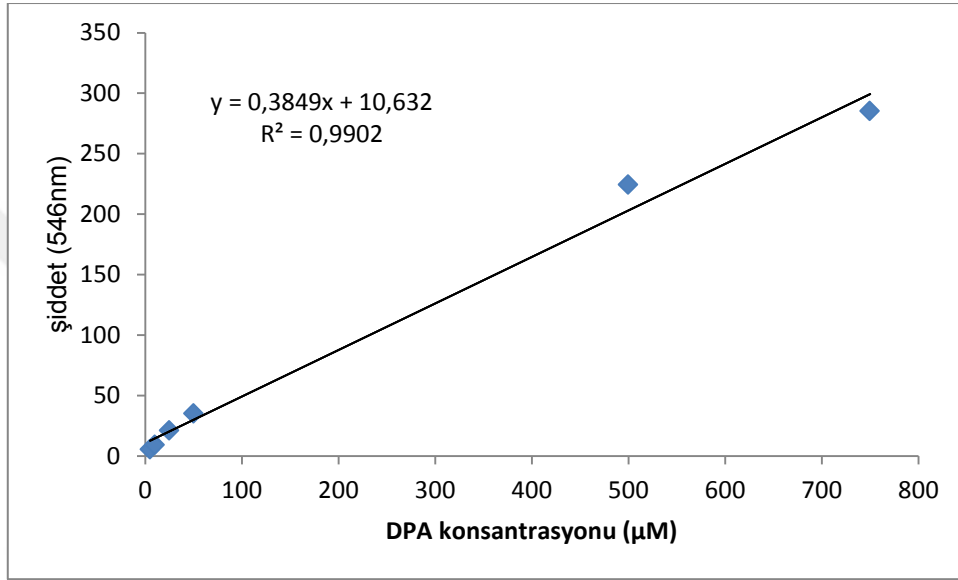
Şekil 3.10. DPA/Eu kompleksinin kalibrasyon eğrisi

Terbiyum ile şelatlaştırılmış altın nanoparçacıklar kullanılarak yapılan floresans spektroskopi ölçümlerinde dipikolinik asitin tıpkı europiyum şelatlı sistemde olduğu gibi aynı konsantrasyonlarda hazırlanmış çözelti örnekleri kullanılmıştır. Esas amaç dipikolinik asitin tespiti olduğundan ölçüm koşulları aynı tutuldu. 280 nm’de dipikolinik asitli altın nanoparçacık numuneleri uyarılarak veriler toplandı. Europiyum şelatlı nanoparçacıklardan farklı olarak bu sefer terbiyumun karakteristik pikleri olan 490, 544, 595 ve 615 nm’lerde dipikolinik asitin varlığındaki şiddet değişimleri gözlemlendi.



Şekil 3.11. mM DPA/Tb (üst) ve μ M DPA/Tb (alt) floresans spektrum grafikleri

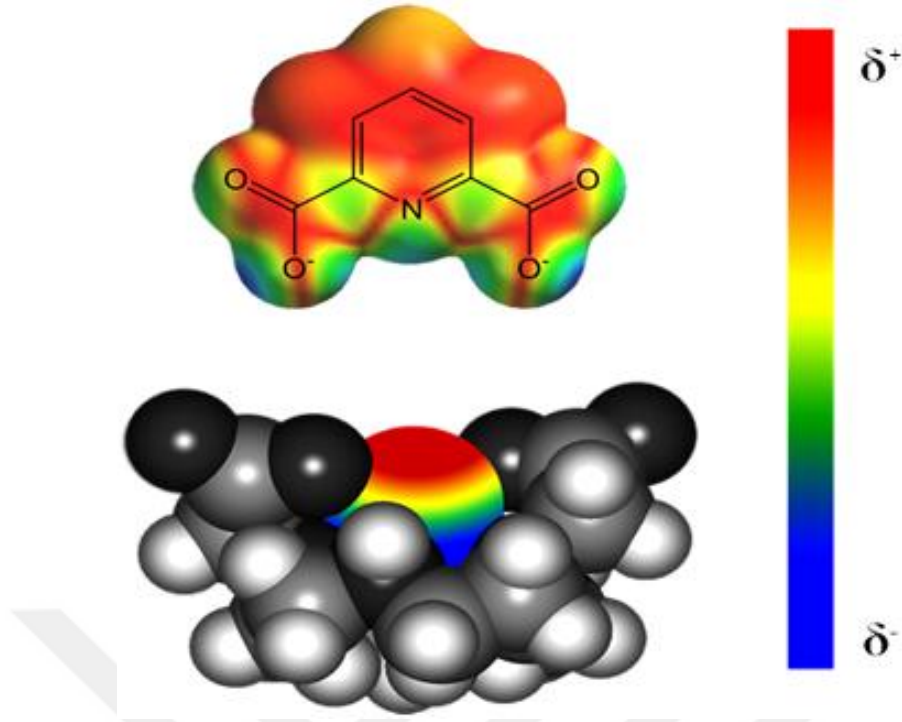
Grafiklere işlenen bu verilerden elde edilen sonuç europiyum lantaniti kullanıldığında alınan sonuçlarla paraleldir. Terbiyum lantaniti ile dipikolinik asit arasındaki etkileşim europiyum ile dipikolinik asit arasında oluşan etkileşime yakındır. 544 nm'deki şiddetlere karşın değişen dipikolinik asit değerleri grafiğe işlendiğinde kalibrasyon eğrisinin ölçümlerin yüksek kesinlikte yapıldığını ve bu konsantrasyon aralığında derişimi bilinmeyen numuneler ile çalışıldığında kesin sonuçlar vereceği görülmektedir.



Şekil 3.12. DPA/Tb kompleksinin kalibrasyon eğrisi

Her iki farklı lantanit grubu metali ile gerçekleştirilen sentezler ve bu sentezlerin sonucunda yapılan floresans ölçümleri bize her iki metalinde oluşturduğu kompleks yapıların dipikolinik asit için sensör olarak kullanılabileceğini göstermiştir. Şelatlaştırıcı EDTA ile kompleks halinde bulunan lantanitler dipikolinik asit ile koordine kovalent bağ dediğimiz etkileşim sayesinde birleşmekte ve bu birleşme sulu ortamda kararlı halde bulunmaktadır. Dipikolinik asitin tehlikeli bakteri türlerinin oluşturduğu endosporlarda yer aldığını göz önünde bulundurursak sulu ortamda düşük konsantrasyonlarda ve yüksek kesinlikle bu maddeyi kolayca tespit edebilmek ve miktar tayinini yapabilmek nanoparçacıklarımızın işlevselliği açısından önemli bir noktadır.

Dipikolinik asitin lantanit şelatıyla kuvvetli etkileşimde bulunmasının sebebi molekülün yük dağılımı ile metalin yük dağılımı arasındaki zıt kutupların birbirini çekmesi prensibine dayanmaktadır.

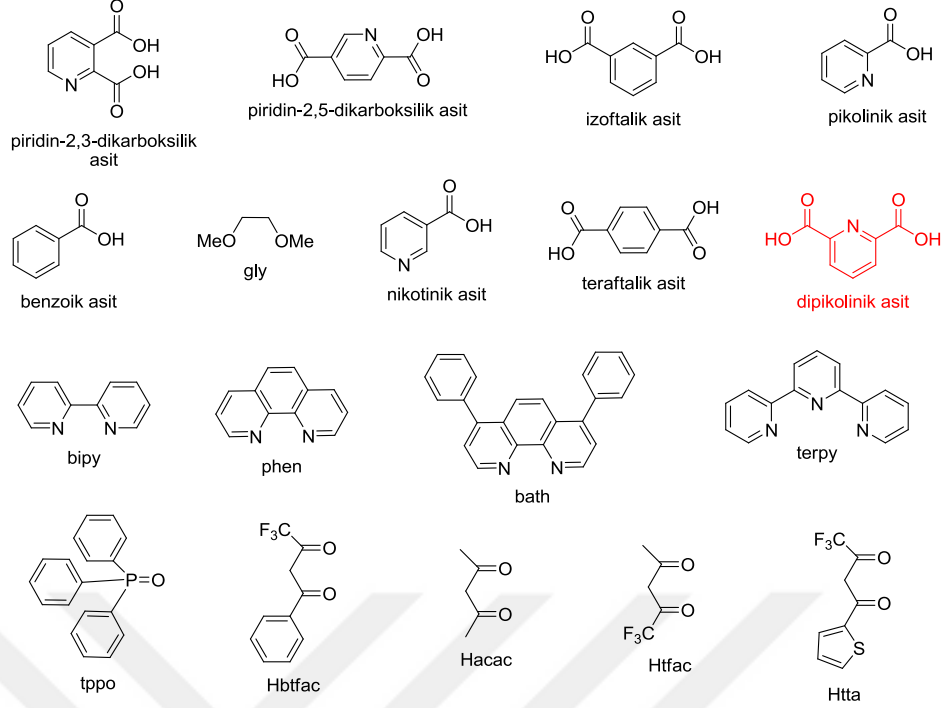


Şekil 3.13. DPA ile lantanitin elektron yoğunluk dağılımları

Elektronca zengin karboksilat grupları ve azot atomu sayesinde lantanit metalinin elektronca fakir bölgesiyle etkileşime girmesi kararlı bir kompleks oluşturmasının nedenlerinden biridir.

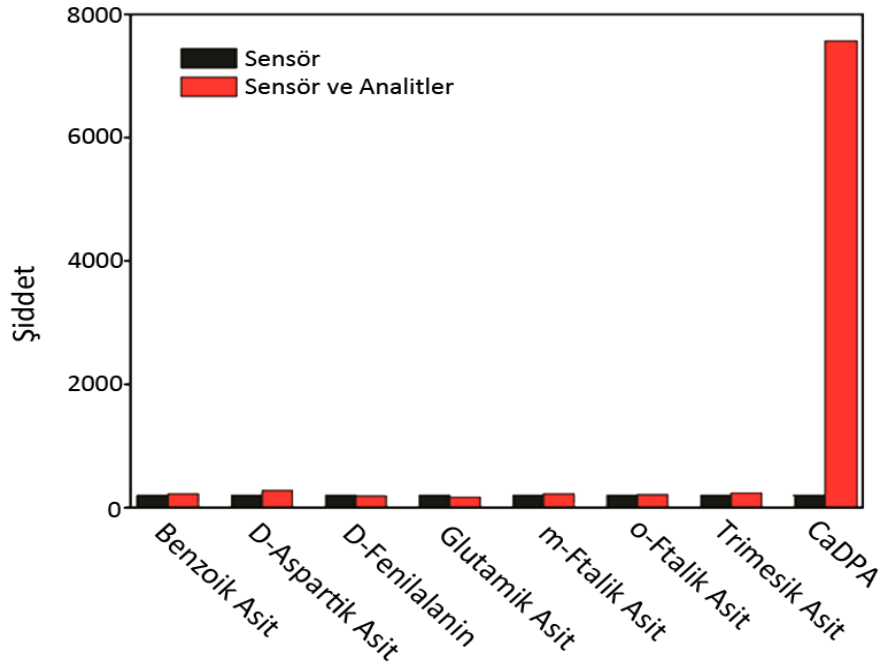
Bu etkileşim sadece dipikolinik asite özel değildir. Elektronca zengin yapılar içeren birçok molekülde bu etkileşimlere sahip olabilir. Elde ettiğimiz sistemin sensör niteliğinde olması için hedef molekülümüz olan dipikolinik asit için belli bir seçicilik göstermesi gerekmektedir. Aksi takdirde ortamda bulunan diğer moleküller kompleks oluşturarak elde ettiğimiz sonuçları beklenilenin altına veya üstüne çekebilir.

Literatür taraması yapıldığında lantanit metalleri ile kompleks oluşturabilecek birçok moleküle denk gelinmiştir. Dikkat edilmesi gereken nokta bu moleküllerin çoğunun oluşturduğu kompleks floresans etki göstermemektedir. Aşağıdaki şekilde floresans etki gösterebilen veya göstermesi beklenen moleküller bulunmaktadır. Literatürden elde edilen bu verilerin sonucunda kendi sistemimizin seçiciliğini görmek amacıyla bir dizi deney yapılmıştır.



Şekil 3.14. Kompleks oluşturabilecek diğer ligandlar

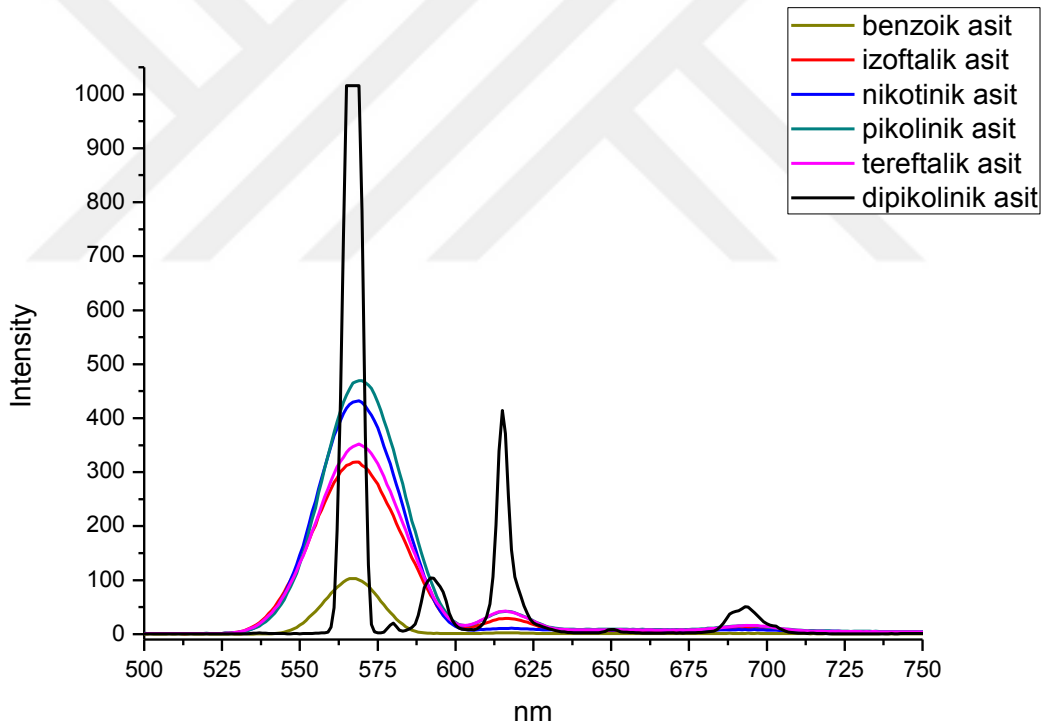
Benzoik asit, izoftalik asit, nikotinik asit, pikolinik asit ve tereftalik asit seçicilik denemeleri için seçilmiştir. Hem dipikolinik asit gibi iki karboksilik asit ucu içermeleri hem de literatürde benzer komplekslerinin bulunmasından dolayı bu moleküller seçiciliği belirlemek için yeterli görülmüştür.[46]



Şekil 3.15. Farklı ligandların seçiciliklerin kıyaslanması [47]

Literatürde farklı dikarboksilik asitlerle yapılan çalışmada dipikolinik asitin kalsiyum tuzunun diğer dikarboksilik asitlere göre aynı konsantrasyonlarda olmalarına rağmen daha şiddetli pik verdiği ve konsantrasyonlar düşürüldüğünde bile ölçüm aralığında kalarak sistemin dipikolinik asit için optimize olduğu belirtilmiştir.

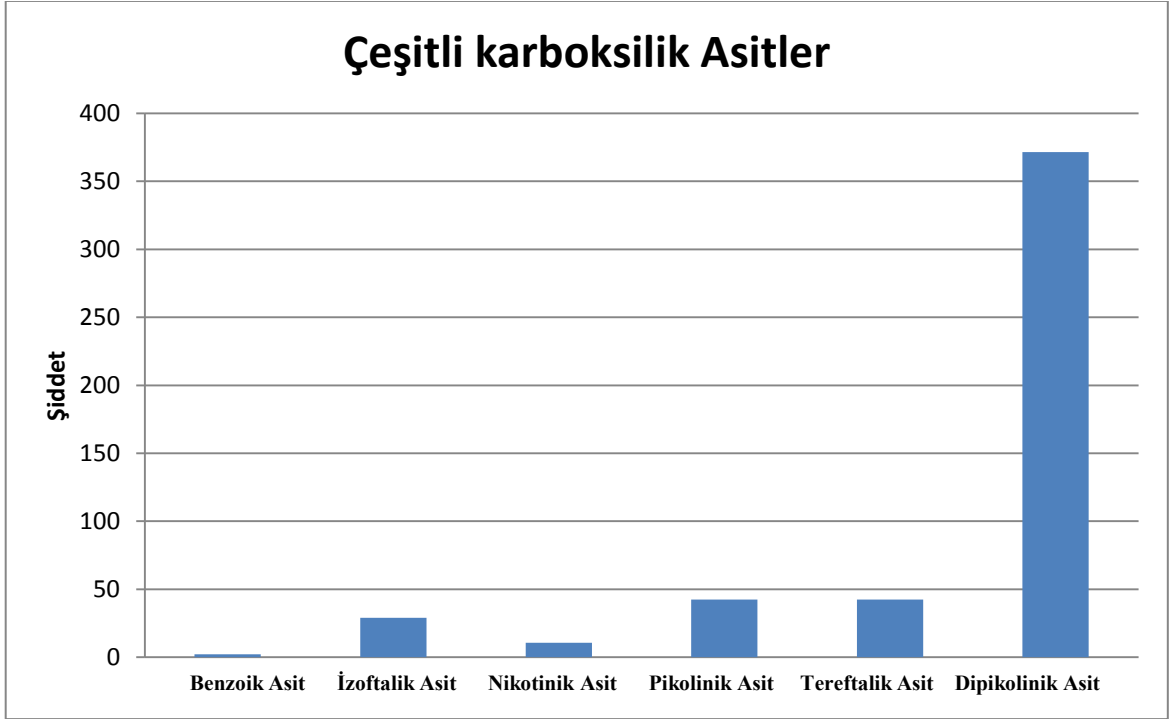
Elimizdeki dikarboksilik asitlerin 0.1 mM çözeltileri hazırlandı. Tüm örneklerin suda çözünebilir maddeler olmasına dikkat edildi. Bu sayede analiz koşullarının büyük bir kısmı sabit tutulup değişkenin sadece dikarboksilik asitler ile lantanit şelatının kompleksleşme gücü olması sağlandı. Lantanit olarak europiyum metali seçildi. Her iki lantanit metalini içeren komplekslerimiz de sensör olarak kullanılabilirdiğinden dolayı europiyumun seçilmesinde özel bir neden bulunmamaktadır. Böylece eşit koşullarda ve eşit konsantrasyonlarda hazırlanan lantanit şelatlı dikarboksilik asitlerin ölçümleri yapıldı.



Şekil 3.16. Farklı dikarboksilik asitlerin AuNP-Eu ile kompleksleşmesi

Elde edilen verilerden oluşturulan grafikte görüldüğü gibi europiyum lantanitinin karakteristik pikleri olan noktaların sadece dipikolinik asitin bulunduğu numunede net bir şekilde görüldüğü belli olmaktadır. 570 nm'deki pik şiddetlerine bakıldığında diğer dikarboksilik asitlerin birbirlerine yakın şiddetlerde olduğu görülmektedir. Dipikolinik asitin şiddeti ise diğer numunelerden daha fazladır. Ayrıca bu ölçümlerde dikkat

edilmesi gereken önemli nokta ise nano molardaki altın nanoparçacıklar ile mili molar seviyedeki numunelerin etkileştirilmiş olmasıdır. Numunelerin konsantrasyonlarının daha da düşük seviyelere çekilmesi düşük olan şiddetlerini daha da düşürerek ölçüm aralığından çıkmalarına sebep olabilir.

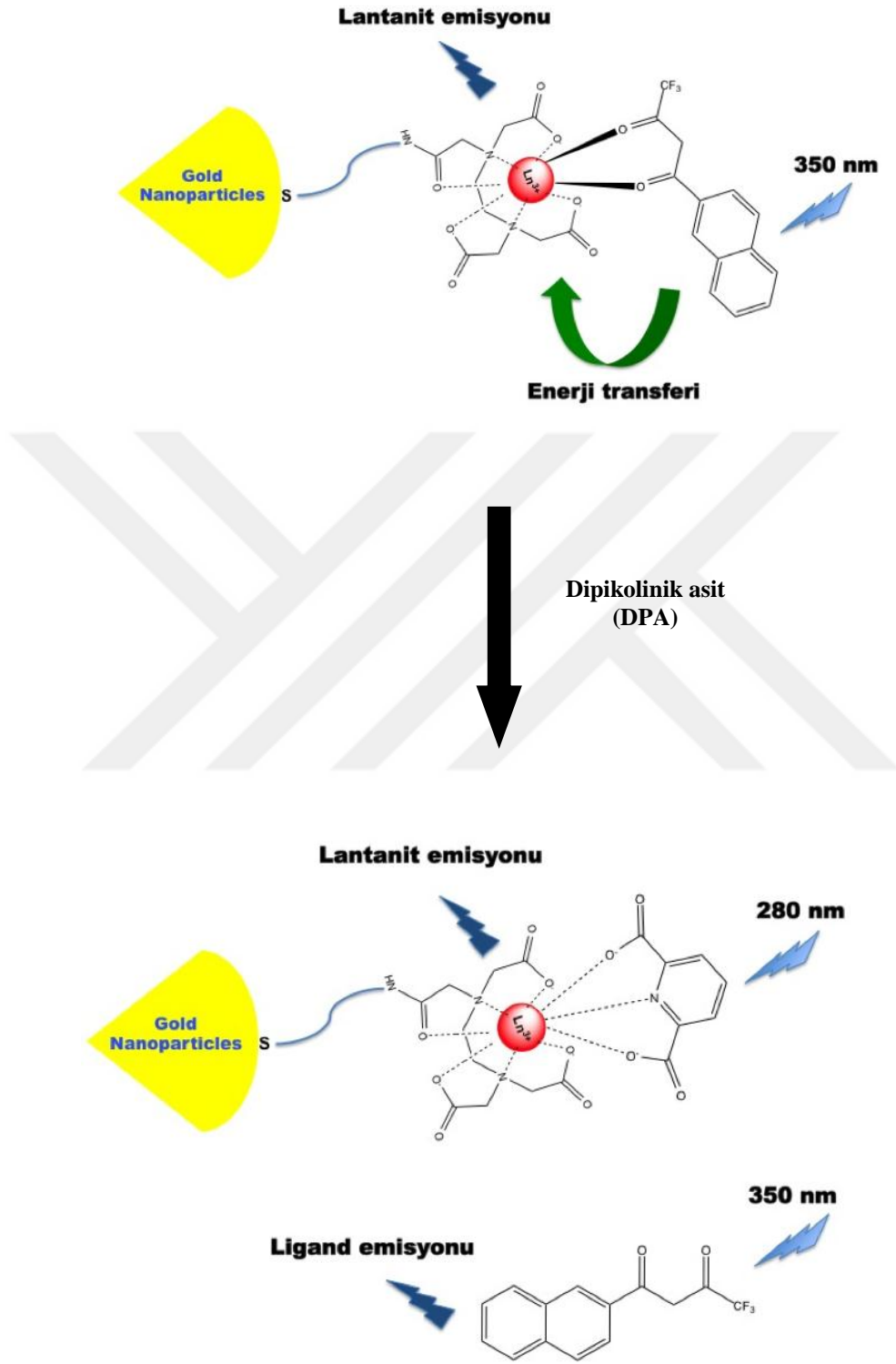


Şekil 3.17. Dikarboksilik Asitlerin karşılaştırılması

570 nm'deki piklerin şiddeti birbirleri ile kıyaslandığında dipikolinik asitin floresans ölçümlerinde diğer dikarboksilik asitlerden daha şiddetli pikler vermesi konsantrasyonlar değiştirildiğinde bu şiddetin değişimine göre hesaplamaların rahatça yapılabilmesine olanak sağlamaktadır. Amacımız mümkün olduğu kadar düşük konsantrasyonlarda ölçüm yapmak olduğundan mili molar gibi yüksek kabul edilebilecek konsantrasyonlarda bile bu kadar düşük değerler gösteren diğer dikarboksilik asitlerin kullanılamayacağı açıkça bellidir.

Tasarlayıp oluşturduğumuz nanoparçacık sistemimizin sensör olarak kullanılmasını amaçladığımızdan elde ettiğimiz bu sonuçlar sayesinde hedef moleküle karşı daha seçici davrandığımızı söyleyebilmekteyiz. Bu sayede analizi yapılacak numune karışımının içinde birden fazla maddenin bulunması ihtimaline karşılık ölçüm öncesi numuneyi işleme tabi tutmaktan kurtulmuş bulunmaktayız. Ön hazırlık işlemleri gerektirmeden

kolayca numuneler ile nanoparçacıkların kompleksleştirilip analizleri yapılabilir.

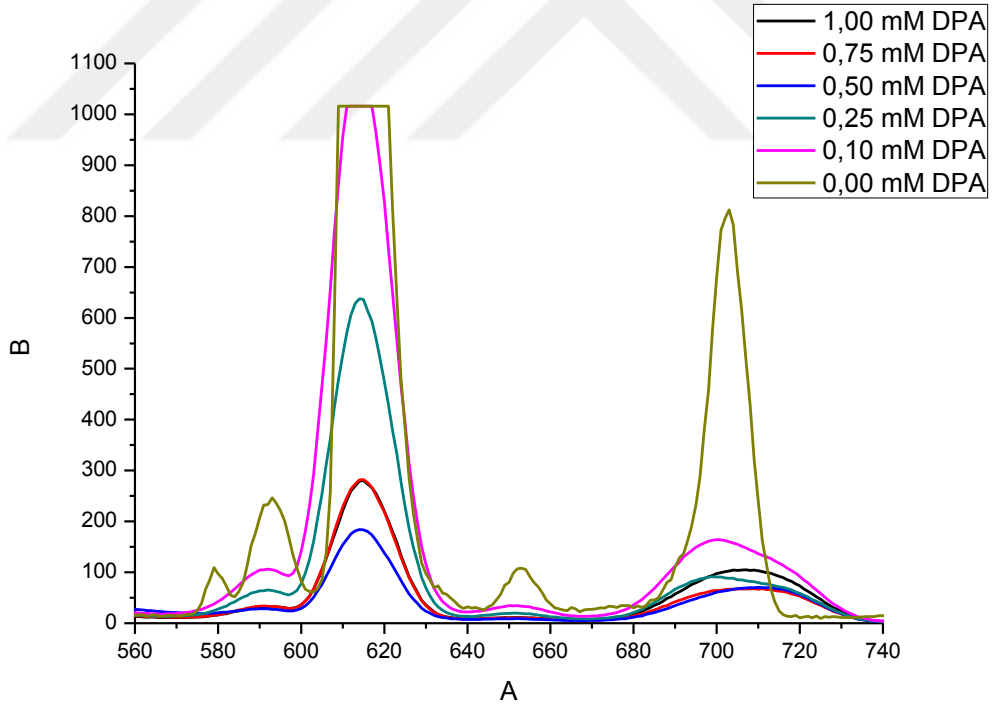


Şekil 3.18. Ligand yer değiştirme şeması

Lantanit şelatlı altın nanoparçacıklarımızın floresans ölçümleri için uygun olduğunu kesinleştirmek amacıyla yapılan konsantrasyona dayalı ölçümlere kıyaslamalara ek olarak ligand değiştirme mekanizması üzerinden de denemeler yapılmıştır.

Burada lantanit şelatına önceden bağlanmış bir ligand bulunmaktadır. β -diketon olarak kısaltılan 4,4,4-Trifloro-1-(2-naftil)-1,3-butandion molekülü ile lantanit şelatı kompleks haline getirilmiştir. Oluşturulan bu kompleks floresans özellik göstermektedir. Amacımız dipikolinik asitin bu komplekste yer değiştirme tepkimesine girip altın nanoparçacıklara bağlanıp bağlanamayacağını tespit etmektir.

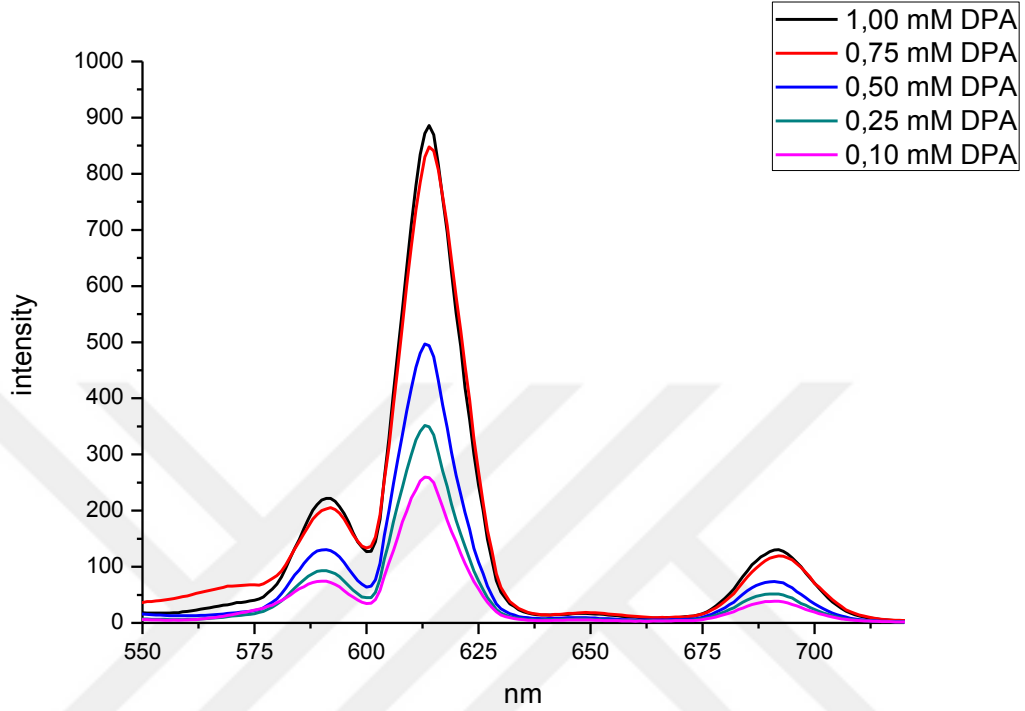
Ölçümler iki aşamada yürütülmüştür. İlk aşamada β -diketon altın nanoparçacık komplekslerinin floresans ölçümleri alınmıştır. Burada literatürden elde edilen bilgiler dahilinde β -diketon ligandının 350 nm’de uyarıldığını bildiğimizden oluşturduğumuz kompleksler 350 nm’de uyarılmıştır. Komplekslerin üzerine sırası ile 1, 0.75, 0.50, 0.25 ve 0.10 mili molar dipikolinik asit eklenmiştir.



Şekil 3.19. 350 nm’de β -diketon ile DPA ligand değiştirme grafiği

Elde edilen sonuçlardan dipikolinik asitin miktarı arttıkça β -diketon / altın nanoparçacık kompleksindeki şiddetin azaldığı görülmektedir. 616 nm’deki piklerin şiddetlerinin azaldığı bellidir. Bu şiddet azalmasına sebep olan dipikolinik asitin β -

diketonun yerine lantanit ile kompleks oluşturmasıdır. Böylece β -diketonun 350 nm'de kendine özgü karakteristik pik şiddetleri düşmektedir. Kompleksten ayrılan β -diketon tek başına floresans etki göstermediğinden ortamdan uzaklaştırılması gerekmemektedir.



şekil 3.20. 280 nm'de β -diketon ile DPA ligand değiştirme grafiği

Aynı numuneler dipikolinik asitin davranışlarını incelemek açısından 280 nm'de tekrar lld. lmlerden alınan sonuçlara göre dipikolinik asitin artan miktarına karşılık kompleksin verdiği pik şiddeti de doğru oranda artmaktadır. Buradan dipikolinik asitin β -diketon ligandının yerine kolayca geçebildiğini ve kararlı kompleksler oluşturduğunu söyleyebiliriz.

Tüm floresans ölümlerinin sonuçlarına toplu olarak bakmak gerekirse sentezlediğimiz lantanit şelatlı nanoparçacıkların dipikolinik asitin tespiti ve miktarının bulunması açısından rahatlıkla kullanılabilir olduğunu kanıtlamıştır. Düşük konsantrasyonlarda yüksek verimlilik ve kesinlikle analizlerin yapılabilmesi diğer analiz metotlarının önüne geçmesine sebep olmaktadır. Ayrıca altın nanoparçacıkların dipikolinik asite karşı seçici davranması ve etkileşimlerinin başka ligandlar varlığında bile oluşturabildiğini kanıtlamamız sensör olarak kullanılmak istenilen maddelerin gereksinimlerini eksiksiz bir şekilde karşıladığımızı göstermektedir. Altın nanoparçacıkların nano molar gibi çok

düşük konsantrasyonlarda kullanılması ile bu sonuçları elde etmemiz ise sensör sistemimizin diğer metotlara kıyasla daha az maliyetle aynı işlevi yapabildiğini ve herhangi bir ön hazırlık gerektirmediğinden dolayı kısa sürelerde kesin sonuçlar alabilmemizi sağladığını göstermektedir.

Elde edilen TEM görüntülerinde lantanit şelatlı altın nanoparçacıkların 50 nanometrenin altında ve küresel bir yapıda oldukları tespit edilmiştir. DPA'nın floresans metot ile belirlenmesinde literatür örnekleri ile karşılaştırıldığında bu sentezlenen altın nanoparçacıklar, nano boyuttaki ilk sensör platformudur.

Zeta-potansiyel ölçümlerine bakıldığında ilk basamakta elde edilen amin-fonksiyonlu parçacıkların yüzey yüklerinin +22 mV olduğu görülmektedir. Bu da pozitif yüklü amin gruplarının parçacıkların dış yüzeylerinde konumlandıklarını kanıtlar. Daha sonraki basamakta sentezlenen EDTA-fonksiyonlu parçacıkların yüzey yükleri -31.8 eV olarak bulunmuştur. Bu da parçacıkların dış yüzeylerinin eksi yüklü karboksilik asit grupları ile fonksiyonlandığını gösterir. Son basamakta bu karboksilik asitlerin Eu^{3+} ile koordine olması yük miktarını azaltarak -23.7 eV olmasını sağlamıştır. Altın nanoparçacıkları istediğimiz özelliklerde modifiye edebildiğimizi elde ettiğimiz sonuçlardan anlayabilmekteyiz.

4.SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Yapılan çalışmada europiyum ve terbiyum lantanitlerini barındıran altın nanoparçacıklar sentezlenmiştir. Sadece lantanit metalleri değiştirilerek oluşturulması düşünülen sensör sistemine uygunlukları kıyaslanmıştır. Sonuç olarak yapılan analizler ve elde edilen veriler sayesinde lantanit şelatlı altın nanoparçacıkların dipikolinik asitin tespiti ve miktar tayini için mili molar ve mikro molar seviyelerde sensör olarak kullanılabileceğini göstermektedir.

Floresans spektroskopisinde altın nanoparçacıklarımızın dipikolinik asite karşı seçici ve kuvvetli kompleks oluşturabildiğini görmemiz nanosensörümüzün istenilen düzeyde olduğunu ispatlamaktadır. Floresans spektroskopisi maddelerin yapısal özelliklerine bağlı bir analiz yöntemi olduğundan oldukça spesifik analiz yöntemleri oluşturulmasına olanak sağlamaktadır. Elde ettiğimiz nanoparçacık sistemi sadece dipikolinik asit için spesifik olup, tayini için kullanılan diğer cihaz ve metotlardan gerek maliyet gerekse süre ve ön hazırlıklar gibi koşullarda daha avantajlıdır.

Tasarlayıp kullanılabilirliğini gösterdiğimiz bu nanosensör sistemine benzer çalışmalar gelecekte yapılabilir. Altın nanoparçacıkların modifikasyonu çeşitlendirilerek farklı molekül veya molekül grupları için seçici hale getirilebilir.

Ayrıca altın nanoparçacıkların elektronik özellikleri ve katalitik etkileri de incelenebilir. Boyutlarına ve uçlarındaki yapılara bağlı olarak farklı işlevselliğe kavuşabilen nanoparçacık sistemlerinin sadece nanosensör olarak değil ilaç taşıma ve moleküler boyama gibi alanlarda da kullanılabilirliği incelenebilir.

5. KAYNAKLAR

- [1] Daniel and Astruc *Chem. Rev.* (2004), 104, 293-346.
- [2] Antonii, F. *Panacea Aurea-Auro Potabile*; Bibliopolio Frobeniano: Hamburg, (1618).
- [3] Kunckels, J. *Nuetliche Observationes oder Anmerkungen von Auro und Argento Potabili*; Schutzens: Hamburg, (1676).
- [4] Savage, G. *Glass and Glassware*; Octopus Book: London, (1975).
- [5] Helcher, H. H. *Aurum Potabile oder Gold Tinstur*; J. Herbord Klossen: Breslau and Leipzig, (1718).
- [6] *Dictionnaire de Chymie*; Lacombe: Paris, (1769).
- [7] Fulhame, Mrs. *An Essay on Combustion with a View to a New Art of Dying and Painting*; J. Cooper: London, (1794).
- [8] Ostwald, W. Zur Geschichte des Colloiden Goldes. *Kolloid Z.* (1909), 4, 5.
- [9] Faraday, M. Experimental Relations of Gold (and other Metals) to Light. *Philos. Trans.* (1857), 147, 145-181.
- [10] Graham, T. *Philos. Trans. R. Soc.* (1861), 151, 183-190.
- [11] Kahn, R. L. Serum Diagnosis for Syphilis. In *Colloid Chemistry*; Alexander, J., Ed.; The Chemical Catalog Co.: New York, (1928); Vol. II, p 757.
- [12] Hauser, E. A. Aurum Potabile. *J. Chem. Educ.* (1952), 456-458.
- [13] Brown, D. H.; Smith, W. E. The Chemistry of the Gold Drugs Used in the Treatment of Rheumatoid Arthritis. *Chem. Soc. Rev.* (1980), 9, 217-240.
- [14] *Immuno-Gold Electron Microscopy in Virus Diagnosis and Research*; Hyatt, A. D., Eaton, B. T., Eds.; CRC Press: Boca Raton, FL, (1993).

- [15] Turkevitch, J.; Stevenson, P. C.; Hillier, J. Nucleation and Growth Process in the Synthesis of Colloidal Gold. *Discuss. Faraday Soc.* (1951), 11, 55-75.
- [16] Frens, G. Controlled Nucleation for the Regulation of the Particle Size in Monodisperse Gold Suspensions. *Nature: Phys. Sci.* (1973), 241, 20-22.
- [17] Hayat, M. A. *Colloidal Gold, Principles, Methods and Applications*; Academic Press: New York, (1989).
- [18] Yijun Sun *Synthesis Of Gold-Amine Nanoparticles Of Various Sizes Using Two Different Methods* Kansas State University (2012).
- [19] Faraday, M. *Philos. Trans.*(1857), 147, 145-181.
- [20] Eustis, S.; Mostafa, A. *Chem. Soc. Rev.*, (2006), 35, 209-217.
- [21] Giersig, M.; Mulvaney, P. *Langmuir* (1993), 9, 3408-3413.
- [22] Hasan, M.; Bethell, D.; Brust, M. *J. Am. Chem. Soc.* (2003), 125, 1132- 1133.
- [23] Bethell, D.; Brust, M.; Schiffrin, D. J.; Kiely, C. *J. Electroanal. Chem.* (1996), 409, 137-143.
- [24] Rowe, M. P.; Plass, K. E.; Kim, K.; Kurdak, C.; Zellers, E. T.; Matzger, A. J. *Chem. Mater.* (2004), 16, 3513-3517.
- [25] Yee, C. K.; Jordan, R.; Ulman, A.; White, H.; King, A.; Rafailovich, M.; Sokolov, J. *Langmuir* (1999), 15, 3486-3491.
- [26] Hostetler, M. J.; Wingate, J. E.; Zhong, C. J.; Harris, J. E.; Vachet, R. W.; Clark, M. R.; Londono, J. D.; Green, S. J.; Stokes, J. J.; Wignall, G. D.; Glish, G. L.; Porter, M. D.; Evans, N. D.; Murray, R. W. *Langmuir* (1998), 14, 17-30.
- [27] Chen, S. H.; Kimura, K. *Langmuir* (1999), 15, 1075-1082.
- [28] Templeton, A. C.; Chen, S. W.; Gross, S. M.; Murray, R. W. *Langmuir* (1999), 15, 66-76.

- [29] Sau, T. K.; Pal, A.; Jana, N. R.; Wang, Z. L.; Pal, T. *J. Nanopart. Res.* (2001), 3,257- 261.
- [30] Meltzer, S.; Resch, R.; Koel, B. E.; Thompson, M. E.; Madhukar, A.; Requicha, A. A. G.; Will, P. *Langmuir* (2001), 17, 1713-1718.
- [31] Chen, W.; Cai, W. P.; Liang, C. H.; Zhang, L. D. *Mater. Res. Bull.* (2001), 36, 335-342.
- [32] Chen, W.; Cai, W.; Zhang, L.; Wang, G.; Zhang, L. *J. Colloid Surf. Sci.* (2001), 238, 291- 295.
- [33] Pol, V. G.; Gedanken, A.; Calderro-Moreno, J. *Chem. Mater.* (2003), 15, 1111-1118.
- [34] Henglein, A.; Meisel, D. *Langmuir* (1998), 14, 7392-7396. (b) Dawson, A.; Kamat, P. V. *J. Phys. Chem. B* (2000), 104, 11842-11846.
- [35] Gachard, E.; Remita, H.; Khatouri, J.; Keita, B.; Nadjo, L.; Belloni, J. *New J. Chem.* (1998), 1257-1265.
- [36] Khomutov, G. B. *Colloids Surf.* (2002), 243-267.
- [37] Nakamoto, M.; Yamamoto, M.; Fukusumi, M. *Chem. Commun.* (2002), 1622-1623.
- [38] Shimizu, T.; Teranishi, T.; Hasegawa, S.; Miyake, M. *J. Phys. Chem. B* (2003), 107, 2719-2724.
- [39] Teranishi, T.; Hasegawa, S.; Shimizu, T.; Miyake, M. *Adv. Mater.* (2001), 13, 1699-1701.
- [40] Choy, K. L., *Handbook of Nanostructured Materials and Nanotechnology Academic Press* (2000) volume 1.
- [41] Suguna Perumal *Mono- and Multivalent Interactions between Thiol and Amine Ligands with Noble Metal Nanoparticles* Berlin university (2012).
- [42] J. R. Lakowicz, *Principles of fluorescence spectroscopy*, Springer, (2006).

[43] I. D. Johnson, M. W. Davidson,

<http://www.olympusmicro.com/primer/java/jablonski/jabintro/index.html>, (2011).

[44] G. Chen *The Open Biotechnology Journal*, (2008), Volume 2

[45] Esplin et al. *Inorg. Chem.* (2010), 49, 4643–4647

[46] P. K. Dasgupta *Environ. Sci. Technol.*, (2008), 42 (8), pp 2799–2804

[47] Qiong Li *Anal. Chem.* (2013), 85, 9087–9091



ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Soyadı, adı : DÖNMEZ, MERT
Uyruğu : T.C.
Doğum tarihi ve yeri : EMİNÖNÜ / 14.03.1990
Telefon : 0 (554) 824 75 31
Faks :
E-posta : chemistmert@gmail.com

Eğitim

Derece	Eğitim Birimi	Mezuniyet tarihi
Yüksek Lisans	Düzce Üniversitesi – Organik Kimya	2016
Lisans	Düzce Üniversitesi - Kimya	2014
Lise	Cibali Y.Dil Ağırlıklı Lisesi Matematik/Fen bilimleri	2008

İş Deneyimi

Yıl	Yer	Görev
05.2012-07.2012	Nobelfarma İlaç A.Ş.	Stajyer Öğrenci
09.2013-12.2014	DÜBİT	Kısmi Zamanlı Öğrenci

Yabancı Dil

İngilizce (YDS : 62,5)

Kongre ve Seminerler

KONGRE ADI	KONGRE TARİHİ	KONU
3. İlaç Kimyası Kongresi	20-22 Mart 2015	Heterometalik Makrohalkaların Dizaynı ve Çözücü Sisteminin Monomer-Dimer Oluşumuna Etkisi

<u>SEMİNER ADI</u>	<u>SEMİNER TARİHİ</u>	<u>KONU</u>
YÜKSEK LİSANS SEMİNERİ	12 MAYIS 2015	Lantanit Şelatlı Altın Nanoparçacıklar Kullanarak Dipikolinik Asidin Orantılı Floresans Yöntemi ile Belirlenmesi

Yayınlar

1. “Luminescent detection of bacterial spores using terbium/europium chelated gold nanoparticles” Benan Kilbas, Deniz Yılmaz, **Mert Dönmez**, gönderildi.

